

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

DISSERTATION

**Experimenteller Nachweis der Symptomreduktion bei
Patienten mit Kältekontakturtikaria durch Dosissteigerung
von Bilastin.**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Adrian Spohr

aus Berlin

Datum der Promotion: 22.Juni 2014

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Abstrakt	5
1. Einleitung	8
1.1 Urtikaria.....	8
1.2 Kältekontakturtