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

DISSERTATION

Wirksamkeit und Verträglichkeit von 2-Hydroxypropyl ß-Cyclodextrin (2-HP-BCD) - Gel bei Patienten mit einem rezidivierenden Herpes genitalis in der Prodromalphase: eine randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte multizentrische Phase-II Studie.

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Emilia J. Bedynek, geb. Gruszczynska

aus Stettin

Datum der Promotion: 12.09.2014

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung und theoretische Einführung ... 1
1.1 Viren ... 2
1.2 Die Familie der Herpesviridae ... 2
1.3 Herpes-Simplex-Virus – Varianten ... 3
1.3.1 Aufbau des Herpes-Simplex-Viruspartikels ... 4
1.3.2 Genomaufbau ... 4
1.3.3 Morphologie der Viruspartikel ... 5
1.3.3.1 Infektion der Wirtszelle / Latenz ... 5
1.3.3.2 Replikation ... 6
1.3.3.3 Entstehung neuer Viruspartikel ... 6
1.3.4 Funktion der Virushülle ... 7
1.4 Epidemiologie ... 8
1.4.1 Prävalenz des Herpes-Simplex-Virus ... 8
1.4.2 Inzidenz und Prävalenz von Herpes genitalis ... 8
1.5 Das Herpes-Simplex-Virus – Biologie und Pathogenese ... 10
1.5.1 Effekte auf die Wirtszelle ... 10
1.6 Manifestationsformen und Klinik des Herpes genitalis ... 11
1.6.1 Herpes genitalis – Primärinfektion ... 12
1.6.2 Herpes genitalis – Rezidiv ... 13
1.6.3 Folgen und Komplikationen eines Herpes genitalis ... 14
1.6.3.1 Herpes neonatorum ... 15
1.6.3.2 Psychologische Problematik ... 16
1.6.4 Herpes genitalis unter einer Immunsupression (HIV) ... 16
1.7 Virulenz und Transmission von HSV ... 17
1.7.1 Risikogruppen ... 18
1.8 Diagnosestellung ... 19
1.8.1 Viruskultur, Antigentests, Serologie, EM und PCR ... 19
1.9 Therapie – Nukleosidanaloga ... 20
1.9.1 Medikamentenresistenzen ... 23
2 Arbeitshypothese und Zielsetzung dieser Arbeit ... 25
2.1 Lipid Rafts und das Cholesterin ... 25
2.1.1 Das Cholesterin und die Viren ... 26
2.2 Cyclodextrine ... 26
2.2.1 Definition von Cyclodextrinen ... 27
2.2.2 Cyclodextrine und ihre Komplexbildung ... 27
2.2.3 Toxizität und Sicherheit der Cyclodextrine ... 28
2.2.4 Hydroxypropyl β Cyclodextrin ... 29
2.2.5 Anwendungsmöglichkeiten von Cyclodextrinen ... 29
2.2.6 Cholesterinextraktion mit β Cyclodextrin und ihr Einfluss auf Lipidmembranen ... 30
2.2.7 β-Cyclodextrin und das HSV ... 31
2.2.8 Fragestellung dieser Arbeit ... 31
3 Methodik ... 33
3.1 Das Studienziel ... 33
3.2 Studienbeschreibung und Studiendesign ... 33
3.2.1 Studiengruppen ... 34
3.2.2 Studienzentren und die Rekrutierung ... 34

3.2.2.1 Randomisierung und Persönliche Identifikationsnummer 35
3.2.3 Verblindung 35
3.3 Ein- und Ausschlusskriterien 35
3.3.1 Einschlusskriterien 35
3.3.2 Ausschlusskriterien 36
3.4 Begleitmedikation 37
3.5 Studienmedikation 37
3.5.1 Verum 37
3.5.2 Vergleichssubstanz - Placebo 38
3.5.3 Vertrieb und Verpackung 38
3.5.4 Dosierung und Anwendung 38
3.6 Studienablauf und Untersuchungen 39
3.6.1 Ablauf der Studie 40
3.6.1.1 Screening (Visite 1) 40
3.6.1.2 Beobachtungszeitraum (Tag -180 bis Tag 0) 41
3.6.1.3 Der Behandlungszeitraum 41
3.6.2 Der Schwangerschaftstest 42
3.6.3 Virologischer Abstrich 43
3.6.4 Die Bewertung der Therapieergebnisse 43
3.7 Compliance 45
3.8 Rechtliche Grundlagen 46
3.8.1 Patienteninformation 46
3.9 Erhebungsbögen und Dokumentation 47
3.9.1 Der Erhebungsbogen - Case Report Form (CRF) 47
3.9.2 Patiententagebuch 47
3.9.3 Bilddokumentation 48
3.9.4 Adverse Events (AE) 48
3.10 Statistische Methoden 49
3.10.1 Definitionen der analysierten Populationen 49
3.10.2 Nullhypothese und Alternativhypothese der Wirksamkeitskriterien 50
3.10.2.1 Das Hauptziel 50
3.11 Die Verträglichkeits- / Sicherheitskriterien 51
3.12 Material und Daten – Aufbewahrung und Verarbeitung 51
3.12.1 Verlorene Datenangaben 52
4 Ergebnisse 53
4.1 Patienten 53
4.1.1 Ausschluss eines Patienten aus der Therapie oder aus der Bewertung 54
4.2 Patientencharakteristika 55
4.2.1 Raucheranamnese 55
4.2.2 Begleiterkrankungen 56
4.2.3 Begleitmedikation 58
4.3 Bewertung der Therapieergebnisse über die Wirksamkeit 59
4.3.1 Bewertung des Hauptziels - Die Dauer bis zur Verkrustung 59
4.3.2 Bewertung der Nebenziele 60
4.4 Bewertung der Therapieergebnisse über die Sicherheit 68
4.4.1 Ausmaß der Exposition 68
4.4.2 Adverse Events (AE) 68
4.4.2.1 Der Bezug der AE´s zum Studienmedikament 68
4.4.2.2 Von den AE´s betroffene Organsysteme 69
4.4.2.3 Schweregrade der AE´s 70
4.4.2.4 Serious Adverse Event (SAE) 71

4.4.2.5 Ausgang der AE´s und SAE´s ... 72
4.4.3 Vitalzeichen, körperliche Untersuchung und andere für die Sicherheit des Studienmedikaments relevante Beobachtungen ... 72
4.4.3.1 Vitalzeichen ... 72
4.4.3.2 Auffällige Befunde der körperlichen Untersuchungen ... 73
4.5 Patientencompliance ... 74
4.6 Fallstudien ... 75
5 Diskussion ... 78
5.1 Die Diskussion des Studiendesigns ... 78
5.1.1 Das Patientenkollektiv ... 78
5.1.2 Die Rekrutierung und Randomisierung ... 79
5.1.3 Dokumentation: Patiententagebuch und das CRF ... 80
5.1.4 Der Virologische Abstrich ... 81
5.1.5 Verblindung ... 82
5.2 Die Ergebnisinterpretation ... 82
5.2.1 Die Patientenpopulationen ... 82
5.2.2 Patientencharakteristika ... 82
5.2.2.1 Gechlechterverteilung ... 83
5.2.2.2 Altersverteilung ... 83
5.2.2.3 Größe und Gewicht ... 84
5.2.2.4 Rauchverhalten ... 84
5.2.2.5 Begleiterkrankungen und Begleitmedikamente ... 85
5.2.3 Bewertung der Sicherheit ... 85
5.2.4 Patientencompliance ... 87
5.2.5 Bewertung der Wirksamkeit für das Hauptziel und die Nebenziele ... 87
6 Ausblick ... 90
6.1 Bewertung verfügbarer Medikamente gegen Herpes genitalis ... 90
6.2 Alternative Lokaltherapeutika ... 92
6.3 Aussicht auf einen Impfstoff ... 94
6.4 Möglichkeiten und Grenzen alternativer Therapieansätze ... 94
6.4.1 Wie befällt das HSV eine Wirtszelle - Neue Sichten auf den Vorgang der Fusion 95
6.4.1.1 Das Kapsid als wichtiger Mittler der Viruspenetration? ... 95
6.4.2 Virale Proteine – Ziele zukünftiger Chemotherapien? ... 97
6.4.2.1 Das Tegument – mehr als nur eine Proteinschicht? ... 97
6.4.2.2 Die tegumentassoziierten viralen Proteine: VP 16 und vhs ... 98
6.4.2.3 Andere bedeutsame virale Proteine ... 99
6.4.3 Etablierung und Aufrechterhaltung der Latenz – Ansatzpunkte für Genmodulation ... 100
6.4.3.1 Das HSV-Genom in der Latenzphase ... 100
6.4.3.2 Die Rolle von miRNA (microRNA) in der Latenz ... 100
7 Zusammenfassung und allgemeine Rückschlüsse ... 102
8 Abkürzungsverzeichnis ... 104
9 Literaturverzeichnis ... 105
10 Eidesstattliche Versicherung ... 113
11 Lebenslauf ... 114
12 Danksagung ... 1
13 Anhang ... 2

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Effekte von Komplexbildungen 30
Tabelle 2: Identität der Studienmedikamente 37
Tabelle 3: Organigramm der Screening- und Behandlungsphase 40
Tabelle 4: Demographische Angaben der Angaben 55
Tabelle 5: Raucheranamnese 56
Tabelle 6: Begleiterkrankungen 57
Tabelle 7: Anzahl der Patienten mit einer Begleitmedikation 58
Tabelle 8: Begleitmedikationen zu den jeweiligen Begleitdiagnosen in Anzahl und Prozent. 59
Tabelle 9: Kaplan-Meier-Überlebensschätzung der Dauer bis zum Krustenstadium unter der Behandlung mit Cyclodextrin und Placebo (anhand der FAS Population) 60
Tabelle 10: Kaplan-Meier-Schätzung: Dauer bis zum Einstellen der Schmerzen nach der Behandlung mit Cyclodextrin Gel oder Placebo (Population: 165 Patienten mit Schmerzen am Tag 1) 61
Tabelle 11: Kaplan-Meier-Schätzung der Dauer bis zur Beendigung der Bildung neuer Bläschen nach Cyclodextrin Gel und Placebo Behandlung (FAS Population) 62
Tabelle 12: t-Test für verbundene Stichproben: Abnahme der Größe (Durchmesser) der Herpes Läsion nach Behandlung mit Cyclodextrin Gel und Placebo (FAS Population) 63
Tabelle 13: Kaplan-Meier-Schätzung über die Dauer der Heilung der Läsion (FAS Population) 63
Tabelle 14: Schwere der Hautreaktion - Erythem 64
Tabelle 15: Schwere der Hautreaktion - Ödem 65
Tabelle 16: Schwere der Hautreaktion - Exsudat 65
Tabelle 17: Schwere der Hautreaktion - Vesikel 66
Tabelle 18: Schwere der Hautreaktion - Erosion/Ulzeration 66
Tabelle 19: Schwere der Hautreaktion - Schuppung/Trockenheit 67
Tabelle 20: Schwere der Hautreaktion - Summe aller Punkte 67
Tabelle 21: Übersicht über die Anzahl und Verteilung der AEs und SAE´s während der Behandlungsperiode in den jeweiligen Studiengruppen 68
Tabelle 22: Bezug der AE´s zum Studienmedikament 69
Tabelle 23: Überblick und Verteilung der AE - Diagnosen nach WHO 70
Tabelle 24: Verteilung der Schweregrade der AE´s nach Diagnosen und Studiengruppe 71
Tabelle 25: Vitalzeichen: Blutdruckparameter der SAF Population (191 Patienten) 72
Tabelle 26: Vitalzeichen: Pulsrate der SAF Population (191 Patienten) 73
Tabelle 27: Anzahl der Patienten mit auffälligen körperlichen Befunden (SAF Population). 73
Tabelle 28: Anzahl der auffälligen Befunde bei den körperlichen Untersuchungen (SAF Population) 74

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:Ikosaeder 4
Abbildung 2: Herpesbläschen bei Herpes genitalis 11
Abbildung 3: Konusförmige Gesamtstruktur des Cyclodextrins 27
Abbildung 4: Hydroxypropyl-ß-Cyclodextrin 29
Abbildung 5:Komplexbildung von ß-Cyclodextrin 30
Abbildung 6: Flussdiagramm Studiendesign 39
Abbildung 7: Visuelle Analog Skala - 100mm 44
Abbildung 8: Flussdiagramm der Patienten 53
Abbildung 9: Herpes genitalis Rezidiv bei einer weiblichen Patientin, Glutealregion 75
Abbildung 10: Herpes genitalis Rezidiv bei einem männlichen Patienten, Penisschaft 76

Abbildung 11: Herpes genitalis Rezidiv bei einer weiblichen Patientin, Schamlippen 77

1 Einleitung und theoretische Einführung

Viren verursachen bei Menschen einige der häufigsten und schwersten Erkrankungen, zu denen Infekte des Respirationstraktes (z.B. Coronaviren, Paramyxoviren), des Gastrointestinaltraktes (z.B. Rotaviren), des Urogenitaltraktes (z.B. Adenoviren) oder des ZNS (z.B. Influenzaviren, Tollwut) gehören. Manche Viren können Krebs auslösen, indem sie ihr genetisches Material in das menschliche Genom einfügen, damit in die normale Zellsteuerung eingreifen und zu einer Transformation (Entartung) der Wirtszelle führen [1]. Auf der anderen Seite wird auch von der allgemein immunstärkenden Eigenschaft von „banalen" fiebrigen Virusinfekten gesprochen. Mit Sicherheit kann man heute den Viren eine große Bedeutung im Zusammenhang mit der Entstehung vieler Krankheiten zuschreiben – vielleicht auch solcher deren Ursache seit langem unklar ist. Viele Viren lassen sich durch Impfungen wirksam kontrollieren [1], wie z.B. die Hepatitis-Viren oder das Röteln-Virus. Gegen viele andere Viren wurde bisher vergebens nach einem Impfstoff geforscht. Es gibt Viren die der menschliche Organismus aus eigener Kraft beseitigen kann. Einige können mittels einer speziellen Therapie bekämpft werden. Es gibt aber auch Viren die eine Fähigkeit haben, im Körper des Wirtes zu persistieren. Nach erfolgter Erstinfektion entwickeln diese Viren einen Zustand der Latenz und verbleiben für immer. Unter dem Einfluss bestimmter Triggerfaktoren wie (z.B. dem Abfall der Immunabwehr durch Stress, extreme Sonnenexposition oder mechanische Reizung) kann das genetische Material des Virus erneut aktiviert werden und immer wieder zu neuen Infektionen führen.

Zu den latent verbleibenden Viren gehört auch die große Gruppe der Herpesviren. Das Herpes-Simplex-Virus ist ein Vertreter der Alpha-Unterfamilie der Herpesviren. Es ist zumeist bekannt als Verursacher des sog. Lippenherpes und ruft juckende und schmerzhafte Bläschen im Orofazialbereich hervor. Klinisch spricht man vom Herpes labialis. Die Bläschen zeigen sich besonders häufig im Sommer sowie nach Stress oder einer Krankheit und Fieber - weshalb der Volksmund auch von Fieberbläschen spricht. Zusammen ist den Umständen ein Absinken der Immunabwehr, die eine Aktivierung des latent vorhandenen Virus und des Infektes begünstigt. Doch das Herpes-Simplex-Virus wird auch durch Intimkontakt auf die Geschlechtsorgane übertragen. Treten in der Urogenital-, Anogenital- oder in der Glutealregion Herpesbläschen auf - spricht man vom klinischen Bild eines Herpes genitalis [5]. Das öffentliche Wissen über diese ansteckende Krankheit ist nicht weit verbreitet. Und dennoch gehört der Herpes genitalis zu den weitaus häufigsten sexuell übertragbaren Krankheiten weltweit, und sogar die häufigste sexuell übertragbare Erkrankung in den USA und den Industrieländern Europas [2]. Ein Herpes genitalis ist nicht zwingend behandlungsbedürftig. Besteht jedoch bei schweren oder wiederholten Verläufen

Behandlungsbedarf, so gibt es neben dem Nukleosidanalogon Aciclovir und dessen Derivaten kaum Ausweichstoffe. Die Nukleosidanaloga gibt es in allen Verabreichungsformen, meistens greifen die Patienten auf die freiverkäufliche Aciclovir Creme zurück. Deren Behandlungserfolg ist nicht unumstritten [3,4], bewährte Alternativen fehlen bis jetzt.

1.1 Viren

Strukturell und biologisch, aber insbesondere durch ihre Reproduktion unterscheiden sich Viren von allen anderen Infektionserregern. Trotz der üblichen genetischen Information in Form von DNA oder RNA fehlt den Viren der notwendige Syntheseapparat, um diese Information zu neuem Virusmaterial verarbeiten zu können. Ein Virus allein ist metabolisch inaktiv - und kann sich nur replizieren, wenn es eine Wirtszelle infiziert und deren Fähigkeit zur Transkription und Translation von genetischem Material in parasitärer Weise für sich nutzt [1]. Während einer Infektion heftet sich das Virus an die Wirtszelle, dringt in diese ein und setzt bestimmte Faktoren sowie seine genetische Information gezielt in der Zelle frei. Dies führt dazu, dass der Stoffwechsel der Wirtszelle umprogrammiert wird und zelluläre Prozesse in der Wirtszelle auf die Virusvermehrung ausgerichtet werden, ohne aber die Wirtszelle vorzeitig zu zerstören [6].

1.2 Die Familie der Herpesviridae

„Herpes leitet sich von dem griechischen Wort *herpein* ab, bedeutet „kriechen, krabbeln, schleichen“ und wurde schon von Hippokrates für bestimmte Hautkrankheiten verwendet. Der Name Herpesviridae deutet deshalb vermutlich auf die kriechende Ausbreitung des von Herpes-Simplex verursachten Hautausschlages hin“ [7]. Eine genaue Beschreibung des „ Herpes febrilis“ gab 1694 Morton und gegen Ende des 19. Jahrhundert wurde die Terminologie „ Herpesvirus hominis (simplex)“ eingeführt.

Herpesviren sind Viren mit Hülle (*engl.* envelope), einem Durchmesser von 100 -180 nm und bestehen aus einem ringförmigen Proteinkern mit einer einzelnen linearen doppelsträngigen DNA. Viren dieser Familie replizieren im Kern und erwerben ihre zerbrechliche Hülle durch ein Knospen (*engl.* budding) an der Kernmembran, die mit viralen Glykoproteinpeplomeren besetzt ist, was unikal unter Viren ist [8]. Wie alle umhüllten Viren sind sie gegen äußere Einflüsse (Desinfektionsmittel, Austrocknen) sehr empfindlich [9]. Wesentliches Merkmal der humanen Herpesviren ist ihre Neigung zur Latenz d.h. dem Verbleiben der Virus-DNA (nahe zu) ohne Proteinsynthese in bestimmten Geweben. Aus der latenten Phase können die Viren durch Trigger, eventuell auch Sinken der Immunlage reaktiviert werden und zum klinischen Rezidiv

führen. Alle Herpesvirusinfektionen treten daher bei einer Immundefizienz nicht nur gehäuft, sondern auch unter einem aggravierten klinischen Bild auf [10]. Von den insgesamt über 100 verschiedenen Herpes-Virus-Typen die auf der Welt bekannt sind, haben 8 eine humanpathogene Bedeutung [11]. Taxonomisch werden die Vertreter der humanen Herpesviren je nach Pathogenität, Tropismus und Vermehrungseigenschaften in drei Unterfamilien eingeteilt: Alpha-Herpesviren, Beta-Herpesviren und Gamma-Herpesviren [8].

1.3 Herpes-Simplex-Virus – Varianten

Das Genus Simplexvirus gehört zu den Alphaherpesviren. Charakteristisch für diese Unterfamilie ist ihr breites Wirtspektrum, eine kurze Replikationszeit in vitro und eine lebenslange Persistenz in den Nervenzellen der Ganglien [8]. Das HSV tritt in zwei serologischen Typen auf.

Das Herpes-Simplex-Virus Typ 1 (HSV-1) kommt vorwiegend im orofazialen Bereich vor und bei der Übertragung stehen Speichelaustausch und indirekter Kontakt über kontaminierte Hände im Vordergrund. Bei Infektionen mit HSV-1 sind also bevorzugt die Kopfganglien, besonders das Ganglion semilunare (Ganglion Gasseri des N. Trigeminus), sowie die Zervikal- und Vagusganglien befallen [12].

Der Herpes-Simplex-Virus Typ 2 (HSV-2) wird überwiegend auf sexuellem Wege übertragen und tritt daher im Genitalbereich auf [9]. Die Präferenz von HSV-2 für Infektionen des Genitaltraktes liegt nicht in der Unfähigkeit des Virus, Hautzellen in der Oropharynx zu infizieren, sondern eher in den sakralen Ganglienzellen, die für die Aufrechterhaltung der HSV-2 Latenz offensichtlich geeigneter sind als die Trigeminusganglien [13]. Das HSV-2 gilt als etwas aggressiver als HSV-1 und besitzt eine höhere Neurotropie [11]. Trotz der Präferenzen können beide HSV-Typen (HSV-1 und HSV-2) sowohl orale wie auch genitale Infektionen verursachen [14]. Denn beide Serotypen weisen eine enge verwandtschaftliche Beziehung auf, sind obligat menschenpathogen und morphologisch identisch. HSV-1 und HSV-2 können jedoch anhand ihrer klinischen und epidemiologischen Muster, der virusspezifischen Glykoproteine (gG-1und gG-2) der Hülle sowie unterschiedlicher DNA-Sequenzen mittels einer Restriktionsenzym-Analyse unterscheiden werden. [10-11]. Eine vorausgegangene HSV-1 Infektion bietet keinen Schutz vor einer HSV-2 Infektion und umgekehrt [12]. Aber Patienten, die zuvor bereits Kontakt mit HSV-1 - meist im Rahmen eines Herpes labialis - hatten und Antikörper gegen HSV-1 im Serum aufweisen, zeigen ein geringeres Risiko für die Akquisition einer HSV-2 Infektion im Genitalbereich [11]. Möglicherweise besteht also zwischen HSV-1 und HSV-2 eine partielle Kreuzimmunität, welche die Ausbreitung des HSV-2 bei einer vorausgegangenen HSV-1 Infektion behindert [8].

1.3.1 Aufbau des Herpes-Simplex-Viruspartikels

Die Mitglieder der Herpesviridae gehören zu den größten Viren [12]. Die äußere Gestalt der Herpes Virus Partikel erscheint in der elektromikroskopischen Darstellung rotationssymmetrisch und vor allem kugelförmig. Die tatsächliche innere Form eines Herpes Virus Partikels entspricht einem symmetrischen Ikosaeder also einem Körper bestehend aus 20 Flächen, mit 30 Kanten, verbunden durch 12 Ecken.

Abbildung 1:Ikosaeder

Quelle: Emilia J. Bedynek

Im Dünnschnitt des Viruspartikels erkennt man dass der ikosaedrische Körper des Herpes Virus aus insgesamt vier konzentrischen Schichten besteht. Im Innern liegt der Kern (*engl.* core) - eine fibrilläre Proteinmatrix, die mit dem doppelsträngigen linearen Genom assoziiert ist. Das Core wird umgeben von 162 einzelnen Kapsomeren. Die Kapsomere bilden - in einer definierten Anordnung 20 Flächen mit 30 Kanten und 12 Ecken - ein ikosaedrisches Gesamtkapsid. Das Kapsid fungiert wie ein Schutzmantel für die Nukleinsäure. Die Einheit aus viraler Nukleinsäure (Core) und Kapsid wird als Nukleokapsid bezeichnet. Das Nukleokapsid wird von einer amorphen, globulären Proteinmatrix umgeben, welche als Tegument bezeichnet wird und ein Charakteristikum der Herpesviridae ist [7]. Das Tegument wird außen umhüllt von einer dreischichtigen äußeren Hüllmembran (*engl.* envelope). Die in der Regel aus Proteinen, Glykoproteinen (gp) bzw. Glykoprotein-Spikes und Lipiden besteht [2, 16-17].

1.3.2 Genomaufbau

Das Genom besteht aus einer linearen, doppelsträngigen DNA (+/-) mit einer Länge bzw. Molekulargewicht von 125-220 kbp (Kilobasenpaare) [17]. Es setzt sich aus einer langen UL (unique long) und einer kurzen US (unique short) Region zusammen, die von wiederholten, invertierten, jeweils zueinander homologen Sequenzen begrenzt werden. Durch die freie Invertierbarkeit der UL– und US–Einheiten treten während der Infektion durch intramolekulare Rekombination vier isomere Genomformen auf, deren Bedeutung noch unklar ist. HSV-1 und HSV-2 haben zu etwa 85% homologe Sequenzen, die über das gesamte Genom verteilt sind [16].

Die genetische Information codiert für Genprodukte, die je nach dem Zeitpunkt ihrer Expression im Lebenszyklus des Virus klassifiziert werden als Sofort-, Früh-, und Spätproteine. Herpesviren kodieren selbst für die meisten Enzyme, die für ihre Replikation notwendig sind. Dies erlaubt ihnen, in ruhenden Zellen wie Neuronen zu replizieren. Bis zu 50% der Virusgene sind für die Replikation nicht essentiell, spielen aber eine besondere Rolle bei der Ausweitung des Gewebetropismus, bei der Etablierung der Latenz oder bei der Unterdrückung der Immunantwort des Wirtes in vivo [8].

1.3.3 Morphologie der Viruspartikel

1.3.3.1 Infektion der Wirtszelle / Latenz

Die Bindung (Adsorption) des Herpes-Virus an die zu infizierende Epithelzelle wird durch ein Rezeptor-Liganden-Paar vermittelt. Als zelluläre Bindungsstrukturen fungieren auf der viralen Seite die transmembranen Glykoproteine (gp) der Lipidhülle, und auf der anderen membranständige Proteine (Rezeptoren) der Wirtszelle [13,18]. Nach der Adsorption folgt die Penetration. Hier wird der spätere Prozess der Hüllenbildung quasi umgedreht: Bei der Aufnahme der Viruspartikel durch die befallene Zelle kommt es zur einer Fusion der Virushülle mit der Zellmembran der Wirtszelle, wobei das Kapsid ins Zytoplasma eingeschleust wird. Dies wird durch Proteine der Hüllmembran des Virus ermöglicht, die extrem hydrophob sind und damit in die Zellmembran des Wirtes eindringen können. Die Zellmembran wird dadurch heterogen: Sie enthält jetzt neben den eigenen Bauelementen auch Material der Virushülle mit deren Glykoproteinen [13,17].

Der Penetration folgt nahtlos das Uncoating. Dafür wird das virale Kapsid und das Tegument vermutlich entlang dem Zytoskelett zur Kernmembran transportiert. Dies ist ein Prozess, der einen Transport in entgegengesetzter Richtung zum normalen neuronalen Fluss über eine relativ lange Strecke am Zytoskelett der Neuronen erfordert. Die genomische HSV-DNA wird dann zusammen mit den Tegumentproteinen vom Kapsid entlassen und gelangt durch eine Kernpore in den Zellkern. Ist die virale DNA im Kern angelangt schließt sie sich zu einem Ring und liegt somit episomal vor. Die leere Proteinhülle zerfällt [8,13]. Damit ist das Virus nicht länger infektiös, bis sich nach einer Replikation komplett neue Viruspartikel gebildet haben [1].

1.3.3.2 Replikation

Die wichtigsten Schritte für die Virusreplikation die im Zellkern stattfinden sind die Transkription, die DNA Synthese und die Montage des Kapsids [19].

Die Synthese der viralen Genprodukte - sowohl der RNA wie auch der Proteine- erfolgt bei Herpes-Viren in drei zeitlich fortlaufenden Perioden. Der erste Satz der viralen Genprodukte besteht aus sechs Proteinen, genant als Sofortproteine. Fünf von ihnen regulieren den Reproduktionszyklus des Virus und eins blockiert die Präsentation von antigenen Peptiden auf der Zelloberfläche infizierter Zellen. Die Sofortproteine sind essentiell für die Synthese des zweiten Satzes viraler Genprodukte die als Frühproteine bezeichnet werden [19]. Die Frühproteine sind Enzyme, die primär für die virale DNA-Synthese verantwortlich sind [8]. Diese Enzyme erhöhen die Nucleotidkonzentration (wie etwa Thymidinkinase und Ribonucleotidreduktase), oder sind direkt an der DNA-Replikation beteiligt (wie etwa DNA-Polymerase, Primase-Helicase, Topoisomerase und DNA-Bindungsproteine) [8] und stellen Ziele einer antviralen wirksamen Chemotherapie dar [19]. Die Synthese der Frühproteine erreicht 5-8 Stunden post infectum den Höhepunkt [16] und wenn Frühproteine in ausreichender Menge vorhanden sind, beginnt die Synthese der Nachkommen – DNA. Die Herpes Viren beschreiten dafür den sog. Rolling-Circle-Weg der DNA-Replikation [17]. Nach dieser Methode werden zunächst mehrere Kopien des Genoms als Konkatamer nacheinander synthetisiert, und anschließend geschnitten. [8]. Die dritte Klasse der produzierten Proteine stellen zum größten Teil strukturelle Komponenten des Virions dar und treten relativ spät nach einer Infektion (bis zu ca. 15 Stunden) auf, weshalb sie als Spätproteine bezeichnet werden. Sie dienen der Morphogenese des Virions, sind Bestandteile des späteren Kapsids und des Teguments und inkorporieren in die Zellmembranen um später behüllt zu werden [13,16,17,19]. Für die Entstehung aller viralen Proteine wird immer zunächst eine mRNA gebildet die ins Zytoplasma wandert und dort translatiert wird. Alle viralen Proteine werden also zuerst im Zytoplasma synthetisiert wandern aber für den Zusammenbau des Viruspartikels in den Zellkern zurück [13].

1.3.3.3 Entstehung neuer Viruspartikel

Die Montage der Virionen erfolgt in zwei Stufen. Zuerst bilden sich Kapside. Dafür kodiert ein spezielles Gen für ein Matrizenprotein, an dieses sich Außen die einzelnen asymmetrischen Virusstrukturproteine durch Selbstorganisation zu morphologisch definierten Untereinheiten – den Kapsomeren – zusammenfügen. Anschließend zerstört eine Protease desselben Proteins die Ma-

trize. Die Kapside nehmen die DNA auf und es entstehen Nukleokapside. Im zweiten Schritt erwerben die Viren ihre zerbrechliche Hüllmembran. Dies geschieht durch Ausknospung (*engl.*: budding) des im Zellkern zusammengesetzten Viruskapsids zwischen innerer und äußerer Kernmembran in die zytoplasmatischen Zisternen. Dabei werden die virusspezifischen Hüllproteinen die sich auf der Kernmembran befinden in die dabei entstehende Hülle aufgenommen und später glykosyliert. Von dort gelangen die Viruspartikel dann in Vesikeln an die Zelloberfläche. Die Freigabe des Virus erfolgt beim Zerfall der Zelle. Bereits 12-20 Stunden nach der Inokulation sind neu synthetisierte Virionen im Zellkulturüberstand nachweisbar [7,13,16,17,]. Da umhüllte Viren auch freigesetzt werden ohne zum Zelltod zu führen - können infizierte Zellen lange Zeit Viruspartikel streuen [1].

1.3.4 Funktion der Virushülle

Die Virushülle umgibt die Kapsid-Tegument-Struktur und besteht aus mindestens 10 glykosylierten und mehreren nichtglykosilierten Proteinen, sowie aus Polyaminen. Es sind mindestens 10 virale Glykoproteine bekannt (gB, gC, gD, gE, gG, gH, gI, gK, gL, und gM), ein elftes (gJ) wird vorhergesagt. Die glykosilierten viralen Oberflächenproteine vermitteln die Anhaftung und die Penetration des Virus in die Wirtszelle. Für die Anhaftung sind gC und gB wichtig, während das gD für den Eintritt in die Wirstzelle benötigt wird [19]. Dafür interagieren die viralen gB- und gC-Glykoproteine zunächst mit Heparinsulfat-Gruppen des zellulären Proteoglykans auf der Plasmamembran und es folgt eine spezifischere Interaktion mit einem noch unbekannten Zellrezeptor, der wahrscheinlich durch das virale gD-Glykoprotein vermittelt wird [8]. Aus der Einlagerung von Glykoproteinen in die lipidhaltige Hüllmembran erklärt sich auch die hohe Empfindlichkeit des Virus gegenüber Detergenzien und anderen fettlösenden Chemikalien. Denn mit dem Verlust der Lipidhülle gehen die für die Adsorption notwendigen Glykoproteine verloren und das verbleibende Nukleokapsid ist nicht in der Lage, an die Wirtszelle zu adsorbieren [13].

Die diversen Gyloproteine der Virushülle fungieren auch als antigene Determinanten bei der Bildung von Antikörpern gegen das HSV [7]. Die Glykoproteine bilden unterschiedlich lange Spikes aus, die nicht nur auf der Virushülle sondern auch auf der Oberfläche infizierter Zellen lokalisiert sind. Und hier zeigt sich eine Besonderheit des HSV: Die virus-kodierten Glykoproteine gE und gI sind befähigt eine immunologische Verfremdung der befallenen Wirts-Zellmembranen hervorzurufen. Das geschieht indem sie membranständig werden und das Vermögen haben, IgG`s über deren Fc-Stück zu binden. Auf diese Weise kann sich die befallene

Zelle gegen die zytolytische Wirkung von T-Lymphozyten schützen. Das Glykoprotein C (gC) bindet die c3b-Komponente des Komplements und schützt die infizierte Zelle somit vor der Zelllyse [2,16,17]. Aber die Virushülle ist nicht nur Träger der wichtigsten Epitope und somit Angriffsort der humoralen und zellulären Immunantwort [11]. Ihre Gylokoproteine haben neben verschiedenen gemeinsamen Komponenten auch eine gewissem Typenspezifität und haben somit auch eine diagnostische Bedeutung. Mittels einer Serologie mit ELISA kann zwischen gG–1 und gG–2, und damit zwischen HSV-1 und HSV-2 unterschieden werden [20].

1.4 Epidemiologie

1.4.1 Prävalenz des Herpes-Simplex-Virus

Infektionen mit HSV sind weltweit verbreitet. Die Erstinfektion erfolgt meist mit dem HSV-1 im frühen Säuglings-, Kindes- oder Jugendalter durch Tröpfchen oder Kontaktinfektion im Orofazialbereich. So werden bis zur Pubertät ca. 50% aller Kinder mit dem HSV-1 infiziert und sind dann lebenslang seropositiv. Ein zweiter Durchseuchungsschub beginnt im postpubertären Alter mit dem Beginn der Intimpartnerschaften und steigt bis ins Erwachsenenalter. Erst zu diesem Zeitpunkt tritt auch das HSV-2 epidemiologisch in Erscheinung, weil HSV-2 Infektionen überwiegend auf die Genitalregion beschränkt sind [15,21]. Somit sind allgemein ca. 90% aller Erwachsener seropositiv für das HSV. Zirka 70-80% von ihnen haben Antikörper gegen das HSV-1, und ca. 10-30% Antikörper gegen das HSV-2 [12,15].

1.4.2 Inzidenz und Prävalenz von Herpes genitalis

Infektionen mit Herpes-Simplex-Viren im Genitalbereich gehören zu den häufigsten sexuell übertragbaren Erkrankungen und sind weltweit weiterhin im Zunehmen begriffen [11]. Sie sind die häufigste Ursache für genitale Ulzera, sowohl in den Industriestaaten wie auch in den Entwicklungsländern [22]. Klinisch symptomatisch manifestieren sich nur ca. 30% der genitalen Herpes-Simplex-Virus Infektionen eindeutig als Herpes genitalis. Fünfzig Prozent der genitalen Infektionen verlaufen völlig asymptomatisch und die restlichen 20% machen atypische Symptome, die häufig nicht als Herpes genitalis erkannt werden. Die tatsächliche Zahl der Patienten mit einer genitalen HSV Infektion liegt somit wahrscheinlich mehr als 3-mal höher als man aufgrund des klinischen Eindrucks schätzen würde [23]. Eine Untersuchung von Löwhagen et al. zeigte 2005, dass nur ca. 41% der untersuchten HSV-2 positiven Individuen auch über Herpes genitalis berichteten, aber 30% von Ihnen über genitale Beschwerden klagten ohne über ihre Infektion

bescheid zu wissen, und weitere 30% der Patienten nie Symptome - wie bei Herpes genitalis typisch - hatten [24].

Das HSV-2 ist prävalent in allen sexuell aktiven Populationen und dessen Vorkommen wurde lange Zeit als Marker benutzt, um die weltweite HG Verbreitung zu schätzen. Seit einigen Jahren wird aber eine ansteigende Anzahl HSV-1 bedingter Herpes genitalis Fälle beobachtet. Bei den klinisch manifesten genitalen Primärinfektionen wird heute in Ländern wie Großbritannien in bis zu ca. 50% der Fälle HSV-1 isoliert [15]. So sind Prävalenzstudien zur Häufigkeit von Herpes genitalis die auf der HSV-2 spezifischen Serokonversion basieren nicht mehr aussagekräftig. Bei den Erstepisoden wird das HSV-1 in ca. 20% der Fälle gefunden und ist dort signifikant häufiger vertreten als bei den wiederkehrenden (sowohl symptomatischen wie asymptomatischen) Episoden, wo es nur zu 9% vorkommt [25]. Dies bestätigt die Beobachtung, dass wiederkehrender HG vor allem durch eine HSV-2 hervorgerufen wird. Die Prognose für Patienten mit einer HSV-1 Infektion zeigt weniger häufige Rezidive mit schwächerer Symptomatik [11]. Das belegen auch allgemeine Untersuchungen in Deutschland die zeigten, dass etwa 70-80% der genitalen Herpesausbrüche durch HSV-2 und ca. 20-30% durch HSV-1 verursacht werden [15]. Auch die Arbeitsgruppe um S. Buxbaum et al. macht Zahlenangaben, wonach in Deutschland bei 20% der Männer und bei 25% der Frauen die HG - Ausbrüche durch das HSV-1 verursacht wurden [26]. In einer großangelegten Studie von W.E. Lafferty et al. aus den USA waren im Jahr 2000 das HSV-1 zu 17,1% und das HSV-2 zu 82,9% für das Auftreten der gesamten untersuchten HG Fälle verantwortlich [25]. Interessant ist, dass der Anteil HSV-1 bedingter HG- Fälle insbesondere bei den Frauen ansteigt [15]. Auch die HSV-2 Seroprävalenzrate ist unter Frauen größer [27] und die Neuinfektionen betreffen häufiger Frauen als Männer [22,28].

Die höchste HSV-2 Rate weltweit wurde in Afrika gefunden - südlich der Sahara. Dort erreicht die Seroprävalenz unter Männern und Frauen eine Qoute von bis zu über 80% (z.B. Kamerun, Kenia, Uganda oder Zambia). Die niedrigste HSV-2 Rate – weltweit – wurde in Asien (Japan) gefunden. Außerdem sind die HSV-2 Raten niedriger in West- und Südeuropa als in Nordeuropa und Nordamerika [29]. Für Mitteleuropa gibt es nur wenige und unzureichende Daten über die Häufigkeit und den vorherrschenden HSV-Typ. Signifikant höher ist außerdem die Prävalenz von HG in den Risikogruppen wie Prostituierte und HIV-Kranke [26,29], was in späteren Kapiteln näher erläutert wird.

1.5 Das Herpes-Simplex-Virus – Biologie und Pathogenese

Das HSV wird im Rahmen einer Erstinfektion über den Mundbereich oder die Genitalregion übertragen. Dabei gelangt es zunächst über die Haut oder Schleimhaut in den Wirtsorganismus und repliziert sich am Ort der Übertragung [11]. Die Virusreplikation kann zu einer lokalen klinischen Reaktion mit Zerstörung der befallenen Epithelzellen und Bildung von intraepithelialen Bläschen mit fokaler Nekrose führen [11]. Die Erstinfektion mit dem HSV kann aber auch in bis zu 90% der Fälle inapparent verlaufen [12]. In jedem Fall schließt sich eine Virämie mit Antikörperbildung an, welche jedoch nicht zur Viruselimination führt [5]. Sowohl nach einer symptomatischen wie auch inapparenten Erstinfektion gelangt das Virus vom Ort der Übertragung zu den freien sensorischen und autonomen Nervenendigungen des zuständigen Dermatoms. Es wandert zentripetal entlang der peripheren Nerven im Achsenzylinder (axonal), und erreicht nach ca. 1-2 Tagen die regionalen sensorischen Ganglien [12]. In den Ganglien vermehrt sich das Virus ca. 6-8 Tage lang, wird aber nicht eliminiert. Vielmehr wird die Virus-DNA anschließend in einer ringförmigen, episomalen und nicht-integrierten Form in die Zellkerne der neuronalen Ganglienzellen „eingeschleust“, und verbleibt dort lebenslang im Stadium der Latenz. Obwohl sich Infektiöses Virusmaterial am Ort der Infektion nicht mehr nachweisen lässt bleibt die virale Erbinformation latent in den Ganglien erhalten [13,17]. Aus diesem Stadium kann das Virus durch bisher nicht vollständig aufgeklärte Signale von Triggerfaktoren reaktiviert werden. Dann setzt eine erneute Produktion von Viruspartikeln im Ganglion ein. Die neu gebildeten Viruspartikel wandern dann anterograd-axonal in die Peripherie, und können dort die Epithelzellen - aus dem Versorgungsgebiet des betreffenden Nervens - infizieren. Bei Übertritt in die Epithelzelle ist der Zugriff neutralisierender Antikörper für kurze Zeit möglich. Ist das Virus aber erst einmal in der Epithelzelle, kann es durch Mikrofusionen die Nachbarzellen infizieren. Hierdurch ist der Antikörperzugriff unterbunden. Die lokale Ausbreitung des Virus scheint wesentlich durch die zelluläre Immunität begrenzt zu werden; bei T-Zell-Defekten können große Ulzera entstehen [9].

1.5.1 Effekte auf die Wirtszelle

Die histopathologischen Charakteristika einer primären oder rezdivierenden HSV Infektion spiegeln sich wieder im virusvermittelten Zelltod und der damit verbundenen entzündlichen Reaktion. Die vom HSV hervorgerufene Effloreszenz ist ein mit klarer vesikulärer Flüssigkeit gefülltes intraepitheliales Bläschen. Histologisch sieht man aufgrund intarzellulärer Ödeme stark aufgelasste Keratinozythen (ballonierte Degeneration). Durch Ruptur von Zellmembranen

kommt es später zu multilokulärer Bläschenbildung und Zeichen von Akantholyse. Der Bläscheninhalt enthält eine Ansammlung von Zelltrümmern, inflammatorischen Zellen, mehrkernige Riesenzelle und eine große Menge Virusmaterial. Kernveränderungen in virusinfizierten Epithelien sind pathognomisch. Durch nukleare Virusanreicherung wird das Chromatin an die Peripherie gedrängt. Des Weiteren treten eosinophile Kerneinschlüsse und mehrkernige Keratinozyten auf. Im Korium entsteht zudem eine starke entzündliche Reaktion. Wenn die Flüssigkeit absorbiert wird, entsteht aus dem Bläschen eine Pustel und später bildet sich Schorf oder eine Kruste. Die Abheilung erfolgt meist narbenlos. Wurde jedoch die Mukosamembran involviert, so können sich statt Vesikel flache Ulzera bilden [5,30].

1.6 Manifestationsformen und Klinik des Herpes genitalis

Der Herpes genitalis ist also eine bläschenbildende Infektion des äußeren Genitale und der Glutealregion mit dem Herpe-Simplex-Virus. Als Grundefflorescenz sind typischerweise herpetiform gruppierte Bläschen auf erythematösem Grund erkennbar, welche im Verlauf rupturieren, ggf. ein Ulkus ausbilden, später hämorrhagisch verkrusten und innerhalb von 1–2 Wochen ausheilen [31].

Abbildung 2: Herpesbläschen bei Herpes genitalis

Quelle: Emilia J. Bedynek

Unterschieden wird zwischen einer Primärerkrankung und einer Exazerbationen, welche die Folge einer rekurrierenden Infektion sein kann [21]. Von einem primären Herpes genitalis (Primärinfektion) wird gesprochen, wenn der Patient erstmals im Leben eine genitale HSV Infektion akquiriert (bei fehlenden Antikörpern gegen HSV-1 und HSV-2). Nur etwa die Hälfte aller Patienten, die sich erstmals mit einem symptomatischen Herpes genitalis präsentieren, weisen eine echte Primärinfektion mit entweder HSV-1 oder HSV-2 auf. Eine manifeste Primärinfektion weist meist systemische Zeichen, eine längere Krankheitsdauer und einen größer ausgedehnten Befall auf - als eine Rezidiv [11].

Als nicht-primäre Erstepisode wird das erste klinisch manifeste Rezidiv nach einer früheren asymptomatischen Primärinfektion eines Herpes genitalis bezeichnet. Der Verlauf dieser nicht-primären Erstepisode ist häufig milder und weist beim Auftreten während der Schwangerschaft eine niedrigere vertikale Übertragungsrate auf als die Primärinfektion [11].

Als Initialinfektion wird eine erstmalige genitale Infektion mit dem HSV-2, bei vorher bekannter Infektion mit einem HSV-1 (z.B. Herpes labialis), bezeichnet [11].

Ein Rezidiv ist eine Reaktivierung des Herpes genitalis. Rezidivierende Infektionen können symptomatisch oder asymptomatisch erfolgen. Bei fehlenden Symptomen spricht man von der bereits erwähnten Rekurrenz / oder asymptomatischen Virusausscheidung, wobei das HSV-1 oder HSV- 2 auf Haut oder Schleimhaut labortechnisch nachgewiesen werden kann. Dabei sind die Haut und die Schleimhäute makroskopisch intakt, allenfalls lassen sich minimale Erosionen - beispielsweise im Bereich der Zervix uteri - kolposkopisch nachweisen [11]. Zeigt sich jedoch ein mehr oder weniger ausgeprägtes aber typisches klinisches Bild einer Herpes simplex Infektion spricht man von einer Rekrudeszenz [9].

Im klinischen Verlauf unterscheiden sich Primärinfektion und rezidivierende Herpesinfektion darin dass das letztere meist eine geringere Ausdehnung der Haut- und Schleimhautläsionen zur Folge hat und schneller abheilt [12].

1.6.1 Herpes genitalis – Primärinfektion

Die Inkubationsperiode beträgt bei einer Primärinfektion ca. 2-12 Tage (im Mittel sechs Tage) [17]. Bei einem symptomatischem Verlauf kommt es danach zu starken Schmerzen und dem Auftreten meist gruppiert angeordneter kleiner Bläschen auf geröteter Haut oder Schleimhaut, die rasch aufbrechen und in Erosionen oder Ulzerationen übergehen. Kleine, isoliert stehende Erosionen finden sich neben konfluireneden, größeren, gelblich belegten Läsionen. Größe, Morphologie und Ausbreitung der Veränderungen zeigen eine große interindividuelle Variabilität [11]. Beim Mann sind die Läsionen meist an der Glans penis, am Präputium oder am Penisschaft zu finden (Herpetische Balanoposthitis), seltener finden sich auch Manifestationen gluteal, perineal, anal (Herpetische Proktitis) oder an den Oberschenkeln [5,15]. Bei der Frau bestehen neben den meist symmetrischen Läsionen an der Vulva auch Herde perineal, vaginal (Herpetische Vulvovaginitis) und in bis zu 80% der Fälle auch Zervikal (Herpetische Zervizitis) [5]. Die Herpeszervizitis kann mit ausgeprägten Ulzerationen und einer eitrigen Sekretion einhergehen. Fast immer sind die regionalen Lymphknoten vergrößert, derb und ausgesprochen druckdolent. Fie-

ber, Abgeschlagenheit und an einen grippalen Infekt erinnernde Allgemeinsymptome mit Kopfschmerz und Bauchschmerzen sind in etwa 70% der Erstepisoden bei Frauen vorhanden, seltener bei Männern. Diese systemischen Zeichen treten früh im Krankheitsverlauf auf und erreichen innerhalb 3-4 Tagen ihr Maximum und bilden sich nach ca. Weiteren 3-4 Tagen zurück. Die lokalen Schmerzen und eine begleitende Dysurie können zu Miktionsbeschwerden führen. Die Dauer der herpetischen Primärinfektion kann 2-3 Wochen dauern, wobei die Virusausscheidung durchschnittlich während 11 Tagen erfolgt, was mit der Dauer bis zur Krustenbildung korreliert. Anhand des Krankheitsverlaufes kann nicht zwischen einer Infektion mit HSV-1 oder mit HSV-2 nicht unterschieden werden. Der Schweregrad der genitalen Primärinfektion scheint aber mit der Häufigkeit der nachfolgenden Rezidive zu korrelieren [11].

1.6.2 Herpes genitalis – Rezidiv

Eine wiederkehrende Erkrankung mit dem Herpes-Simplex-Virus ist definiert als: „Eine chronische, intermittierende Erkrankung, charakterisiert durch sowohl klinisch manifeste wie auch subklinische Episoden einer produktiven viralen Infektion“[32]. Denn bei einer Reaktivierung entsteht entweder eine asymptomatische Virusausscheidung (Rekurrenz) oder ein klinisch manifestes Rezidiv (Rekrudeszenz). Die Arbeiten aus der Arbeitsgruppe um A. Wald und L. Corey zeigen, dass auch in asymptomatischen Episoden bei bis zu 55% der infizierten Frauen im Anogenitaltrakt ein HSV virologisch nachgeweisen werden kann. Die asymptomatische Virusausscheidung findet dabei zur Hälfe in den ersten 7 Tagen nach einem klinischen Rezidiv statt und kann aber auch vorher oder vollständig unabhängig davon vorkommen [33-34]. Etwa die Hälfte aller HSV-2-infizierter Frauen zeigt eine asymptomatische Virusausscheidung nach Primärinfektion, die dabei etwa an 1-2% der Tage stattfindet und zwar nicht nur am Ort der Primärinfektion selbst, sondern auch zervikal, perianal und rektal [11,35]. P. Leone spricht sogar von einer asymptomatischen Virusausscheidung an 20-40% der Tagen in den ersten 6 Monaten nach Infektion und bei länger bestehender Infektion an 5-20% der Tage [36]. So können Betroffene, die ihrer Infektion nicht bewusst sind - auch ohne sichtbare Läsionen zum Beispiel im Bereich der Zervix, Urethra und oral - Herpesviren ausscheiden und auf ihre Sexualpartner übertragen. Eine Übertragung des Virus während der asymptomatischen Ausscheidung spielt eine zentrale Rolle für die Verbreitung des Virus. Sie scheint sogar die häufigste Form der Infektionsübertragung auf den Sexualpartner sein, und dürfte nach neuen Schätzungen für bis zu 70% der Neuinfektionen verantwortlich zu sein. Denn die Rekurrenz tritt häufiger als die Rekrudeszenz (manifestes Rezidiv) auf. Rezidive sind bei manchen Menschen häufig, bei anderen selten; bei der Hälfte der

Virusträger treten keinerlei Rezidive auf [17]. Beim rezidivierenden Herpes genitalis entsteht nach einem wenige Stunden dauerndem Prodromalstadium mit Schmerzen und Brennen im betroffenen Gebiet (Nervenversorgung) die typischen Herpesbläschen mit klarem Inhalt, die sich meist innerhalb von zwei Tagen in verkrustete Ulzera umwandeln und im allgemeinen innerhalb von 7-10 Tagen abheilen [9]. Ein wichtiger Grund für die Tatsache, dass Rezidive sowohl vom Patienten als auch vom Arzt oft nicht als herpetisch bedingt erkannt werden, sind die häufigen atypischen klinischen Präsentationen. Insbesondere bei kleinen Fissuren, lokalisierten Erythemen, kleinsten Erosionen, Pusteln und rezidivierenden unklaren Schmerzen im Genital- oder Lumbalbereich sowie bei einer unklaren rezidivierenden Urethritis muss an die Möglichkeit von atypischen HSV- Manifestationen gedacht werden. Auch isolierte genitale Ulzera sind in der westlichen Welt ebenfalls häufig durch HSV bedingt [11].

1.6.3 Folgen und Komplikationen eines Herpes genitalis

Im Rahmen von Primärinfektionen mit HSV-1 oder HSV-2 kann es zu einer ZNS-Beteiligung kommen. Meningitis, Enzephalitis und auch eine Kombination als Meninigoenzephalitis wird beobachtet. Die zentralnervösen Erkrankungen können jedoch auch bei Reiziden auftreten [5], sind dann insgesamt aber seltener und eher unwahrscheinlich [11]. Eine Herpes-Enzephalitis wird zumeist durch das HSV-1 hervorgerufen [9]. Die Anzeichen sind Fieber, Kopfschmerzen Verhaltensauffälligkeiten und Krämpfe [15]. Unbehandelt führt sie in ca. 70% der Fälle zum Tod. Patienten, die eine Herpes-Enzephalitis überstanden haben kehren nur selten zu ihrer normalen Funktion zurück [37-38]. Eine Herpes-Meningitis wird dagegen durch das HSV-2 ausgelöst [9]. Anzeichen sind Fieber, Nackensteifigkeit, Kopfschmerzen, Photophobie und eine Pleozytose im Liquor. Sie tritt bei 36% der betroffenen Frauen und 13% der Männer auf, und zeigt meist einen milden und gutartigen Verlauf [11]. Schwere Komplikationen bei einer meningealen Beteiligung sind eine Polyradikulomyelopathie, eine aszendierende Myelitis und eine rekurrente Meningitis [5]. Generell kann man sagen, dass Komplikationen genitaler Herpes-Simplex-Infektionen bei Frauen häufiger zu beobachten sind als bei Männern. Als lokale Komplikation kann bei über 10% der betroffenen Frauen eine Superinfektion mit Candida beobachtet werden. [11]. Eine kutane Dissemination mit dem Auftreten herpetischer Läsionen an extragenitalen Körperstellen kann - bei HSV-2 - in etwa knapp 10% der Fälle von immunkompetenten Patienten gefunden werden. Meist sind das Gesäß, die Leistengegend, der Oberschenkel und seltener Finger betroffen. Die Verteilung dieser extragenitalen Läsionen deutet eher auf eine Autoinokulation als auf eine virämische Ausbreitung hin [11].

Bei immunsupprimierten Patienten, Früh- und Neugeborenen (Herpes neonatorum) [9], sowie Schwangeren kann es vereinzelt auch zu einer generalisierten Herpesinfektion und einer systemischer Dissemination mit z.B. Ösophagitis, Retinitis, Pneumonie und Hepatitis kommen [11]. Diese disseminierten viszeralen Infektionen weisen eine sehr hohe Letalität auf und erfordern eine unverzügliche intensive Therapie. Bei immunsupprimierten Patienten treten HSV-Erkrankungen häufig mit atypischer Klinik in Erscheinung. So kann es zu hämorrhagischen und nekrotisierenden Verläufen, teilweise mit Mutilationen kommen. Die sonst für HSV-Infektionen charakteristischen morphologischen Gegebenheiten sind häufig nicht zu erkennen. Oft kommt es zu Sekundärinfektionen mit starker Ausbreitung, Therapieresistenz sowie einer Rezidivfreudigkeit [5].
Bei Patienten mit einem Herpes simplex recidivans kann 5-14 Tage später gelegentlich ein Erythema exsudativum multiforme (EEM) auftreten. Begleitend können Fieber und allgemeines Krankheitsgefühl mit Schleimhautbeteiligung des Mundes, des Genitale und der Konjunktiven erscheinen [5,11]. Bei häufigen Rezidiven an der gleichen Stelle kann sich nach längerer Zeit eine Störung der Sensibilität infolge des Ausfalls von Neuronen ergeben [17]. Obwohl vereinzelte Studien einen Zusammenhang von HSV-2 mit dem Auftreten genitaler Karzinome bei Frauen und Männern postulieren, fehlen bis heute eindeutige Beweise für eine kausale Rolle von HSV-2 bei der Entstehung dieser Tumoren [11].

1.6.3.1 Herpes neonatorum

Beim Herpes neonatorum handelt es sich um eine Primärinfektion mit HSV bei Neugeborenen. Bei Frühgeborenen sind die Inzidenz und der Schweregrad deutlich erhöht. Zwei Drittel der infizierten Säuglinge entwickeln nach einer Inkubationszeit von 2-6 Tagen oder später einen kutanen Herpes simplex, eine Gingivostomatitis oder eine Keratokonjunktivitis. Ein Drittel bleibt hauterscheinungsfrei. Bei 75% der Neugeborenen mit Hautbefall kommt es zu einer Virämie mit Fieber, Hypothermie, Unruhe, Lethargie und Appetitlosigkeit. Teilweise kommen eine Dyspnoe, eine Leber- und Milzschwellung sowie zerebrale Symptome dazu [11]. Es ist eine der schwerwiegendsten und am meisten gefürchteten Komplikationen der Herpes-Simplex-Viren [11]. Infektionsquelle ist dabei meist der Geburtskanal, wenn bei der Mutter zum Zeitpunkt der Geburt eine HSV Infektion abläuft. Das Risiko für das Neugeborene beträgt bei einer Primärinfektion der Mutter 40%, und bei einer Reaktivierung 2-5% [9]. Bei Rezidiven liegt also das Risiko, an den Folgen einer generalisierten Herpesinfektion zu erkranken für den Säugling bedeutend niedriger, da maternale Antikörper eine Virämie unterbinden können. Diese Antikörper schützen je-

doch nicht vor der neuronalen Ausbreitung des Virus, womit für das Neugeborenen eine ernst zunehmende Bedrohung in Form einer Enzephalitis mit schwersten Folgen entstehen kann. Bei Verdacht ist unverzüglich eine Therapie einzuleiten. Pränatale Infektionen des Feten oder nosokomiale Übertragung des Virus auf das Neugeborenen sind selten, jedoch prinzipiell möglich. Deshalb empfiehlt sich oft ein Kaiserschnitt, wenn präpartal eine Herpes genitalis-Infektion erkannt wird. Die klinische Symptomatik des Herpes neonatorum reicht von der leichten lokalen Infektion bis zu tödlichen Verlaufsformen. Bei Infektionen bis zur 7. Lebenswoche liegt die Letalität bei 65% sofern das ZNS oder innere Organe betroffen sind [13].

1.6.3.2 Psychologische Problematik

Die Erstdiagnose einer Infektion mit Herpes genitalis ist für betroffene Patienten oft mit beträchtlichem Leiden verbunden. Bei häufig wiederkehrenden symptomatische Ausbrüchen verbunden mit Schmerzzuständen ist der Leidensdruck besonders hoch. Aber auch Patienten die keine besonders häufigen Rezidive erleiden, haben Probleme mit der Diagnose. Der Herpes genitalis wirft bei den Betroffenen viele Fragen bezüglich ihrer zukünftigen Lebensführung auf. Unsicherheit, Zweifel und Ängste betreffen die Bereiche Partnerschaft, Familie, Freunde, Spontaneität, Ansteckung, erektile Dysfunktionen, Begierde sowie auch mögliche gesundheitlichen Folgen und Komplikationen einer HSV Infektion [39]. Mehr als 50% berichten über Angstzustände und ein sechstel der Patienten ist depressiv verstimmt. Bei denjenigen, die nicht von wiederholten Rezidiven geplagt sind, lösen sich die Stimmungsprobleme oft innerhalb der ersten 6 Monate nach der Primärinfektion oder der Erstdiagnose. Die Patienten, die unter wiederkehrenden Infektionen leiden, tendieren eher dazu längerfristig unter Angstzuständen zu leiden. Depressionen können als Antwort auf die Infektion per se auftreten, vor allem wenn die Diagnose nach vorausgegangenen Beziehungsproblemen gestellt worden ist. Manche Patienten bringen aber schon eine Depression in der Vorgeschichte mit sich. Ob die Depression als Reaktion auf die Erkrankung entstand, oder ob deren Reaktion durch die vorhergehenden Depressionen beeinflusst wird, bleibt oft unklar. In manchen Fällen spielen beide Faktoren eine Rolle [40].

1.6.4 Herpes genitalis unter einer Immunsupression (HIV)

Nicht heilende, großflächige Herpesläsionen waren eine der ersten Manifestationen der oppurtunistischen Infektionen bei AIDS [41]. Laut einer Arbeit von Wutzler et al. waren in einer HIV-infizierten Population 91,1% mit HSV-1 und 47,9% mit HSV-2 infiziert [27]. Weil das HSV genitale Ulzera verursacht, führt die Verletzung der Hautbarriere und –integrität, sowie das Anloc-

ken von CD4 Zellen zur Stelle der epithelialen Infektion zu einem erhöhten Infektionsrisiko mit dem HIV. Zum zweiten bringt ein aktives Sexualleben mit ungeschütztem Geschlechtsverkehr eine erhöhte Wahrscheinlichkeit der Akquisition von HSV und HIV per se mit sich. Das HIV wurde gefunden in genitalen Ulzera sowohl bei Männern mit rekurrierenden HSV-2 Infektionen sowie in genitalen Sekreten von Frauen die mit HIV und HSV-2 infiziert waren. Dabei war die HIV Quantität oft weitaus höher als im Plasma was zur Annahme führte, dass die lokale HIV Vermehrung während einer HSV-2 Reaktivation in der Mukosa erhöht ist. Die HSV Proteine transaktivieren die HIV Replikation in Lymphozyten und Makrophagen. Aber auch Zytokine aus HSV infizierten Zellen und durch Virusantigene aktivierte T-Zellen stimulieren die HIV Expression. HIV und HSV können sowohl CD4 Zellen wie auch Makrophagen infizieren. Das HIV und HSV können auch ko-infizieren und zeitgleich in einer Zelle replizieren. Eine HSV Infektion kann außerdem den Zelltropismus verändern und somit dem HIV erlauben eine Zelle zu infizieren, die es sonst nicht infizieren könnte. Auf diese Weise kann das HSV den Verlauf einer HIV Infektion negativ beeinflussen. Auf der anderen Seite zeigen Personen mit einer HIV und HSV-2 Infektion eine erhöhte Rate an HSV-2 Reaktivationen (verglichen mit Personen die nur mit dem HSV-2 infiziert sind), und sind somit wahrscheinlich mehr ansteckend, als Personen ohne eine HIV Infektion [41]. Augenbraun et al. Isolierte das HSV in der genitalen Region bei 13,2% der Frauen die sowohl für das HIV- wie auch HSV-2 seropositiv waren, im Vergleich zu nur 3,6% bei Frauen die HIV-negativ waren und das HSV-2 hatten [42]. Patterson et al. zeigten sogar, dass bei 30,8% der aller HIV-positiver Mütter zu Zeitpunkt der Entbindung HSV-2 im Abstrich des Geburtskanals nachgewiesen werden kann. Im Vergleich dazu hatten HIV-negative Mütter nur zu 9,5% der Fälle eine HSV-2 Ausscheidung während der Entbindung [43]. Somit haben Patienten die mit HIV und HSV-2 infiziert sind, höhere Raten einer genitalen HSV-2 (und HSV-1) Ausscheidung und sind für beide Infektionen erhöht ansteckend [41].

1.7 Virulenz und Transmission von HSV

Die Virulenz und die Kontagiosität des HSV sind nicht sehr hoch. Herpes-Simplex-Viren sind in der Außenwelt relativ instabil, werden rasch durch Austrocknung, Lichteinfluss sowie durch desinfizierende und sterilisierende Maßnahmen inaktiviert. Durch ihre Lipidhülle sind sie besonders ätherempfindlich [2,11,17]. Deshalb wird das Virus meist durch direkten Kontakt also Schmierinfektion von Mensch zu Mensch und durch Gewebssekretion wie beim Geschlechtsverkehr übertragen [21]. Nebst der Übertragung der Viren durch sexuellen Kontakt ist auch eine Autoinokulation von HSV aus bestehenden Läsionen an andere Lokalisationen möglich. Besonders

infektiös sind mit Viruspartikeln angefüllte Bläschen. Auch aus Ulzera beziehungsweise Erosionen wird viel Virus freigesetzt und selbst im Krustenstadium lässt sich noch Virus kulturell nachweisen. Über Gegenstände wird die Infektion wegen der Labilität des Virus nur selten übertragen. Im Einzelfall ist dies jedoch möglich. Eintrittspforten sind die Schleimhaut und kleine Verletzungen der verhornten äußeren Haut, die oft mit bloßem Auge nicht erkennbar sind. Die Menge des übertragenen Virus, Eintrittspforte und Immunstatus des Betroffenen sind entscheidend für die Dauer der Inkubationszeit und die Schwere der Nachfolgenden Erkrankung [11,15]. Obwohl Kondombenutzer unabhängig vom Geschlecht ein ca. 30% niedrigeres Risiko haben sich mit HSV-2 anzustecken, bietet diese Verhütungsmethode einen nicht ganz so großen Schutz wie bei anderen sexuell übertragbaren Erkrankungen [44], da allein enger Körperkontakt zur Infektion mit HSV ausreicht [14-15,22,35].

1.7.1 Risikogruppen

Besonders bedeutsam ist die Anzahl der Sexualpartner. Das Übertragungsrisiko bei sog. diskordanten Sexualpartnern beträgt etwa 12% im Verlauf eines Jahres. Bei über 50 Partnern lebenslang weisen 70% der Männer, 80% der Frauen und über 90% der homosexuellen Männer Antikörper gegen HSV-2 auf [11]. Junge Erwachsene und Jugendliche haben durch häufigen Wechsel der Sexualpartner, ungeschützten Geschlechtsverkehr sowie Partnerwahl aus der gleichen Risikogruppe ein erhöhtes Risiko für die Ansteckung mit Herpes genitalis [45].
Die relative Zunahme genitaler HSV-1 Infektionen in den letzten Jahren wird unter anderem auf veränderte Sexualpraktiken, insbesondere eine Zunahme orogenitaler Kontakte zurückgeführt [11]. Einige Seroprävalenzstudien unterschiedlicher Kollektive [11,28] identifizierten Risikofaktoren für die Akquisition eines Herpes genitalis. Zusammen genommen sind dies:

- Fehlende Antikörper gegen HSV-1.
- Hohe Anzahl der Sexualpartner.
- Homosexualität bei Männern.
- Weibliches Geschlecht.
- Niedriger Sozioökonomischer Status.
- Dunkelhäutige Bevölkerung.
- Generell Inmmunsuppression.
- Anwendungen einer Intimdusche.
- Rauchen.
- Geschlechtsverkehr mit nicht beschnittenen Männern.
- Bakterielle vaginale Infektionen.
- Andere sexuell übertragbare Erkrankungen in der Anamnese.

1.8 Diagnosestellung

Es ist schwierig, die Diagnose eines Herpes genitalis immer allein auf Grund des klinischen Erscheinungsbildes zu stellen. Nur ein geringer Teil der Patienten zeigt ein typisches Bild mit schmerzhaften gruppiert stehenden Bläschen oder Ulzerationen. Viele Patienten zeigen auch atypische Läsionen wie Abrasionen, Fissuren oder berichten über Stechen und Juckreiz ohne typische Läsionen. Umgekehrt haben bis zu 20% der Frauen, die aus einer Risikogruppe kommen und klinische Symptome zeigen, die zu einem Herpes genitalis passen tatsächlich keine genitale HSV Infektion [46]. Die Spezifität und Sensitivität einer klinischen Diagnose ist unannehmbar gering (im besten Fall 39% Sensitivität mit 20% falsch negativer Diagnosen). Deshalb sollte eine klinische Diagnose eines Herpes genitalis optimalerweise durch ein Labor Test bestätigt werden [20]. Darüber hinaus ist die Bestimmung des HSV–Typs von prognostischer Relevanz für den betroffenen Patienten, da bei genitalen Infektionen mit HSV-1 weniger häufig Rezidive zu erwarten sind als mit HSV-2 [35].

1.8.1 Viruskultur, Antigentests, Serologie, EM und PCR

Als diagnostischer Goldstandart gilt traditionell die Viruskultur. Der Vorteil ist deren relativ hohe Spezifität sowie die Möglichkeit, das Virus zu typisieren. Die dabei typischen zytopathologischen Effekte treten ca. 2-3 Tage nach der Inokulation auf. Bei typischer Klinik mit frischen Bläschen und einer Erstinfektion kann das Virus in 80-90% der Fälle nachgewiesen werden. Die Sensitivität sinkt jedoch bei Ulzerationen und verkrusteten Läsionen [11,20]. Deshalb, kann die Viruskultur eine falsch-negativ Rate von bis zu 25% haben. Bei Rezidiven beträgt die Rate der Virusisolation sogar weniger als 50% [26].

Der Immunfluoreszenztest ist ein Antigentest und steht zum Nachweis von HSV Antigenen in Abstrichen, Gewebeproben oder Kulturmaterial zu Verfügung. Die Sensitivität dieser Methode beträgt im Vergleich zur positiven Viruskultur ca. 70-90% [20].

Einen weiteren Test stellt die DNA Hybridisierung dar. Der Nachweis mittels Hybridisierung entspricht in etwa der Sensitivität der Antigennachweise [15,20].

Die serologischen Tests zum Nachweis von IgM oder IgG Antikörpern gegen HSV beinhalten ELISA, Komplementfixierung und Western Blot. Zur Diagnostik akuter Infektionen ist die Serologie nicht immer geeignet weil der Zeitraum für die Serokonversion durchschnittlich 22 Tage beträgt und Antikörper bei primär infizierten Patienten im Akutstadium fehlen. Bis zu 20% der Neuinfektionen sind auch nach 3 Monaten seronegativ, vor allem wenn der Patient vorher eine

antiretrovirale Chemotherapie bekommen hat. Da zahlreiche Patienten bereits Antikörper aufweisen (z.B. Bei bekanntem Herpes labialis) ist der Nachweis typenspezifischer Antikörper G1 (HSV-1) oder G2 (HSV-2) sinnvoll und mittels ELISA möglich, routinemäßig aber noch nicht etabliert. Hat eine Serokonversion stattgefunden so kann meistens 2-12 Wochen nach einer Primärinfektion ein vierfacher Titeranstieg der AK beobachtet werden. Die AK bleiben ein Leben lang. Rekurrierende Episoden sind selten mit einem Titeranstieg assoziiert. Die Serologie ist diagnostisch hilfreich bei atypischen wiederkehrenden Läsionen oder Ulzera, in Fällen mit negativer Viruskultur sowie zur Bewertung von Sexualpartnern [11,20].

Die Elektronenmikroskopie kann nicht zwischen den einzelnen Herpesviren unterscheiden [5], bietet jedoch bei diagnostisch schwierigen Fällen (v.a. bei disseminierten Läsionen) an größeren Zentren eine wertvolle diagnostische Möglichkeit mit Resultaterhalt innerhalb 1 Stunde. Dafür können aus einem Bläschenflüssigkeitsausstrich die Viren nach Kontrastierung als helle sphärische Partikel über dem elektronendichten Hintergrund nachgewiesen werden [11]. Ein Elektronenmikroskop ist außer in großen Forschungszentren in der Regel schwer verfügbar und stellt keine Routinemethode dar.

Der molekularbiologische Nachweis virusspezifischer DNA-Sequenzen aus der Cerebrospinalflüssigkeit erfolgt standardmäßig mittels der Polymerasen-Ketten-Reaktion (PCR). Die PCR ist der Goldstandard [38] und das Mittel der Wahl bei der Diagnose der Herpes-Enzephalitis [11]. Durch den hohen Kosten- und Zeitaufwand [5] stellte die PCR –Methode lange Zeit keine Routineuntersuchung zur Diagnose einer HSV-Infektion dar. So war eine Untersuchung mittels PCR früher bestimmten Fällen wie z.B. bei atypischen Läsionen oder älteren verkrusteten Herden vorbehalten. In diversen Studien wurde jedoch eine 1,5-4 mal höhere Sensitivität der PCR gegenüber der Viruskultur erwiesen. Auch sind die Materialproben stabiler und leichter zu gewinnen als die für die Viruskultur [46-47]. In den letzten Jahren kommt die PCR-Methode auf Grund ihrer sehr hohen Sensitivität somit immer mehr zum routinemäßigen Einsatz. So steht die PCR heutzutage in ca. 2/3 von 16 untersuchten osteuropäischen Ländern für die Diagnostik des Herpes genitalis zur Verfügung [47].

1.9 Therapie – Nukleosidanaloga

Seit der Einführung von Aciclovir (80er Jahre) waren orale Virostatika die Hauptpfeiler der Therapie von HSV Infektionen [48]. Aciclovir ist ein 2`-Deoxyguanosin-Anologon und zeigt in vitro eine antiretrovirale Aktivität gegen das HSV [49]. Um wirksam zu werden, muss das Aciclovir

von dem virusspezifischen Enzym Thymidinkinase zum Aciclovir Monophosphat phosphoryliert werden [50]. Wirtseigene zelluläre Enzyme phosphorylieren die Verbindung weiter zu der aktiven Form Aciclovir Triphosphat [51]. Das fertige Produkt inaktiviert die viralen DNA Polymerasen, was zu einer kompletten und irreversiblen Hemmung der weiteren viralen DNA Synthese führt [52-53] ohne dabei die Wirtszellen ausgeprägt zu schädigen [5]. Die Behandlung der genitale HSV Infektionen kann in verschiedene Regiments unterteilt werden, je nach Krankheitshäufigkeit und Verlauf der Infektion, also dem jeweiligen Patienten angepasst [48]:

1) Möglich ist eine episodische Behandlung, wo bei beginnenden Symptomen das Medikament oral, intravenös oder topisch über mehrere Tage eingenommen wird, was die Dauer des Ausbruchs verkürzen und die Symptome lindern kann. Diese Form der Therapie behandelt einen bestimmten Ausbruch und eignet sich bei Patienten mit einer Erstepisode, oder seltenen und unregelmäßigen milden Verläufen [48].
2) Eine weitere Therapieform ist die intermittierende Suppressionstherapie, bei dieser der Patient über einen relativ kurzen und absehbaren Zeitraum das Virostatikum (meist oral) einnimmt, um unter bestimmten veränderten Bedingungen neue Ausbrüche zu vermeiden (z.B. Urlaub) [48].
3) Für Patienten die regelmäßige rekurrierende Infekte haben, kann die Suppressionstherapie eine Option sein. Dabei wird täglich eine gewisse Dosis oral über einen längeren Zeitraum von Monaten oder Jahren eingenommen. Sie soll die Anzahl der Ausbrüche verringern, bzw. den Abstand zwischen ihnen verlängern [48].

Eine Indikation zur topischen Therapie mit einer Aciclovir Creme (meist 5%) stellt sich heute wenn überhaupt nur im sehr frühen Stadium eines nicht-primären Infektes [5], weil dieser meist weniger ausgedehnt verläuft verglichen mit einer primäre Episode [54]. Eine intravenöse Gabe von Aciclovir erreicht hohe Blutspiegel und ist indiziert bei einem ernsthaftem Verlauf, einer disseminierten Infektion [50], bei einer Primärinfektion [55] oder bei immunsupprimierten Patienten und Neugeborenen [5]. Das orale Aciclovir ist ein wirksames Mittel der Wahl bei akuten und schwer verlaufenden HSV Infektionen (Erstepisode und Rezidiv) [56], zur längerfristigen Suppressionstherapie der wiederkehrenden Infektionen [57] wie auch zur Minderung der asymptomatischen Virusausscheidung [58].
Als Nebenwirkungen von Aciclovir werden selten oder gelegentlich bei oraler und intravenöser Gabe Übelkeit, Durchfall und Kopfschmerz beschrieben [50]. Ebenfalls zu beachten sind die seltener auftretenden Nebenwirkungen: Hepatotoxizität und Knochenmarksdepression einhergehend mit Anämie, Leukozytopenie und Thrombozytopenie [5]. Eine sehr ernstzunehmende, und nicht seltene Nebenwirkung des Aciclovirs ist dessen Nephrotoxizität. Intravenöse Aciclovir-

Infusionen können, vor allem wenn rasch verabreicht, binnen weniger Stunden ein akutes Nierenversagen hervorrufen [59]. Aufgrund der Nephrotoxizität von Aciclovir ist eine Dosisanpassung an die Kreatininclearance zu beachten [5]. Die jedoch geringe orale Bioverfügbarkeit des Aciclovir´s von nur ca. 15-20% fordert eine häufigere und regelmäßige Einnahme [50] sowie eine gute Patientencompliance, was Mitte der 1990-er Jahre zur Entwicklung von neuen und immer gängigen Wirkstoffen mit verbesserter Bioverfügbarkeit wie Famciclovir oder Valaciclovir geführt hat [3].

Das Valaciclovir ist das L-Valyl Ester und ein Prodrug von Aciclovir. Nach Einnahme wird es zu über 99% zum Aciclovir umgewandelt. Der weitere Metabolismus und die Wirkweise entsprechen dem von Aciclovir. Die orale Bioverfügbarkeit ist jedoch deutlich besser und 3-5 mal höher als beim Aciclovir was eine weniger häufige Dosierung ermöglicht [50,60]. Auch das Valaciclovir ist geeignet für eine initiale und episodische Behandlung sowie zur längerfristigen Suppression von Herpes genitalis und zeigt eine vergleichbare Effektivität bezüglich Schmerzsymptomatik, Verkrustung und Abheilung [61-62]. Die Nebenwirkungen bzw. Risiken sind deshalb ähnlich wie beim Aciclovir [50]. Das Valaciclovir ist jedoch nach wie vor deutlich teurer als das Aciclovir. In einer klinischen Studie um die Arbeitsgruppe von A. Wald, 2006 et.al zeigte Valaciclovir jedoch im Vergleich zum weiter unten aufgeführten Famciclovir den virologischen Vorteil einer Reduktion der Gesamtzahl der Tage mit einer asymptomatischen Virusausscheidung [63]. Neuste Untersuchungen bezüglich der Effektivität einer Dauertherapie mit Aciclovir und Valaciclovir von Johnston et al. aus dem Jahr 20012 zeigen im direkten Standarddosis-Vergleich eine bessere Effektivität für das Valaciclovir bezüglich der Rezidivprophylaxe. Betreffend die Dauer eines Rezidivs war das Valaciclovir als Standarddosis sogar dem hochdosierten Aciclovir gleicheffektiv. Bei der Ausscheidung der Viruslast in asymptomatischen Phasen zeigte eine hochdosierte Valaciclovirtherapie eine bessere Effektivität als Aciclovir und als die Valaciclovir-Standarddosis [64].Das Valaciclovir reduziert somit signifikant effektiver das Risiko einer Virusübertragung bei heterosexuellen und HSV-2 diskordanten Paaren [34].

Das Penciclovir ist auch ein acyclisches Nukleosidanalogon das in vitro eine antiretrovirale Aktivität gegen das HSV zeigt. Es muss wie das Aciclovir von einer Thymidinkinase und anderen zellulären Kinasen phosphoryliert werden, bevor es seine kompetetive Hemmung auf die virale DNA Polymerase entwickelt. Wegen der sehr geringen oralen Bioverfügbarkeit kann es nur äußerlich angewendet werden [50]. Bezüglich einer topischen Anwendung zeigte eine klinische Studie der Phase II um die Arbeitsgruppe von Chen et al., dass eine Penciclovir Creme 1% im Vergleich zur Aciclovir 5% Creme bei Patienten mit einem rekurrierenden Herpes genitalis die

gleiche Effektivität und Verträglichkeit zeigt [65]. Der Wirkstoff Penciclovir ist aktuell zur Behandlung eines orofazialen Herpes Simplex zugelassen (Rote Liste 2013).

Das Famciclovir ist ein Prodrug von Penciclovir, hat aber eine wesentlich höhere orale Bioverfügbarkeit von bis zu 77% [50]. Die exzellente Bioverfügbarkeit sichert eine adäquate Anflutung in virusinfizierten Zellen, und die verlängerte Halbwertszeit der aktiven Form von Famciclovir (Penciclovir) resultiert in einer persistenten antiviralen Aktivität [66]. So belegen klinische Studien, dass eine orale Dosierung von 2 mal täglich die gleiche Effektivität besitzt wie eine 5-mal tägliche Verabreichung von oralem Aciclovir bei der episodischen Therapie von rekurrierendem Genitalherpes [67]; und eine eintägige Therapie mit Famciclovir (2mal täglich) die gleiche Effektivität und Sicherheit mit sich bringt wie eine fünftägige Therapie mit dem Valaciclovir [68-69]. Auch in der prophylaktischen Suppressionstherapie zeigt das Famciclovir seine gewünschte Wirkung [70]. In Deutschland ist das Famciclovir in oraler Applikation zur Behandlung primärer und rekurrierender Herpes genitalis Erkrankungen zugelassen (Rote Liste 2013).

1.9.1 Medikamentenresistenzen

Eine virale Resistenz gegenüber Aciclovir ist noch kein signifikantes Problem in der klinischen Praxis, bereitet aber angesichts der steigenden Anwendung der Nukleosidanaloga zunehmend Besorgnis. Die Mehrheit dieser Fälle betrifft immunsupprimierte Patienten, meist AIDS- Kranke [50]. Die Rate beträgt 3,6-10,9% [71]. Alle aciclovirresistenten Stämme sind gegen das Valaciclovir, und die meisten auch gegen das Famciclovir resistent [20]. Eine Resistenz resultiert aus der mangelnden intrazellulären Phosphorylierung dieser Wirkstoffe die aber für die Aktivierung der Nukleosidanaloga benötigt wird [72]. Phenotypische und genotypische Untersuchungen aciclovirreistenter HSV Stämme der Arbeitsgruppe um A. Sauerbrei et al. zeigten bisher nicht eindeutig, ob die Mutationen der Thymidinkinase oder des DNA Genpools ein Teil des viralen genetischen Polymorphismus sind, oder die Ursache einer Medikamentenresistenz. Weitere Untersuchungen wie z.B. ortspezifische Mutagenese-Experimente wären nötig um diese Fragen zu beantworten [73]. In einem Fallbeispiel beschrieben von Kriesel et al. wird berichtet dass eine Aciclovirresistenz sich sehr wohl während einer Therapie entwickeln kann und dass sowohl Aciclovir-empfindliche als auch Aciclovir-resistente Stämme auf die Intimpartner übertragen werden, eine Latenz entwickeln und wiederholt Rezidivausbrüche hervorrufen können [74].

Der Wirkstoff Foscarnet erwies sich häufig effektiv in der Behandlung aciclovirresistenter Stämme. Es ist gegen Thymidinkinase-negative Stämme wirkungsvoll, weil es anders als die üblichen Antiherpetika nicht einer intrazellulären Aktivierung und einer Phosphorylierung durch die virale Thymidinkinase bedarf. Foscarnet ist ein organisches Analogon eines anorganischen Pyrophosphats, welches durch eine Blockade der Pyrophosphat-Bindungsstelle die virale DNA Polymerase hemmt. Dieser Vorgang verhindert somit die Spaltung des Pyrophosphats vom Nukleotidtriphosphat was wiederum die Ausweitung der Primer-Matrize hemmt. Eine Resistenz gegenüber dem Foscarnet ist aber auch möglich und ergibt sich aus einer Mutation der viralen DNA Polymerase die trotz der Anwesenheit des Wirkstoffes eine virale Replikation erlaubt [72]. In Deutschland ist Foscarnet als Infusionslösung zur Behandlung von lebens- oder augenlichtbedrohenden Herpesinfektionen mit dem Cytomegalievirus und acyclovirresistenten mukokutanen HSV Infektionen zugelassen. Als Antiviralcreme ist Foscarnet zudem zugelassen zur Therapie von Orofazialherpes (Rote Liste 2013).

2 Arbeitshypothese und Zielsetzung dieser Arbeit

Die Intaktheit der Zellmembranen und der damit zusammenhängenden Proteine stellen eine Voraussetzung für den Eintritt in die Wirtszelle und die Ausbreitung des HSV entlang der Wirtszelle dar. Nach der Adhäsion des Virus an zelluläre Rezeptormoleküle der Wirtszelle erfolgt die Penetration mithilfe spezieller Mikrodomänen der Zellmembran [75]. Dabei dringen umhüllte Viren wie das HSV in die Wirteszelle ein durch Fusion mit der Plasmamembran, und verlassen diese durch das Knospen (*engl.* budding). Wenn die Viren die Wirtszelle betreten oder verlassen, wird die Lipid-Doppelschicht der Plasmamembran gebrochen oder neu geordnet [75]. Funktionelle Einheiten der Lipidhülle von umhüllten Viren und von Plasmamembranen menschlicher und tierischer Zellen sind die sog. Lipid Rafts. Deren wichtigster Bestandteil ist das Cholesterin. Deshalb ist das Cholesterin indirekt für den Befall der Wirtszelle und / oder die Ausbreitung des Virus im Zellverband unverzichtbar [76-77].

2.1 Lipid Rafts und das Cholesterin

Die dreidimensionale Organisation von Plasmamembranen besteht aus einer selektiven Interaktion zwischen den Lipidmembranen und Proteinen, und resultiert in einer physikalischen und funktionellen Kompartmentbildung in dynamische Untereinheiten, die Mikrodomänen genannt werden. Die Anwesenheit von sphingolipidreichen Mikrodomänen in polarisierten und nichtpolarisierten Zellen ist nachgewiesen. Die Sphingolipid-Mikrodomänen der Plasmammebranen sind reich an Glykophosphatidylinositol (GPI)- gebundenen Proteine auf der exoplasmatsichen Seite, und reich an versteckten doppellt acylierten Kinasen aus der Src-Familie auf der cytoplasmatischen Seite [78]. Das GPI ist eine Zelloberflächen-Glykolipidstruktur, die relativ früh in der Evolution entwickelt wurde und Proteine in der äußeren Lipidschicht der Plasmamembran verankert [8]. Diese GPI- gebundenen Proteine und die Src-Kinasen von Sphingolipidomänen bleiben auch nach einer Extraktion mit einem nicht inonischen Detergent verbunden - und werden als Detergent-Resistant-Membrane (DRM´s) genannt. Die caveoläre Spezialisation von Membranen ist ebenfalls resistent gegenüber Detergenzien. Caveolae sind sackförmige Ausbuchtungen der Plasmamembran. Dabei ist das Protein Caveolin das wichtigste Strukturelement. Wegen ihrer charakteristischen Zusammensetzung aus Lipiden wie Glycosphingolipide, Sphingomyelin und Cholesterin, besteht die Funktion der Caveolae in der Konzentration diverser lipidgebundener Signalmoleküle in eine spezialisierte Membranorganelle [79]. Der physikalische Nutzen von Sphingolipiddomänen entsteht durch die Interaktion ihrer Hydrocarbonketten mit Cholesterin, was zu einer flüssigen Phase in dem flüssig-kristallinen Milieu des Phospholipids

der Plasmaaußenmebran führt. Caveolae und Sphingolipid-Mikrodoämenen stellen klar umschrieben Entitäten der Plasmamembran dar, und fungieren dank ihrer typischen Zusammensetzung an Proteinen und Lipiden als "Lipid Rafts" [78,80]. Lipid Rafts nennt man also ein Konzept von cholesterinreichen Mikrodomänen in Lipidmembranen von Plasmazellen und in den Hüllmembranen behüllter Viren, in denen sich Cholesterin, Glykolipide und Sphingolipide anreichern. Diese Domänen werden deshalb Lipid Rafts gennant, da diese wie Flöße auf der zweidimensionalen Flüssigkeit der Lipidmembran schwimmen [80]. Lipid Rafts fungieren als Plattform um Proteine zu segregieren und zu konzentrieren. In polarisierten Zellen dienen sie dem Austausch über den exozytotischen und endozytotischen Weg und somit der Zellmigration, Zelladhäsion und diversen Signalkaskaden. Man vermutet, dass Zellmembranen Raft- und Non-Raft Bereiche enthalten, und Proteine dagegen sich nur mit bestimmten Bereichen (Abschnitten) der Zellmemebran verbinden. Somit fördern Lipid Rafts die Interaktion mancher Proteine miteinander (für Proteine die sich z.B. im selben Raft befinden), und blockieren dafür andere (indem sie z.B. Raft- und Non-Raft Proteine isolieren). Somit beeinflusst die spezielle Zusammensetzung der Lipide in den Lipid Rafts die Wirkung der schwimmenden Plattformen und damit die Funktion von bestimmten Proteinen. Dabei spielt das Cholesterin das hier als „Klebstoff" fungiert eine entscheiden Rolle [80].

2.1.1 Das Cholesterin und die Viren

Lipid Rafts können also auch virale Glykoproteine konzentrieren und dienen als Plattform für die Virusausknospung (*engl.* budding) [81]. Das Cholesterol selbst hat einen großen Einfluss auf die Membranen und kann die Fusion beeinflussen indem, es die Lipiddichte erhöht, den Widerstand gegen die Membranwölbung erhöht, die Anordnung und Funktion der Membranproteine verändert oder eine Phasenseparation bestimmter Lipide in den „Rafts" fördert. Die Membranen diverser Virusklassen sind reicher an Cholesterol und Sphingolipiden als die meisten anderen Plasmamembranen und ihre „Rafts" haben eine ähnliche Zusammensetzung wie die Membranen, aus denen sie geknospt sind [75].

2.2 Cyclodextrine

Seitdem die Lipid Rafts Mitte der 80'er Jahre entdeckt wurden, sind viele Forschungen getätigt worden, um Ihre Funktionsweise zu erkunden. Interessant dabei war die Frage nach potentiellen Angriffspunkten mit Hilfe derer man die Zellfunktion moduliere könnte. Dabei stand im Focus der Untersuchungen stets das Cyclodextrin und die Frage - wie sich die Cholesterin-Extraktion in

polarisierten und nicht-polasierten Zellen auf die Membranstruktur auswirkt. Viele Studien konnten seitdem erfolgreich demonstrieren, dass Cyclodextrine sehr wirksam Cholesterin aus diversen Zellkulturen entfernen können, wie auch das Cholesterin in vivo binden, und transportieren können [82-86]. Harder et al. zeigten, dass sich eine Cholesterin-Extraktion in gestörter Funktion vieler Raft-Proteine zeigt und damit auf eine geschwächte Interaktion von Raft-Bereichen hinweist [87], Auch die Arbeit um Chamberlain et al. zeigt, dass ein Cholesterin-Abbau in Zellmembranen polarisierter Zellen ihre Exozytose-Eigenschaft beeinflusst [88].

2.2.1 Definition von Cyclodextrinen

Cyclodextrine (CD) sind eine Klasse von Verbindungen, die zu den cyclischen Oligosacccharide gehören, und bestehen aus mehreren Glucoseeinheiten, die α-1,4-glykosidisch miteinander verknüpft sind. Den Ring aus sechs Glucoseeinheiten nennt man α-Cyclodextrin, den aus sieben β-Cyclodextrin und den aus acht γ-Cyclodextrin [89].
Die Cyclodextrine werden technisch hergestellt aus enzymatisch abgebauter Stärke (meist aus Mais). Das dafür benötigte Enzym Cyclodextrin-Glycosyltransferase (cgtase) liefern spezielle Bakterien (z.B. Bacillus macerans). Mit dieser cgtase erhält man ein Gemisch von α-Cyclodextrin, β-Cyclodextrin und γ-Cyclodextrin, bei dem das β-Cyclodextrin mengenmäßig bei weitem überwiegt [89].

2.2.2 Cyclodextrine und ihre Komplexbildung

Durch die Anordnung der Glucoseeinheiten ergibt sich eine konusförmige Gesamtstruktur des Cyclodextrin - Moleküls mit einem zentralen Hohlraum, weshalb die Struktur des Moleküls bzw. das Molekül selbst in vielen Veröffentlichungen schematisch als Konus dargestellt wird [89].

Abbildung 3: Konusförmige Gesamtstruktur des Cyclodextrins

Quelle: Emilia J. Bedynek

Die hohe Elektronendichte verleiht dem Innenraum anteilig den Charakter einer Lewis-Base. Durch die Stellung der Hydroxylgruppen an den Rändern besteht im Inneren ein hydrophober Hohlraum und außen ein hydrophiler Bereich. Das Molekül ist damit endolipophil und exolipophob [89]. Dadurch sind die CD in der Lage, so genannte Einschlussverbindungen (Komplexe) mit hydrophoben Molekülen zu bilden, und diese dann im wässrigen Medium in Lösung zu bringen [90]. Im Fall der Cyclodextrine spricht man von einer Wirt (Cyclodextrin)-Gast (lipophiles Molekül)-Beziehung [89]. Das Spektrum der komplexierbaren Gäste von Cyclodextrinen reicht von metallorganischen Verbindungen über anorganische Ionen oder Edelgasen zu den typischen organischen Verbindungsklassen [90]. Für die Ausbildung eines Komplexes zwischen dem CD als Wirtsmolekül und einem Gastmolekül müssen mehrere Bedingungen erfüllt sein: In erster Linie muss das Gastmolekül mit seiner Größe und Geometrie in den Hohlraum des Cyclodextrins passen. Dann müssen intermolekulare Wechselwirkungen zwischen Wirt und Gast möglich sein; und es ist zumindest eine geringe Menge Wasser erforderlich [89].

Man kann bei der Bildung der Komplexe mehrere Schritte annehmen. Zunächst nähert sich das Gastmolekül an. Dabei können die Wassermoleküle aktiv mit den Hydroxylgruppen am Rand des Cyclodextrins wechselwirken. Auf diese Weise schirmen sie womöglich das eintretende hydrophobe Molekül von diesen Hydroxylgruppen ab. Dann werden die Wassermoleküle aus dem Hohlraum entfernt und unter Zunahme der Entropie an das umgebende Wasser abgegeben. Die treibende Kraft der Komplexbildung ist das Auswechseln der Wassermoleküle - gegen die hydrophoben Gastmoleküle. Dabei entstehen Wechselwirkungen zwischen unpolaren Molekülteilen von Wirt und Gast und die Ringspannung sinkt, was zu einem stabileren Zustand mit geringerer Energie führt. CD sind mit ihren Gastmolekülen nicht nur durch starke chemische Bindungen verbunden. Es handelt sich im Wesentlichen um van-der-Waals-Kräfte, also hydrophobe Wechselwirkungen und möglicherweise Wasserstoffbrückenbindungen. Durch spezifische räumliche Anordnungen können diese so ausgeprägt sein, dass sie die „Stärke“ einer kovalenten Bindung erreichen [89].

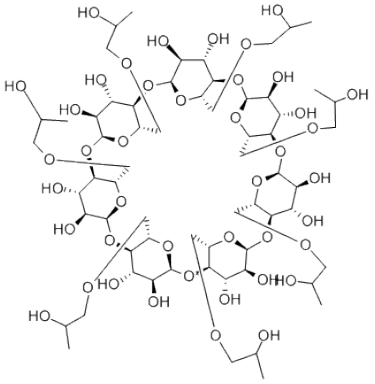
2.2.3 Toxizität und Sicherheit der Cyclodextrine

Cyclodextrine gelten im Allgemeinen als nicht toxisch und sind weitgehend stabil gegenüber menschlichen Verdauungsenzymen. Untersuchungen zu Haut- und Augenempfindlichkeit, dem Einatmen, Erbgutveränderung etc. haben keine negativen Effekte ergeben. Natürliche CD werden bei oraler und nasaler Einnahme oder bei Verwendung in Zäpfchen generell als sicher angesehen. Auch wenn noch nicht für alle CD ausführliche Toxizitätsdaten vorliegen, so liegen spe-

ziell für das β-Cyclodextrin ausführliche Daten vor, welche die Unbedenklichkeit bescheinigen [89]. In der Lebensmittel-Industrie sind Cyclodextrine als Zusatzstoffe wie z.B. das E 459 bereits zugelassen [90].

2.2.4 Hydroxypropyl β Cyclodextrin

Abbildung 4: Hydroxypropyl-ß-Cyclodextrin



Cyclodextrine kann man chemisch verändern, d.h. ihre Derivate herstellen, um ihre Eigenschaften wie z.B. Wasserlöslichkeit zu verbessern. Das Hydroxypropyl β-Cyclodextrin ist ein Derivat des β-Cyclodextrins, welches ein Ring aus sechs Glucoseeinheiten bildet. Die Substitution von Hydroxylgruppen führt zu einem deutlichen Anstieg der Wasserlöslichkeit [89].

2.2.5 Anwendungsmöglichkeiten von Cyclodextrinen

Das β-Cyclodextrin und das Hydroxypropyl β-Cyclodextrin haben die weiteste technische Verbreitung. Die Anwendungsmöglichkeiten der CD ergeben sich im Wesentlichen aus ihrer Eigenschaft mit hydrophoben Gastmolekülen Wirt-Gast-Komplexe bilden zu können [89]. Beispielhaft ist die Bedeutung von Cyclodextrin-Komplexen in der pharmazeutische Anwendung als Drug Delivery System [90]. Viele Medikamentenwirkstoffe die schlecht wasserlöslich und können mit Cyclodextrinen im wässrigen Systemen des Körpers (z.B. Blut, Magendarmtrakt) besser verteilen werden. Zudem können Wirkstoffe gegenüber Oxidation stabilisiert werden, ihre Bioverfügbarkeit wird erhöht, und nachteilige Geruchs- oder Geschmackseffekte sowie Haut- oder Augenreizungen können aufgehoben werden. Auch Inkompatibilitäten zwischen Wirkstoffen in einem Produkt können mit Cyclodextrinen aufgehoben werden [89]. Für die Präparation von pharmazeutischen Cyclodextrin-Komplexen werden Verfahren wie Präzipitation, Knetung, Sprühtrocknung und Gefriertrocknung angewandt. Neben der inkorporalen Anwendung von Cyclodextrin-Arznei-Komplexen wird Cyclodextrin auch in Transdermalen-Therapie-Systemen ge-

nutzt. Hier werden lipophile Wirkstoffe über Komplexierung mit Cyclodextrinen in die wässrige Phase überführt. Die pharmazeutisch relevanten Substanzen können dann über eine erhöhte Permeabilität besser über die Haut aufgenommen werden [90]. Somit sind Cyclodextrine heutzutage aus der Kosmetik-, Industrie- oder Lebensmittelbranche nicht mehr wegzudenken.

Tabelle 1: Effekte von Komplexbildungen

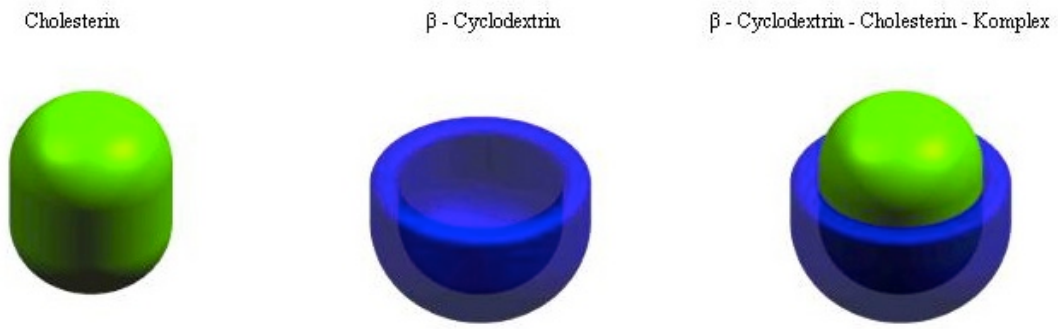
Effekte durch Komplexbildung	Beispiele
Steigerung der (Wasser-)Löslichkeit, Vermeidung organischer Lösungsmittel, Veränderung rheologischerEigenschaften.	z.B. Ibuprofen, Sulfadiazin.
Stabilisierung gegen Licht (UV-Strahlung), thermischen Zerfall, Oxidation oder gegen Hydrolyse.	z.B. Nitroglycerin, Benzaldehyd, fettlösliche Vitamine.
Verminderung - der Flüchtigkeit - von unangenehmem Geruch - von schlechtem Geschmack.	z.B. Knoblauchdragees, Textilerfrischer (Fébrèze®), Selbstbräuner.
Kontrollierte Abgabe über lange Zeiträume oder in kontrollierten Dosen.	z.B. Zahnpastageschmack, Pflanzendüngemittel.
Fixierung von Flüssigkeiten als Pulver.	z.B. Lagerung von Lebensmitteln, Komplexierung von Aromastoffen, Pulverinhaliergeräte, Biozide.
Erhöhung der Bioverfügbarkeit.	z.B. Testosteron kann über die Mundschleimhaut aufgenommen werden.
Selektive Extraktion zur Reinigung oder zur Absorption; z.B. Cholesterinarmer Käse.	z.B. Cholesterinarmer Käse.

Quelle: www.wacker.com

2.2.6 Cholesterinextraktion mit β Cyclodextrin und ihr Einfluss auf Lipidmembranen

Ein neuer Denkansatz entstand, als Cyclodextrine nicht mehr nur als Vehikel und Vermittler per se gesehen hat, sonders als aktive Substanz an sich. Von besonderem Interesse ist die Fähigkeit von β-Cyclodextrinen Fette (speziell Cholesterin) aus Lebensmitteln zu entziehen. Was in der Lebensmitteltechnologie ermöglicht kalorienreduzierte Lebensmittel herzustellen, wurde von einigen Jahren auch für die medizinische Viren-Forschung zum Objekt genauer Betrachtung.

Abbildung 5:Komplexbildung von ß-Cyclodextrin



Quelle: Emilia J. Bedynek

Eines der ersten Viren an dem die Bedeutung des Cholesterins für die Lipid Rafts erforscht wurde war das HIV. Ein Riss der „Rafts“ durch Abbau von Cholesterol [91] oder Sphingolipiden [92] führt zum Abbruch einer HIV Infektion im frühen Stadium [75]. Viele Publikationen beweisen immer wieder die Bedeutung des Cholesterins für die Integrität von Lipid Rafts und deren Einfluß auf die Infektion und Ausbreitung des HIV [93-97]. Auch an anderen Vieren wie dem Influenza-Virus [81,98-99]; dem Pseudorabies-Virus (tierisches Herpesvirus) [100]; Hepatitis-C-Virus [101] und schließlich dem Varizella-Zoster-Virus [102] (als einem Vertreter der Herpes-Vire) wurde die Wichtigkeit des Cholesterins für die Lipid Rafts erforscht und bestätigt. Folglich wurde in diversen Studien auch der Einfluss von Cyclodextrinen auf die Lipidmembranen der Viren und ihrer Zielzellen beschrieben. So wurde nachgewiesen dass, man umhüllte Viren in einer dosisabhängigen Menge durch eine Behandlung mit einem β-Cyclodextrin inaktivieren und so ihre Infektiosität senken kann [94,96,102-103]. Andere Untersuchung zeigen, dass man mittels der Cyclodextrine den Cholesteringehalt beeinflussen, und so den Viruseintritt in die Zielzelle verhindern kann [100,104].

2.2.7 β-Cyclodextrin und das HSV

Das HIV und das Herpes Simplex Virus (HSV) haben gemeinsam, dass sie die Zielzellen direkt durch eine Fusion betreten. So besteht theoretisch auch im Falle des HSV die Möglichkeit, dass die Veränderung der Lipid Rafts durch eine Chlosterinextraktion auch für den Eintritt von HSV Partikeln in die Wirtszelle eine Rolle spielen kann. Die Bindung des HSV an die Wirtszelle ist ein komplexer Prozess, in den unverzichtbar virale Glykoproteine B(gB), gD, gH und gL sowie viele zellulären Moleküle mit verschiedener Affinität und Anziehungskraft eingebunden sind. In gängigen Modellen wird beschrieben, dass die Glykoproteine gB und/oder gC an oberflächliche Heparansulfat-Proteoglykan-Rezeptoren binden, damit die virale Hülle und die Wirtsplasmamebran fusionieren können. Bender et al. haben beschrieben, dass das gB des HSV mit zellulären Molekülen, die mit den Lipid Rafts assoziiert sind, interagiert. Die Ergebnisse suggerieren, dass das HSV mittels des gB die Lipid Rafts mobilisiert und diese dann tatsächlich als Plattform für den Eintritt in die Zielzelle und für die Signalübermittlung beim HSV fungieren [105].

2.2.8 Fragestellung dieser Arbeit

Wenn Adhäsion und Ausbreitung der Viren von der Unversehrtheit der Zellmembranen und den damit verbundenen Prozessen abhängt, so ist die Frage interessant, ob man die Ausbreitung des

Herpes-Simplex-Virus im Zellverbund der menschlichen Epidermis durch die Veränderung der Lipid Rafts (z.B. mittels Cholesterin-Entzug) beeinflussen kann.

Cyclodextrine haben die besondere Eigenschaft Cholesterine zu entziehen und an sich zu binden. Deshalb wird mithilfe von β-Cyclodextrinen in der Lebensmitteltechnologie seit geraumer Zeit bestimmten Lebensmitteln wie Butter oder Käse das natürliche Cholesterin entzogen [76-77]. Diese besondere Eigenschaft von Cyclodextrinen machte sie bereits zum Objekt der Forschung bezüglich ihres Einflusses auf den Verlauf von Infektionen verursacht durch umhüllte Viren wie das HSV. Speziell der Einfluss von Cyclodextrinen auf den Verlauf von Herpes genitalis Infektionen wurde - soweit bisher bekannt - nicht untersucht. So basiert das Thema dieser vorliegenden Arbeit auf der Frage, ob man durch ein β-Cyclodextrin die Dauer und die Intensität eines Herpes genitalis Reizidivs beeinflussen kann.

An einer repräsentativen Gruppe von Patienten mit einem rezidivierenden Herpes genitalis in der Prodromalphase wurde die Wirksamkeit und Verträglichkeit des Wirkstoffes 2-Hydroxypropyl ß-Cyclodextrin als Gel-Präparat im Vergleich zu einem Placbo Gel untersucht. Diese Arbeit legt die Ergebnissen dieser randomisierten, placebo-kontrollierten, doppel-blinden, multizentrischen Phase II-Studie die von dem Schweizer Pharmaunternehmen Spirig AG in Auftrag gegeben wurde, dar.

3 Methodik

3.1 Das Studienziel

Der Zweck dieser Studie der Phase II war die Prüfung:

I. Des Wirksamkeitsprofils

II. Des Verträglichkeitsprofils

Eines topisch applizierten Cyclodextrin Gels in der Prodromalphase einer rekurrierenden genitalen Herpes Simplex Virus Infektion [137].

I. Die Wirksamkeit wurde untersucht anhand folgender Kriterien für das Hauptziel und die Nebenziele:

Das Hauptziel war die Untersuchung der Auswirkung des Cyclodextrin Gels auf die Dauer bis zur Verkrustung der Vesikel.

Die Nebenziele waren die Prüfung:

1. Die Dauer bis zum Einstellen der Schmerzen, hervorgerufen durch die Herpes Infektion
2. Der Dauer bis zum Stillstand der Bildung neuer Bläschen
3. Der Abnahme der Größe (Durchmesser) der Herpes Läsion
4. Der Dauer bis zur Heilung der Läsion
5. Der Schwere der Hautreaktion an der Stelle der Läsion [137].

II. Die Sicherheit/ Verträglichkeit wurden untersucht anhand folgender Kriterien:

Das Ausmaß der Exposition, Dokumentation von Adverse Events und Serious Adverse Events, Erhebung der Vitalparameter, körperliche Untersuchung [137].

3.2 Studienbeschreibung und Studiendesign

Diese Studie wurde gestaltet als randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte, multizentrische Untersuchung im Parallelgruppenvergleich. Das 2-Hydroxpropyl- ß - Cyclodextrin Gel wurde hinsichtlich seiner Wirksamkeit und Verträglichkeit - im Vergleich zu einem Placebo Gel - untersucht. Pharmakologisch-toxikologische Untersuchungen, Stabilitätsprüfungen der Studienmedikation sowie eine Pilotstudie fanden zuvor statt. Die Studie selbst fand im Zeitraum vom 3. November 2005 bis 6. September 2006 statt [137].

Der Hauptstudienleiter war Prof. Dr. med. Eggart Stockfleth aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin.

Außerdem wurde die Studie in 5 weiteren universitären Kliniken und 6 privaten dermatologischen Arztpraxen durchgeführt. Die teilnehmenden Studienuntersucher waren allesamt spezialisierte Dermatologen und Allergologen [137].

3.2.1 Studiengruppen

Die Studie wurde durchgeführt an ambulanten Patienten mit einer wiederkehrenden genitalen Herpes-Simplex-Infektion im Prodromalstadium.

Angestrebt waren zwei Studiengruppen (Arme) mit jeweils gleicher Patientenanzahl $n \geq 100$.

1) Studiengruppe Verum (Prüfmedikation): 2-HP-BCD
2) Studiengruppe Placebo: wirkstofffreie Trägersubstanz

3.2.2 Studienzentren und die Rekrutierung

Die Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité Campus Mitte war gleichzeitig das Studienhauptzentrum in dem auch ich als Doktorandin tätig war. So lag das Augenmerk darauf, gerade für dieses Studienzentrum die Hauptzahl der Studienteilnehmer zu rekrutieren. Ich hatte als Zielvorgabe mindestens 60 Probanden zu aqurieren. Da eine chronische Herpes genitalis Infektion seltenst einen Grund darstellt eine Fachklinik aufzusuchen war es unumgänglich die Patienten aus den ambulanten Bereich aufzufangen. Dafür musste die geplannte Studie bekannt gemacht werden. Zum einen brachte ich in diversen Ambulanzen der Charité Campus Mitte eigens dafür konzipierte Plakate an - auf welchen interresierte und betroffene Patienten aufgefordert wurden mit mir Kontakt aufzunehmen. Zum Zweiten schrieb ich unzählige dermatologische und frauneärztliche Praxen an mit der Bitte - uns entsprechende Probanden zuzuweisen. Eine eigens dafür errichtete Mobilfunknummer ermöglichte es allen interresierten und auch teilnehmenden Patienten mich jederzeit telefonisch erreichen zu können. Ich war zu jeder Tageszeit für die Patienten telefonsich erreichbar – rund um die Uhr an 7 Tagen in der Woche, über den gesamten Studienzeitraum. Kam es zu organisatorischen Schwierigkeiten oder fachlichen Fragen stand unterstützend an meiner Seite Frau Dr. med. Martina Ulrich – Fachärztin für Dermatologie und Angestellte des Hauses.

Die übrigen Untersucher (Studienärzte) rekrutierten die Probanden unter den Patienten, die regulär in deren Kliniken bzw. Arztpraxen kamen.

3.2.2.1 Randomisierung und Persönliche Identifikationsnummer

Alle geeigneten Patienten wurden während des Screenings (Visite 1) randomisiert. Die Randomisierung erfolgte, in dem die Patienten je nach Reihenfolge des Eintritts in die Studie eines der beiden Prüfmedikamente erhielten. Die Prüfmedikamente enthielten auf der Verpackung eine Chargennummer, welche dem Randomisierungskode entsprach und der Doppellverblindung diente. Der Randomisierungskode bildete, zusammen mit den zwei Buchstaben der Initialen jedes Patienten, seine persönlichen Patientennummer. Zum Zwecke der Dopellverblindung und aus Datenschutzgründen wurde fortan die persönliche Identifikationsnummer bei der Erhebung und Dokumentation der Daten sowie dessen Eingabe für die Auswertung der Studienergebnisse im Computer benutzt.
Die Randomisierungskodes wurden von der Firma PHARBIL Waltrop GmbH entwickelt. Dafür wurde ein validiertes System benutzt, welches automatisch die Zugehörigkeit der jeweiligen Medikamentengruppe zu den 4.stelligen Identifikationsnummern (Randomisierungskodes) ordnete (RANCODE Version 3.6) [137].

3.2.3 Verblindung

Während der gesamten Behandlungsperiode wurde die Studie doppelblind geführt. Sowohl die Probanden, der Studienleiter, die Untersucher (meine Person eingeschlossen), das Hilfspersonal wie das CRO (Contract Research Organisation) Personal (zuständig für das Feld-Monitoring, Bearbeitung der Daten und Führung der Untersuchung) waren bezüglich der Identität der Studienmedikation verblindet. Das CRO - repräsentiert durch Pharmapart HPC GmbH mit Dr. Jörg Dieckmann; Edisonstr.15, D-68605 Lampertheim, Deutschland – war für die Organisation der Studie und für die Aufsicht sowie Koordination der Studienzentren zuständig.

3.3 Ein- und Ausschlusskriterien

3.3.1 Einschlusskriterien

Die Patienten konnten an dieser Studie teilnehmen, wenn folgende Kriterien vorlagen:

1. Ärztlich bestätigte Diagnose eines wiederkehrenden Herpes genitalis.

2. Männliche und weibliche Patienten zwischen 18-65 Jahren.

3. Der Patient war anamnestisch immunokompetent.

4. Der Patient hatte während der Visite 2 (Tag 1) eine herpetische Läsion in der Genitoanalregion (multiple Läsionen innerhalb der Genitoanalregion waren nach dem Beginn der Behandlung nach der Visite 2 = Tag 1 zugelassen).

5. Der Durchmesser der Läsion war <3cm.

6. Der Patient hatte mindestens 4 - und maximal 10 - Rezidive im letzten Jahr vor der Teilnahme an der Studie.

7. Eine schriftliche Einverständniserklärung des Patienten zur Teilnahme an der Studie lag vor.

8. Der Patient war gewillt alle Prozeduren des Studienprotokolls zu befolgen und an den geplanten Visiten teilzunehmen [137].

3.3.2 Ausschlusskriterien

Ein Teilnahme war ausgeschlossen bei:

1. Patienten in ernstzunehmenden labilen körperlichen, oder psychologischen Zuständen, die nach Auffassung des Untersuchers die Sicherheit der Studie und eine erfolgreiche Teilnahme an der Untersuchung gefährden könnten.

2. Schwangeren, Stillenden, Frauen im gebärfähigen Alter die keine chemischen oder mechanischen Kontrazeptiva (wie orale Kontrazeptiva, körperliche Abstinenz, Kondome, chirurgische Sterilisation, Diaphragma, Intrauterinpressar) anwenden oder Frauen die einen positiven Schwangerschaftstest hatten.

3. Malignen Erkrankungen.

4. Diabetes mellitus Typ 1.

5. Ernsthaften Nierenerkrankungen.

6. Einer Begleitmedikation mit Immunsupressiva.

7. Einer systemischen antiviralen Therapie, welche innerhalb der letzten 7 Tage vor der Anwendung der Studienmedikation stattgefunden hat.

8. Einer Teilnahme an einer anderen Medikamentenstudie bis zu 4 Wochen vor der Randomisierung und während der gesamten Studiendauer [137].

3.4 Begleitmedikation

Während der Studienteilnahme war es den Probanden nicht erlaubt folgende begleitende Medikamente zu nehmen:

- Orale oder topische Virostatika (Aciclovir, Famciclovir, Penciclovir, Vaciclovir)
- Orale oder topische Nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAIDS)
- Analgetika (Acetylsalicylsäure, Paracetamol)
- Orale oder topische Kortikosteroide

Andere Begleitmedikationen oder therapeutische Eingriffe, die zugelassen waren, wurden dokumentiert und gemäß der WHO Drug Reference List (DRL) kodiert [137].

3.5 Studienmedikation

Beide Studienmedikationen sahen bezüglich der Farbe und Konsistenz sowie der Darreichungsform optisch ähnlich bzw. identisch aus [137].

Tabelle 2: Identität der Studienmedikamente

	Verum	Placebo
Handelsname	nicht verfügbar	nicht verfügbar
Aktive Substanz	2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin (2-HP-BCD)	keine
Darreichungsform	Tube mit 8 g Gel	Tube mit 8 g Gel
Konzentration	20% 2-HP-BCD	keine
Verpackungsart	Pappschachtel mit 3 Tuben Inhalt	Pappschachtel mit 3 Tuben Inhalt
Hersteller	PHARBIL Waltrop GmbH	PHARBIL Waltrop GmbH

Quelle: [137]

3.5.1 Verum

Das in dieser klinischen Studie zu testende Prüfpräparat war ein Gel mit dem Inhaltsstoff 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin 20%. Die Wahl der Dosis 20% 2-HP-BCD basiert auf präklinischen Daten, und einer empirischer Abwägung. Das 2-HP-BCD wird in medizinischen Produkten (z.B. Vaginal-Creme) als Trägerstoff in einer Konzentration bis zu 40% bereits angewendet. Die restlichen Komponenten des Gels waren zwei Polyethylenglykole – beide als Trägerstoffe (Vehikel) zugelassen: Macrogol 400 und Macrogol 800 [137].

3.5.2 Vergleichssubstanz - Placebo

Als Placebo diente ein Gel ohne aktiv wirksame Bestandteile, welches im Aussehen mit dem Verum identisch bzw. ähnlich war. Als Vergleichssubstanz wurde deshalb ein Placebo gewählt, weil damit mögliche Therapieeffekte von Cyclodextrin mit höherer Sicherheit erfasst werden konnten, als im Vergleich mit einer aktiven Substanz wie z.B. Aciclovir [137].

3.5.3 Vertrieb und Verpackung

Beide Prüfmedikamente wurden von der Firma PHARBIL Waltrop GmbH, Im Wirringen 25, D-45731 Waltrop hergestellt, gekennzeichnet, und an die Firma Pharmapart HPC, Deutschland weitergeleitet - die als CRO für den Vertrieb an die Studienzentren zuständig war.
Die Untersucher (Studienprüfer) bekamen die Prüfmedikamente vor dem Beginn der Rekrutierungszeit ausgehändigt. Beide Testpräparate waren in einheitlichen Aluminiumtuben verpackt, mit 8g Inhalt. Jeder Proband bekam eine Pappschachtel mit jeweils 3 Tuben des gleichen Prüfmedikamentes. Die Tuben und die Schachteln waren versehen mit einer Chargennummer sowie dem Verfallsdatum des Präparates und hatten keine Angaben über die Identität des Präparates. So war es für den Studienleiter, die Untersucher (Prüfarzt) oder den Patienten nicht ersichtlich, ob es sich jeweils um ein Verum oder ein Placebo handelte [137].

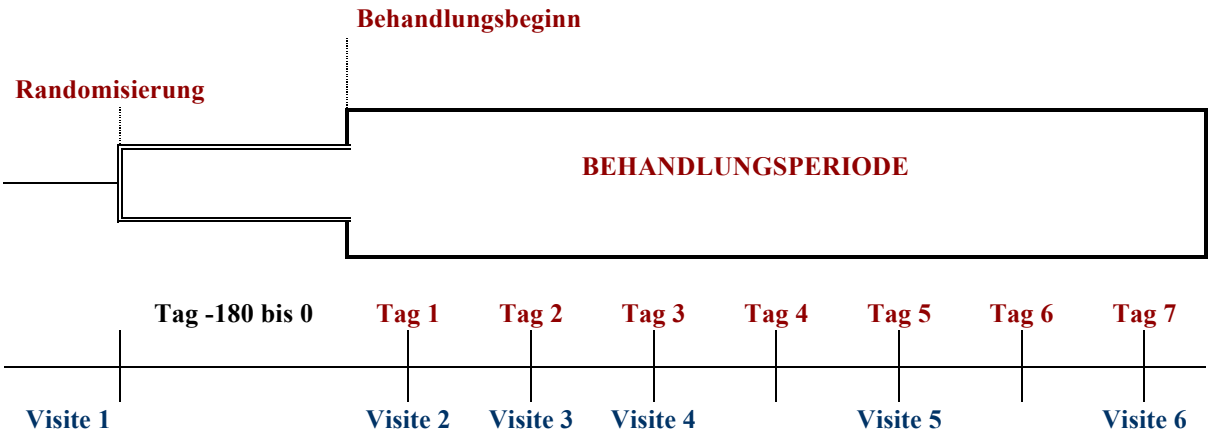
3.5.4 Dosierung und Anwendung

Die Population der Studienprobanden basierte auf ambulanten Patienten die an einem wiederkehrenden Herpes genitalis litten. Diese Patienten waren mit den damit verbundenen Symptomen und den gängigen Therapiemöglichkeiten vertraut. Sie waren deshalb imstande, eine selbstinitiierte Behandlung nach dem Bemerken der ersten Anzeichen oder Symptome einer wiederkehrenden Infektion zu beginnen. Jeder Patient bekam währen der ersten Visite (Screening) eine genaue Instruktion zur selbstinitiierten Behandlung. Diese sollte nicht später als 8 Stunden nach dem Eintreten der ersten Anzeichen bzw. Prodromi eines wiederkehrenden Herpes genitalis erfolgen. Das Präparat sollte in solch einem Fall als dünne Schicht auf die betroffene Hautstelle über den Tag verteilt ca. alle 4 Stunden, aber nicht mehr als 5mal pro Tag appliziert werden. Die nächtliche Applikation wurde umgangen. Die Anwendung / Therapie sollte 7 Tage dauern. Bei schnellerer Abheilung durfte die Dauer Therapie auch entsprechend kürzer erfolgen. Dieses entspricht dem gängigen Schema der Anwendung eines topisch applizierten antiviralen Medikamentes wie z.B. der Aciclovir Creme [137].

3.6 Studienablauf und Untersuchungen

Die Patienten wurden im Studienverlauf zu insgesamt 6 Zeitpunkten untersucht. Die einzelnen Untersuchungen erhielten jeweils die Bezeichnung Visite 1-6. Die Aufnahme in die Studie = Screening bedeutete Visite 1. Dann folgte die Beobachtungszeit - maximal 180 Tag lang: diese Periode wird als Tag -180 - 0 bezeichnet. Der Beginn der Behandlung zählt als Tag 1 und gleichzeitig Visite 2. Da die gesamte Behandlungsperiode 7 Tage dauerte, wurden die nachfolgenden Behandlungstage als Tag 2-7 bezeichnet. An den Tagen 2,3 5 und 7 fanden die Visiten 3-6 statt. Die Visite 6 (Tag7) war die letzte Untersuchung [137].

Abbildung 6: Flussdiagramm Studiendesign



Quelle: [137]

3.6.1 Ablauf der Studie

Tabelle 3: Organigramm der Screening- und Behandlungsphase

		Screening	Behandlungsperiode				
	Visiten	**1***	**2**	**3**	**4**	**5**	6
	Tag	**´-180 bis 0****	**1**	**2**	**3**	**5**	7
Prozedere	**Einwilligungserklärung**	X					
	Demographische Angaben	X					
	Anamnese	X					
	Körperliche Untersuchung	X					X
	Begleitmedikation		X	X	X	X	X
	Schwangerschaftstest (wenn angebracht)	X	X				
	Virusabstrich		X***	(X)			
	Einschluss- / Ausschlusskriterien	X	X				
	Klinische Beurteilung der Läsion u. der Schmerzen		X	X	X	X	X
	Digitale Photographie (optional)		X	X	X	X	X
	Durchsicht Patiententagebuch		X	X	X	X	X
	Vergabe Studienmedikation + Tagebuch	X					
	Einsammeln Studienmedikation + Tagebuch						X
	Dokumentation der AE´s / SAE´s		X	X	X	X	X
	Beendingung der Studienteilnahme						X

Quelle: [137]

Legende: *Nach der ersten Visite wurden die Patienten in monatlichen Abständen telephonisch kontaktiert; ** Durchschnittlich 180 Tage – abhängig davon, seit wann der Patient rekrutiert ist; *** Wurde nur einmal abgenommen – entweder während der Visite 2 oder Visite 3.

3.6.1.1 Screening (Visite 1)

Die Probanden wurden bei der 1.Visite einem Screening und folgenden Prozeduren unterzogen:

- Erhaltung der schriftlichen Einverständniserklärung.
- Erhebung der Anamnese und demographischer Daten.
- Eine Befragung bezüglich Einschluss- und Ausschlusskriterien.
- Schwangerschaftstest an Frauen im gebärfähigen Alter.

- Eine körperliche Untersuchung bezüglich folgender Parameter erfolgte:
    - Größe, Gewicht, Vitalzeichen (Blutdruck, Pulsschlag), Gesamteindruck, Bewegungsapparat, Neurologische Untersuchung, Untersuchung von Haut und Haaren, Blut- und Lymphsystem, HNO Untersuchung, Untersuchung der Augen.
- Instruktion des Patienten in die selbstinitiierte Behandlung
- Belehrung über den organisatorischen Ablauf
- Vergabe der Studienmedikation
- Aushändigung des Patiententagebuchs [137].

Wenn ein Patient nach der anamnestischen Befragung durch den Untersucher und der körperlichen Untersuchung als geeignet galt, dann wurde die Einverständniserklärung unterschrieben. Sogleich erhielt der-/diejenige die Studienmedikation sowie ein Tagebuch ausgehändigt, welches der Patient nach Beginn der Therapie ab Tag 1 bis Tag 7 ausfüllen sollte [137].

3.6.1.2 Beobachtungszeitraum (Tag -180 bis Tag 0)

Nach der Visite 1 (Screening) kontaktierte der zuständige Untersucher die Patienten in monatlichen Abständen, um sie nach möglichen Symptomen eines Herpes genitalis zu befragen, jedoch nicht länger als ca. 6 Monate lang. Wenn in diesem Zeitraum keine Rezidive eintraten oder der Patient keine Therapie initiierte (weil er aus bestimmten Gründen das Studienzentrum nicht besuchen konnte), wurde seine Teilnahme als beendet erklärt und der Patient war verpflichtet die Studienmedikation zurückzugeben [137].

3.6.1.3 Der Behandlungszeitraum

Nach dem Bemerken erster Anzeichen wie Juckreiz, Kribbeln, Brennen (Prodromi), oder einer Läsion sollte der Patient umgehend eine Behandlung mit der Studienmedikation (Cyclodextrin Gel oder Placebo Gel) beginnen. Der Beginn der Behandlung war als Tag 1 und gleichsam Visite 2 definiert, denn die Probanden sollten sich sodann auch unverzüglich innerhalb von 24 Stunden nach Beginn der Behandlung ins Studienzentrum zur Untersuchung begeben. An den Behandlungstagen 2, 3, 5 und 7 fanden weiteren Untersuchungen im Studienzentrum statt (Visite 3-6).

Während der Visiten 2-5 wurden jeweils folgende Prozeduren durchgeführt:

- Schwangerschaftstest an Frauen im gebärfähigen Alter (nur während der Visite 2).
- Dokumentation der Begleitmedikation.
- Prüfung der Einschluss- und Ausschlusskriterien.
- Dokumentation eventueller ungünstiger Ereignisse unter „Adverse Event“ im CRF.
- Durchführung eines virologischen Abstriches der betroffenen Hautstelle.
- Durchsicht und Besprechung der Einträge im Patiententagebuch.
- Bildliche Dokumentation der Läsion (nur mit Einverständnis des Patienten).
- Bewertung der Therapieergebnisse (Hautläsion und Schmerzen) [137].

Während der Visite 6, die sogleich den letzten Untersuchungstag darstellte, wurden folgende Prozeduren vollzogen:

- Eine körperliche Untersuchung wie bei Visite 1.
- Dokumentation der Begleitmedikation.
- Dokumentation eventueller ungünstiger Ereignisse unter „Adverse Event“ im CRF.
- Durchsicht und Besprechung der Einträge im Patiententagebuch.
- Bildliche Dokumentation der Läsion.
- Bewertung der Therapieergebnisse.
- Einsammeln der restlichen Studienmedikation und des Patiententagebuches.
- Ausfüllen der letzten Seite im CRF über den Abschluss der Studie.

Spätestens mit der Untersuchung während der Visite 6 wurde die Teilnahme an der Studie abgeschlossen [137].

3.6.2 Der Schwangerschaftstest

An Frauen im gebärfähigen Alter wurden während der Visiten 1 und 2 jeweils Schwangerschaftstests durchgeführt. Dies war notwendig um sicherzustellen, dass keine schwangeren Frauen an der Testung des Prüfmedikamentes teilnahmen. Eine Ablehnung des Tests bedeutete den Ausschluss aus der Studie [137].

3.6.3 Virologischer Abstrich

Bei allen von mir betreuten Probanden wurden an den Rezidiv-Läsionen Abstriche gemacht. Der virologische Abstrich erfolgte am Tag 1 und spätestens am Tag 2 (wenn am 1 Tag noch kein Bläschen sichtbar war). Das entnommene Abstrich-Material wurde in ein geeignetes Transportmedium getan und jeweils umgehend an das Spezial-Laboratorium Lademannbogen von Prof. Arndt & Partner, Lademannbogen 61 in 22339 Hamburg verschickt. Somit war gesichert, dass auch entsprechend verwertbares Virus-DNA-Material einer virologischen Diagnsotik unterzogen - und bei allen Patienten die ein Rezidiv erlitten die klinische Diagnose einer genitalen HSV Infektion auch laborchemisch verifiziert wurde.

3.6.4 Die Bewertung der Therapieergebnisse

Die Therapieergebnisse beider Studiengruppen (Arme) wurden nach klinischen Bewertungskriterien und anhand von Kriterien aus Patientensicht beurteilt. Die Bewertung der Studienmedikation erfolgte während des Behandlungszeitraumes täglich durch den Patienten (Dokumentation im Tagebuch), sowie während der Visiten 2-6 durch den Untersucher. Im Studienzentrum der Klinik für Dermatologie und Venerologie der Charité Campus Mitte war es meine Aufgabe als Untersucher die Patienten während der geplanten Termine in der Klinik zu treffen, die Befunde zu begutachten, zu dokumentieren sowie die entsprechenden Vermerke in den Studienprotokollen zu machen.

Die folgenden Bewertungskriterien dienten der Bewertung der Therapieergebnisse:

❖ Schmerzintensität des Patienten:

Anhand einer visuellen Analogskala (VAS) sollten die Patienten die Intensität der Schmerzen hervorgerufen durch die Herpes Infektion beurteilen. Dazu setzten sie einen Strich an der entsprechenden Stelle einer 100mm Visuellen Analog Skala (VAS); wobei links „kein Schmerz“ und rechts „schlimmster vorstellbarer Schmerz“ angegeben waren. Eine VAS war jeweils im CRF und im Patiententagebuch abgedruckt. Die Patienten sollten immer persönlich den Strich auf der Linie setzen. Diskrepanzen zwischen den Schmerzangaben im CRF und Tagebuch wurden nicht erfasst. Für die Datenanalyse wurden nur die Einträge aus dem CRF genommen [137].

Abbildung 7: Visuelle Analog Skala - 100mm

❖ Die Größe der Läsion (Durchmesser in mm):

Falls während der Visite 2 mehr als eine Läsion sichtbar waren, so wurde diejenige Läsion beurteilt und vermessen, die den größten Durchmesser - jedoch nicht mehr als 30mm – hatte. Die Größe der Läsion wurde nur vom Untersucher gemessen und in das CRF eingetragen [137].

❖ Stadium der Herpes Läsion. Stadium der Läsion - wurde wie folgt eingeteilt:

- Prodromi: Symptome wie Juckreiz, Schmerz oder Kribbeln, aber ohne sichtbare Läsion
- Macula: Erythem der betroffenen Hautstelle
- Papel: jegliche Erhebung der Haut ohne Flüssigkeit
- Vesikel: Bläschen gefüllt mit Flüssigkeit oder zusammengefallen
- Krustenstadium: weiche oder verhärtete Krustenbildung
- Heilung: Beendung aller Symptome; Rückkehr zur normalen Haut, ohne Kruste; eventuell residuale Rötung möglich [137].

- ❖ Hautreaktionen und Ausmaß ihrer Veränderung. konnten mit einem 4 Punkt System bewertet werden (0=nichts, 1=leicht/schwach, 2=mäßig, 3=stark):
- Erythem
- Ödem
- Exsudat (nässend)
- Vesikel
- Erosion/Ulzeration
- Schuppung/Trockenheit
- Schorf-/Krustenbildung [137].

3.7 Compliance

Die Einschätzung der Therapiecompliance der Patienten erfolgte anhand:

1. Der Menge Medikamentenverbrauchs:

Dazu wurde die Menge des verbrauchten Gels in jeder Tube durch Abwiegen ermittelt. Die Tuben (auch die Leeren) sollten deshalb nach Beendigung der Behandlung an den Prüfarzt zurückgegeben werden.

2. Der Anzahl der Applikationen pro Tag:

Die Patienten sollten in dem Tagebuch das Datum und die Uhrzeit der ersten Applikation der Studienmedikation notieren, sowie die gesamte Anzahl der Applikationen an jedem Behandlungstag. Die Compliance wurde bewertet anhand der Frequenz der Anwendungen:

<u>Compliance:</u>

- o Gut 4-5 mal/Tag
- o Mäßig 2-3 mal/Tag
- o Schlecht 0-1 mal/Tag [137].

3.8 Rechtliche Grundlagen

Diese Studie wurde in Deutschland durchgeführt, somit gemäß aller Vorlagen des deutschen Arzneimittelgesetzes. Pharma Part HPC GmbH – vertreten von Dr. Jörg Dieckmann (Studienprüfer) - war hier als Organisator und Coordinator tätig, hat alle dafür benötigten Dokumente (Studienprotokoll, Patienteninformation und Einverständniserklärung) auf ihre Studieneignung geprüft und ihre Zulassung bei der zuständigen Ethikkommission an der Charité Campus Mitte bei Prof. Dr. med R. Uebelhack, (damals in der Schumannstrasse 20/2, 10117 Berlin) beantragt. Die Studiendokumente wurden am 11.07.2005 durch den Ethikausschuss genehmigt und mit der Ethiknummer: EA1/094/05 versehen. Außerdem wurde die Studie entsprechend den gesetzlichen Anforderungen bei der Bundesoberbehörde, dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfAM) vorgelegt (Nr. 4030830), und in der Europäischen Datenbank Klinischer Studien (European Clinical Trials Database) registriert (Eudract-Nr. 2005-001705-26). Gemäß dem Arzneimittelgesetz wurde vom Sponsor der Studie für alle Studienpatienten eine Haftpflichtversicherung abgeschlossen. Die Studie wurde durchgeführt in Übereinstimmung mit dem Studienprotokoll, den Prinzipien niedergeschrieben in der Deklaration von Helsinki 1996, laut der Richtlinien zur Guten Klinischen Praxis (Good Clinical Practice, ICH-GCP) und den in Deutschland geltenden gesetzlichen Vorgaben [137].

3.8.1 Patienteninformation

Vor der Aufnahme in die Studie wurde jeder Patient ausführlich über seine Erkrankung und deren Behandlungsmöglichkeiten in einem ausführlichen Gespräch informiert und erhielt eine detaillierte schriftliche Patienteninformation (Anhang 1) sowie eine Einverständniserklärung (Anhang 2) zur Durchsicht. Nach Klärung möglicher Fragen wurden beide Dokumente jeweils vom Probanden und vom Studienarzt/Untersucher unterschrieben. Jeweils eine Kopie erhielt der Patient zum Verbleib. Dabei wurde dem Patienten der Aufbau der Studie, ihre Dauer, ihre Ziele, die dafür benötigten Prozeduren, mögliche Risiken und Unannehmlichkeiten erklärt. Insbesondere wussten die Patienten, dass sie ein Placebo erhalten können. Jeder Patient wurde ebenfalls über die freiwillige Teilnahme sowie die jederzeit mögliche Beendung der Teilnahme belehrt [137].

3.9 Erhebungsbögen und Dokumentation

Speziell für diese Studie wurde ein erkrankungsspezifischer Erhebungsbogen (CRF) erstellt, in dem die Befunde des gesamten Studienzeitraumes aufgezeichnet wurden. Die Angaben zu den Patienten sowie die Dokumentation des Studienverlaufs wurden in anonymisierter Form mit der persönlichen Identifikationsnummer (Initialen und Radomisierungskode) im Erhebungsbogen, im Patiententagebuch und in der Fotodokumentation geführt. Jegliche ärztliche Dokumentation sollte nur von den dafür befugten autorisierten Vertretern der Spirig Pharma AG, des Gesundheitsamtes, der Ethikkommission oder des Prüfungsausschusses eingesehen werden. Sämtliche medizinische Daten die in diesem Rahmen gesammelt worden sind, sollten vertraulich behandelt werden und eine Auskunft an Dritte Personen war untersagt [137].

3.9.1 Der Erhebungsbogen - Case Report Form (CRF)

Die CRF`s wurden zur Dokumentation klinischer Daten genutzt und stellten einen integralen Teil der Studie dar. In das CRF wurde folgende Dokumentation getätigt:

- Aufzeichnungen über die Visiten 1-6 (Screening und Behandlungsperiode).
- Angaben über Adverse Events
- Begleitmedikation, / -therapien
- Anamnese und narrative Begleitkommentare zum Verlauf und zur Entwicklung während der Studienteilnahme.
- Originale oder Kopie von Laborbefunden und medizinischen Untersuchungen;
- Anamnese und aktueller Gesundheitszustand
- Im CRF – Teil: Current Medical Conditions wurden unerwünschte Ereignisse die nach der Teilnahme an der Studie - aber vor Beginn der Therapie mit dem Prüfmedikament - eingetreten sind, dokumentiert.
- Im CRF –Teil: Study Termination Page wurden nach erfolgreicher Beendigung der Studie abschließende Angaben über den Patienten gemacht [137].

3.9.2 Patiententagebuch

Zu Beginn der Teilnahme wurde jedem Patienten ein Patiententagebuch ausgehändigt. In diesem Tagebuch sollten die Patienten während der Behandlungsperiode (7 Tage) täglich Aufzeichnungen machen über:

- Die Intensität des wahrgenommenen Schmerzes anhand einer Visuellen Analog Skala (VAS).
- Das Stadium und die Veränderungen der Herpes Läsion
- Die Anzahl der täglichen Medikamentenapplikationen [137].

3.9.3 Bilddokumentation

Eine bildliche Dokumentation war nicht explizider Bestandteil des Studiendesigns.

Jedoch mit Hinblick auf meine zusammenfassende Darstellung der Studie als Promotionsarbeit bot es sich an, den Verlauf der Hauterscheinungen während der folgenden Visiten 2-6 fotographisch zu dokumentieren. Mit ausdrücklicher Erlaubnis jedes einzelnen Patienten wurden die Hautläsionen der Probanden die ein Rezidiv erlebten und auch die Visiten wahrnahmen, digital fotographiert. Von Probanden, die weniger Visiten besuchten, weil ihr Ausbruch kürzer als 7 Tage dauerte, gab es entsprechend weniger Bilddokumentation. Auf den Bildern sind keine persönlichen Daten der Patienten enthalten. Alle Patienten die einer bildlichen Dokumentation zugestimmt haben wurden darüber aufgeklärt, dass das Bildmaterial zu einem späteren Zeitpunkt in einer Publikation veröffentlich werden könnte. Dabei wurde den Patienten die Anonymität der veröffentlichten Bilder versichert. Zum Zwecke der anonymisierten Beschriftung der Aufnahmen wurde jeweils neben die betroffene Hautstelle (Läsion) eine selbstklebende Mess-Markierung angebracht. Diese Markierung enthielt das Datum sowie die persönliche Identifikationsnummer der Patienten.

Mir ist es gelungen bei knapp 30 Probanden eine entsprechende Fotodokumentation zu machen, wobei nicht alle Hautveränderungen deutlich augenscheinlich oder gar imposant waren. Eine kleine Auswahl beispielhafter Rezidiv-Verläufe ist in einem späteren Kapitel dargestellt.

3.9.4 Adverse Events (AE)

Ein Adverse Event ist ein unerwünschtes Ereignis des Patienten während der Teilnahme an der klinischen Studie; ungeachtet dessen, ob dieses mit der Studienmedikation zusammenhängt. Klinisch signifikant auffällige Laborergebnisse galten ebenfalls als Adverse Event, wenn sie klinische Symptome induzierten oder die Beschwerden einer Therapie benötigten. Medizinische Befunde oder Krankheiten, die vor der Teilnahme an der Studie präsent waren, wurden nur dann als Adverse Event gehandelt, wenn sie sich nach Beginn der Behandlung mit dem Prüfmedikament verschlechtert haben.

Alle Adverse Events wurden im CRF dokumentiert und wenn möglich beschrieben mit:

- Dauer (Datum des Beginns und Ende).
- Zeitlicher Zusammenhang mit der Studienmedikation:

a) In der Behandlungsperiode (ab der ersten Anwendung bis zu 72 Stunden nach der letzten Anwendung);

b) Screening (vor der Behandlung)

c) Nach-Behandlungsperiode.

  - Schweregrad (leicht, mäßig, schwer).
  - Bezug zur Studienmedikation (mutmaßlich oder nicht verdächtig).
  - Welche Maßnahmen unternommen wurden.
  - Ausgang.

Für die Auswertung wurden die AE´s gemäß dem Medical Dictionary for Drug Regulatory Affairs (Meddra Version 8.0) kodiert und dokumentiert [137].

Serious Adverse Event

Ein ungünstiges Ereignis war als ernst einzustufen, wenn der Ausgang folgender war:

- Tod.
- Lebensbedrohliche Zustände.
- Umgehenden Hospitalisierung oder Verlängerung einer Hospitalisierung.
- Bleibende oder vorübergehende signifikante Behinderung/Unfähigkeit.
- Eine maligne Erkrankung oder angeborene Anomalie.
- Ein klinisches Ereignis, dass medizinischer oder operativer Intervention benötigt [137].

3.10 Statistische Methoden

3.10.1 Definitionen der analysierten Populationen

Zwecks der statistischen Auswertung wurden alle Patienten bestimmten Analysegruppen (Populationen) zugeordnet – in Abhängigkeit davon an welchen Phasen der Studie sie teilgenommen haben und wie die Protokolltreue war.

Safety Set (SAF) - Population:

Alle Untersuchungen der Sicherheit wurden anhand dieser Population durchgeführt. Sie beinhaltet all diejenigen Patienten, die randomisiert wurden und mindestens einmal der Prüfmedikation ausgesetzt waren [137].

Full analysis Set FAS / (Intention-to-treat ITT) - Population:

Diese Population basiert auf allen Patienten die mindestens einmal der Prüfmedikation ausgesetzt waren, die innerhalb der ersten 24 Stunden ins Studienzentrum gekommen sind und von denen mindestens eine Effizienz-Bewertung (≥ Visite 2) vorliegt. Alle Wirksamkeitsanalysen sind anhand dieser Population untersucht worden [137].

3.10.2 Nullhypothese und Alternativhypothese der Wirksamkeitskriterien

3.10.2.1 Das Hauptziel

Mit dem Hauptzielkriterium wird die primäre Fragestellung der Studie nach der klinischen Wirksamkeit der Prüfmedikation beantwortet.

Das Hauptziel der Studie ist die Dauer bis zur Verkrustung der Vesikel. Die Dauer ist dabei definiert als die Zeit ab Beginn der Behandlung (Tag 1) bis zu dem Tag, an dem die Vesikel in der betroffenen Läsion sich in weiche oder harte Krusten umgewandelt haben. Der Einfluss des Cyclodextrin Gels auf die Dauer bis zur Verkrustung der Herpes Läsion wurde untersucht indem die beiden Hypothesen über das Hauptziel (zweiseitig) miteinander verglichen wurden:

$H_{0\ (Nullhypothese)}$: Es besteht kein Unterschied zwischen dem Cyclodextrin Gel und dem Placebo Gel bezüglich der Dauer der Verkrustung der Vesikel.

$H_{1(Alternativhypothese)}$: Es besteht ein Unterschied zwischen dem Cyclodextrin Gel und Placebo Gel bezüglich der Dauer der Verkrustung der Vesikel [137].

3.10.2.2. Nebenziele

Die Null- und Alternativhypothesen wurden für jedes der Nebenziele entsprechend gestellt - wie bei dem Hauptziel.

1.Die Dauer bis zum Stillstand der Schmerzen

Die Dauer bis zum Einstellen der Schmerzen ist definiert als die Zeit ab dem Beginn des Schmerzes (≥10mm auf der VAS) hervorgerufen durch ein Herpes genitalis Rezidiv, bis zum Stillstand (≤10mm auf der VAS) der Schmerzen.

2. Die Dauer bis zum Stillstand der Bildung neuer Bläschen

Die Dauer bis zur Beendigung der Bildung neuer Bläschen ist definiert als die Zeit seit Beginn der Therapie am Tag 1 bis zu dem Tag an dem sich keine neuen Vesikel mehr gebildet haben.

3. Die Abnahme der Größe der Herpes Läsion

Die Abnahme des Durchmessers der Läsion ist definiert als die Differenz in mm (Längeneinheit) zwischen dem Durchmesser von Visite 2 und Visite 6; bzw. zwischen einem größeren Durchmesser.

4. Die Dauer der Heilung der Läsion

Die Dauer der Heilung ist definiert ab dem Zeitpunkt des Therapiebeginns (Tag 1) bis zum dem Tag an dem die Haut wieder normal/gesund erschien (die Präsenz eines residualen Erythems war dabei erlaubt).

5. Die Schwere der Hautreaktion an der Stelle der Herpes Läsion

Die Hautreaktionen der Läsion wurden durch den Untersucher anhand eines 4-Punkt-Systems bewertet [137].

3.11 Die Verträglichkeits- / Sicherheitskriterien

Die Verträglichkeit/Sicherheit wurde basierend auf den Angaben über das Ausmaß der Exposition, anhand der Dokumentation von Adverse Events und Serious Adverse Events, sowie der Erhebung der Vitalparameter und der körperlichen Untersuchung mittels einer deskriptiven Statistik beschrieben.

3.12 Material und Daten – Aufbewahrung und Verarbeitung

Es handelt sich hierbei um eine großangelegte und multizentrische Studie die doppelblind und randomisierte gestaltet war und deren Ergebnisse zu einer potentiellen Medikamentenzulassung führen sollten. So ist es ersichtlich, dass die enorm großen Datenmengen der multizentrischen Studienergebnisse einer authorisierten und fachkompetenten Ausarbeitung und Berechnung bedurften.

Die Quelldokumente wurden während der Studiendauer - gemäß der Bestimmungen der GCP (Good Clinical Practice) - in den jeweiligen Studienzentren aufbewahrt. Nach Beendigung der Studie haben die Studienzentren alle relevanten Dokumente (sprich CRF) – ausgenommen der Quelldokumente – an das CRO (Contract Research Organisation) vertreten durch Pharmapart HPC GmbH; Edisonstr.15, D-68605 Lampertheim, übergeben. Verantwortlich für die Verwaltung aller Studienrelevanter Daten war Pharmapart Thawil. Die Daten wurden dort im CTMF (Clinical Trial Master File) aufbewahrt. Für die statistische Analyse wurde im Pheedit® Datenbanksystem eine eigens dafür bestimmte Datenbank angelegt. Hierhin wurden Studiendaten aus den CRF´S eingetragen oder aus externen Quellen übertragen. Aus dieser Datenbank wurden wiederum SAS Datensets generiert, die durch Alpha5, C. Limoni, Via Ceresio6, CH-6826 Riva San Vitale, Schweiz statistisch ausgewertet wurden. Die statistische Analyse wurde mit dem Programm SAS Version 8.2 durchgeführt [137].

Die statistischen Ergebnissdaten wurden wie es üblicherweise bei einer Sponsor-getragenden Studie der Fall ist in einem Klinischen Studienreport (Clinical Trial Report) zusammengetragen. In diesem Fall war der Autor Dr. G. Jost von der Spirig Pharma AG. Der Report der Spirig Pharma AG diente als Grundlage für die Darstellung der Ergebnisse in dieser Promotionsarbeit.

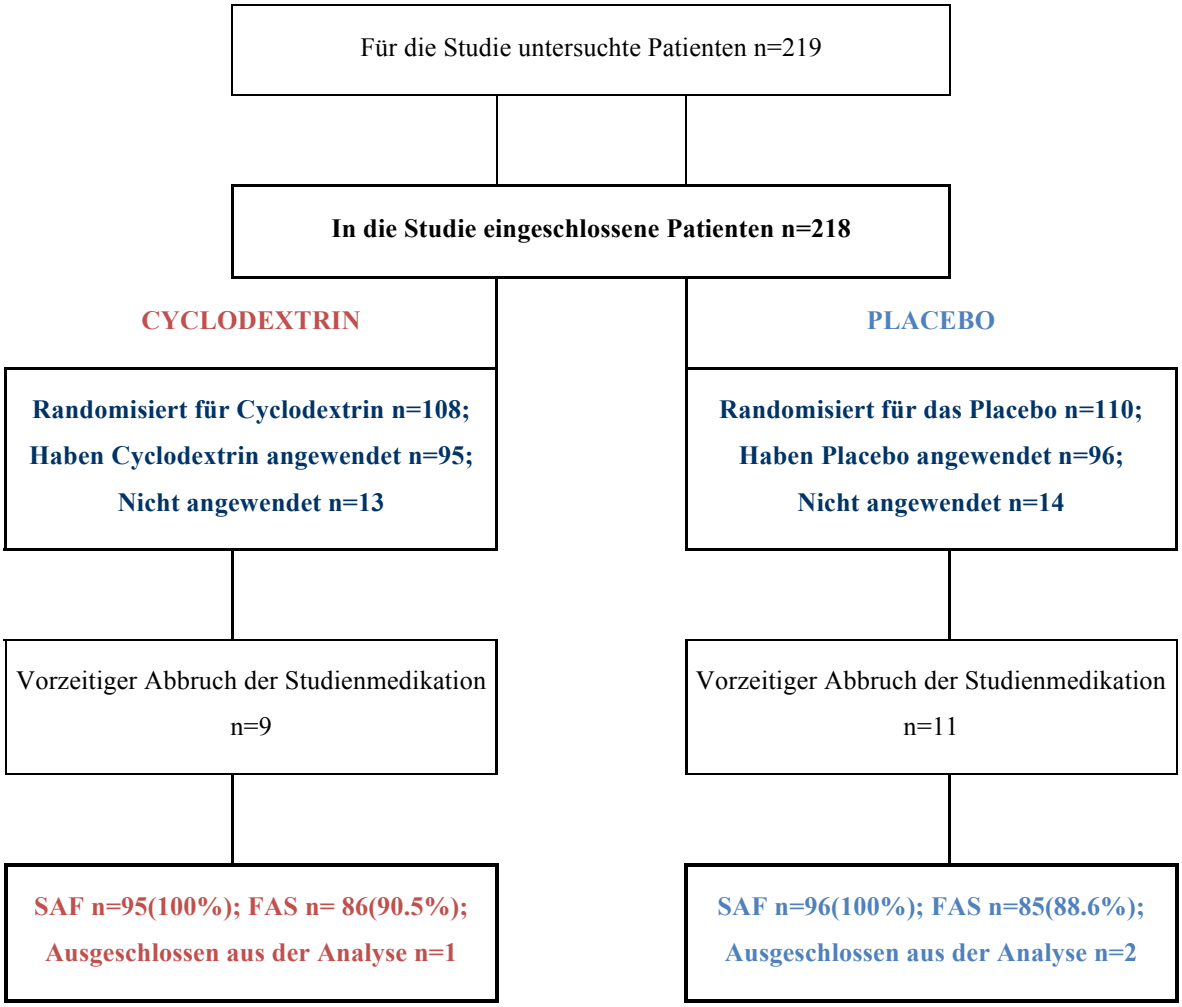
3.12.1 Verlorene Datenangaben

Patienten, die am Ende der Behandlungsperiode (Tag 7) das Krustenstadium nicht erreicht haben, wurden trotzdem wie am Tag 7 beurteilt. Ähnlich wurden Patienten, die den Endpunkt der Studie nicht erreicht hatte und vorher ihre Teilnahme zurückgenommen haben, bezüglich der Dauer der Verkrustung beurteilt, wie zum Zeitpunkt des Rückzuges aus der Studie. Ungenaue oder fehlende Datenangaben, auch bezüglich dem Beginn und Ende eines Adverse Event, der Begleitmedikation oder anderer Diagnosen wurden mit Beachtung der Sicherheitskriterien nicht ersetzt [137].

4 Ergebnisse

4.1 Patienten

Abbildung 8: Flussdiagramm der Patienten



Quelle: [137]

Nach einer Vorauswahl laut der Ein- und Ausschlusskriterien kamen zunächst 219 Patienten für eine Studienteilnahme in Frage. Nach einer genauen Untersuchung wurden schließlich 218 Patienten in die Studie aufgenommen. Ein Patient erfüllte die Kriterien nicht. Mittels der Randomisierung wurden 108 Patienten der Cyclodextrin Gruppe und 110 Patienten der Placebo Gruppe zugeteilt. Aus der Cyclodextrin Gruppe haben 95 Patienten (87.96%), und aus der Placebo Gruppe 96 Patienten (87.27%) das Studienmedikament angewendet. Von insgesamt 218 Patienten haben 191 Patienten (87.61%) ein Studienmedikament genommen. Diese 191 Patienten wurden untersucht anhand der Sicherheitskriterien im Safety Set (SAF) [137].

Aus der SAF Population haben 20 (10.47%) Patienten (9 Patienten mit Cyclodextrin Gel, 11 Patienten mit Placebo) die Behandlung mit dem jeweiligen Studienmedikament vorzeitig abgebrochen. Die Gründe dafür waren jedoch nie ein Adeverse Event. Bei 10 Patienten wurden die Untersuchungstermine nicht beendet , ein Patient entzog vorzeitig seine Teilnahme, 3 Patienten entwickelten keine vollen Symptome eines typischen Rezidivs und verblieben im Prodromalstadium, und 6 Patienten unterbrachen die Therapie aus anderen Gründen [137].

Somit war die FAS – Population für die Untersuchung der Dauer bis zur Verkrustung mit 171 (89.5%) Patienten vertreten [86 (90.5%) Cyclodextrin Gel und 85 (88.6%) Placebo] [137].

3 (1.6%) Patienten wurden aufgrund von ernsten Protokollverstößen [1 (1.1%) Cyclodextrin, 2 (2.1%)Placebo)] ausgeschlossen. Bei 2 Patienten (1 Cyclodextrin, 1 Placebo) wurde der Schwangerschaftstest nicht durchgeführt und bei einem Patienten (Placebogruppe) fand die Untersuchung weit außerhalb der Zeitfensters statt. Somit bestand die PPS – Population, deren Studienteilnahme komplett und lückenlos war, aus insgesamt 168 Patienten (88.0%) [85 (89.5%) Cyclodextrin, 83 (86.5%) Placebo) [137].

Insgesamt 27 Patienten (13 Cyclodextrin, 14 Placebo) haben das Studienmedikament nie angewendet, entweder weil sie in dem Beobachtungszeitraum kein Rezidiv erfahren haben - oder aus anderen persönlichen Gründen [137].

4.1.1 Ausschluss eines Patienten aus der Therapie oder aus der Bewertung

Gründe, die Teilnahme an der klinischen Studie zu unterbrechen oder einen Patienten aus der Bewertung auszuschließen, waren:

1. Der Proband kehrte nicht innerhalb der ersten 24 Stunden nach Beginn der Therapie ins Studienzentrum ein
2. Ein Adverse Event
3. Ein nicht zufriedenstellender therapeutischer Effekt
4. Der Zustand des Patienten erfordert keine Behandlung im Rahmen der Studie mehr
5. Nichteinhaltung der Rahmenbedingungen des Studienprotokolls
6. Der Patient hat die Einverständnis zurückgezogen
7. Ein Kontakt mit dem Patienten ist nicht mehr herstellbar
8. Administrative Probleme
9. Tod [137].

4.2 Patientencharakteristika

Das Gesamtstudienkollektiv bestand aus 191 Patienten (95 Cyclodextrin Gel und 96 Placebo). Teilgenommen haben 63 (33.0%) Männer und 128 (67.0%) Frauen. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 47.6 Jahre (18.7 - 83.7 Jahre), das mittlere Gewicht betrug 72.4 kg (50.0 – 130.0 kg) und die durchschnittliche Größe war 170.8 cm (149.0 – 193.0 cm). Beide Studienarme waren bezüglich der demographischen Daten in ihren Charakteristika vergleichbar [137].

Tabelle 4: Demographische Angaben der Angaben

		Cyclodextrin Gel	Placebo	Total
Anzahl der Patienten (n)		95	96	191
Alter (Jahre)		46.7	48.6	47.6
	(Bereich)	(23.6-76.9)	(18.7-83.7)	(18.7-83.7)
Geschlecht	**Männer (n)**	35 (36.8%)	28 (29.2%)	63 (33.0%)
	Frauen (n)	60 (63.2%)	68 (70.8%)	128 (67.0%)
Gewicht (kg)		72.8	72.1	72.4
	(Bereich)	(51.0-104.0)	(50.0-130.0)	(50.0-130.0)
Größe (cm)		171.1	170.5	170.8
	(Bereich)	(149.0-193.0)	(150-190.0)	(149.0-193.0)

Quelle: [137]

4.2.1 Raucheranamnese

Die Raucheranamnese war in beiden Studienarmen ähnlich. Jeweils mehr als 50% der Patienten in jeder Gruppe gaben an, nie geraucht zu haben, weniger als 20% waren ehemalige Raucher und ca. 26% der Patienten gaben an, derzeit zu rauchen [137].

Tabelle 5: Raucheranamnese

	Cyclodextrin Gel		Placebo	
Raucher Klassifikation	**n**	**%**	**n**	**%**
Raucht	27	(26.2%)	27	(25.5%)
Ex-Raucher	19	(18.4%)	17	(16.0%)
Nie geraucht	57	(55.3%)	62	(58.5%)
Total	103	100%	106	100%

Quelle: [137]

4.2.2 Begleiterkrankungen

Es wurden insgesamt 121 Fälle einer Begleiterkrankung gemeldet - 66 Fälle in der Cyclodextrin Gel Gruppe und 55 Fälle in der Placebo Gruppe. Weil ein Patient auch mehrere Begleiterkrankungen haben kann, ist nicht genau bekannt, wie viele Patienten genau in der Anamnese eine Begleiterkrankung hatten.

Die häufigste Begleiterkrankung war die Arterielle Hypertension: mit mehr als 25% Anteil in jeder Gruppe und 26,45% an der Gesamthäufigkeit. Am zweit häufigsten waren verschiedene Erkrankungen der Schilddrüse die in der Cyclodextrin Gel Gruppe einen Anteil von 12,12% und in der Placebo Gruppe 9,09% ergaben und zusammengenommen einen Anteil von 10,74% machten. Ebenfalls häufig war die Hypercholesterinämie, die zu 3% in der Cyclodextrin Gruppe und zu 12.7% in der Placebogruppe vertreten war. Andere Begleiterkrankungen waren nicht mehr als zu jeweils 6% in jeder Gruppe vertreten und stellten kaum mehr als 3% Anteil an der Gesamthäufigkeit dar [137].

Tabelle 6: Begleiterkrankungen

Begleiterkrankungen	Cyclodextrin Gel		Placebo		Total	
	n	%	n	%	n	%
art. Hypertension	18	27,27%	14	25,45%	32	26,45%
Hypercholesterinämie	2	3,03%	7	12,73%	9	7,44%
Osteoporose	1	1,52%	3	5,45%	4	3,31%
Schilddrüsenaerkrankungen	8	12,12%	5	9,09%	13	10,74%
Psoriasis vulgaris	2	3,03%	1	1,82%	3	2,48%
Periorale Dermatitis	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Rhinokonjunctivitis	4	6,06%	0	0,00%	4	3,31%
Varikosis	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Urticaria	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Trigeminus Neuralgie	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Tinnitus	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Syphilis	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Leberverfettung	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Sphärozytose	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Reflux oesophagitis	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Status nach Schlaganfall	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Polyarthorose	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Mykose	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Nickelallergie	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Neurodermitis/atop. Dermatitis	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Milbenkotallergie	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Milchproteinintoleranz	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Migräne	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Menstrualtionsstörung	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Mamma Karzinom	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Lymphödem	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Wirbelsäulenerkrankungen	2	3,03%	1	1,82%	3	2,48%
Inkontinez	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Hysterectomy	0	0,00%	2	3,64%	2	1,65%
Hyperlipidämie	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Glaukom	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Gastritis	2	3,03%	0	0,00%	2	1,65%
Formaldehydallergie	1	1,52%	1	1,82%	2	1,65%
Folliculitis	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Handekzem	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Divertikulitis	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Diabetes mellitus	0	0,00%	2	3,64%	2	1,65%
Depressionen	0	0,00%	2	3,64%	2	1,65%
Colitis ulcerosa	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
chron. Schmerzsyndrom	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
kardiale Arrhythmie	2	3,03%	1	1,82%	3	2,48%
Atriumseptum Defekt	0	0,00%	1	1,82%	1	0,83%
Asthma bronchiale	2	3,03%	0	0,00%	2	1,65%
Adipositas	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
andere Allergien	1	1,52%	0	0,00%	1	0,83%
Total	**66**	100,00%	**55**	100,00%	**121**	100,00%

Quelle: [137]

4.2.3 Begleitmedikation

Insgesamt 137 Patienten – das sind 62,84% aller Patienten - nahmen eine Begleitmedikation ein. Davon waren 61 Patienten aus der Cyclodextrin Gel Gruppe und 76 Patienten aus der Placebo Gruppe.

Tabelle 7: Anzahl der Patienten mit einer Begleitmedikation

	Cyclodextrin Gel	Placebo	Total
Anzahl der Patienten mit Begleitmedikation	61	76	137

Entsprechend der Häufigkeit bei den Begleiterkrankungen war mit 29,37% das häufigste zugelassene Begleitmedikament ein Mittel gegen arteriellen Bluthochdruck (zu 34,55% in der Cyclodextrin Gel Gruppe und zu 23,35% in der Placebo Gruppe). Ebenfalls sehr häufig waren orale Kontrazeptiva mit insgesamt 11,11% (12,73% Cyclodextrin Gel und 9,86% Placebo). Am dritt häufigsten – mit insgesamt 8,73% - nahmen Patienten Medikamente gegen verschiedene Schilddrüsenerkrankungen ein (am häufigsten gegen Struma). Ebenfalls häufig vertreten - mit insgesamt 7,94% - waren Medikamente gegen Osteoporose. Besonders auffallend ist ihr Anteil mit 11,27% in der Placebo Gruppe. Ausgenommen Medikamente gegen eine Hypercholesterinämie – mit einem Anteil von 5,56% an der Gesamtheit - waren andere Medikamente zu nicht mehr als 5% anteilig vertreten [137].

Tabelle 8: Begleitmedikationen zu den jeweiligen Begleitdiagnosen in Anzahl und Prozent

Begleitmedikation	Cyclodextrin Gel		Placebo		Total	
	n	%	n	%	n	%
Art. Hypertension	19	34,55%	18	25,35%	37	29,37%
Kontrazeption	7	12,73%	7	9,86%	14	11,11%
Osteoporose	2	3,64%	8	11,27%	10	7,94%
Schilddrüsenerkrankungen	6	10,91%	5	7,04%	11	8,73%
Hypercholesterinämie	2	3,64%	5	7,04%	7	5,56%
Menopause	3	5,45%	3	4,23%	6	4,76%
Gastritis	3	5,45%	0	0,00%	3	2,38%
Depressionen	0	0,00%	3	4,23%	3	2,38%
Prevention einer Infektion	2	3,64%	0	0,00%	2	1,59%
Schmerzen	2	3,64%	4	5,63%	6	4,76%
Heuschnupfen	0	0,00%	2	2,82%	2	1,59%
Vaginalinfektion	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Asthma bronchiale	1	1,82%	1	1,41%	2	1,59%
Vitamine/Spurenelemente	2	3,64%	1	1,41%	3	2,38%
Urtikaria	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Trigeminus Neuralgie	2	3,64%	0	0,00%	2	1,59%
Unruhe	1	1,82%	0	0,00%	1	0,79%
Reflux ösophagitis	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Prophylaxe	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Prävention einer Thrombose	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Periorale Dermatitis	1	1,82%	0	0,00%	1	0,79%
Mykose	1	1,82%	0	0,00%	1	0,79%
Menstruationsstörung	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Z.n. Mamma Karzinom	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Inkontinenz	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Hyperlipidämie	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Herpes Zoster	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Migräne	1	1,82%	0	0,00%	1	0,79%
Erectile Dysfunktion	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
Ekzem	0	0,00%	2	2,82%	2	1,59%
Diabetes mellitus	0	0,00%	1	1,41%	1	0,79%
	55	100,00%	**71**	100,00%	**126**	100%

Quelle: [137]

4.3 Bewertung der Therapieergebnisse über die Wirksamkeit

4.3.1 Bewertung des Hauptziels - Die Dauer bis zur Verkrustung

Um die Dauer bis zur Verkrustung zur untersuchen wurde basierend auf der FAS Population eine Überlebenszeitanalyse mit der SAS-Prozedur **Proc Lifetest** durchgeführt. Dazu wurden beide

Gruppen (Verum/Placebo) mittels der Kaplan-Meier-Schätzung (Product-Limit Survival Estimate) und des Logrank-Tests, die jeweils für die Verwendung an zensierten Daten geeignet sind, untersucht. Alle Tests wurden doppelseitig, auf dem 5% Signifikanz Niveau und mit einem 95% Konfidenzintervall durchgeführt [137].

Tabelle 9: Kaplan-Meier-Überlebensschätzung der Dauer bis zum Krustenstadium unter der Behandlung mit Cyclodextrin und Placebo (anhand der FAS Population)

	Cyclodextrin Gel			Placebo		
Tag	**Krusten-bildung**	**Keine Krusten-bildung**	**Standard-fehler**	**Krusten-bildung**	**Keine Krusten-bildung**	**Standard-fehler**
0	0 0%	86 100%	0	0 0%	85 100%	0
2	3 3.49%	83 96.51%	0.0198	4 4.71%	81 95.29%	0.0230
3	20 23.26%	81 76.74%	0.0456	14 16.47%	71 83.53%	0.0402
5	62 72.09%	24 27.91%	0.0484	48 56.47%	37 43.53%	0.0538
7	78 90.70%	8 9.30%	0.0313	67 78.82%	18 21.18	0.0443

Quelle: [137]

Die Nullhypothese (H_0), dass es keinen Unterschied gibt in der Therapie zwischen dem Cyclodextrin Gel und dem Placebo bezüglich der Dauer bis zu Verkrustung, wurde verworfen: Logrank -Test mit **p=0.0181.** Für Patienten die das Cyclodextrin Gel angewendet haben, war die Dauer bis zur Verkrustung signifikant kürzer. Die durchschnittliche Dauer betrug bei dem Cyclodextrin Gel 5.07±0.16 Tage und bei dem Placebo 5.49±0.17 Tage [137].

4.3.2 Bewertung der Nebenziele

1) Dauer bis zum Einstellen der Schmerzen hervorgerufen durch die Herpes Läsion

Diese statistische Kalkulation basiert lediglich auf den Patienten, die am Tag 1 Schmerzen erfahren hatten. Das waren 165 Patienten (Cyclodextrin Gel n= 83, Placebo n=82). Die Dauer bis zur Beendigung der Schmerzen wurde in beiden Gruppen anhand der Kaplan-Meier-Methode und des Logrank-Tests verglichen. Die Nullhypothese (H_0), dass kein Unterschied besteht, zwischen dem Cyclodextrin Gel und dem Placebo bezüglich der Dauer bis zum Einstellen der

Schmerzen hervorgerufen durch die Herpes Läsion konnte verworfen werden: Logrank Test **p=0.0467.** Die Dauer bis zum Stillstand der Schmerzen war bei Patienten mit Cyclodextrin Gel signifikant kürzer. Die durchschnittliche Dauer in der Cyclodextrin Gruppe betrug 5.85±0.19 Tage und in der Placebo Gruppe 6.48±0.14 Tage [137].

Tabelle 10: Kaplan-Meier-Schätzung: Dauer bis zum Einstellen der Schmerzen nach der Behandlung mit Cyclodextrin Gel oder Placebo (Population: 165 Patienten mit Schmerzen am Tag 1)

	Cyclodextrin Gel					Placebo				
Tag	**Schmerzstillstand**		**Kein Schmerzstill-stand**		**Standard-fehler**	**Schmerzstillstand**		**Kein Schmerz-stillstand**		**Standard-fehler**
0	0	0,00%	83	100%	0	0	0,00%	82	100%	0
2	5	6,02%	78	93,98%	0.0261	3	3,66%	79	96,34%	0.0207
3	15	18,07%	68	81,93%	0.0422	5	6,10%	77	93,90%	0.0264
5	30	36,14%	53	63,86%	0.0527	15	18,29%	67	81,71%	0.0427
7	47	56,63%	36	43,37%	0.0544	37	45,12%	45	54,88%	0.0550

Quelle: [137]

2) Dauer bis zur Stillstand der Bildung neuer Bläschen

Die Dauer bis zum Stillstand der Bläschenbildung wurde anhand der Kaplan-Meier-Schätzung und des Logrank-Tests basierend auf der FAS Population verglichen. Die Nullhypothese (H_0), dass kein Unterschied besteht zwischen den beiden Behandlungsmethoden wurde akzeptiert: Logrank Test p=0.9668 [137].

Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen Cyclodextrin Gel und dem Placebo bezüglich der Dauer bis zur Beendigung der Bildung neuer Bläschen. Die durchschnittliche Dauer in der Cyclodextrin Gruppe betrug 2.3±0.24 Tage, und in der Placebo Gruppe 2.4±0.23 Tage [137].

Tabelle 11: Kaplan-Meier-Schätzung der Dauer bis zur Beendigung der Bildung neuer Bläschen nach Cyclodextrin Gel und Placebo Behandlung (FAS Population)

	Cyclodextrin Gel					Placebo				
Tag	**Stillstand der Bläschenbildung**		**Kein Stillstand der Bläschenbildung**		**Standard-fehler**	**Stillstand der Bläschenbildung**		**Kein Stillstand der Bläschenbil-dung**		**Standard-fehler**
0	0	0,00%	86	100%	0	0	0,00%	85	100%	0
2	60	69,77%	26	30,23%	0.0495	56	65,88%	29	34,12%	0.0514
3	69	80,23%	17	19,77%	0.0429	64	75,29%	21	24,71%	0.0468
5	74	86,05%	12	13,95%	0.0374	77	90,59%	8	9,41%	0.0317
7	85	98,84%	1	1,16%	0.0116	84	98,82%	1	1,12%	0.0117

Quelle: [137]

3) Abnahme der Größe (Durchmesser) der Herpes Läsion

Die größte Differenz des Durchmessers beider Gruppen wurde mittels des T-Tests für verbundene Stichproben anhand der FAS Population untersucht. Die Nullhypothese (H_0), dass kein Unterschied besteht zwischen den beiden Behandlungsmethoden bezüglich der Größenreduktion im Vergleich zur Ausgangsgröße wurde akzeptiert: T-Test für verbundene Stichproben, p=0.12. Die Abnahme des Durchmesser der Herpes Läsion war in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich groß. Die durchschnittliche Abnahme des Durchmessers betrug in der Cyclodextrin Gruppe -10.1±10.4mm und in der Placebo Gruppe -7.8±9.9mm (Durchschnitt ± Standardabweichung) [137].

Der mittlere Durchmesser einer Herpes Läsion war am Tag 2 in den beiden Gruppen vergleichbar und signifikant anders am Tag 7: T-Test für verbundene Stichproben, **p=0.039**. Am Tag 7 war die durchschnittliche gemessene Größe der Herpesläsion bei den Patienten aus der Cyclodextrin Gel Gruppe kleiner, als bei den Patienten aus der Placebo Gruppe [137].

Tabelle 12: t-Test für verbundene Stichproben: Abnahme der Größe (Durchmesser) der Herpes Läsion nach Behandlung mit Cyclodextrin Gel und Placebo (FAS Population)

Visite	Behandlung	Größe durchschnit. (in mm)	95 % Konfidenzintervall	P Wert für einen Unterschied zwischen den Gruppen	P Wert für einen Unterschied zur Ausgangsgröße
Visite 2 (Tag 1)	**Cyclodextrin Gel**	15.3 (1.04)	(13.2 bis 17.3)	0.94	
	Placebo	15.4 (0.83)	(13.7 bis 17.2)		
Visite 6 (Tag7)	**Cyclodextrin Gel**	5.2 (0.69)	(3.8 bis 6.6)	**0.039**	
	Placebo	7.6(0.91)	(5.8 bis 9.4)		
Unterschied zwischen Visite 2und Visite 6	**Cyclodextrin Gel**	´-10.1 (1.13)	(´-12.3 bis ´-7.8)		0.14
	Placebo	´-7.8 (1.07)	(´-9.9 bis ´-5.6)		

*SEM- geschätzter Standardfehler (Standardabweichung des Schätzers)

Quelle: [137]

4) Dauer bis zur Heilung der Läsion

Die Dauer der Heilung wurde anhand der FAS Population und mittels der Kaplan-Meier-Methode und des Logrank-Tests bewertet. Die Nullhypothese (H_0), dass kein Unterschied besteht zwischen dem Cyclodextrin Gel und dem Placebo bezüglich der Dauer bis zur Heilung der Läsion, konnte verworfen werden: Logrank Test **p=0.0316.** Die Dauer bis zur Heilung der Läsion war beim Cyclodextrin Gel signifikant kürzer. Die durchschnittliche Dauer bis zur Heilung betrug in der Cyclodextrin Gruppe 6.59±0.12 Tage und in der Placebo Gruppe 6.88±0.05 Tage [137].

Tabelle 13: Kaplan-Meier-Schätzung über die Dauer der Heilung der Läsion (FAS Population)

	Cyclodextrin Gel					Placebo				
Tag	**Heilung der Läsion**		**Keine Heilung der Läsion**		**Standardfehler**	**Heilung der Läsion**		**Keine Heilung der Läsion**		**Standardfehler**
0	0	0,00%	86	100%	0	0	0,00%	85	100%	0
2	1	1,16%	85	98,84%	0.0116	0	0,00%	85	100%	0
3	5	5,81%	81	94,19%	0.0252	0	0,00%	85	100%	0
5	12	13,95%	74	86,05%	0.0374	5	5,88%	80	94,12%	0.0255
7	46	53,49%	40	46,51%	0.0538	33	38,82%	52	61,18%	0.0529

Quelle: [137]

5) Schwere der Hautreaktion an der Stelle der herpetischen Läsion

Die statistische Auswertung der Punktzahlen für die Hautreaktionen basiert auf der FAS Population. Die Gesamtpunktzahl und die Punktzahlen für die jeweiligen Läsionen beider Gruppen wurden anhand der Visiten 2,3,4,5 und 6 verglichen und durch eine zusammenfassende Statistik sowie durch den t-Test untersucht. Die Nullhypothese (H_0), dass kein Unterschied besteht zwischen dem Cyclodextrin Gel und dem Placebo bezüglich des Erythems der betroffenen Hautläsion konnte für Tag 3, Tag 5 und Tag 7 verworfen werden: Student t Test **p=0.015, p=0.020, p=0.025.** Die Bewertungspunkte waren in der Placebo Gruppe statistisch signifikant schlechter als in der Cyclodextrin Gruppe [137].

Tabelle 14: Schwere der Hautreaktion - Erythem

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	**Cyclodextrin Gel**	86	1.30	0.87	1.00	1.12	1.49	0.289
	Placebo	85	1.25	0.84	1.00	1.07	1.43	
2	**Cyclodextrin Gel**	86	1.44	0.88	1.00	1.25	1.63	0.485
	Placebo	85	1.55	0.87	2.00	1.37	1.74	
3	**Cyclodextrin Gel**	86	1.31	0.95	1.00	1.11	1.52	**0.015**
	Placebo	85	1.44	0.92	1.00	1.24	1.63	
5	**Cyclodextrin Gel**	83	0.81	0.83	1.00	0.63	0.99	**0.020**
	Placebo	85	0.88	0.88	1.00	0.69	1.07	
7	**Cyclodextrin Gel**	83	0.29	0.60	0.00	0.16	0.42	**0.025**
	Placebo	82	0.41	0.70	0.00	0.26	0.57	

Quelle: [137]

Die Bewertungspunktzahlen der übrigen Hautreaktionsmerkmale wie Ödem, Exsudat, Vesikel, Erosion/ Ulzeration, Schuppung/ Trockenheit sowie die summierten Punktzahlen der Reaktionsmerkmale waren in beiden Studiengruppen vergleichbar und nicht signifikant anders [137].

Tabelle 15: Schwere der Hautreaktion - Ödem

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	**Cyclodextrin Gel**	86	1,55	0.78	1.00	1.38	1.71	0.674
	Placebo	85	1,67	0.75	2.00	1.51	1.83	
2	**Cyclodextrin Gel**	86	1,71	0.76	2.00	1.55	1.87	0.401
	Placebo	85	1,79	0.71	2.00	1.64	1.94	
3	**Cyclodextrin Gel**	86	1,56	0.81	1.00	1.39	1.73	0.397
	Placebo	85	1,86	0.79	2.00	1.69	2.03	
5	**Cyclodextrin Gel**	83	1,19	0.71	1.00	1.04	1.35	0.571
	Placebo	85	1,45	0.70	1.00	1.30	1.60	
7	**Cyclodextrin Gel**	83	1,73	0.61	1.00	0.60	0.87	0.217
	Placebo	82	0,98	0.75	1.00	0.81	1.14	

Quelle: [137]

Tabelle 16: Schwere der Hautreaktion - Exsudat

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	**Cyclodextrin Gel**	86	0.23	0.55	0.00	0.12	0.35	0.300
	Placebo	85	0.15	0.45	0.00	0.06	0.25	
2	**Cyclodextrin Gel**	86	0.56	0.85	0.00	0.38	0.74	0.752
	Placebo	85	0.52	0.83	0.00	0.34	0.70	
3	**Cyclodextrin Gel**	86	0.84	0.91	1.00	0.64	1.03	0.234
	Placebo	85	0.67	0.92	0.00	0.47	0.87	
5	**Cyclodextrin Gel**	83	0.34	0.59	0.00	0.21	0.47	0.185
	Placebo	85	0.47	0.70	0.00	0.32	0.62	
7	**Cyclodextrin Gel**	83	0.13	0.41	0.00	0.04	0.22	0.063
	Placebo	82	0.28	0.59	0.00	0.15	0.41	

Quelle: [137]

Tabelle 17: Schwere der Hautreaktion - Vesikel

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	**Cyclodextrin Gel**	86	0.73	0.89	0.00	0.54	0.92	0.085
	Placebo	85	0.71	0.92	0.00	0.51	0.91	
2	**Cyclodextrin Gel**	86	1.12	0.98	1.00	0.91	1.33	0.094
	Placebo	85	1.38	01. Mai	1.00	1.15	1.60	
3	**Cyclodextrin Gel**	86	1.01	1.00	1.00	0.80	1.23	0.058
	Placebo	85	1.31	1.01	1.00	1.09	1.52	
5	**Cyclodextrin Gel**	83	0.39	0.73	0.00	0.23	0.54	0.121
	Placebo	85	0.58	0.85	0.00	0.39	0.76	
7	**Cyclodextrin Gel**	83	0.04	0.19	0.00	´-0.00	0.08	0.096
	Placebo	82	0.12	0.43	0.00	0.03	0.22	

Quelle: [137]

Tabelle 18: Schwere der Hautreaktion - Erosion/Ulzeration

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	**Cyclodextrin Gel**	86	0.17	0.51	0.00	0.06	0.28	0.322
	Placebo	85	0.11	0.38	0.00	0.02	0.19	
2	**Cyclodextrin Gel**	86	0.31	0.74	0.00	0.16	0.47	0.449
	Placebo	85	0.40	0.74	0.00	0.24	0.56	
3	**Cyclodextrin Gel**	86	0.40	0.72	0.00	0.24	0.55	0.451
	Placebo	85	0.48	0.78	0.00	0.31	0.65	
5	**Cyclodextrin Gel**	83	0.48	0.72	0.00	0.32	0.64	0.666
	Placebo	85	0.53	0.70	0.00	0.38	0.68	
7	**Cyclodextrin Gel**	83	0.27	0.54	0.00	0.15	0.38	0.328
	Placebo	82	0.35	0.62	0.00	0.22	0.49	

Quelle: [137]

Tabelle 19: Schwere der Hautreaktion - Schuppung/Trockenheit

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	Cyclodextrin Gel	86	0.03	0.24	0.00	´-0.02	0.09	0.073
	Placebo	85	0.05	0.26	0.00	´-0.01	0.10	
2	Cyclodextrin Gel	86	0.13	0.40	0.00	0.04	0.21	0.801
	Placebo	85	0.16	0.46	0.00	0.07	0.26	
3	Cyclodextrin Gel	86	0.33	0.54	0.00	0.21	0.44	0.527
	Placebo	85	0.28	0.53	0.00	0.17	0.40	
5	Cyclodextrin Gel	83	0.78	0.81	1.00	0.61	0.96	0.195
	Placebo	85	0.66	0.73	1.00	0.50	0.82	
7	Cyclodextrin Gel	83	0.42	0.65	0.00	0.28	0.56	0.965
	Placebo	82	0.44	0.63	0.00	0.30	0.58	

Quelle: [137]

Tabelle 20: Schwere der Hautreaktion - Summe aller Punkte

Tag	Behandlung	Anzahl (n)	Durch-schnitt	SD	Median	Oberes 95% KI	Unteres 95% KI	p Wert
1	Cyclodextrin Gel	86	4.10	2.53	4.00	3.56	4.65	0.623
	Placebo	85	3.93	2.10	4.00	3.48	4.38	
2	Cyclodextrin Gel	86	5.34	3.32	5.00	4.63	6.05	0.268
	Placebo	85	5.88	3.08	5.00	5.22	6.55	
3	Cyclodextrin Gel	86	5.58	3.57	5.00	4.82	6.35	0.498
	Placebo	85	6.14	3.27	6.00	5.44	6.85	
5	Cyclodextrin Gel	83	4.37	3.10	4.00	3.70	5.05	0.287
	Placebo	85	4.84	2.97	4.00	4.20	5.48	
7	Cyclodextrin Gel	83	2.14	2.38	1.00	1.62	2.67	0.326
	Placebo	82	2.85	2.75	2.00	2.25	3.46	

Quelle: [137]

4.4 Bewertung der Therapieergebnisse über die Sicherheit

Die statistische Kalkulation über die Sicherheit und die Adverse Events wurde basierend auf den 191 Patienten aus der Safety Population (SAF) deskriptiv ausgewertet [137].

4.4.1 Ausmaß der Exposition

Die Exposition gegenüber dem Studienmedikament als eins der Sicherheitskriterien konnte aus Mangel an legitimer Dokumentation bzw. Verlust einiger verbliebener Studienmedikation nicht genau ermittelt werden [137].

4.4.2 Adverse Events (AE)

Neun (4,7%) der 191 Patienten aus der SAF Population haben während der Behandlungsperiode einen Adverse Event erlebt. Von den 9 betroffenen Patienten waren 2 Patienten (2,1%) aus der Cyclodextrin Gel Gruppe und 7 Patienten (7,3%) aus der Placebo Gruppe. Ausgenommen eine weibliche Patientin, die zwei Episoden eines Adverse Events hatte, hatten alle anderen Patienten jeweils nur eine Episode. Somit wurden insgesamt 10 Episoden eines AE´s gemeldet [137].

Tabelle 21: Übersicht über die Anzahl und Verteilung der AEs und SAE´s während der Behandlungsperiode in den jeweiligen Studiengruppen

	Cyclodextrin Gel n=95	Placebo n=96	Total
Anzahl der Patienten mit einem AE	2 (2,1%)	7 (7,3%)	9 (4,9%)
Anzahl der AE´s	3	7	10

Quelle: [137]

4.4.2.1 Der Bezug der AE´s zum Studienmedikament

Keins der mit Cyclodextrin Gel behandelten Patienten hatte eine Adverse Event, das im direkten Zusammenhang mit der angewendeten Studienmedikation stattfand [137].

Drei Patienten aus der Placebo Gruppe erlebten einen Adverse Event in direkter Relation zum Studienmedikament. Kein Patient, der während der Behandlungsperiode ein AE erlebte, unterbrach auf Grund dessen die Behandlung mit dem Studienmedikament. [137].

Tabelle 22: Bezug der AE´s zum Studienmedikament

	Cyclodextrin Gel	Placebo	Total
Anzahl der Adverse Event - Episoden	3	7	10
Studienmedikament abhängige AE´s	0 (0,00%)	3 (42,9%)	3 (42,9%)
Unterbrechung der Therapie auf Grund eines AE´s	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Quelle: [137]

4.4.2.2 Von den AE´s betroffene Organsysteme

Aus der Cyclodextrin Gel Gruppe hatte ein Patient eine Zystitis bekommen und somit ein Adverse Event mit einer Störung bzw. Erkrankung der Nieren oder der Harnableitenden Organe. Ein zweiter Patient hatte eine Episode einer Angina pectoris und somit einen AE des Brustkorbes und des Mediastinums. Keins der beiden AE Fälle hatte einen Bezug zum Studienmedikament [137].

Aus der Placebo Gruppe hatten drei Patienten einen Adverse Event in direkter Relation zum Studienmedikament. Im Falle eines Patienten trat ein leichtes Brennen im Genitalbereich direkt nach Applikation des Studienmedikaments auf. Ein anderer Patient erlebte eine Verstärkung des Schmerzempfindens an der primären Läsion mittleren Grades, sowie eine neue Vesikelbildung schweren Grades an anderer Stelle als die der Primärlesion. Dieses AE wurde mit Voltaren® behandelt. Bei dem dritten Patienten äußerte sich das AE als Verstärkung der bisher empfundenen Schmerzintensität. Zwei dieser drei Patienten hatten somit einen AE der die Fortpflanzungsorgane und/ oder Brüste betraf. Ein Patient musste sich auf Grund des AE´s medizinisch untersuchen bzw. behandeln lassen [137].

Die anderen AE´s - nicht medikamentenbezogenen AE´S - betrafen in zwei Fällen eine Erkrankung bzw. Störung der Haut und der Subcutis mit einem Ekzem und einem Brenngefühl der Haut. In zwei weiteren Fällen betraf dies eine Infektion bzw. Befall mit einem Herpes zoster und eine Vaginalinfektion, sowie in einem letzten Fall eine Erkrankung bzw. Störung des Blut- und Lymphsystems [137].

Tabelle 23: Überblick und Verteilung der AE - Diagnosen nach WHO

Adverse Event	Cyclodextrin Gel		Placebo		Studienmedikament - bezogene Fälle	
	Anzahl der Fälle	% der Studien-gruppe	Anzahl der Fälle	% der Studien-gruppe	Nein	Ja
Renale und Urogenitale Stö-rungen	1	50,00%	0	0,00%	1 (100%)	0 (0,00%)
Respiratirische, Thorakale u. Mediastinale Störungen	1	50,00%	0	0,00%	1 (100%)	0 (0,00%)
Störungen der Haut / bzw. Subcutis	0	0,00%	2	25,00%	2 (100%)	0 (0,00%)
Infektionen und Befall	0	0,00%	2	25,00%	2 (100%)	0 (0,00%)
Störungen der Geschlechtor-gane / Brust	0	0,00%	2	25,00%	0 (0,00%)	2 (100%)
Untersuchungen	0	0,00%	1	12,50%	0 (0,00%)	1 (100%)
Störungen des Blut-/ Lymphsy-stems	0	0,00%	1	12,50%	1 (100%)	0 (0,00%)
Total	2	100,00%	8	100,00%	7 (70%)	3 (30%)

Quelle: [137]

4.4.2.3 Schweregrade der AE´s

Die zwei Episoden eines AE´s die unter der Therapie mit dem Cyclodextrin Gel auftraten waren beide leichten Grades [137].

In der Placebo Gruppe waren zwei Episoden eines AE´s mild, fünf waren mittleren Grades und eine Episode war schweren Grades [137].

Tabelle 24: Verteilung der Schweregrade der AE´s nach Diagnosen und Studiengruppe

Adverse Event	Cyclodextrin Gel	Placebo	Intensität		
	n=	n=	mild	mäßig	schwer
Renale und Urogenitale Störungen					
Cystistis	1	0	1	0	0
Respiratirische, Thorakale u. Mediastinale Störungen					
Angina	1	0	1	0	0
Störungen der Haut / Subcutis					
Ekzem	0	1	0	1	0
Brenngefühl der Haut	0	1	0	1	0
Infektionen und Befall					
Herpes Zoster	0	1	0	1	0
Vaginalinfektion	0	1	1	0	0
Störungen der Geschlechtsorgane / bzw. der Brust					
Genitalschmerz, zunehmend	0	1	0	1	0
Genitalschmerz	0	1	0	0	1
Untersuchung auf Grund von					
Brenngefühl im Genitalbereich	0	1	1	0	0
Störungen des Blut-/ Lymphsystems					
Lymphadenopathie	0	1	0	1	0
Total	2 (20%)	8 (80%)	4 (40%)	5 (50%)	1 (10%)

Quelle: [137]

4.4.2.4 Serious Adverse Event (SAE)

Keiner der Patienten, die mit einem der beiden Studienmedikamente behandelt wurden (Verum/Placebo) hatte einen Serious Adverse Event (SAE). Eine 66 jährige Patientin die der Cyclodextrin Gel Gruppe zugeteilt war, aber mit dem Studienmedikament noch nicht behandelt wurde, erlebte in der Screening Phase einen Schlaganfall und somit einen Serious Adverse Event (SAE). Die Teilnahme dieser Patientin wurde vorzeitig beendet. Es haben keine weiteren signifikanten SAE´s oder Todesfälle stattgefunden [137].

4.4.2.5 Ausgang der AE´s und SAE´s

Drei Episoden eines AE´s (Schlaganfall, Zystistis und Lymphadenopatie) dauerten bis zur Beendigung der Dauer der Studie an. Ein Ausgang eines AE´s mit Verstärkten Schmerzen und einer Bläschenneubildung ist nicht bekannt. Alle anderen Patienten haben sich bis zum Ende der Studiendauer von den AE´s erholt [137].

4.4.3 Vitalzeichen, körperliche Untersuchung und andere für die Sicherheit des Studienmedikaments relevante Beobachtungen

4.4.3.1 Vitalzeichen

Die Vitalzeichen wie Blutdruckparameter und Pulsrate waren in beiden Studiengruppen vergleichbar und änderten sich über die Dauer der Beobachtungen (Visite 1-6) nicht deutlich.

Tabelle 25: Vitalzeichen: Blutdruckparameter der SAF Population (191 Patienten)

	Cyclodextrin Gel				Placebo			
Parameter	**Blutdruck diastol.**		**Blutdruck systol.**		**Blutdruck diastol.**		**Blutdruck systol.**	
Visiten	**Screening**	**Tag 7**	**Screening**	**Tag 7**	**Screening**	**Tag 7**	**Screening**	**Tag 7**
Anzahl (n)	95	84	95	84	96	83	96	83
Durchschnitt + (SD)	78.73 (9.16)	78.07 (7.87)	127.81 (13.41)	125.63 (10.55)	78.82 (10.57)	78.25 (9.17)	125.13 (15.20)	125.70 (12.87)
Min / Max	60.0 / 110.0	55.0 / 95.0	95.0 / 170.0	90.0 / 151.0	45.0 / 108.0	60.0 / 101.0	90.0 / 165.0	100.0 / 160.0
Median	80.00	80.00	128.00	124.50	80.00	80.00	124.50	125.00
Oberes/Unteres 95% KI	76.9 / 80.6	76.4 / 79.8	125.1 / 130.5	123.3 / 127.9	76.7 / 81.0	76.3 / 80.3	122.0 / 128.2	122.9 / 128.5

Quelle: [137]

Tabelle 26: Vitalzeichen: Pulsrate der SAF Population (191 Patienten)

	Cyclodextrin Gel		Placebo	
Parameter	**Pulsrate**		**Pulsrate**	
Visiten	**Screening**	**Tag 7**	**Screening**	**Tag 7**
Anzahl (n)	95	84	96	83
Durchschnitt + (SD)	71.92 (6.23)	73.37 (6.63)	72.40 (9.88)	72.61 (7.96)
Min / Max	60.0 / 88.0	52.0 / 88.0	48.0 / 104.0	40.0 / 96.0
Median	72.00	73.50	72.00	72.00
Oberes / Unteres 95% KI	70.6 7 73.2	71.9 / 74.8	70.4 / 74.4	70.9 / 74.4

Quelle: [137]

4.4.3.2 Auffällige Befunde der körperlichen Untersuchungen

Von insgesamt 191 Patienten zeigten 25 Patienten, also 26,2%, auffällige körperliche Befunde während der Untersuchungen am Tag 0 (Screening) und / oder am Tag 7 (Visite 6). Das waren 14 (14,7%) Patienten aus der Cyclodextrin Gel Gruppe und 11 (11.5%) Patienten aus der Placebo Gruppe [137].

Tabelle 27: Anzahl der Patienten mit auffälligen körperlichen Befunden (SAF Population)

	Cyclodextrin Gel	Placebo	Total
Auffällige körperliche Befunde n (%)	14 (14.7%)	11 (11.5%)	25 (26,2%)

Quelle: [137]

Die Häufigkeit der pathologischen Befunde war geringer zum Zeitpunkt des Studienendes (Tag7) als zum Zeitpunkt des Screenings. Insgesamt hatten in der Cyclodextrin Gel Gruppe 14 Patienten zum Zeitpunkt des Screenings und/oder am Tag 7 einen abnormalen körperlichen Befund. In der Placebo Gruppe waren es 11 Patienten mit einem abnormalen Befund zu einem der betreffenden Zeitpunkte [137].

Tabelle 28: Anzahl der auffälligen Befunde bei den körperlichen Untersuchungen (SAF Population)

	Cyclodextrin		Placebo	
Organsystem-Klassifikation	**Screening**	**Tag 7**	**Screening**	**Tag 7**
Haare und Haut	7 (30.4%)	2 (18.2%)	4 (19.0%)	2 (33.3%)
Andere	5 (21.7%)	4 (36.4%)	6 (28.6%)	0 (0.0%)
Hals, Nase, Ohren	4 (17.4%)	2 (18.2%)	2 (9.5%)	1 (16.7%)
Muskeln / Skelett	2 (8.7%)	0 (0.0%)	6 28.6%)	1 (16.7%)
Augen	1 (4.3%)	1 (9.1%)	2 (9.5%)	1 (16.7%)
Gesamteindruck	1 (4.3%)	1 (9.1%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Kopf und Nacken	1 (4.3%)	1 (9.1%)	1 (4.8%)	0 (0.0%)
Lymphsystem	1 (4.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)
Neurologie	1 (4.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

Quelle: [137]

4.5 Patientencompliance

Die Patientencompliance sollte Anhand der Frequenz der Applikationen der Studienmedikation, sowie durch das Wiegen der zurückgebrachten Tuben ermessen werden. Jedoch wurden viele Tuben von den Patienten nicht zurückgebracht und die Häufigkeit der Applikationen wurde nur im Patiententagebuch notiert. Deshalb war eine Beurteilung der Patientencompliance nicht möglich.

4.6 Fallstudien

An ausgewählten Fallstudien von drei Patienten - gehörend zu einer der beiden Studiengruppen - soll bildhaft der Verlauf eines Herpes genitalis Rezidivs dargestellt werden. Dabei ist die Zugehörigkeit zu der der jeweiligen Randomisierungsgruppe nicht bekannt.

Fallstudie 1

Abbildung 9: Herpes genitalis Rezidiv bei einer weiblichen Patientin, Glutealregion

Tag 1

Tag 2

Tag 3

Tag 5

Quelle: Emilia J. Bedynek

Fallstudie 2

Abbildung 10: Herpes genitalis Rezidiv bei einem männlichen Patienten, Penisschaft

Tag 1

Tag 3

Tag 5

Tag 7

Quelle: Emilia J. Bedynek

Fallstudie 3

Abbildung 11: Herpes genitalis Rezidiv bei einer weiblichen Patientin, Schamlippen

Tag 1

Tag 2

Tag 3

Tag 5

Quelle: Emilia J. Bedynek

5 Diskussion

Seit der Zusammenhang zwischen der Vermehrung und Ausbreitung von Viren und deren cholesterinhaltigen Lipid Rafts in ihren Hüllen bekannt wurde, war die Cholesterinextraktion mittels der Cyclodextrine zum Objekt virologischer Untersuchungen an diversen Virenstämmen geworden. Bisher jedoch fehlten Publikationen über den Einfluss von CD auf die Herpes Simplex Infektionen speziell im Genitalbereich.
Ziel dieser klinischen Studie war es, anhand eines repräsentativen Kollektivs von Patienten die Wirksamkeit und Verträglichkeit des 2-Hydroxypropyl-ß-Cyclodextrin Gels in der Prodromalphase einer rekurrierenden genitalen Herpes Simplex Infektion zu testen. Die Wirksamkeit und Verträglichkeit des Prüfmedikamentes (Verum) wurde dabei im Vergleich zu einem Placebo Gel untersucht.

5.1 Die Diskussion des Studiendesigns

5.1.1 Das Patientenkollektiv

Die Kalkulierung der gesamten Populationsgröße basierte auf der angestrebten Endgröße von 150 Patienten. Diese Datenmenge war notwendig um eine aussagekräftige Auswertung der definierten Kriterien für das Hauptziel und die Nebenziele zu erreichen. Die Endgröße von mindestens 150 Patienten ergab sich aus einer Kalkulation die verschiedene Einflussgrößen mitberücksichtigt. Zunächst wurde als angestrebtes Zielergebnis ein durchschnittlicher Unterschied in der Dauer der Verkrustung der Vesikel von 1.2 Tagen zwischen dem Cyclodextrin Gel (Median=1.8 Tage) und dem Placebo (Median=3 Tage) angenommen. Bei einer Stichprobengröße von 63 Patienten in jedem Arm sollte es so möglich sein mit Hilfe des Kaplan-Meier-Tests und des Logrank-Tests, bei einer beidseitigen Signifikanz von 5%, während einer 7-tägigen Verlaufsbeobachtung, mit einer mehr als 80%igen Wahrscheinlichkeit die Differenz von 1.2 Tagen zwischen beiden Armen zu entdecken [137].
Zusätzlich musste aber bedacht werden, dass man basierend auf früheren Studien an Patienten mit rekurrierendem Herpes genitalis annehmen muss, dass schätzungsweise 5% der Patienten eine abortive Episode haben werden, also in der Entwicklung ihrer Symptome nicht über das Stadium eines Prodroms hinaus gehen werden, und somit zwecks dieser Studie nicht bewertet werden können. Prodromi äußern sich als im Allgemeinen als Schmerzen, Juckreiz oder Dysästhesie in dem betroffenen Gebiet, in dem im weiteren Verlauf die herpetischen Hautläsionen in Erscheinung treten und gehen in etwa 40% der Rezidivfälle dem Auftreten der

Hautveränderungen voraus. Jedoch nicht in allen Fällen folgt den Prodromi auch ein Rezidiv mit dem Auftreten herpetischer Hautveränderungen [11].
Weiterhin wurde - basierend auf früheren Studien mit Herpes genitalis Patienten - eine geschätzte Rate von 10% an Patienten welche die Therapie vorzeitig abbrechen würden mitberechnet [106]. Somit vergrößerte sich das benötigte Patientenkollektiv auf 150 Patienten. Beachtete man aber noch zusätzlich das episodische Auftreten des Herpes genitalis, war eine übermäßige Randomisierung notwendig. Denn laut früherer Studien [107] zeigen ca. 20-30% der ausgesuchten Patienten mit einem Herpes genitalis während einer Studienteilnahme keinerlei Symptome eines Rezidivs (auch keine Prodromi).
Zusammen genommen ergab sich aus der obigen Berechnung, dass während der geplanten 6 Monate Rekrutierungszeit mindestens 200 Patienten rekrutiert werden mussten- und zwar jeweils 100 Patienten in jedem Studienarm. Mit dieser Größer des Patientenkollektivs durften ca. 5% der Patienten eine abortive Episode haben; 10% der Patienten die Therapie abbrechen und ca. 25% der rekrutierten Patienten ein rezidivfreies Intervall haben [137].

5.1.2 Die Rekrutierung und Randomisierung

Die Rekrutierung der Studienpatienten in den jeweiligen Studienzentren begann zeitgleich - verlief jedoch unterschiedlich erfolgreich. Da zwei Studienzentren keinen einzigen Patienten rekrutieren konnten, und 5 weitere Zentren eine nur sehr langsame Rekrutierung vorzeigten, haben sich 5 andere Zentren dazu bereit erklärt mehr Patienten zu betreuen, und wurden mit einer höheren Anzahl von Prüfmedikamenten versorgt [137]. Dass das Studienzentrum an der Charité Berlin, unter der Aufsicht des Studienleiters Prof. Stockfleth hat insgesamt 60 Patienten rekrutiert, und stellte somit bezogen auf die betreute Patientenzahl das größte Studienzentrum dar. Die Rekrutierungszeit war geplant für ca. 25 Wochen und konnte eingehalten werden.

Im Rahmen der Rekrutierung wurden 218 Patienten in die Studie eingeschlossen. Somit konnten die zahlenmäßigen Vorgaben für die benötigte Patientenzahl von mindestens 200 Patienten zufriedenstellend umgesetzt werden. Die Zuteilung der Patienten zu den Studienarmen erfolgte wie geplant randomisiert. Nach der Randomisierung umfasste der gesamte Studienarm der Cyclodextrin Gel Gruppe 108 Patienten und der Studienarm der Placebo Gruppe umfasste 110 Patienten. Auch hier wurden die Vorgaben aus dem Studienprotokoll für eine Gruppengröße von mindestens 100 Patienten pro Studienarm erfüllt [137].

5.1.3 Dokumentation: Patiententagebuch und das CRF

Die Patienten dokumentierten in dem Patiententagebuch währen der Behandlungsperiode (Tag 1-7) täglich die Anzahl und die Häufigkeit der Anwendungen, bewerteten den Zustand der Hautläsionen anhand des 4-Punktesystems, und vermerkten die Schmerzintensität mittels der VAS. Zu jeder Visite 2-6 wurde das Patiententagebuch vom Patienten mitgebracht und vom Untersucher durchgeschaut. Der Studienarzt war weiter befähigt Einträge in das Patiententagebuch, die nicht mit den klinischen Erhebungen des Studienarztes übereinstimmten, zu korrigieren bzw. zu streichen. Dies war letztendlich aber nicht notwendig, da für die statistische Analyse der Studiendaten nur die Einträge aus dem CRF und nicht aus dem Tagebuch gewertet wurden. An den Behandlungstagen 4. und 6. fand keine Visite im Studienzentrum statt. Die Einträge aus dem Patiententagebuch über diese beiden Tage wurden in der darauffolgenden Visite vom Studienarzt kritiklos in das CRF übertragen. Somit war das Patiententagebuch vor allem für die Bewertung während der Behandlungstage 4. und 6. bedeutsam.

Die tägliche Dokumentation sowohl im CRF wie auch im Patiententagebuch gewährleistet eine zeitnahe Verlaufsbewertung über den Zustand der Hautläsionen mit der Möglichkeit, Veränderungen im Therapieverlauf kontinuierlich zu erfassen. Das garantierte, dass die Beurteilung der Schmerzintensität auf tagesbezogenen Daten basierte. Vor allem die tägliche Erfassung der Schmerzintensität erscheint wichtig. Denn viele Studien belegen, dass sich Patienten an zurückliegende Schmerzen, die sie später retrospektiv einschätzen sollen, nur ungenau erinnern. Während die Patienten versuchen die (Empfindung der zurückliegenden) Schmerzen zu beurteilen, werden die Erinnerungen von dem aktuellen Schmerzempfinden überlagert. So produzieren aktuelle Schmerzempfindungen systematisch Verzerrungen des Gedächtnisses, vergleichbar mit den Änderungen im Affekt und Gemüt [108]. Die visualisierte Schmerzskala VAS ist hervorragend geeignet um so sehr subjektive und nicht direkt messbare Werte wie das Schmerzempfinden zu bewerten. In einer Studie von Rosier et al. 2002 wurde die visuelle Ausdrucksskala VAS mit der verbalen Ausdrucksskala VDS (verbal descriptor scale) verglichen. Dabei zeigte sich, dass Angaben auf der VAS reproduzierbarer sind, und weniger gelegentlichen Schwankungen unterliegen [109]. Das CRF was das bedeutsamste Dokument in der Studienführung und diente als Grundlage für die Auswertung der Studienergebnisse. Es enthielt Informationen über den gesundheitlichen Zustand des Patienten und dokumentierte den Verlauf des Behandlungserfolges. Auch unerwünschte Ereignisse und Zwischenfälle, die sich

währen oder außerhalb der Behandlungsperiode im Rahmen der Studienteilnahme ereigneten wurden hier dokumentiert.

Eine weitere Dokumentationsquelle waren die digitalen Photographien der Läsionen. Alle Patienten, die im Rahmen der Studie in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin betreut wurden, haben ausnahmslos und ohne Vorbehalt einer bildlichen Dokumentation zugestimmt. Die digitalen Aufnahmen sollten eine Möglichkeit bieten nach der Entblindung die im CRF beschriebenen Ausprägungen der Hautläsionen auch photographisch zu vergleichen. Da jedoch die übrigen Untersucher auf die Bildaufnahmen verzichtet haben, wurde auf die fotographische Auswertung verzichtet.

5.1.4 Der Virologische Abstrich

Bei den Patienten wurde am ersten Tag der Behandlung – und spätestens am zweiten Tag -ein virologischer Abstrich gemacht. Der entnommene Bläscheninhalt wurde auf Virusmaterial untersucht. Ergebnisse aus den virologischen Abstrichen liegen statistisch gewertet nicht vor, da sie nicht in das CRF eingetragen wurden. Sie dienten zur Kontrolle für den Studienprüfer ob das Patientenkollektiv auch tatsächlich aus der Mehrzahl von Herpespatienten besteht. So viel kann jedoch berichtet werden, dass bei fast allen Probanden bei denen im Studienzentrum der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité Berlin Abstriche entnommen wurden, auch HSV nachgewiesen werden konnte. Bei einer Abstrichentnahme wurde versehentlich das falsche Transportmedium benutzt.

Genaue Ergebnisse einer labortechnischen Typenspezifizierung liegen jedoch nicht vor. Wäre dies erfolgt, könnten Angaben über den vorherrschenden Subtyp aus dieser Studie mit den Zahlen anderer Studie bezüglich der Häufigkeit von HSV-1 und HSV-2 unter den Patienten mit Rezidiven verglichen werden. Denn die Rezidivhäufigkeit ist variabel und hängt - wie schon erwähnt - wesentlich vom Geschlecht des Patienten aber auch vom Genotyp des Virus ab. Patienten mit einer HSV-2 bedingten Herpes genitalis Infektion entwickeln signifikant häufiger Rezidive als Patienten mit einer HSV-1 bedingten HG Infektion [25-26]. Bezüglich der Rezidivhäufigkeit ist noch zu sagen, dass die Rezidive am häufigsten im 1. Jahr nach der Primärinfektion auftreten [11]. Frauen mit genitalem HSV-2 haben durchschnittlich 4 Rezidive im ersten Jahr nach der Erstinfektion - Frauen mit genitalem HSV-1 dagegen nur einen. Nach dem ersten Jahr fällt die Rate der jährlichen Rezidive bei HSV-2 nur langsam, für HSV-1 sind die Rezidive allgemein selten [46]. Die Patienten, die für diese Studie rekrutiert worden sind

mussten in den zurückliegenden 12 Monaten mindestens 4 Rezidive gehabt haben, und sind somit allesamt außerhalb des Zeitfensters des ersten Jahres nach einer Neuinfektion.

5.1.5 Verblindung

Die Randomisierungsdaten wurden streng geheim gehalten und waren für die gesamte Zeit der Verblindung nur autorisierten Personen zugänglich. Als die Datenbank geschlossen wurde, die Daten überprüft und jegliche Protokollverstöße dokumentiert, wurden die Umschläge mit den Medikamentenkodes geöffnet und so der weiteren Analyse zugänglich gemacht. Erst dann wurden die Tabellen und Listen die Informationen zu den individuellen Kodenummern enthielten, an den Studienstatistiker übergeben.

5.2 Die Ergebnisinterpretation

5.2.1 Die Patientenpopulationen

Währen der gesamten Studiendauer haben insgesamt 191 Patienten eins der beiden Studienmedikamente auch tatsächlich angewendet. Davon benutzten 95 Patienten mindestens einmal das Cyclodextrin Gel und 96 Patienten haben mindestens einmal das Placebo Gel angewendet. Diese insgesamt 191 Patienten stellen die SAF Patientenpopulation dar, und dienen als statistische Basis für die deskriptive Auswertung der Kriterien für die Sicherheit [137].

Zwanzig Patienten – also 10.47% derer Patienten, die eine Therapie begonnen hatten - unterbrachen diese aus diversen Gründen vorzeitig. Auch hier erwies sich die geschätzte Kalkulation von 10% an Therapieabbrüchen aus vorhergehenden Studien [106] als richtig. Die so verbleibenden 171 Patienten haben den Therapieplan komplett eingehalten und bilden als FAS Population die zahlenmäßige Basis für die statistische Auswertung der Kriterien für das Hauptziel und für die meisten Nebenziele (siehe Kapitel 4.: Ergebnisse der Wirksamkeit bezüglich der Nebenziele). Die benötigte Mindestanzahl von 150 Patienten mit einer abgeschlossenen Behandlung wurde somit erreicht [137].

5.2.2 Patientencharakteristika

Die demographischen Charakteristika der an der Studie teilgenommenen Patienten waren allesamt in beiden Studienarmen ähnlich und erfreulicherweise vergleichbar.

5.2.2.1 Gechlechterverteilung

Direkt auffällig ist, dass in jeweils beiden Studiengruppen etwa doppelt so viele Frauen wie Männer teilgenommen haben. Ein Erklärungsansatz dafür könnte sein, dass der Herpes genitalis verschiedenen Studien zu Folge bei Frauen häufiger vorkommt [27-28]. Die Arbeiten von L.R.Stanberry et al. zeigen diverse epidemiologische Studien aus den USA, Europa und Afrika die beweisen, dass Frauen im Vergleich zu heterosexuellen Männern ein erhöhtes Risiko haben sowohl eine HSV-1 wie auch eine HSV-2-Infektion zu bekommen [14]. Als Ursachen für das erhöhte Infektionsrisiko werden anatomische Unterschiede angenommen. Das Geschlechtorgan der Frau hat eine größere Schleimhautoberfläche und somit eine höheres Risiko das ansteckende Virus zu empfangen. Dazu kommt, dass bei Männern eine höhere Rezidivrate beobachtet wurde, die mit einer häufigeren Virusausscheidung einhergeht und damit eine weitaus häufigere Ansteckungsquelle für die Frau darstellt als im umgekehrten Fall [11,14,22]. Leidet die Sexualpartnerin an Herpes genitalis, stecken sich die dazugehörigen Männer im Laufe eines Jahres mit einer Wahrscheinlichkeit von 3,8% an. Im umgekehrten Fall infizieren sich Frauen bei ihren erkrankten Partnern in 16,9% der Fälle [110].

5.2.2.2 Altersverteilung

Die Streuung der Alterverteilung ist unter den teilgenommenen Patienten groß (18.7 - 83.7 Jahre). Im Einzelnen fällt jedoch eine Überzahl der Patienten in der zweiten Lebenshälfte auf was mit dem durchschnittlichen Lebensalter von 47,6 Jahren deutlich wird. Die Autorengruppe Buxbaum et al. bezieht sich in einer Publikation auf epidemiologischen Daten von 2,678 Patienten die besagen, dass die höchsten Raten an HSV-2 positiven Kulturen in der Gruppe der 30-39-jährigen Patienten gefunden wurden. Sie machten 41% der untersuchten Männer und 28% der untersuchten Frauen aus. Der zweitgrößte Anteil HSV-2 bedingter Fälle fand sich laut dieser Studie in der Gruppe der 20-29-jährigen Frauen mit knapp 24% [26]. Die Patienten der hier vorliegenden Studie sind somit nicht gleichsam repräsentativ, zeigen aber einen interessanten Trend in der Zielgruppe von Patienten die sich von der Studie angesprochen gefühlt haben. Die Teilnahme an der Studie setzte eine gewisse Spontaneität der Patienten voraus. Die teilnehmenden Patienten sollten auch kurzfristig Termine in der Klinik wahrnehmen können um den festgesetzten Zeitrahmen für die Visiten einhalten zu können. Da Menschen in der zweiten Lebenshälfte oft nicht mehr berufstätig sind und größtenteils nicht mehr so stark in familiäre Verpflichtungen eingebunden sind, sind sie in der Gestaltung ihrer Freizeit mehr flexibel und disponibel. Das in eine mögliche These für das höhere Durchschnittsalter der teilgenommenen Patienten.

5.2.2.3 Größe und Gewicht

Bezüglich der Köpermerkmale Größe und Gewicht sind die Patienten aus den beiden Studiengruppen absolut vergleichbar. Das durchschnittliche Gewicht in der Cyclodextrin Gruppe ist mit 72.8 kg nahezu gleich mit dem aus der Placebo Gruppe mit 72.1 kg. Auch die durchschnittlichen Größen von 171.1 cm in der Cyclodextrin Gruppe und 170.5 cm in der Placebo Gruppe sind fast identisch. Zwar ist in beiden Gruppen zusammengenommen die Streuung der Werte für die Körpermerkmale Gewicht mit 50.0-130.0 kg und für die Größe 149.0-193.0 cm breit, im Mittel sind 72.4 kg und 170.8 cm normale und nicht auffällige Parameter eines durchschnittlichen Bürgers. Deshalb fällt hier keine auch besondere Korrelation zwischen den Körpermerkmalen Größe und Gewicht wie z.B. Übergewicht und der rezidivierenden Herpes genitalis Erkrankung auf [137].

5.2.2.4 Rauchverhalten

Den Nikotinkonsum betreffend zeigte sich, das weniger als die Hälfte der Patienten überhaupt jemals geraucht hat und nur knapp über ein viertel der Patienten zum Zeitpunkt der Studienteilnahme rauchte. Die Ergebnisse dieser Studie schließen einen direkten Zusammenhang zwischen dem Tabakkonsum und einem gehäuften Auftreten von Herpes genitalis Rezidiven aus. Im Gegensatz dazu geht aus einer Studien von Cherpes et al. mit einer sehr großen Stichprobe an weiblichen Herpes genitalis Patientinnen jedoch hervor, dass das Rauchen einer der Risikofaktoren für eine Ansteckung mit dem Herpes Simplex Virus ist [28]. Einen Erklärungsansatz für diesen Zusammenhang gibt es in der oben genannten Studie nicht- die Beziehung ist rein statistisch. Interessant ist deshalb die epidemiologische Studie von L.L. Pederson die ebenfalls aus einem großen Datensatz von über 1500 Patientinnen besteht. In dieser Arbeit untersuchte man Frauen aus unterschiedlichen sozialen Schichten bezüglich ihres Rauchverhaltens und ihres Lebensstils. Darin fand man heraus, dass Frauen die aktuell rauchten sexuell weit aus aktiver waren, als Frauen die Ex-Raucher waren oder nie geraucht haben - und dass unabhängig ihres sozioökonomischen Status [111]. Demzufolge korreliert das Rauchen über die sexuelle Aktivität mit dem Herpes genitalis zusammen. Andererseits ist bekannt, dass das Inhalieren von Nikotin die immunologische Aktivität im Körper negativ beeinflussen kann, was wiederum die Akquisition von Infektionen und Rezidivausbrüche begünstigen kann.

5.2.2.5 Begleiterkrankungen und Begleitmedikamente

Wie viele Patienten im Einzelnen eine Begleiterkrankung hatten war nicht Gegenstand der statistischen Auswertungen. Bekannt ist nur die Summe der insgesamt 121 Fälle einer Begleiterkrankung. Ein Patient kann aber eine oder mehrere Begleiterkrankungen haben. Auch aus der Anzahl derer Patienten die eine Begleitmedikament genommen haben – insgesamt 137 - können keine Rückschlüsse auf die Anzahl der Patienten mit einer Begleiterkrankung gezogen werden, weil nicht jede Erkrankung behandlungsbedürftig ist. Die häufigsten Begleiterkrankungen in dieser Studie sind die, die auch sonst in der Bevölkerung am häufigsten auftreten - Herzkreislauferkrankungen und Stoffwechselerkrankungen [137]. Es fällt keine Vergesellschaftung von Herpes genitalis mit einer in der Normalbevölkerung statistisch nicht so häufig auftretenden Begleiterkrankung auf. Entsprechend der Häufigkeit der Begleiterkrankungen sind Antihypertensiva auch die häufigsten Begleitmedikamente. An vierter stelle sind Cholesterinsenker, also Medikamente gegen die zweithäufigste Begleiterkrankung. Auffällig ist, dass Kontrazeptiva die zweithäufigsten Medikamente sind. Die dritthäufigsten Medikamente sind Mittel gegen Osteoporose. Dieses gehäufte Vorkommen der beiden Medikamentengruppen kann mit dem überwiegenden Anteil weiblicher Patientinnen erklärt werden. Sowohl orale Kontrazeptive wie auch Medikamente gegen Osteoporose werden fast ausnahmslos von Frauen genommen.

5.2.3 Bewertung der Sicherheit

Die Kriterien für die Beurteilung der Sicherheit wurden deskriptiv ausgewertet. Um die Patientensicherheit zu untersuchen wurden die Patienten während der gesamten 6 Visiten bezüglich der Einschluss- und Ausschlusskriterien befragt und hinsichtlich ihrer Vitalparameter körperlich untersucht.

Die Ergebnisse über die Pulsraten und die Blutdruckwerte zeigen, dass beide Studienarme diesbezüglich vergleichbare Patientenkollektive darstellen. Es zeigen sich sehr ähnliche Werte im Durchschnitt, Median sowie in den Maximalen und Minimale Ausprägungen. Einzelne extreme Werte der Pulsrate oder des Blutdrucks lassen sich sicherlich mit dem gehäuften Vorkommen einer Arteriellen Hypertonie als Begleiterkrankung in der Patientenpopulation erklären. Die Vitalzeichen liegen im Durchschnitt im Normbereich und zeigen keine auffälligen Tendenzen. Diese Werte änderten sich auch im Verlauf der Behandlung nicht deutlich [137].

Die Ergebnisse der allgemeinen körperlichen Untersuchung zeigen, dass 25 Patienten - also gut ein Viertel (26,2%) - einen auffälligen körperlichen Befund hatte. Am häufigsten wurden Befunde in den folgenden Organsystemklassen gefunden (absteigend): Haare und Haut, Andere, HNO, Muskeln/Skelett, Augen, Gesamteindruck, Kopf und Nacken, Lymphsystem sowie Neurologie [137]. Auffallend ist, dass am Beginn der Behandlungsperiode mehr Befunde dokumentiert wurden als zum Ende der Behandlung. Die dokumentierten auffälligen körperlichen Befunde waren jedoch ohne Bezug zu den Studienmedikamenten. Wie bei den Begleiterkrankungen zeigt sich auch hier kein gehäuftes Vorkommen von Herpes genitalis und anderen Symptomen oder Erkrankungen.

Bezüglich der protokollierten Adverse Event oder Serious Adverse Event war die Frage wichtig, ob es sich um ein Ereignis handelt welches vor, während, oder nach der Behandlungsperiode stattfand, also ob die Patienten zu dem trefflichen Zeitpunkt bereits mit dem Studienmedikament behandelt wurden oder nicht. Das zeitliche Auftreten der AE´s im Bezug zum Studienmedikament liefert wichtige Hinweise, ob die entstandenen Erkrankungen und Symptome im Zusammenhang zu diesem stehen, durch das Rezidiv selbst entstanden sind, oder andere Ursachen haben. Während der ganzen Studiendauer haben 9 behandelte Patienten (4,7%) insgesamt 10 Episoden eines AE´s gehabt. Die AE´s waren eine Zystitis, Angina pectoris, Lymphödem, Ekzem, Brenngefühl der Haut, Herpes zoster, eine Vaginalinfektion, sowie Schmerzen und Brenngefühl der Genitalorgane [137].
Alle medikamentenbezogenen AE´s traten ausnahmslos in der Placebo Gruppe auf, was für die wirklich gute Verträglichkeit des Wirkstoffes 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin als Gel-Präparat spricht. Außerdem gab es keinen einzigen SAE – Fall unter den Patienten die das Studienmedikament Cyclodextrin Gel oder Placebo angewendet haben.

Ein weiteres Kriterium zur Beurteilung der Patientensicherheit stellte das Ausmaß der Exposition gegenüber dem Studienmedikament dar. Die Exposition sollte anhand der zurückgebrachten Medikamententuben und deren Restgewicht ermittelt werden. Da viele Tuben von den Patienten jedoch nicht zurückgegeben wurden, war eine aussagekräftige Messung nicht möglich [137].

Schlussendlich kann man jedoch sagen, dass die fünfmalige Verabreichung des 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin Gels über einen Zeitraum von 7 Tagen als sicher und gut verträglich angesehen werden kann [137].

5.2.4 Patientencompliance

Die Angaben über die Häufigkeit und die Anzahl der Anwendungen wurde vom Patienten im Patiententagebuch dokumentiert. Diese Angaben wurden in das CRF nicht übertragen. Die Datensätze der Tagebucher stellen Quelldaten dar, verblieben somit nach dem Ende der Studie im jeweiligen Studienzentrum und wurden statistisch nicht analysiert.
Das Wissen um die Compliance einzelner Patienten wäre sehr aufschlussreich. Es würde die Möglichkeit bieten, in konkreten Fallstudien die Therapieergebnisse einzelner Patienten bezogen auf ihr Anwendungsverhalten zu untersuchen. Speziell eine Untersuchung von Patienten innerhalb der Cyclodextrin Gruppe hinsichtlich großer Schwankungen in Anwendung und Therapieergebnis würde zeigen, ob der scheinbar nur geringe Vorsprung des Cyclodextrin bezogen auf die Dauer der Verkrustung und die Dauer der Heilung wegweisend für die Wirksamkeit ist. Folglich wäre es wünschenswert in einer zusätzlich gebildeten Patientenpopulation nur die Patienten miteinander vergleichen zu dürfen, die auch die geforderte Anzahl der tägliche Applikationen eingehalten haben.

5.2.5 Bewertung der Wirksamkeit für das Hauptziel und die Nebenziele

Bezüglich des Hauptziels und der Nebenziele wurde eine statistisch signifikante Überlegenheit des Cyclodextrin Gels im Vergleich zum Placebo Gel angestrebt.

Das Hauptziel der Wirksamkeitsprüfung stellte die Dauer bis zur Verkrustung der Vesikel dar. Im Falle einer Überlegenheit des Cyclodextrin Gels sollte der angenommene statistische Unterschied zum Placebo mindestens 1,2 Tage betragen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die mittlere Dauer bis zur Verkrustung in der Cyclodextrin Gel Gruppe mit 5.07±0.16 Tagen statistisch signifikant kürzer ist als in der Placebo Gruppe mit 5.49±0.17 Tagen. Faktisch bedeutet das einen Unterschied in der Dauer bis zur Verkrustung von einem halben Tag zu Gunsten des zu untersuchenden Medikaments Cyclodextrin Gel [137].

Zwecks der Wirksamkeitsprüfung wurden auch die Nebenziele untersucht. Die Untersuchung zum durchschnittlichen Durchmesser zeigte dass eine Herpes Läsion am Anfang der Behandlung in beiden Gruppen ähnlich groß war (Cyclodextrin Gel: 15.3 mm; Placebo Gel: 15.4 mm). Am Ende der Behandlungszeit (Tag 7) war aber die durchschnittliche Größe einer Läsion in der Gruppe derer Patienten, die das Cyclodextrin Gel angewendet haben kleiner (5.2 mm), als in der Placebo Gruppe (7.6 mm). Hingegen ist die relative Größenreduktion – also die durchschnittliche Abnahme des Durchmessers einer Herpes Läsion im Bezug zur Ausgangsgröße

- zwischen den beiden Studienarmen nicht signifikant unterschiedlich. Die Größenreduktion wurde basierend auf der FAS Population berechnet, obwohl sechs Patienten die Teilnahme an der Studie vorzeitig beendet konnten. Die vorzeitige Beendung der Teilnahme war bedingt dadurch, dass vier Patienten (einer aus der Cyclodextrin Gel Gruppe und 3 Patienten aus der Placebo Gruppe) schon am Tag 5 der Behandlung geheilt waren und zwei Patienten aus der Cyclodextrin Gel Gruppe bereits am Tag 3 eine Heilung zeigten. Aber obwohl die Abnahme der Größe der Läsion im Vergleich zur Ausgangsgröße anhand der Messung am Tag 7 (Visite 6) bewertet wurde, konnte die Berechnung der Abnahme der Läsionsgröße basierend auf allen 171 Patienten einschließlich dieser Studienabbrecher berechnet werden. Dies war möglich dank der LOCF-Methode, bei dieser jeweils der letzte vorliegende Wert für jeden Patienten für die Endauswertung herangezogen wird [137].

In der Dauer bis zum Stillstand der Bildung neuer Bläschen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Therapie mit dem Cyclodextrin Gel (2.3±0.24 Tage) und der Therapie mit dem Placebo (2.4±0.23 Tage) [137].

Positive Ergebnisse zeigt hingegen die Bewertung des Hautreaktionsmerkmals Erythem. Die Patienten aus der Placebo Gruppe haben an den Tagen 3, 5 und 7 die Ausprägung des Erythems signifikant schlechter bewertet, als in der Gruppe mit dem Cyclodextrin Gel. So kann man schlussfolgern, dass in der Cyclodextrin Gruppe das Ausmaß eines Erythems im Verlauf der Behandlung mehr zurückgegangen ist als das in der Placebo Gruppe der Fall war. Die Summe der Bewertungspunkte für die anderen Merkmale der Hautreaktion wie Ödem, Exsudat, Vesikel, Erosion/Ulzeration, Schuppung/Trockenheit, Schorf-/Krustenbildung waren verglichen in beiden Studienarmen nicht signifikant anders [137].

Signifikant kürzer war dagegen die Heilungsdauer in der Cyclodextrin Gel Gruppe mit 6.59±0.12 Tagen. In der Placebo Gruppe dauerte die Heilung mit 6.88±0.05 Tagen also um 0,4 Tage länger [137].

Die Anwendung des Cyclodextrin Gels verkürzte ebenfalls statistisch signifikant die Dauer der vom Patienten empfundenen Schmerzen. Die Patienten hatten mit dem Cyclodextrin Gel nach durchschnittlich 5.85±0.19 Tagen keine Schmerzen mehr und die Patienten mit dem Placebo Patienten nach 6.48±0.14 Tagen. Die Stärke bzw. Intensität der Schmerzen wurde auf einer visuellen Schmerzskala (VAS) dokumentiert. Diese reproduziert messbare Werte. Die VAS Werte wurden aber als absolute Werte an sich statistisch nicht ausgewertet, da die Schmerzintensität keins der erwähnten Zielkriterien darstellte. Das Bewertungskriterium war das

Vorhandensein oder das Nichtvorhandensein eines Schmerzgefühls. Es wäre jedoch aufschlussreich zu wissen, in welcher Qualität die Schmerzen bei den Patienten in den jeweiligen Therapiegruppen empfunden wurden. Vielleicht würde sich ein Unterschied in der Ausprägung der empfundenen Schmerzen zwischen dem Cyclodextrin Gel und dem Placebo zeigen. Aus dieser Erkenntnis könnte man folgern, wie viele Patienten - und aus welchem Studienarm - jeweils ihr getestetes Medikament auch im Alltag anwenden würden. Aus der Antwort auf die Frage nach der Patientenpräferenz wäre womöglich ersichtlich, ob die Ergebnisse aus dieser Studie im Falle des Cyclodextrins vielleicht nur scheinbar geringen Vorzüge mit sich bringen, für den Patienten aber doch einen merklichen Unterschied ausmachen. Denn auf den ersten Blick erscheint die Reduktion der durchschnittlichen Dauer bis zur Verkrustung um einen halben Tag, und die Reduktion der gesamten Heilungsdauer um 0,4 Tage bei Patienten mit wiederkehrenden Herpes genitalis Episoden verglichen mit der Placebobehandlung eher bescheiden. Aber laut einer Untersuchung von Whitley et al. zeigen die antiviral wirksamen Therapeutika wie Aciclovir, Valaciclovir und Famciclovir oral eingenommen innerhalb der ersten 24 Stunden nach Beginn eines Rezidiv eine durchschnittliche Dauer bis zur Heilung von 6 Tagen (versus 7 Tage) [19]. Wenn man bedenkt, dass die Heilung eines unkomplizierten Herpes genitalis Rezidiv im Falle einer Nichtbehandlung normalerweise durchschnittlich 7 Tage dauert, bringt eine rechtzeitige orale Therapie mit Nukleosidanaloga also einen Benefit von 1 Tag mit sich. Zudem müssen die möglichen Nebenwirkungen eines systemisch verabreichten Aciclovirs, die bis hin zu einer Nephrotoxizität reichen [5], bedacht werden. Vergleichbare aktuelle Studie über die Effizienz einer Aciclovir Creme fehlen, da die Wirksamkeit eines topisch applizierten Aciclovirs seit vielen Jahren überhaupt bezweifelt wird [19]. Unter dieser Betrachtung kann auch nur von einem schwachen Ergebnis für das Aciclovir gesprochen werden.

Es mag diskutabel sein, ob 0,4 Tag viel weniger sein als 1 Tag in Relation zu den 6 bzw. / 7 Tagen Dauer. Aber laut der hier vorliegenden Studie haben die Patienten mit dem Cyclodextrin Gel verglichen zum Placebo einen halben Tag weniger Schmerzen gehabt was womöglich auch einen merklichen Benefit für die Patienten darstellt.

6 Ausblick

6.1 Bewertung verfügbarer Medikamente gegen Herpes genitalis

Aciclovir war seit 1983 das am häufigsten verschriebene antivirale Medikament weltweit [50]. Eine längerfristige Suppressionstherapie mit Nukleosidanaloga wie Aciclovir reduziert die Rate der asymptomatischen Virusausscheidung, was für Patienten, die in dauerhaften Partnerschaften mit nichtinfizierten Personen leben und das Übertragungsrisiko verringern wollen, von Bedeutung sein kann [48]. Zwar unterdrückt diese Therapieform bei den meisten Betroffenen die Rezidive teilweise oder gar gänzlich, aber die virale Latenz kann damit nicht vermindert werden und nach Unterbrechung der Suppressionstherapie treten die Rezidive oft in alter Regelmäßigkeit wieder auf [54]. In Fällen gelegentlicher Rezidive kann auch episodisch mit einem oralen Nukleosidanalogon behandelt werden. Die Dauer bis zur Abheilung wird dadurch aber nur gering verkürzt (6 versus 7 Tage). Eine orale episodische Behandlung mit Aciclovir hat zudem keinen positiven Einfluss auf die Dauer der Begleitsymptome [19]. In sehr schweren Fällen ist auch eine episodische intravenöse Therapie während einer stationärer Behandlung möglich. Systemisch verabreichte antivirale Medikamente sind aber mit hohen Kosten verbunden und nicht ohne Nebenwirkungen. Die kristalline Nephropathie galt lange Zeit als Folge einer zu raschen Gabe von intravenösen Aciclovir-Infusionen [50, 112]. Mittlerweile sind auch Fälle von Patienten bekannt, bei denen auch eine orale Aciclovir-Therapie zum Nierenversagen geführt hat [113]. Zudem konnten Fälle von Nephrotoxizität nach Acciclovir-Gabe ohne den Nachweis einer Kristallurie dokumentiert werden. So hat die Arbeitsgruppe um Gunness et al. herausgefunden, dass das Aciclovir - bzw. dessen Metabolit – direkt einen Insult der Tubuluszellen hervorrufen kann. Die Forschungsergebnisse zeigten, dass das Aciclovir durch die Aldehydhydrogenase zum Aciclovir-Aldehyd metabolisiert wird. Das Metabolit Aciclovir-Aldehyd selbst steht direkt im Verdacht die Tubuluszellen zu schädigen und so eine Resorptionsstörung mit Ausbildung einer proximalen Tubulopathie zu verursachen [113].

Eine generelle und breite Empfehlung zur prophylaktischen oder dauerhaften Einnahme von Aciclovir sollte deshalb nur mit großer Vorsicht ausgesprochen werden [54]. Vor allem ältere Menschen und Menschen mit eingeschränkter Nierenfunktion sollten nur unter strengster Beobachtung mit Nukleosidanaloga therapiert werden [59]. Auch die Gefahr der Entwicklung einer möglichen viralen Resistenz gegen das Aciclovir, und andere Wirkstoffe deren Mechanismus in der Interaktion mit der viralen Thymidinkinase beruhen, sollte bei einer Dauertherapie berücksichtigt werden [54].

Zudem sind die meisten Verläufe von Rezidiven eines Herpes genitalis zumeist unkompliziert, und bedürfen keiner invasiven Therapie. Von Nöten wäre in den meisten Fällen eine unterstützende Therapieform, welche die Symptome mildert und die Heilung fördert, ohne den ganzen Körper zu beeinflussen. Denn die Anzahl der Rezidive die ein Patient über sich ergehen lassen muss, ist über die Lebensspanne gesehen sehr hoch. Desto sicherer und verträglicher sollte ein längerfristig genommenes Mittel sein.

Die Symptome eines Rezidivs mildern können soll laut Hersteller angeblich die topische Anwendung von Aciclovir Creme 5%. Am Anfang der 80er Jahre wurde in einigen Studien der Aciclovir-Creme im Vergleich zum Placebo eine positive Wirkung bezüglich der Dauer bis zur Abheilung bzw. Verkrustung, der Formation neuer Läsionen, und der Begleitsymptomatik zugesprochen. So gaben Whitley et al. 1984 in einer placebokontrollierten, doppelblinden Studie an insgesamt 63 Patienten einen durchschnittlichen Unterschied von ca. 6 Tagen bezüglich der Dauer der Virusausscheidung, der Schmerzdauer und der Dauer bis zur Heilung - zwischen einem topischen Aciclovir und einem topischen Placebo - an. Sie beschrieben ebenfalls, dass bei einer rasch initiierten Behandlung die Patienten aus der Aciclovir-Gruppe deutlich kleinere Läsionen entwickelt haben [114]. Die Arbeitsgruppe um Fidian et al. veröffentlichte 1983 ähnliche Ergebnisse. Sie schrieben der Aciclovir Creme ebenfalls einen signifikanten Vorteil gegenüber einer Placebo Creme bezüglich der Dauer der Virusausscheidung, der Heilungsdauer und Dauer der Symptome zu [115]. Die Ergebnisse von Thin et al. waren bezogen auf die männlichen Patienten ähnlich. Nur bei den weiblichen Patientinnen gab es keinen Unterschied in der Dauer bis zur Verkrustung und der Dauer bis zur Heilung. Die Dauer der Symptome war zwar signifikant kürzer, jedoch nicht überragender als in der Kontrollgruppe [116]. Interessanterweise hat eine doppelblinde placebokontrollierte Studien von Kinghorn et al. 1983 einen Vorteil des Aciclovirs gerade bei den weiblichen Patientinnen feststellen können. Auch hier soll die Aciclovir-Gruppe eine kürzere Dauer der Symptome (3 Tage versus 6Tage), eine schnellere Heilung (4 Tage versus 6 Tage) und weniger neuer Läsionen bewirkt haben – jedoch nicht unter den Männern [117]. Wiederum haben Corey et al. 1982 festgestellt, das zwar eine Aciclovir Creme im Placebovergleich bei beiden Geschelchtern die Dauer der Virusausscheidung verkürzte (0,8 Tage versus 1,7 Tage), jedoch die Dauer bis zur Krustenbildung (3,5 Tage versus 7 Tage), sowie die Heilungsdauer (5 Tage versus 9,7 Tage) nur bei den männlichen Patienten positiv beeinflussen konnte. Bei den weiblichen Patientinnen hatte das topische Aciclovir keinerlei Einfluss weder auf die Begleitsymptomatik noch auf die Dauer bis zur Abheilung [118].

So ist ersichtlich, dass diese placebokontrollierten Aciclovir Creme Studien an Patienten mit rezidivierendem Herpes genitalis teilweise widersprüchliche Ergebnisse produzierten. Zudem waren die Stichprobenzahlen der untersuchten Patienten nicht besonders groß. Neuere und umfangreichere Studien bezüglich der Wirksamkeit eines topisch applizierten Aciclovirs fehlen gänzlich, und die Wirksamkeit der Aciclovir Creme wird aus Mangel an überzeugender Effizienz in der Praxis zunehmend bezweifelt [3,4].

So bleibt das Aciclovir nach wie vor in begründeten Fällen das Mittel der ersten Wahl zur systemischen Therapie und zur Rezidivprophylaxe. Außerdem werden seit geraumer Zeit immer neuere Wirkstoffe entwickelt, wie das Penciclovir oder Foscarnet, die topisch angewendet eine bessere Wirksamkeit aufweisen, als das Aciclovir. Aber auch ihr Erfolg ist nicht bahnbrechend und zudem sind sie derzeit nur für die orofaziale Anwendung zugelassen. Bedeutend wirksame topische Medikamente gegen HSV Infektionen insbesondere im Genitalbereich fehlen bis jetzt.

6.2 Alternative Lokaltherapeutika

Die einfache Handhabung und geringe Verabreichungskosten mit denkbar wenig Nebenwirkunken machen ein topisches Medikament in Form eines Gels oder einer Creme nach wie vor zu einem sehr gesuchten Mittel zu episodischen Behandlung von rezidivierenden Herpes genitalis Erkrankungen.

Cidofovir

Das Cidofovir gehört ebenfalls zu der Gruppe der Nukleosidanaloga, bedarf aber als Monophosphat keiner Phosphorylierung durch die virale Thymidinkinase und ist gegen Thymidinkinase-negative Stämme wirksam [50]. Als Virustatikum mit ausgeprägter Toxizität und geringer therapeutischer Breite kommt es systemisch nur in Ausnahmefälle zum Einsatz. In Deutschland ist derzeit das einzige zugelassene Cidofovir-Präparat zur parenteralen Behandlung einer Cytomegalie- Retinitis bei Erwachsenen mit erworbenem Immundefektsyndrom (AIDS) zugelassen (Rote Liste -Stand 2012). Cidofovir gilt jedoch als eins der potentiellen Substanzen für eine topische Therapie von HSV Infektionen. Die Arbeitsgruppe um S.L. Sacks, untersuchte die Wirkung und Verträglichkeit einer Einzel-Dosis Therapie mit einem Cidofovir Gel in der Konzentration 1, 3 und 5% bei Patienten mit rekurrierendem Herpes genitalis. Es zeigte sich ein Trend in Richtung einer Verkürzung der durchschnittlichen Dauer bis zur kompletten Heilung aber der Unterschied zu Placebogruppe war nicht signifikant. Signifikant dagegen war eine dosisabhängige Verkürzung der Virusausscheidungs-Dauer im Placebovergleich. Die einmalige Behandlung mit dem

Cidofovir Gel reduzierte die durchschnittliche Dauer bis zum Abklingen der Virusausscheidung von 3.0 auf 1.1 bis 2.2 Tage. Leider waren unerwünschte Wirkungen wie Schmerz, Juckreiz, Hautveränderungen, Ulzera und eine verzögerte Heilung der Läsionen in der Gruppe mit 3%igem und 5%igem Cidofovir Gel aufgetreten, was auf eine lokale Toxizität mit Reaktion im höheren Konzentrationsbereich schließen lässt [119]. Die Ergebnisse sind jedoch vielversprechend und ermutigen zu weiteren Untersuchungen zur Findung einer entsprechenden Dosis und Konzentrationsstärke. Ergebnisse anderer Studien zeigen, dass auch bei immunsupprimierten Patienten mit einem Aciclovir-resistenten und/oder Foscarnet-reistenten mukokutanem Herpes simplex, eine lokale Cidofovirtherapie sehr effektiv erscheint. Das Virus regierte nicht nur empfindlich auf die Therapie, sondern bewirkte in bis zu 50% der Fälle eine komplette Abheilung, und verkürzte insgesamt die Dauer bis zur Abheilung und Sistieren der Virusausscheidung [120-122]. Die Autorengruppe Workowski et al. empfiehlt ein Cidofovir Gel in der Konzentration 1% appliziert an fünf darauffolgenden Tagen in Fällen Aciclovir- und /oder Famciclovir-resistenter Herpes genitalis Episoden [123]. Ergänzend muss man jedoch auch hier betonen, dass der Wirkstoff Aciclovir nach wie deutlich kostengünstiger herzustellen ist, als das teure Cidofovir.

Resiquimod

Resiquimod ist ein Toll-like Rezeptor 7 und 8 Agonist (TLR7/ TLR 8) aus der Familie der Imidazoquinoline aber in Deutschland als Wirkstoff bisher nicht zugelassen (Rote Liste 2012). Als Immunmodulator besitzt es antivirale und antitumoröse Eigenschaften und wird als Adjuvanz zur Erhöhung der Effektivität von Impfungen eingesetzt [50]. In Tiermodellen verbesserte Resiquimod den natürlichen Verlauf genitaler Herpes Infektionen - vermutlich durch Zytokine wie IFN-alpha und die Verstärkung HSV-spezifischer Zellimmunität [124]. Die Ergebnisse der Arbeit um Sauter et al. an mukokutan gesunden Patienten suggerieren, dass Resiquimod topisch angewendet ein potenter Immunmodulator ist, der die kutane Immunantwort signifikant erhöht. In klinischen Tests wurde ein Anstieg von Zytokinen im Serum nach oraler Einnahme und topischer Anwendung von Resiquimod beobachtet [125]. In einer Phase-II Studie bei Patienten mit aktiven anogenitalen Herpesläsionen verlängerte die Applikation von Resiquimod 0,001% oder 0,05% verglichen mit einem Placebo die Dauer bis zur nächsten Episode (durchschnittlich 169 Tage versus 57 Tage in der Placebogruppe). Jedoch traten hier, anders als bei Probanden mit intakter und gesunder Haut, in der Gruppe mit dem Resiquimod 0,05% entzündliche Hautreaktionen an den behandelten Stellen auf, was eine Dosislimitierung darstellt [126]. Die Arbeitsgruppe um Fife et al. fand wiederum in einer anderen großangelegten Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Resiquimod 0,01% und einem Placebo bezüglich der Dauer bis zur Abheilung,

der Dauer der Virusausscheidung und der maximalen Größe der Läsion. Der Anteil derer Patienten, die milde oder schwere lokale Hautreaktionen oder jegliche andere milde oder schwere lokale Symptome aufwiesen war hier in beiden Gruppen etwa gleich [124]. Die endgültige Beurteilung der Eignung des Resiquimods in der Therapie genitaler Herpesinfektionen bedarf weiterer Untersuchungen und steht noch aus.

6.3 Aussicht auf einen Impfstoff

Die effektivste Methode, um die Ausbreitung von HSV Infektionen zu bekämpfen, wäre theoretisch eine Impfung. Die bisherigen Erfolge in der Suche nach einem geeigneten Impfstoff zur Vorbeugung einer HSV Akquisition waren bisher nicht bedeutend [20]. Dabei zeigen mathematische Analysen, dass eine allumfassende Impfung seronegativer Frauen – sollte sie auch nur zu 40-60% eine Antikörperantwort bewirken - eine Reduktion der Frequenz von Herpes genitalis Fällen bringen würde. Auch wenn die Vakzinierung nur teilweise helfen würde, wäre sie so eine probate Alternative zur der bisherigen chronischen Chemotherapie mit den Nukleosidanaloga [127]. Derzeit ist gibt es in Deutschland keinen zugelassenen Impfstoff gegen Infektionen mit HVS-1 oder HSV-2. In Russland wurde 2009 die Vaccine Vitaherpavac® auf den Markt gebracht, die zur Therapie von wiederkehrenden HSV Infektion in diverser Lokalisation zugelassen wurde, da vorausgegangene Studien eine Effektivität bezüglich der Verläufe von chronisch rezidivierenden Herpes genitalis Erkrankungen zeigten [128]. Im darauffolgendem Jahr erschien eine Publikation von Barinskiĭ et al. die berichtet, dass die Therapie mit Vitaherpavac® in Kombination mit dem Immunmodulator Giaferon nicht nur gut verträglich sondern als rectales Suppositorium einfach in der Dosierung und Verabreichung ist, und von den Patienten gut angenommen wurde. Die Ergebnisse bei Patienten mit einer genitalen rezidivierenden Infektion - sowohl mit HSV-1 und HSV-2 - zeigen, dass eine kombinierte Therapie aus Vitaherpavac® plus Giaferon Vorteile gegenüber den üblichen Therapien mit sich bringt. Diese Vaccine unterband oder reduzierte stark die Anzahl der Ausbrüche, verlängerte die rezidivfreien Intervalle, sowie unterdrückte die Virämie, und die klinischen Symptome von Rezidiven [129]. Langzeitbeobachtungen stehen noch aus.

6.4 Möglichkeiten und Grenzen alternativer Therapieansätze

Die Infektion und Ausbreitung eines Virus wie des HSV erfolgt in verschiedenen Schritten die zu bestimmten Zeitpunkten und nacheinander folgen, und allesamt für das „Überleben“ des viralen Genmaterials wichtig sind. Diese entscheidenden Dreh- und Angelpunkte im viralen

Lebenszyklus werden durch viele verschiedene Regulationsmechanismen gesteuert. Die Strukturen und Mechanismen der Fusion, Infektion, Replikation und Virusausbreitung sind auch potentielle Angriffspunkte für die Erforschung von Chemotherapeutikern oder genmodulierenden Mitteln zur Kontrolle der Vermehrung und Ausbreitung des Virus. Viele derzeitige Studien konzentrieren sich auch auf wichtige Schritte im Infektionsvorgang wie den intrazellulären Transport der Viren, auf die Interaktionen der Viren mit den Kernporenkomplexen, und die Vorgänge beim Viruszusammenbau im Zellinneren. Dabei liegt der Schwerpunkt nicht primär auf einer phänomenologischen Beschreibung der molekularen Details, sondern auf dem funktionellen Verständnis der Prozesse [6]. Die folgenden Erkenntnisse im Zusammenhang mit der viralen Ausbreitung und Vermehrung liefern konkrete Ansatzpunkte zur Therapiefindung.

6.4.1 Wie befällt das HSV eine Wirtszelle - Neue Sichten auf den Vorgang der Fusion

Der Vorgang der Adsorption eines Viruspartikels an die Wirtszelle ist ein statistisches Ereignis, das keine chemotaktische Grundlage hat. Die Bindung ist nicht kovalent und daher bis zum Beginn der Penetration ohne Schädigung des Viruspartikels reversibel [13]. Wenn man das Anhaften des HSV Partikels an der Zielzelle zu verhindern wüsste, so würde man präventiv gegen die Infektion vorgehen können.

Die Adsorption eines Viruspartikels kann dabei theoretisch auf zwei Ebenen verhindert werden:

1. Durch die Besetzung des zellulären Rezeptors durch Bindung des physiologischen oder artifiziellen Liganden.
2. Oder die Bindung eines Antikörpers mit Spezifität für die beteiligte Domäne auf dem viralen Liganden oder die Bindungsdomäne des zellulären Rezeptors [13].

6.4.1.1 Das Kapsid als wichtiger Mittler der Viruspenetration?

Die Funktion des Teguments und des Kapsids sind tatsächlich noch lange nicht vollständig geklärt. Denn lange Zeit galten Glykoproteine der Virushülle als die wichtigsten Anker für die Adsorption des Virus und die Penetration in die Wirtszelle. Aber Studien zum detaillierten Ablauf des Infektionsvorgangs und zum Lebenszyklus des Herpesvirus bei einer Auflösung im makromolekularen Bereich waren im nativen Zustand lange nicht möglich. Am Max-Planck-Institut für Biochemie in der Abteilung von Wolfgang Baumeister wurde für diesen Zweck die Technik der Kryo-Elektronentomographie (Kryo-EM) eingesetzt. Die Kryo-EM erlaubt dreidimensionale Einblicke in zelluläre Vorgänge bei molekularer Auflösung, und es können große Molekülkom-

plexe oder Zellstrukturen sowie ihre Interaktion und Organisation in der Zelle unter natürlichen Bedingungen untersucht werden. Die Arbeitsgruppe konnte im Jahr 2003 erstmals eine erste dreidimensionale Rekonstruktion der Gesamtstruktur infektiöser Partikel des HSV-1 veröffentlichen. Sie konnten damals zeigen, dass das Tegument eine asymmetrische Kappe um das Kapsid bildet. Es bildet an einer Seite eine etwa 35 Nanometer dicke Schicht zwischen dem Kapsid und der Membranhülle, während das Kapsid an der gegenüberliegenden Seite in direktem Kontakt mit der viralen Hüllmembran steht. Das Kapsid hat somit in den Herpes-Partikeln eine außermittige Position und ist mit dem Tegument an den Ecken des Ikosaeders verbunden. Außerdem sollen einige der Glykoproteine nicht nur als Fortsätze (*engl.* spikes) mit unterschiedlicher Form und Länge aus der Membran herausragen, sondern auch mit dem Tegument über die Hüllmembran hinweg verbunden sein, was möglicherweise die Ursache der gefundenen ungleichen Verteilung der circa 650 Spikes auf der Virusmembran ist. Daraus ergibt sich für das Virus eine Polarität, die beim Zelleintritt wahrscheinlich von Bedeutung ist. Denn interessanterweise scheint der asymmetrische Aufbau der Herpesviruspartikel den Infektionsvorgang zu unterstützen. Anders als zunächst erwartet, erfolgt die Fusion nämlich nicht an dem Pol, der am dichtesten mit Glykoprotein-Spikes besetzt ist sondern an dem Viruspol mit weniger Spikes, und mit der geringsten Menge an Tegumentproteinen. Dies ist der Bereich, in dem Viruskapsid und Hüllmembran einander am nächsten sind. Vermutet wird deshalb, dass dieser Pol des Virus für die Verschmelzung wichtig ist, während der durch eine dickere Tegumentschicht und viele Glykoprotein-Spikes charakterisierte Gegenpol eher beim Zusammenbau der Viruspartikel von Bedeutung ist. Basierend auf diesen Beobachtungen konnte ein Modell für den Eintrittsvorgang aufgestellt werden. Dabei wird davon ausgegangen, dass große, sperrige Spikes in dichten Gruppen auf der Virusoberfläche nicht an der Initiierung des Verschmelzungsprozesses beteiligt sind, sondern eher als Abstandshalter fungieren. In den weniger dicht mit Glykoproteinen besetzten Bereichen der viralen Hüllmembran hingegen können kleinere Glykoproteine des Virus an ihre Rezeptoren auf der Zellmembran binden, was den weiteren Verlauf des Infektionsvorganges auslöst. Es kommt so zur Vermischung der Membranlipide und zur Ausbildung einer Pore gefolgt von deren Erweiterung und der Freisetzung des viralen Inhalts ins Zellinnere [6]. Diese doch neuen Erkenntnisse stellen die bis dato betonte Bedeutung der Glykoprotein-Spikes der Virushülle im Prozess der Virusassemblierung in den Hintergrund. Mit dem Thema der hier vorliegenden Arbeit im Hintergrund drängt sich die Frage auf um die genaue Bedeutung und Funktion des Kapsids beim Eintritt des Virions in die Wirtszelle und dem Einfluß der Cyclodextrine auf eben diese Struktur. Die Antworten auf diese Fragen könnten wahrscheinlich weitere gezielte Untersuchungen mittels eben dieser Kryo-EM Technik liefern.

6.4.2 Virale Proteine – Ziele zukünftiger Chemotherapien?

Von den 84 bekannten Genen des HSV-1 und HSV-2 sind cirka 45 Gene für das virale Wachstum in Zellen entbehrlich. Zu den 45 Genen gehören auch diejenigen, dessen Produkte das Virus befähigt:

- an polarisierte Zellen zu binden und in diese einzudringen; die Feinabstimmung in der Expression individueller Gene vorzunehmen
- die Ausbreitung innerhalb des Zellverbandes zu unterstützen
- Proteine zu sortieren und die virale Exocytose zu ermöglichen; den Pool an Prekursoren zu erhöhen
- virale DNA zu reparieren
- und die Immunantwort einer befallenen Zellen zu unterdrücken [19].

Es muss jedoch betont werden, dass diese Gene nicht wirklich entbehrlich sind. Denn Viren mit einem Mangel an diesen Genen wurden aus Menschen bisher nicht isoliert, und Viren denen man mittels einer Genmanipulation diese Gene entfernt hat zeigten an Tiermodellen oftmals eine herabgesetzte Fähigkeit sich in diesen zu Vermehren und Auszubreiten. Auf der anderen Seite gibt es die Beobachtung, dass viele Gene unwichtig sind und durch andere nicht-HSV-Gene ersetzt werden können. Das gibt Hoffnung auf einen abgeschwächten Lebendimpfstoff, der als Vektor für die Expression fremder Gene fungieren könnte [19]. Im Folgenden werden einige teilweise gut erforschte virale Proteine vorgestellt deren Bedeutung für die Replikation und somit „Überleben“ des Virusmaterials sehr bedeutend scheint.

6.4.2.1 Das Tegument – mehr als nur eine Proteinschicht?

Das Tegument ist eine amorphe und elektronendichte Schicht aus Proteinen die zwischen dem Kapsid und der inneren Oberfläche der Virushülle liegt [130]. Wie das Tegument gebildet wird, war bisher immer klar: Zuerst entsteht das HSV Kapsid wie bei allen Herpesviren - im Zellkern. Dann knospt es in die innere Kernmembran um behüllte, tegumenthaltige Virionen im perinuklearen Bereich entstehen zu lassen. Aber obwohl die nachfolgenden Schritte immer kontrovers diskutiert worden sind, nimmt die Autorengruppe um Lee et al. an, dass bei Alphaherpesviren (wie dem HSV) die Hülle perinuklear gelegener Virione mit der Außenmembran von Zellkernen fusioniert. Das Resultat sind nicht behüllte Kapside die in zytoplasmatische Organellen knospen und erst in diesem Prozess ihr Tegument und ihre finale Hülle erhalten. Die genaue

Identität der Organellen ist noch unklar [130]. Harley et al. zeigten aber, dass diese Organellen Eigenschaften haben wie Endosome oder trans-Golgi-Netzwerke [131].

6.4.2.2 Die tegumentassoziierten viralen Proteine: VP 16 und vhs

Wie schon beschrieben, liegt die besondere Bedeutung der Tegumentproteine vor allem in der Assemblierung neuer Viruspartikel. Inzwischen sind mindestens ein Duzend verschiedener Polypeptide bekannt die in dem Tegument residieren. Zu den größeren Polypetiden des Teguments gehören die viralen Proteine VP1/2, VP13/14, VP11/12, VP16, and VP22 [130]. Bisher hat man vermutet, dass diese eine „nur" regulatorische Funktion haben [7]. Tatsächlich gibt es viele Hinweise darauf, dass sich einige Tegument-Polypeptide von Alphaherpesviren mittels der cytoplasmatischen Ausläufer von Hüll-Glykoproteinen mit zelullären Membranen verbinden [130]. Gut erforscht ist ihre Bedeutung für den richtigen Ablauf der Virusreplikation. Mindestens 5 virale Proteine sind bekannt, die eine robuste Expression von viralen Genen sichern, und für die Mobilisation von zellulären Proteinen für eine effiziente Synthese viraler DNA und Proteine zuständig sind [19]. Zwei davon sind Tegumentproteine und sie werden direkt nach dem Uncoating (also dem ablegen des Tegumentmantels) freigegeben. Das eine Protein ist der „virale Wirt-Abschaltfaktor" = VHS (*engl.* viral host shut off factor). Das Phosphoprotein VHS wird von dem Spätgen UL41 verschlüsselt, degradiert zelluläre mRNA und interferiert mit der Wirtszellproteinsynthese, was dem Virus erlaubt, die zelluläre Translationsmaschinerie zu übernehmen [8]. Das VHS stimuliert auch den Umsatz aller Klassen viraler mRNA, und ist vermutlich bedeutsam für die Beseitigung von viralen Transkripten der Sofort- und Frühproteine, um eine Umschaltung zu den Spätproteinen zu ermöglichen.

Das zweite ist das Tegumentprotein VP16 (virales Protein 16), auch „tranksaktivierendes Protein" bekannt. Es aktiviert und steigert in Zusammenarbeit mit dem zellulären Transkriptionsfaktor Oct1 die Transkription des viralen Sofortprotein- Genpromotors durch die zellulären RNA-Polymerasen [8]. Es ist bekannt, dass das VHS einen Komplex mit dem VP16 bildet, was vermutlich die Aktivität des VHS in der späten Phase der Infektion dämpfen soll. Die Funktion von VHS ist sehr wichtig für die virale Pathogenense, denn eine Inaktivierung von UL41 resultiert in einem stark herabgesetzten Wachstum des Virus in Ganglien, Gehirn und Kornea; einer nur geringen Virulenz und in einer reduzierten Fähigkeit einen Zustand der Latenz zu Etablieren und Aufrechtzuerhalten. Zudem zeigen Lee et al. in ihrer Arbeit erstaunliche Ergebnisse. Das VHS scheint zum größten Teil unlösbar zu sein, selbst in der Anwesenheit größerer Mengen an Salz und Lösungsmitteln. Es verbleibt membrangebunden und ist Teil der unlösbaren Glykolipid-

komplexe, auch Lipid Rafts genannt. Die Autoren vermuten, dass die Bindung von VHS an Lipid Rafts mit dem Einbau des VHS in das Tegument korreliert [131].

6.4.2.3 Andere bedeutsame virale Proteine

Durch die Transkription der fünf Sofortgene werden die Sofortproteine ICP (*engl.* infected cell protein): ICP0, ICP4, ICP22, ICP27 und ICP47 produziert, welche die Expression von allen späteren Genen kontrollieren.

ICP0 dient als Transkriptionsaktivator von HSV- und nicht-HSV- Promotoren und ist für die virale Replikation nicht essentiell. Virale Proteine können an zelulläre Proteinen binden, um diese zu stabilisieren oder umzulenken. Sie können aber auch ihre Funktion blockieren. ICP0 bindet ebenfalls an eine Reihe von zellulären Proteine, deren Funktion schließen läst, dass das ICP0 folgende Aufgaben hat: wichtige Zellzyklus Proteine wie das Cyclin D3 zu stabilisieren, die Zelle damit an den Rand der S-Phase zu bringen (ohne die Zellteilung zuzulassen), und eine kraftvolle Proteinsynthese zum eigenen Zweck aufrechtzuerhalten [19]. Zudem haben Yu et al. herausgefunden, dass das ICP0 mit dem Tegumentprotein VP22 im Kern kolokalisiert ist und mit diesem physikalisch interagiert. Durch die Interaktion von ICP0 mit VP22 ist das VP22 an der Modulation viraler Transkripte mit involviert, und beeinflusst die Transkription von viraler Thymidinkinase und die Expression von gC Genen (Glykoprotein C), welche wiederum für die Fusion des Virus mit der Wirstzelle notwendig sind [132].

ICP4 und ICP27 sind Schlüsselproteine, die von der Sofortprotein- Region produziert werden. Sie aktivieren die Frühprotein- und Spätproteingene, und kontrollieren deren Expression durch transkriptionelle und post- transkriptionelle Mechanismen. Da die Frühproteine Enzyme sind, die primär für die virale DNA-Synthese verantwortlich sind, bedeutet es, dass diese beiden Proteine ICP4 und ICP27 für die virale Replikation unentbehrlich sind [8].

Das ICP47 ist nicht direkt für die Replikation essentiell, aber sehr bedeutend für eine andere Form der Interaktion zwischen viralen und zellulären Proteinen. Es dient dem Zweck der Unterdrückung der Immunantwort der Wirtszelle. Mithilfe von ICP47 kann das HSV die Präsentation von antigenen Peptiden an der Zelloberfläche blockieren. Das ist möglich, weil das ICP47 am TAP1/TAP2 bindet - einem Protein des Enoplasmatischen Reticulums welches an dem Transport der antigenen Peptide zur Zelloberfläche beteiligt ist [19].

6.4.3 Etablierung und Aufrechterhaltung der Latenz – Ansatzpunkte für Genmodulation

Die Nachhaltigkeit einer Herpes Virus Infektion wird durch die Latenz gewährleistet. Wenn man den Mechanismus der Etablierung und der Aufrecherhaltung des Latenzzustandes lenken könnte, läge darin auch ein Schlüssel zu Eliminierung des Virus aus dem Wirtskörper.

6.4.3.1 Das HSV-Genom in der Latenzphase

Der genaue Mechanismus der Latenzbildung- und Aufrechterhaltung und dessen Rolle bei der Reaktivierung der Infektion war bisher nur unzureichend geklärt. Man wusste, dass das latente Virus in den Neuronen der Spinalganglien keinen Replikaktionszyklus vollzieht und sich dem Zugriff der humoralen und der zellulären Immunabwehrfaktoren entziehen kann [12]. In-situ–Hybridisierungsversuche zeigten, dass die Sofortprotein-mRNA und deren korrespondierende Proteine nicht exprimiert werden. Die Virusreplikation wie auch die Synthese der Virusbestandteile findet während der Latenz nicht statt [16]. Das bisher einzige gefundene und nachweisbare virale Transkript während der Latenz war bei beiden Viren (HSV-1 wie HSV-2) das nicht kodierende Latenz-Assozierte-Transkript - auch LAT genannt, welches aus den langen wiederholten Sequenzen des viralen Genoms transkribiert wird. Es wurde angenommen, dass die Sequenzen der LAT´s die Etablierung der Latenz und die Reaktivierung des Virus aus den sensorischen Neuronen regulieren. Denn die Deletion des LAT Promoters bei HSV-1 und HSV-2 reduziert die Fähigkeit der Reaktivation. Die Substitution von HSV-1 LAT zu nativen HSV-2 LAT Sequenzen dagegen verleiht einen Reaktivations-Phänotyp wie beim HSV-1 [133].

6.4.3.2 Die Rolle von miRNA (microRNA) in der Latenz

Die Arbeitsgruppe um A. Gupta et al. fand 2006 eine microRNA (miRNA) kodiert durch Gene aus dem Exon 1 von HSV-1 LAT. Diese miRNA hatte die Fähigkeit die Expression von (TGF)-β (*engl*. transforming growth factor) und von SMAD 3 runter zu regulieren [134]. TGF- β ist eine Familie von multifunktionellen Zytokinen, die auf andere Zellen wirken indem sie Einfluss auf ihr Wachstum, Differenzierung und die Appoptose nehmen. Das SMAD 3 ist ein intrazelullärer Mediator der TGF-β Signaltransduktion [135]. Deshalb konnte angenommen werden, dass diese miRNA die Induktion der Apoptose in infizierten Zellen über die Modulation der TGF-β Signalübertragung reguliert, und somit zur Persistenz einer latenten Form des HSV in sensorischen Neuronen beisteuert [134]. Somit spielt das HSV-1 LAT eine womöglich bedeutende Rolle in der Etablierung der Latenz durch ihren Einfluss auf das Überleben der akut infizierten Neurone,

wie hier durch die Hemmung ihrer Apoptose [133]. Über die molekulare Funktion von HSV-2 LAT war bis vor kurzen kaum etwas bekannt. Die Arbeitsgruppe um S. Tang lieferte neue Erkenntnisse über die Regulierung und Steuerung der Latenz in HSV-2 infizierten Zellen und welche Rolle die LAT´s dabei einnehmen. Gefunden wurde eine mit HSV- 2 LAT verwandte micro RNA bezeichnet als mir-I. Diese liegt kodiert im HSV-2 LAT Exon 2. Die mir-I fand man in infizierten und transferierten Zellen in vitro, in akut und latent infizierten Ganglienzellen bei Meerschweinchen in vivo sowie in HSV-2 infizierten menschliche sakralen Dorsalganglien. Die mir-I war die einzige voll entwickelte miRNA, die in der gesamten HSV-2 LAT Region gefunden wurde. Außerdem konnte gezeigt werden, dass in HSV-2 infizierten Ganglienzellen die mir-I hauptsächlich durch den LAT Promoter reguliert wird, der als einziger bekannt während einer Latenzphase sehr aktiv zu sein scheint. Eine ursprünglich Hypothese, dass das LAT oder deren miRNA´s die lytische Genexpression kontrolliert, in dem es über eine antisense-Orientierung mit dem 3`Ende des ICPO Transkripts überlappt, konnte in diesem Experiment nicht bestätigt werden. Vielmehr wurde nachgewiesen, dass das mir-I in einer anti-sense Richtung auf dem ICP 34.5 Strang lokalisiert ist und die Expression von ICP 34.5 spezifisch und effizient reduziert. Das ICP 34.5 ist notwendig für eine Effiziente virale Replikation in neuronalen Zellen in vivo. So wurde die Hypothese aufgestellt, dass die mir-I womöglich den Verlauf einer viralen Infektion in dem peripheren Nervensystem modulieren kann, indem es als molekularer Schalter für das ICP34.5 dient [133]. Die Arbeitsgruppe um Umbach et al. meldete zeitgleich die Entdeckung weiterer fünf HSV-1 miRNA´s. Eine davon, die mir-H2-3p liegt umschrieben in einer anti-sense Richtung zum ICPO. Die mir-H2-3p ist befähigt die ICPO Proteinexpression zu reduzieren, beeinflusst jedoch die Höhe der ICPO miRNA´s nicht signifikant. ICPO ist ein Aktivator der Transkription von Sofortproteinen, ist wichtig für eine produktive HSV Replikation, und scheint eine Rolle zu spielen in der Reaktivierung aus der Latenz. Diese Ergebnisse zeigen, dass die LATs als primäre miRNA Präkursoren fungieren, indem sie für verschiedene miRNAs in HSV-1 und HSV-2 infizierten Zellen kodieren, und die Etablierung und Aufrechterhaltung der Latenz durch die Regulierung der posttranskriptionellen Virusgenexpression ermöglichen [136].

7 Zusammenfassung und allgemeine Rückschlüsse

Nach erfolgreicher Erstinfektion des Wirtes besitzt das Herpes-Simplex-Virus die Fähigkeit sich der immunologischen Kontrolle zu entziehen, und es kommt zu einer „latenten Persistenz“ die lebenslang dauert [13]. Diese erfolgreiche Persistenz des Virus in einem immunologisch kompetenten Wirt hängt von seiner sehr differenzierten Strategie der viralen Genexpression ab. Diese besteht aus einem Wechsel zwischen einem nichtproduktiven immunologisch unerkannten Status der Latenz und einem produktiven Zyklus, in einem Organ eingeschränkter immunologischer Überwachung, wie hier dem zentralen Nervensystem [13]. Durch verschiedene Provokationsfaktoren kann es zu einer endogenen Reaktivierung der in den Ganglien latent vorhandenen Herpes-Simplex-Viren kommen. Die Viren wandern auf neuralem Weg vom Ganglion zentrifugal in die Haut oder die Schleimhäute wo in Epidermis- bzw. Epithelzellen wieder eine Replikation stattfindet [12].

Eine HSV bedingte Infektion der Sakralganglien ruft das Klinische Bild eines Herpes genitalis hervor. Dabei kommt es in unterschiedlicher Häufigkeit zum rezidivierenden Befall der Haut und der Schleimhäute an und um die Geschlechtsorgane herum - mit den typischen Effloreszenzen: gruppierte Bläschen auf gerötetem Grund. Begleitsymptome wie Juckreiz, stechende Schmerzen, Fieber, Gliederschmerzen oder Abgeschlagenheit können gelegentlich auftreten. Bei immunkompetenten Patienten heilt der Herpes genitalis für gewöhnlich komplikationslos binnen 7-10 Tage narbenfrei ab. Bei immunsupprimierten Patienten können disseminierte und fulminante Krankheitsverläufe mit lebensbedrohlichen Erkrankungen der innerer Organe und des ZNS auftreten. Der Herpes neonatorum ist eine der meist gefürchteten Komplikationen einer genitalen Herpes-Simplex-Infektion.

Durch mangelnde Aufklärung steigt das Risiko einer Übertragung. Die Zahl der Infizierten ist höher als zunächst vermutet werden kann, die Dunkelziffer ausgenommen. Der Leidensdruck der Betroffenen ist oft groß. Die wiederkehrenden Infekte mindern die Lebensqualität, das potentielle Ansteckungsrisiko für den Partner belastet oft eine Beziehung und führt bei vielen Patienten zu psychologischen Problemen.

Das effektivste Mittel mit dem man gegen die große Durchseuchung mit HSV kämpfen könnte, wäre eine Vakzinierung. Doch bis lang gibt es keinen Impfstoff, der einen sicheren Schutz vor einer HSV Infektion ermöglicht. So bleibt die Behandlung von HSV Infektion symptomorientiert und bis lang nur unzulänglich. Systemisch verabreichte antivirale Substanzen wie die Nukleosidanaloga sind größtenteils wirksam in der Unterdrückung und der Verkürzung von Infektionen und deren Rezidiven. Sie können aber nicht heilen. Außerdem lassen der hohe

Kostenaufwand, die potentiellen Nebenwirkungen und das Risiko möglicher Resistenzen einen nur beschränkten Einsatz zu. Die Wirksamkeit von topisch applizierten Antiviral Cremes wird in vielen wissenschaftlichen Arbeiten kontrovers beurteilt. So besteht nach wie vor die Notwendigkeit, nach einem wirksamen topischen Medikament zu forschen, welches lokal appliziert über einen langen Zeitraum sicher und effektiv gegen rezidivierende HSV Infektionen angewendet werden kann.

Cyclodextrine sind cycklische Kohlenwasserstoffe und haben als „molekulare Zuckertüten" die besondere Fähigkeit Gast-Wirt Beziehungen einzugehen, indem sie Komplexe bilden mit in Wasser gelösten Molekülen. Sie können u.a. Cholesterin aus bestehenden Lösungen oder Bindungen extrahieren und an sich binden.

Cholesterin ist einer der Bausteine von Lipid Rafts, welche wiederum einen wichtigen Bestandteil von Plasmamebranen und Virushüllen bilden. Plasmamebran und Virushülle sind beides kontaktvermittelnde Plattformen und für die Fusion der Viruspartikel mit der Wirtszelle sowie Ausbreitung des Virus entlang des Wirstzellverbandes essentiell. Diverse Studien haben belegt, dass eine Cholesterinextraktion in vielen Fällen zu einem Riß der Lipid Rafts oder zu einer herabgesetzten Infektiosität eines Virus führte. Der Einfluß von Cyclodextrinen auf die Heilung von genitalen HSV Infektionen ist bis jetzt nicht untersucht worden.

Diese Arbeit legt die Ergebnisse über die klinische Erprobung eines Cyclodextrin Gels mit dem Wirkstoff 2-Hydroxypropyl ß-Cyclodextrin (2-HP-BCD) an Patienten mit einem rezidivierenden Herpes genitalis in der Prodromalphase dar. Diese multizentrische und doppelblinde Studie untersuchte dabei das Cyclodextrin Gel im Vergleich zu einem Placebo Gel. Insgesamt nahmen 218 Patienten an dieser Studie teil. Die Patienten wurden randomisiert und über einen Behandlungszeitraum von 7 Tagen beginnend ab den ersten Anzeichen eines Rezidivs mit einem der beiden Studienmedikamente behandelt.

Das topisch applizierte Cyclodextrin Gel erwies sich effektiver als das Placebo und gut verträglich für die Behandlung der Läsion einer genitalen Herpes Simplex Infektion. Bezüglich der Wirksamkeit vom Cyclodextrin Gel zeigte sich eine kürzere Dauer bis zur Verkrustung mit einer schnelleren Heilung und weniger Rötung sowie eine etwas kürzere Schmerzepisode im Vergleich zum Placebo. Das Medikament kann als sicher und unbedenklich erachtet werden [137]. Aber obwohl die Überlegenheit des Cyclodextrin Gel im Vergleich zum Placebo signifikant ist sind die Unterschiede in der Wirkung nicht sehr groß. Sie stimmen jedoch optimistisch, weitere Untersuchung bezüglich Dosisfindung und Konzentrationsstärke zu machen.

8 Abkürzungsverzeichnis

AE	Adverse Event
AK	Antikörper
CD	Cylodextrin
CRF	Case Report Form
CRO	Contract Research Organisation
CTMF	Clinical Trial Master File
DNA	Desoxyrybonukleinsäure
DRMs	Detergent Resistant Membrane
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EM	Elektronenmikroskop
FAS	Full Analysis Set
GCP	Good Clinical Practice
GPI	Glykophosphatidylinositol
HG	Herpes genitalis
HIV	Humane Immundefizienz-Virus
HSV	Herpes-Simplex-Virus
HSV-1	Herpes-Simplex-Virus-1
HSV-2	Herpes-Simplex-Virus-2
ICP	Infected Cell Protein
ITT	Intention To Treat
KI	Konfidenzintervall
LAT	Latenz Assosziierte Transkript
LOCF	Last Observation Carried Forward-Methode
mRNA	messenger RNA
miRNA	microRNA
RNA	Ribonukleinsäure
SAE	Serious Adverse Event
SAF	Safety Set
SD	Standardabweichung
SMAD	SMA and MAD releated Proteins
STD	SexuallyTransmitted Diseases
TGF	Tumor Growth Factor
UL	Unique Long
US	Unique Short
VDS	Verbal Descriptor Scale
VHS	Viral Host Shut Off Faktor
VP	Viral Protein

9 Literaturverzeichnis

1. Mims C, Dockrell HM, Goering RV, Roitt I, Wakelin D, Zuckermann M.: **Medizinische Mikrobiologie, Infektiologie.** Urban& Fischer in Elsevier, 2. Auflage, 2006: p. 35-43.
2. Scheiner O.: **Pathophysiologie viraler Infektionskrankheiten**. Facultas Verlag- Wien, 2002: p. 61-64.
3. Schmid-Wendtner MH**,** Korting HC**.: Penciclovir cream--improved topical treatment for herpes simplex infections.** Skin Pharmacol Physiol. 2004 Sep-Oct;17(5): p. 214-218.
4. Mertz GJ.: **Management of genital herpes.** Adv Exp Med Biol. 1996;394: p. 1-10.
5. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC, Landthaler M.: **Dermatologie und Venerologie**. Springer Verlag, 5. Auflage, 2005: p.57-58.
6. Grünewald K.: **Strukturelle Untersuchungen und Dynamik von Virus-Zell-Interaktionen.** Forschungsbericht 2009 - Max-Planck-Institut für Biochemie. Attached February, 03, 2011 at http://www.mpg.de/jahrbuch/forschungsbericht?obj=337295.
7. Nitsche A.: **Einfluß des Humanen-Herpesvirus 6 (HHV-6) auf die Humane Chimären-Hämatopoese im Xeno-Transplantatmodell der NOD/SCID Maus.** 2001: p.1-123. Attached February, 13, 2012 at www.diss.fu-berlin.de.
8. **Herpes.** Forschungsinstitut für Virologie und Biomedizin, Wien. Attached February, 06, 2011 at http://www.vu-wien.ac.at/i123/SPEZVIR/HERPESGEN1.HTML
9. Miksits K, Hahn H.: **Basiswissen Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie.** Springer Verlag, 2. Auflage, 1999: p. 56-57.
10. Fritsch P.: **Dermatologie und Venerologie.** Springer Verlag Berlin-Heidelberg, 2.Auflage, 2004: p. 292-298.
11. Lautenschlager S, Kempf W.: **Herpes genitalis.** Hautarzt. 2000 Dec;51(12): p. 964-80.12.
12. Adam D, Doerr HW, Link H, Lode H. :**Die Infektiologie.** Springer Verlag, 1.Auflage, 2004: p. 610-611, 771-773.
13. Hof H., Dörries R.: **Medizinische Mikrobiologie.** 3. Auflage, MLP Duale Reihe, Thieme Verlag, 3.Auflage, 2007: p. 134-189.
14. Stanberry LR, Rosenthal SL.: **The Epidemilogy of Herpes Simplex Virus Infections in Adolescents**. Herpes 6:1; 1999: p. 12-15
15. Petersen EE, Doerr HW, Gross G, Petzold D, Weissenbacher ER, Wutzler P.: **Der Herpes genitalis.** Dt Ärztebl [Heft 38], 96;1999: p. 2358–2364
16. Doerr HW, Gerlich WH.: **Medizinische Virologie – Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie virologischer Krankheitsbilder.** Thieme Verlag, 2.Auflage, 2009: p. 7-41, 87-91, 224-225, 653-664
17. Hahn H,Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann U.: **Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie.** Springer Verlag Heidelberg, 5.Auflage, 2004: p. 451-477, 609-614
18. Spear PG.: **Herpes simplex virus: receptors and ligands for cell entry.** Cellular Microbiology. 2004; **6**(5): p. 401–410
19. Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B.: **Herpes simplex viruses.** Clin Infect Dis. 1998 Mar;26(3): p. 541-53.
20. Nath AK, Thappa DM.: **Newer trends in the management of genital herpes.** Indian J Dermatol Venereol Leprol 2009;75: p. 566-574
21. Darai G:, Handermann M., Hinz E., Sonntag H.-G.: **Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen.** Springer Verlag, 1997: p. 256-260
22. Roberts CM.: **Genital herpes in young adults: Changing Sexual behaviors, epidemiology and management.** Herpes 12:1; 2005: p.10-14.

23. Petzoldt D, Gross G.: **Diagnostik und Therapie sexuell übertragbarer Krankheiten.** Springer Verlag, 2001: p. 52-57
24. Löwhagen GB, Berntsson M, Bonde E, Tunbäck P, Krantz I.: **Acceptance and outcome of herpes simplex virus type 2 antibody testing in patients attending an STD clinic--recognized and unrecognized infections.** Acta Derm Venereol. 2005;85(3): p. 248-252.
25. Lafferty WE, Downey L, Celum C, Wald A: **Herpes Simplex Virus Type 1 as a Cause of Genital Herpes: Impact on Surveillance and Prevention.** The Journal of Infectious Diseases. 2000;181: p. 1454–1457
26. Buxbaum S, Geers M, Gross G, Schöfer H, Rabenau HF, Doerr, HW.: **Epidemilogy of herpes simplex virus type 1 an 2 in Germany: what has changed?**. Medical Microbilogy and Immunology 2003;192(3): p. 177-181.
27. Wutzler P, Doerr HW, Eichhorn U, et al.: **Seroprevalence of herpes simplex virus type1 and type 2 in selected German populations-relevance for the incidence of genital herpes.** Journal of Medical Vorology 2000; 61(2): p. 201-207.
28. Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL.: **Risk factors for infection with herpes simplex virus type 2: role of smoking, douching, uncircumcised males, and vaginal flora.** Sex Transm Dis. 2003 May;30(5): p. 405-410.
29. Smith JS, Robinson NJ.: **Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1: a global review.** The Journal of Infectious Diseases 2002; 186: p. 3-S28
30. Kerl H, Garbe C, Cerroni C, Wolff HH.: **Histopathologie der Haut.** Springer Verlag Berlin-Heidelberg, 2003: p. 255.
31. Altmeyer P, Dirscka Th, Hartwig R. : **Klinikleitfaden Dermatologie**. Verlag Urban&Fischer, 2.Auflage, 2003: p. 243.
32. Barton SE, Ebel CW, Kirchner JT, Mertz GJ.: **The Clinical Mangement of Recurrent Genital Herpes: Current Issues and Future Prospects.** Herpes 9:1;2002: p. 15-16.
33. Wald A, Zeh J, Selke S, Ashley RL, Corey L.: **Virologic characteristics of subclinical and symptomatic genital herpes infections.** N Engl J Med. 1995 Sep 21;333(12): p. 770-5.
34. Corey L, Wald A, Patel R, Sacks SL, Tyring SK, Warren T, Douglas JM Jr, Paavonen J, Morrow RA, Beutner KR, Stratchounsky LS, Mertz G, Keene ON, Watson HA, Tait D, Vargas-Cortes M; Valacyclovir HSV Transmission Study Group.: **Once-daily valacyclovir to reduce the risk of transmission of genital herpes.** N Engl J Med. 2004 Jan 1;350(1): p. 11-20.
35. Kempf W, Dummer R.: Bericht der Fortbildungsveranstaltung "**Viruserkrankungen der Haut – ein Update 2000"**. Hautnah 2/2000;2000, Juni.
36. Leone P.: **Expert Commentary: genital herpes Transmission.** Herpes 11:2; 2004: p. 48-49.
37. Tyler KL.: **Herpes simplex virus infections of the central nervous system: encephalitis and meningitis, including Mollaret's.** Herpes 2004 Jun;11 Suppl 2:57A-64A.
38. Kamei S.: **Infection of herpes simplex virus -Clinical diagnosis and treatment for herpes virus encephalitis-.** Rinsho Shinkeigaku. 2011 Nov;51(11): p. 1040-1043.
39. Melville J, Sniffen S, Crosby R. et al.: **Psychosocial impact of serological diagnosis of herpes simplex virus type 2: a qualitative assessment.** Sex Transm Infect 2003;79: p. 280–285.
40. Green J, Wing C.: **Psychological issues in genital herpes management**. Herpes 2004 Dec; 11(3): p. 60-62.
41. Wald A.: **Synergistic interactions between herpes simplex virus type-2 and human immunodeficiency virus epidemics.** Herpes 2004 Dec; 11(3): p. 70-76.

42. Augenbraun M, Feldmann J, Chirgwin K, et al.: **Increased genital shedding of herpes simplex virus type 2 in HIV-seropositve women**: Ann Intern Med 1995; 123: p. 845-847.
43. Patterson J.: **Genital HSV detection among HIV-1-infected pregnant women in labor.** Infect Dis Obstet Gynecol. 2011;2011:157680.
44. Martin ET, Krantz E, Gottlieb SL: **A pooled analysis of the effect of condoms in preventing HSV-2 acquisition.** Arch Intern Med. 2009 Jul 13;169(13): p. 1233-1240.
45. Bauer GR, Khobzi N, Coleman TA.: **Herpes simplex virus type 2 seropositivity and relationship status among U.S. adults age 20 to 49: a population-based analysis.** BMC Infect Dis. 2010 Dec 22;10:359.
46. ACOG Comittee on Practice Bulletins-Gynecology: **Clinical management guidlines for obsterician-gynecologysts, number 57, November 2004. Gynecologic herpes simplex virus infections.** Obstet Gynecol 2004 Nov; 104(5Pt 1): p. 1111-1118.
47. Domeika M.: **Survey of diagnostic services for genital herpes in fourteen countries in Eastern Europe.** Acta Derm Venereol. 2011 May;91(3): p. 333-336.
48. Whitley, RJ.: **New approaches to the therapy of HSV infections.** Herpes 2006;13(2): p. 53-55.
49. Wagstaff AJ, Faulds D, Goa KL.: **Aciclovir. A reappraisal of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy.** Drugs 1994, Jan; 47(1): p. 153-205.
50. Brown TJ., McCrary M., Tyring SK.: **Antiviral agents: Non-antiretroviral drugs**. J Am Acad Dermatol 2002 Oct; 47(4): p. 581-599.
51. Miller WH, Miller RL.: **Phosphorylation of acyclovir (acycloguanosine) monophosphat by GMP kinase**.: J Biol Chem 1980 Aug 10;255(15): p. 7204-7207.
52. Fyfe JA, Keller PM, Furman PA, Miller RL, Elion GB.: **Tymidine kinase from herpes simplex virus phosphorylates the new antiviral compund9-(hydroxyrthoxymethyl)guanine**. J Biol Chem 1978, 253: p. 8721-8727.
53. Elion GB, Furman PH, Fyfe JA, De Miranda P, Beauchamp L, Schaeffer HJ.: **Selectivity of action of an antiherpetic agent 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine.** Proc Natl Acad SCI USA 1977; 74: p. 5716-5720.
54. O'Brien JJ, Campoli-Richards DM.:**Acyclovir. An updated review of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy. Drugs. 1989 Mar;37(3): p. 233-309.**
55. Peacock JE Jr, Kaplowitz LG, Sparling PF, et al.: **Intravenous acyclovir therapy of first episodes of genital herpes: a multicenter double-blind, placebo-controlled trial.**Am J Med. 1988 Sep;85(3): p. 301-306.
56. Spruence SL, Steward JC, Rowe NH, McKeough MB, Wenerstrom G, Freeman DJ.: **Treatment of recurrent herpes simplex labialis with oral acyclovir.** J Infect Dis 1990; 161: p. 185-190.
57. Goldberg LH, Kaufmann R, Kurtz TO, Conant MA, Eron LJ, Batenhorst RL, et al.: **Long-term suppression of recurrent genital herpes with acyclovir: a 5-year benchmark. The Acyclovir Study Group.** Arch Dermatol 1993; 129: p. 582-587.
58. Fuchs J, Celum C, Wang J, et al.; HIV Prevention Trials Network 039 Protocol Team: **Clinical and virologic efficacy of herpes simplex virus type 2 suppression by acyclovir in a multicontinent clinical trial.**J Infect Dis, 2010 Apr 15;201(8):p. 1164-1168.
59. Fleischer R, Johnson M.**: Acyclovir nephrotoxicity: a case report highlighting the importance of prevention, detection, and treatment of acyclovir-induced nephropathy.** Case Report Med. 2010;2010. pii: 602783.

60. Soul-Lawton J, Seaber E, On N, Wootton R, Rolan P, Posner J. **: Absolute bioavailability and metabolic disposition of valaciclovir, the L-valyl ester of acyclovir, following oral administration to humans.** Antimicrob Agents Chemother. 1995 Dec;39(12): p. 2759-2764.
61. Reitano M, Tyring S, Lang W.: **Valaciclovir for the suppression of recurrent genital herpes simplex virus infection: a large-scale dose range-finding study. International Valaciclovir HSV Study Group.** J Infect Dis. 1998 Sep;178(3): p. 603-610.
62. Durglishvili N, Shishniashvili D, Kvirkvelia V.: **Evaluation of safety and efficacy of prolonged suppressive therapy of genital herpes with valacyclovir.** Georgian Med News. 2009 Jul-Aug;(172-173): p. 47-49.
63. Wald A, Selke S, Warren T, et al.: **Comparative efficacy of famciclovir and valacyclovir for suppression of recurrent genital herpes and viral shedding.** Sex Transm Dis. 2006 Sep;33(9): p. 529-533.
64. Johnston C, Saracino M, Kuntz S et al.: **Standard-dose and high-dose daily antiviral therapy for short episodes of genital HSV-2 reactivation: three randomised, open-label, cross-over trials.** Lancet. 2012 Jan 4. [online].
65. Chen XS, Han GZ, Guo ZP, Lu NZ, Chen J, Wang JB; Penciclovir Multicenter Genital Herpes Clinical Study Group.: **A comparison of topical application of penciclovir 1% cream with acyclovir 3% cream for treatment of genital herpes: a randomized, double-blind, multicentre trial.** Int J STD AIDS. 2000 Sep;11(9): p. 568-573.
66. Crumpacker C.: **The pharmacological profile of famciclovir.** Semin Dermatol. **1996 Jun;15(2 Suppl 1): p. 14-26.**
67. Chosidow O, Drouault Y, Leconte-Veyriac F, et al.:**Famciclovir vs. aciclovir in immunocompetent patients with recurrent genital herpes infections: a parallel-groups, randomized, double-blind clinical trial.** Br J Dermatol. 2001 Apr;144(4): p. 818-824.
68. Aoki FY, Tyring S, Diaz-Mitoma F, Gross G, Gao J, Hamed K.: **Single-day, patient-initiated famciclovir therapy for recurrent genital herpes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** Clin Infect Dis. 2006 Jan 1;42(1): p. 8-13.
69. Abudalu M, Tyring S, Koltun W, Bodsworth N, Hamed K.: **Single-day, patient-initiated famciclovir therapy versus 3-day valacyclovir regimen for recurrent genital herpes: a randomized, double-blind, comparative trial.** Clin Infect Dis. 2008 Sep 1;47(5): p. 651-658.
70. Tyring SK, Diaz-Mitoma F, Shafran SD, Locke LA, Sacks SL, Young CL.: **Oral famciclovir for the suppression of recurrent genital herpes: the combined data from two randomized controlled trials.** J Cutan Med Surg. 2003 Nov-Dec;7(6): p. 449-454.
71. Martinez V, Caumes E, Chosidow O.**:Treatment to prevent recurrent genital herpes.** Curr Opin Infect Dis. 2008 Feb;21(1): p. 42-48.
72. Reusser P.: **Herpesvirus resistance to antiviral drugs: a review of the mechanisms, clinical importance and therapeutic options.** J Hosp Infect. 1996 Aug;33(4): p. 235-248.
73. Sauerbrei A, Deinhardt S, Zell R, Wutzler P.:**Phenotypic and genotypic characterization of acyclovir-resistant clinical isolates of herpes simplex virus.** Antiviral Res. 2010 Jun;86(3): p. 246-252.
74. Kriesel JD, Spruance SL, Prichard M, Parker JN, Kern ER.: **Recurrent antiviral-resistant genital herpes in an immunocompetent patient.** J Infect Dis. 2005 Jul 1;192(1): p. 156-61.
75. Chazal N, Gerlier D.: **Virus entry, assembly, budding, and membrane rafts.** Microbiol Mol Biol Rev. 2003 Jun;67(2): p. 226-237.

76. Williams RO 3rd, Mahaguna V, Sriwongjanya M.: **Characterization of an inclusion complex of cholesterol and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin.**Eur J Pharm Biopharm. 1998 Nov;46(3): p. 355-360.
77. Somogyi G, Posta J, Buris L, Varga M.: **Cyclodextrin (CD) complexes of cholesterol-- their potential use in reducing dietary cholesterol intake.** Pharmazie. 2006 Feb;61(2): p. 154-156.
78. Ilangumaran S, Hoessli DC.: **Effects of cholesterol depletion by cyclodextrin on the sphingolipid microdomains of the plasma membrane.** Biochem J. 1998 Oct 15;335 (Pt 2): p. 433-440.
79. Wang XM, Zhang Y, Kim HP, Zhou Z, Feghali-Bostwick CA, Liu F, Ifedigbo E, Xu X, Oury TD, Kaminski N, Choi AM.: **Caveolin-1: a critical regulator of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis.** J Exp Med. 2006 Dec 25;203(13): p. 2895-2906.
80. Korade Z, Kenworthy AK.:**Lipid rafts, cholesterol, and the brain.** Neuropharmacology 2008 Dec;55(8): p. 1265-1273.
81. Nayak DP, Hui EK, Barman S.: **Assembly and budding of influenza virus.** Virus Res. 2004 Dec;106(2): p. 147-165.
82. Christian AE, Haynes MP, Phillips MC, Rothblat GH.: **Use of cyclodextrins for manipulating cellular cholesterol content.** J Lipid Res. 1997 Nov;38(11):p. 2264-2272.
83. Yancey PG, Rodrigueza WV, Kilsdonk EP et al.: **Cellular cholesterol efflux mediated by cyclodextrins. Demonstration Of kinetic pools and mechanism of efflux.** J Biol Chem. 1996 Jul 5;271(27):1 p. 6026-6034.
84. Kritharides L, Kus M, Brown AJ, Jessup W, Dean RT.:**Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin-mediated efflux of 7-ketocholesterol from macrophage foam cells.** J Biol Chem. 1996 Nov 1;271(44):27450-27455.
85. Liu SM, Cogny A, Kockx M, Dean RT, et al.:**Cyclodextrins differentially mobilize free and esterified cholesterol from primary human foam cell macrophages.** J Lipid Res. 2003 Jun;44(6): p. 1156-1166.
86. Haynes MP, Phillips MC, Rothblat GH.: **Efflux of cholesterol from different cellular pools.** Biochemistry. 2000 Apr 18; 39(15): p. 4508-4517.
87. Harder T, Scheiffele P, Verkade P, Simons K.: **Lipid domain structure of the plasma membrane revealed by patching of membrane components.** J Cell Biol. 1998 May 18;141(4): p. 929-942.
88. Chamberlain LH, Burgoyne RD, Gould GW.:**SNARE proteins are highly enriched in lipid rafts in PC12 cells: implications for the spatial control of exocytosis.** Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 May 8;98(10): p. 5619-5624.
89. Groeger M., Kretzer E. K., Woyke A. R.eader mit Hintergrundinformation zum Thema: **Cyclodextrine.** Science Forum Universität Siegen. Juli 2001. Attached February, 14, 2011 at http://www.science-forum.de/download/cyclodex.pdf
90. Wittke R.H. Dissertation: **Darstellung und Untersuchung funktionalisierte Polymeroberflächen**. Universität Diusburg-Essen. 2005.
91. Mañes S, del Real G, Lacalle RA, et al.;EMBO Rep.: **Membrane raft microdomains mediate lateral assemblies required for HIV-1 infection.** 2000 Aug;1(2): p. 190-196.
92. Hug P, Lin HM, Korte T, et al.: **Glycosphingolipids promote entry of a broad range of human immunodeficiency virus type 1 isolates into cell lines expressing CD4, CXCR4, and/or CCR5**. J Virol. 2000 Jul;74(14): p. 6377-6385.
93. Liao Z, Cimakasky LM, Hampton R, Nguyen DH, Hildreth JE.: **Lipid rafts and HIV pathogenesis: host membrane cholesterol is required for infection by HIV type 1.** AIDS Res Hum Retroviruses. 2001 Jul 20;17(11): p. 1009-1019.

94. Liao Z, Graham DR, Hildreth JE.: **Lipid rafts and HIV pathogenesis: virion-associated cholesterol is required for fusion and infection of susceptible cells.** AIDS Res Hum Retroviruses. 2003 Aug;19(8): p. 675-687.
95. Campbell SM, Crowe SM, Mak J.: **Lipid rafts and HIV-1: from viral entry to assembly of progeny virions.** Clin Virol. 2001 Oct;22(3): p. 217-227.
96. Graham DR, Chertova E, Hilburn JM, Arthur LO, Hildreth JE.: **Cholesterol depletion of human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus with beta-cyclodextrin inactivates and permeabilizes the virions: evidence for virion-associated lipid rafts.** J Virol. 2003 Aug;77(15): p. 8237-8248.
97. Carter GC, Bernstone L, Sangani D, Bee JW, Harder T, James W.: **HIV entry in macrophages is dependent on intact lipid rafts.** Virology. 2009 Mar 30;386(1): p. 192-202.
98. Scheiffele P, Rietveld A, Wilk T, Simons K.: **Influenza viruses select ordered lipid domains during budding from the plasma membrane.** J Biol Chem. 1999 Jan 22;274(4):2038-2044.
99. Takeda M.: **Lipid raft and influenza virus--viral glycoproteins on a raft.** Uirusu. 2004 Jun;54(1): p. 9-15.
100. Desplanques AS, Nauwynck HJ, Vercauteren D, Geens T, Favoreel HW.: **Plasma membrane cholesterol is required for efficient pseudorabies virus entry.** Virology. 2008 Jul 5;376(2): p. 339-345.
101. Aizaki H, Morikawa K, Fukasawa M, et al: **Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection.** J Virol. 2008 Jun;82(12): p. 5715-5724.
102. Hambleton S, Steinberg SP, Gershon MD, Gershon AA.: **Cholesterol dependence of varicella-zoster virion entry into target cells.** J Virol. 2007 Jul;81(14): p. 7548-7558.
103. Barman S, Nayak DP.: **Lipid raft disruption by cholesterol depletion enhances influenza A virus budding from MDCK cells.**J Virol. 2007 Nov;81(22):p. 12169-1278.
104. Choi KS, Aizaki H, Lai MM.: **Murine coronavirus requires lipid rafts for virus entry and cell-cell fusion but not for virus release.** J Virol. 2005 Aug;79(15): p. 9862-9871.
105. Bender FC, Whitbeck JC, Ponce de Leon M, Lou H, Eisenberg RJ, Cohen GH.: **Specific association of glycoprotein B with lipid rafts during herpes simplex virus entry.** J Virol. 2003 Sep;77(17): p. 9542-9552.
106. Saiag P, Praindhui D, Chastang C.: **A double-blind, randomized study assessing the equivalence of valacyclovir 1000 mg once daily versus 500 mg twice daily in the episodic treatment of recurrent genital herpes. Genival Study Group.** J Antimicrob Chemother. 1999 Oct;44(4): p. 525-5231.
107. Bodsworth NJ, Crooks RJ, Borelli S, Vejlsgaard G, Paavonen J, Worm AM, Uexkull N, Esmann J, Strand A, Ingamells AJ, Gibb A. **Valaciclovir versus aciclovir in patient initiated treatment of recurrent genital herpes: a randomised, double blind clinical trial. International Valaciclovir HSV Study Group.** Genitourin Med. 1997 Apr;73(2): p. 110-116.
108. Eich E, Reeves JL, Jaeger B, Graff-Radford SB.: **Memory for pain: relation between past and present pain intensity.** Pain. 1985 Dec;23(4): p. 375-380.
109. Rosier EM, Iadarola MJ, Coghill RC.: **Reproducibility of pain measurement and pain perception.** Pain. 2002 Jul;98(1-2): p. 205-216.
110. Bischoff A.: **Kondomschutz auch außerhalb der eruptiven Phasen.** Deutsches Ärzteblatt 1998; 95(7): p. 367.
111. Pederson LL, Stavraky KM.: **Relationship of smoking to lifestyle factors in women.** Women Health. 1987;12(2): p. 47-66.

112. Gunness P, Aleksa K, Bend J, Koren G.: **Acyclovir-induced nephrotoxicity: the role of the acyclovir aldehyde metabolite.** Transl Res. 2011 Nov;158(5): p. 290-301.
113. Johnson GL, Limon L, Trikha G, Wall H.: **Acute renal failure and neurotoxicity following oral acyclovir.** Ann Pharmacother. 1994 Apr;28(4): p. 460-463.
114. Whitley RJ, Levin M, Barton N et al.: **Infections caused by herpes simplex virus in the immunocompromised host: natural history and topical acyclovir therapy.** J Infect Dis 1984 Sep;150(3): p. 323-329.
115. Fiddian AP, Kinghorn GR, Goldmeier D, et al.: **Topical acyclovir in the treatment of genital herpes: a comparison with systemic therapy.** J Antimicrob Chemother 1983 Sep;12 Suppl B: p. 67-77.
116. Thin RN, Nabarro JM, Parker JD, Fiddian AP. **:Topical acyclovir in the treatment of initial genital herpes.**Br J Vener Dis. 1983 Apr;59(2):p. 116-119.
117. Kinghorn GR, Turner EB, Barton IG, Potter CW, Burke CA, Fiddian AP.: **Efficacy of topical acyclovir cream in first and recurrent episodes of genital herpes.** Antiviral Res 1983 Dec;3(5-6): p. 291-301.
118. Corey L, Benedetti JK, Critchlow CW, et al.: **Double-blind controlled trial of topical acyclovir in genital herpes simplex virus infections.** Am J Med. 1982 Jul 20;73(1A): p. 326-334.
119. Sacks SL, Shafran SD, Diaz-Mitoma F, et al.**: A multicenter phase I/II dose escalation study of single-dose cidofovir gel for treatment of recurrent genital herpes.** Antimicrob Agents Chemother. 1998 Nov;42(11): p. 2996-2999.
120. Snoeck R, Andrei G, Gérard M, et al.: **Successful treatment of progressive mucocutaneous infection due to acyclovir- and foscarnet-resistant herpes simplex virus with (S)-1-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosine (HPMPC).** Clin Infect Dis. 1994 Apr;18(4): p. 570-578.
121. Zabawski EJ Jr.: **A review of topical and intralesional cidofovir.** Dermatol Online J. 2000 Sep;6(1): p. 3.
122. Lalezari J, Schacker T, Feinberg J, et al.: **A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of cidofovir gel for the treatment of acyclovir-unresponsive mucocutaneous herpes simplex virus infection in patients with AIDS.** J Infect Dis. 1997 Oct;176(4): p. 892-898.
123. Workowski KA, Berman SM. Centers for Disease Control and Prevention,: **Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006.** MMWR Recomm Rep. 2006 Aug 4;55(RR-11) p. :1-94.
124. Fife KH, Meng TC, Ferris DG, Liu P. **Effect of resiquimod 0.01% gel on lesion healing and viral shedding when applied to genital herpes lesions.** Antimicrob Agents Chemother. 2008 Feb;52(2): p. 477-482.
125. Sauder DN, Smith MH, Senta-McMillian T, Soria I, Meng TC.: **Randomized, single-blind, placebo-controlled study of topical application of the immune response modulator resiquimod in healthy adults.**Antimicrob Agents Chemother. 2003 Dec;47(12): p.3846-352.
126. Spruance SL, Tyring SK, Smith MH, Meng TC.J Infect Dis.**:Application of a topical immune response modifier, resiquimod gel, to modify the recurrence rate of recurrent genital herpes: a pilot study.** J Infect Dis. 2001 Jul 15;184(2): p. 196-200.
127. Rajcáni J, Durmanová V.:**Developments in herpes simplex virus vaccines: old problems and new challenges.** Folia Microbiol (Praha). 2006;51(2): p. 67-85.
128. Barkhaleva OA, Ladyzhenskaia IP, Vorob'eva MS, et al.: **Vitaherpavac is the first Russian herpes simplex virus vaccine obtained on the Vero B continuous cell line.** Vopr Virusol. 2009 Sep-Oct;54(5): p. 33-37.

129. Barinskiĭ IF, Makhmudov FR.: **Inactivated herpes simplex virus types 1 and 2 divaccine as an agent for effective immunoprophylaxis of recurrent genital herpes.** Vopr Virusol. 2010 Jan-Feb;55(1): p. 35-40.
130. Lee GE, Church GA, Wilson DW.: **A subpopulation of tegument protein vhs localizes to detergent-insoluble lipid rafts in herpes simplex virus-infected cells.** J Virol. 2003 Feb;77(3): p. 2038-2045.
131. Harley CA, Dasgupta A, Wilson DW.: **Characterization of herpes simplex virus-containing organelles by subcellular fractionation: role for organelle acidification in assembly of infectious particles.** J Virol. 2001 Feb;75(3): p. 1236-1251.
132. Yu X, Liu L, Wu L, Wang L, Dong C, Li W, Li Q.: **Herpes simplex virus type 1 tegument protein VP22 is capable of modulating the transcription of viral TK and gC genes via interaction with viral ICP0.** Biochimie. 2010 Aug;92(8): p. 1024-1030.
133. Tang S, Bertke AS, Patel A, Wang K, Cohen JI, Krause PR.: **An acutely and latently expressed herpes simplex virus 2 viral microRNA inhibits expression of ICP34.5, a viral neurovirulence factor.** Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Aug 5;105(31): p. 10931-10936.
134. Gupta A, Gartner JJ, Sethupathy P, Hatzigeoriou AG, Fraser NW.: **Anti-apoptotic function of a microRNA encoded by the HSV-1 latency-associated transcript.** Nature 2006;442: p. 82-85.
135. Seyhan H.; Dissertation: **TGF-β Signaltransduktion in der experimentell induzierten Leberfibrose durch die Gallengangsligatur bei der Ratte**. 2006 August; p. 11-12.
136. Umbach JL, Kramer MF, Jurak I, Karnowski HW, Coen DM, Cullen BR.: **MicroRNAs expressed by herpes simplex virus 1 during latent infection regulate viral mRNAs.** Nature 2008;454: p. 780-783.
137. Jost Dr. G.: **Clinical Trial Report.** Spirig Pharma AG, Froschackerstrasse 6, 4622 Egerkingen; Study No.: CYD-GER-0401.

10 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Emilia Joanna Bedynek, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Wirksamkeit und Verträglichkeit von 2-Hydroxypropyl ß-Cyclodextrin (2-HP-BCD) - Gel bei Patienten mit einem rezidivierenden Herpes genitalis in der Prodromalphase: eine randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte multizentrische Phase-II Studie“ 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 etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation 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

11 Lebenslauf

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

12 Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Eggert Stockfleth, danke ich für die Überlassung des Themas und für die dauerhafte Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Frau Dr. Martina Ulrich gilt mein herzlicher Dank für die engagierte inhaltliche und nicht zuletzt auch moralische Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit. Sie hat sich für das Thema und diese Arbeit immer wieder eingesetzt. Ein ganz besonderer Dank für Deine fortwährende Unterstützung.

Meiner Familie danke ich für die immerwährende Motivation und das feste Vertrauen in mich und meine Arbeit. Meinem Mann Florian gilt ein ganz besonderer Dank für seine bedingungslose Unterstützung während dieser ganzen Zeit. Vielen Dank für Dein uneendliches Verständnis, die motivierenden Gespräche und nicht zuletzt auch den Glauben an mich.

13 Anhang

- Einverständniserklärung
- Patienteninformation

CHARITÉ

Charité | Campus Mitte | 10098 Berlin

KLINIK FÜR DERMATOLOGIE, VENEROLOGIE UND ALLERGOLOGIE
Direktor: Prof. Dr. med. W. Sterry

HTCC – Haut Tumor Centrum Charité

Charité Campus Mitte
Schumannstr. 20/21
10117 Berlin

Klinik mit zertifiziertem Qualitätsmanagementsystem nach DIN EN ISO 9001:2000

Martina Gellenthin
Tel.: +49 30 450 618 275
Fax: +49 30 450 518 705
Email: martina.gellenthin@charite.de

Berlin, 25. April 2005

Haut Tumor Centrum Charité
Sprecher:
Prof. Dr. med. Eggert Stockfleth

Leiter der Arbeitsbereiche:
Onkolog. Dermatologie:
Prof. Dr. med. Christoph Geilen,
OA Dr. med. Uwe Trefzer
Epitheliale Tumoren, SCOP:
Prof. Dr. med. Eggert Stockfleth
Ultraschall/Melanomnachsorge:
PD Dr. med. Christiane Voit
Dermatologische Chirurgie:
OA Dr. med. Christoph Garcia Bartels
Kutane Lymphome:
PD Dr. med. Sylke Gellrich,
Dr. med. Chalid Assaf

EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

Studientitel: *Wirksamkeit und Sicherheit von äußerlich angewendetem Cyclodextrin-Gel (Spirig Pharma) in der Behandlung von wiederkehrenden genito-analen Herpes-simplex-Virusinfektionen: eine randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte multizentrische Studie*

Prüfleiter: Professor Dr. med. E. Stockfleth
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Universitätsmedizin Berlin
Charité Campus Mitte
Schumannstr. 20/21
D-10117 Berlin

Ich, ...
(Name der/s Patientin/en)

wurde von .....
(Name der/s aufklärenden Ärztin/Arztes)

über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Studie eingehend aufgeklärt. Der Ablauf der Studie und der Zweck der Untersuchung wurden mir erläutert. Über die möglichen unerwünschten Arzneimittelwirkungen bin ich aufgeklärt worden. Ich habe die Patienteninformation und Einwilligungserklärung gelesen. Ich fühle mich ausreichend informiert und habe verstanden, worum es geht. Mein/e Arzt/Ärztin hat mir Gelegenheit gegeben, weitere Fragen zu stellen. Ich hatte ausreichend Zeit zu dieser Entscheidung.

Ferner wurde mir mitgeteilt, dass für den Fall einer Gesundheitsschädigung in Folge der

Anwendung der Studienmedikation zu meinen Gunsten die gesetzliche Probandenversicherung besteht. Über die mir in diesem Zusammenhang obliegenden Verpflichtungen wurde ich informiert.

Ich wurde darauf hingewiesen, dass ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir dadurch Nachteile für meine weitere medizinische Versorgung entstehen. Eine Kopie / ein Exemplar der Patienteninformation und der unterschriebenen Einwilligungserklärung habe ich erhalten.

Ich wurde darüber informiert und bin damit einverstanden, dass meine im Rahmen der Arzneimittelprüfung erhobenen Daten aufgezeichnet und ohne Nennung meines Namens und meiner Anschrift an das auftraggebende Unternehmen und an die zuständigen in- und ausländische Behörden, auch außerhalb der EU, weitergegeben werden.
Ferner gebe ich mein Einverständnis, dass durch den Auftraggeber bevollmächtigte Personen sowie Vertreter der genannten Behörden beim Studienarzt Einblick in meine studienbezogenen Krankenunterlagen nehmen können. Es wird mir versichert, dass beim Umgang mit den Daten die Grundsätze des Datenschutzes beachtet werden

Hiermit erkläre ich mich bereit, freiwillig an der Studie teilzunehmen.

.....
.....

Datum
Unterschrift der/s Patientin/en
(vom Patienten eigenhändig datiert)

Die Patientin / der Patient wurde von mir gemäß § 40 AMG über die Studie aufgeklärt.

.....
.....

Datum
Unterschrift der aufklärenden Ärztin/des aufklärenden Arztes

CHARITÉ

Charité | Campus Mitte | 10098 Berlin

KLINIK FÜR DERMATOLOGIE, VENEROLOGIE UND ALLERGOLOGIE
Direktor: Prof. Dr. med. W. Sterry

HTCC – Haut Tumor Centrum Charité

Charité Campus Mitte
Schumannstr. 20/21
10117 Berlin

Klinik mit zertifiziertem Qualitätsmanagementsystem nach DIN EN ISO 9001:2000

Martina Gellenthink
Tel.: +49 30 450 618 276
Fax: +49 30 450 518 905
Email: martina.gellenthin@charite.de

Berlin, 25. April 2005

Haut Tumor Centrum Charité
Sprecher:
Prof. Dr. med. Eggert Stockfleth

Leiter der Arbeitsbereiche:
Onkolog. Dermatologie:
Prof. Dr. med. Christoph Geilen,
OA Dr. med. Uwe Trefzer
Epitheliale Tumoren, SCOP:
Prof. Dr. med. Eggert Stockfleth
Ultraschall/Melanomnachsorge:
PD Dr. med. Christiane Voit
Dermatologische Chirurgie:
OA Dr. med. Christoph Garcia Bartels
Kutane Lymphome:
PD Dr. med. Sylke Gellrich,
Dr. med. Chalid Assaf

PATIENTENINFORMATION

Studientitel: *Wirksamkeit und Sicherheit von äußerlich angewendetem Cyclodextrin-Gel (Spirig Pharma) in der Behandlung von wiederkehrenden genito-analen Herpes-simplex-Virusinfektionen: eine randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte multizentrische Studie*

Prüfleiter: Professor Dr. med. E. Stockfleth
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Universitätsmedizin Berlin
Charité Campus Mitte
Schumannstr. 20/21
D-10117 Berlin

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Bitte lesen Sie dieses Informationsblatt sorgfältig durch, es enthält wichtige Informationen über diese Studie. Sie können sich vollkommen frei entscheiden, ob Sie an der Studie teilnehmen möchten oder nicht, und Sie können Ihre Teilnahme jederzeit beenden. Wenn Sie sich gegen eine Teilnahme entscheiden, hat dies keinerlei Einfluss auf Ihre weitere medizinische Versorgung. Sie wollen vielleicht auch erst mit einem Familienangehörigen / Freund sprechen, bevor Sie sich zu einer Teilnahme entschließen. Bitten Sie Ihren Studienarzt / Ihre Studienärztin, Ihnen alles, was Sie nicht verstehen, zu erklären.

1. Zielsetzung/Zweck der Studie

Im Rahmen dieser klinischen Studie werden die Wirksamkeit und die Verträglichkeit des Arzneimittels Cyclodextrin-Gel in der Behandlung von wiederkehrenden Herpes-Infektionen der Geschlechtsorgane und der Analgegend geprüft.

Bei den Herpes-Infektionen handelt es sich um eine Viruskrankheit der Haut und der Schleimhäute, die durch das Herpes-simplex-Virus verursacht wird. Sie äußert sich zumeist als örtlich begrenzte, gruppiert stehende schmerzhafte Bläschen und tritt sie typischerweise an den Geschlechtsorganen oder in der Analgegend auf. Rückfälle sind häufig.

In dieser Studie wird abgeklärt, ob Cyclodextrin-Gel den Verlauf der Krankheit günstig beeinflussen kann, d.h. ob die Bläschen schneller abheilen und weniger häufig auftreten. Ferner soll geprüft werden, ob das Gel gut verträglich ist. Um dies zuverlässig zu prüfen werden die eine Hälfte der Patienten mit Cyclodextrin-Gel und die andere Hälfte mit Placebo-Gel (ohne Wirkstoff) behandelt. Die Zuteilung der Behandlung erfolgt zufällig und doppelblind, d.h. weder der Patient noch Arzt wissen, welches der beiden Gele sie erhalten. Dies ist ein übliches Verfahren, um eine möglichst unverfälschte Beurteilung zu erhalten.

2. Auswahl der Studienteilnehmer

Sie werden gebeten, an dieser Studie teilzunehmen, weil Sie seit einiger Zeit an einer wiederkehrenden Herpeskrankheit im Genitalbereich (Geschlechtsorgane oder After) leiden. Voraussetzungen sind ferner, dass Sie innerhalb des letzen Jahres 4-10 Rückfälle erlebten und dass sie nicht unter anderen ernsthaften Krankheiten leiden. Frauen im gebärfähigen Alter dürfen nicht schwanger sein, nicht stillen und müssen ein zuverlässiges Verhütungsmittel anwenden.

Vor der Aufnahme in die Studie wird die Eignung des Patienten geprüft und eine Zuordnung zu einer der beiden Patientengruppen vorgenommen. Diese Studie wird an mehreren Kliniken in Deutschland durchgeführt und es werden rund 200 Patienten daran teilnehmen. Die Studie beginnt voraussichtlich im Mai 2005 und dauert insgesamt ein Jahr. Ihre persönliche Teilnahme dauert vom Auftreten eines Rückfalles an ungefähr eine Woche.

3. Studienablauf

Wenn Sie mit einer Teilnahme an der Studie einverstanden sind, werden Sie beim ersten Besuch vom Prüfarzt untersucht, um festzustellen, ob Sie die Aufnahmebedingungen erfüllen.

Sie erhalten dann das Gel und alle notwendigen Informationen für dessen Anwendung. Wenden Sie es erst an, wenn Sie den nächsten Rückfall erleben. Hinweise auf einen Rückfall sind z.B. Kribbeln, Schmerzen, Hautrötung. Wenn sie diese Symptome verspüren, warten Sie einige Stunden (aber nicht länger als 8) bis Sie sicher sind, dass ein Rückfall erfolgt und beginnen Sie dann mit dem Auftragen des Gels. Tragen Sie einen dünnen Strich auf und reiben sie das Gel kurz leicht ein: 5 x täglich alle 4 Stunden über 7 Tage. Wenden Sie bitte keine anderen Salben, Gels, oder Medikamente an.
Bitte nehmen Sie innerhalb von 24 Stunden (= Tag 1) nach dem Auftreten der Symptome mit dem Prüfarzt Kontakt auf. Er wird Sie daraufhin wieder untersuchen und einen Abstrich im Bereich der Bläschen vornehmen, um die Viren nachzuweisen. Es erfolgen keine Blutentnahmen und keine Injektionen.
Die weiteren Besuche erfolgen an den folgenden Tagen 2, 3, 5 und 7.

Sie erhalten ferner eine Karte auf der Sie bitte täglich Ihre Beschwerden eintragen. Genaue Angaben dazu erhalten Sie von Ihrem Arzt.

Sie erhalten jeden Monat einen kurzen Telefonanruf vom Arzt, um festzustellen, ob Rückfälle aufgetreten sind. Sollten Sie innerhalb eines Jahres keine Rückfälle erleben, nehmen Sie nicht an der Studie teil.
Beim letzten Arztbesuch werden Sie auch gefragt, ob bei Ihnen während der Behandlung unerwünschte Ereignisse (Nebenwirkungen) aufgetreten sind. Falls Ihre Krankheitssymptome nicht verschwunden sind, wird Sie Ihr Arzt aus der Studie nehmen und Sie erhalten eine andere medizinische Behandlung. Es ist sehr wichtig, dass Sie bei diesem Arztbesuch alle nicht gebrauchten Medikamente und leeren Packungen zurückzugeben.

Bitte gehen Sie während der Studie weiterhin so oft zum Arzt, wie Sie es auch sonst tun würden.

4. Andere Behandlungsmethoden

Es existieren andere Medikamente, die auf ähnliche Weise wie Cyclodextrin-Gel wirken. Ihr behandelnder Arzt wird Sie gerne näher darüber informieren, falls Sie nicht an dieser Studie teilnehmen wollen.

5. Vorteile/Nutzen und Nachteile/Risiken einer Studienteilnahme (Wirkungen und unerwünschte Wirkungen)

Es gibt keine Garantie dafür, dass Ihnen die Teilnahme an dieser Studie einen Nutzen bringt. Es ist jedoch zu erwarten, dass die Behandlung mit Cyclodextrin-Gel zu einer Linderung der Beschwerden und zu einem schnelleren Abheilen der Hautläsionen führt, da der Wirkstoff Cyclodextrin direkt auf die Viren wirkt und sie inaktiviert. Der neuartige Wirkstoff Cyclodextrin hemmt im Gegensatz zu anderen, in der Herpestherapie eingesetzten Medikamenten, nicht die Vermehrung des Virus in der menschlichen Zelle, sondern verhindert schon den Eintritt des Virus in die Zelle.

Der Wirkstoff und die Hilfsstoffe sind nicht neu. Sie sind in verschiedenen Produkten (vor allem Kosmetika) bereits auf dem Markt und als gut verträglich bekannt. Es kann trotzdem in einzelnen Fällen zu Hautreizungen kommen. Da nur geringe Mengen aufgetragen werden und nur ein kleiner Anteil davon durch die Haut in den Körper gelangt, ist nicht mit weiteren Nebenwirkungen zu rechnen.

Wie für viele Medikamente ist die Wirkung von Cyclodextrin auf ungeborenes Leben und Säuglinge unbekannt. Aus diesem Grund dürfen Schwangere und stillende Mütter an dieser Studie nicht teilnehmen. Sie werden von Ihrer Ärztin / Ihrem Arzt vor Beginn der Studie gefragt werden, welche Methoden der Verhütung Sie anwenden. Bei einigen Methoden ist eine Teilnahme nicht möglich. Ihre Ärztin / Ihr Arzt wird dann entscheiden, ob Sie an der Studie teilnehmen können.

Entsteht im Laufe der Studie der Verdacht auf eine Schwangerschaft oder bestätigt sich dieser, informieren Sie bitte unverzüglich Ihre Ärztin / Ihren Arzt. Sie / Er wird die weitere Behandlung mit Ihnen besprechen.

Die Durchführung von klinischen Studien ist zum Schutz der Patienten durch das Arzneimittelgesetz strengen Regelungen unterworfen. Auch diese Studie wird von einer unabhängigen Ethikkommission hinsichtlich ihrer medizinischen, rechtlichen und ethischen Vertretbarkeit begutachtet. Die Verantwortung für die Durchführung verbleibt jedoch beim Studienleiter.

6. Freiwilligkeit/Studienabbruch

Ihre Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie können jederzeit ohne Nennung von Gründen und ohne Nachteile für Ihre künftige Behandlung Ihre Einwilligung in die Teilnahme zurückziehen. Sie

können ebenfalls auch Ihre Einwilligung in die weitere Verwertung Ihrer Daten, die bei dieser Studie erhoben werden, zurückziehen. Auch Ihr Arzt kann Sie aus der Studie herausnehmen, wenn er zu der Auffassung kommt, dass es besser für Sie ist, weil sich zum Beispiel eine andere Erkrankung entwickelt hat. Zudem wird die Therapie abgebrochen, wenn z.B unerwünschte Nebenwirkungen auftreten sollten. Bei einem Therapieabbruch werden Sie zu Ihrer Sicherheit abschließend medizinisch untersucht. Der Sponsor dieser Studie, Spirig AG, kann die Studie ebenfalls abbrechen, falls dies nötig wird.

7. Verpflichtungen des Studienteilnehmers

Es ist unbedingt erforderlich, dass Sie den Studienarzt vor Beginn der Studie über bisherige Erkrankungen und die von Ihnen eingenommene Medikamente informieren. Geben Sie auch an, ob und wogegen Sie allergisch oder besonders empfindlich sind. Ebenso ist es notwendig, alle während der Studie auftretenden Gesundheitsbeeinträchtigungen, Störungen des Wohlbefindens oder Behandlungsänderungen dem Studienarzt mitzuteilen, auch wenn Sie einen Zusammenhang mit der Einnahme der Studienmedikation für unwahrscheinlich halten.

8. Patientenversicherung

Für alle Patienten, die an dieser Studie teilnehmen, besteht die gesetzlich vorgeschriebene Probandenversicherung bei der Gerling Vertrieb Deutschland GmbH Versicherung (Policen-Nr. 70-5815043). Diese Versicherung deckt alle Vermögensschäden aufgrund von gesundheitlichen Schäden ab, die aus der Teilnahme an dieser Studie resultieren können. Der Versicherungsschutz gilt für die gesamte Studiendauer.

Um den Versicherungsschutz nicht zu gefährden, müssen Sie folgendes beachten:

- Während der Dauer der klinischen Prüfung hat die versicherte Person vor einer anderweitigen medizinischen Behandlung Rücksprache mit dem klinischen Prüfer zu halten. Dies gilt nicht in einem medizinischen Notfall; der Studienarzt ist von einer Notfallbehandlung unverzüglich zu unterrichten.
- Eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der Studie eingetreten sein könnte, ist dem Versicherer unverzüglich anzuzeigen. Wenden Sie sich hierzu bitte direkt an den

GERLING Vertrieb Deutschland GmbH,
Regionalzentrum Nord-Ost
Harvestehuder Weg 25
20149 Hamburg
Tel.: 040 44199297

und informieren Sie Ihre Ärztin / Ihren Arzt.

Eine Kopie der vollständigen Versicherungsbedingungen liegt zu Ihrer Einsichtnahme bereit und kann Ihnen auf Wunsch auch zur Verfügung gestellt werden.

9. Vertraulichkeit der Daten / Datenschutz

Wir werden Sie bitten, sich mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten einverstanden zu erklären.

Die richtige Aufzeichnung der Daten ist besonders wichtig für den Forschungszweck und damit für die weitere Verbesserung der Arzneimittelsicherheit. Zur Überprüfung dürfen deshalb autorisierte und zur Verschwiegenheit verpflichtete Personen beim Studienarzt Einblick in die persönlichen

Krankheitsdaten / Originalaufzeichnungen des Studienteilnehmers nehmen, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist.

Dies sind:

- durch den Auftraggeber bevollmächtigte Personen
- Beauftragte der zuständigen deutschen oder ausländischen Überwachungsbehörde oder Beauftragte der zuständigen Bundesoberbehörde

Hierfür ist die ausdrückliche Zustimmung des Patienten vor Studienbeginn durch Unterzeichnung der schriftlichen Einwilligungserklärung erforderlich. Die Krankheitsdaten werden ohne Nennung Ihres Namens an den Auftraggeber der Studie oder an durch ihn Bevollmächtigte zur Auswertung weitergeleitet. Sie können auch an in- oder ausländische Behörden, auch außerhalb der EU, zur Auswertung der Wirksamkeit und Sicherheit sowie zu Zulassungszwecken übermittelt werden. Beim Umgang mit den Krankheitsdaten werden die Grundsätze des Datenschutzes beachtet. Auch bei einer Veröffentlichung der Studienergebnisse wird die Identität des Studienteilnehmers nicht bekannt.

Sie werden außerdem gebeten werden, dass Ihr Name und Ihre Anschrift sowie Ihre Telefonnummer an ein Koordinierungszentrum weitergegeben werden dürfen. Sie werden während der Studie von einer qualifizierten Studienassistentin (-assistent) telefonisch kontaktiert und es werden Ihnen Fragen zu Ihren Krankheitssymptomen gestellt werden. Die Studienassistentin (-assistent) unterliegt ebenso wie Ihr Arzt der Schweigepflicht.

10. Neue Erkenntnisse

Sollten im Verlaufe der Studie wichtige neue Erkenntnisse bekannt werden, die Ihr Einverständnis zur Teilnahme beeinflussen könnten, wird Ihr Arzt / Ihre Ärztin Sie sofort darüber informieren.

11. Allgemeines

Kontaktpersonen
Wenn Sie noch weitere Fragen im Zusammenhang mit der Studie oder der Studienmedikation haben, wenden Sie sich bitte an:

Herrn/Frau Dr. .....
Tel. Nr. .....

Bitte bewahren Sie dieses Informationsblatt auf.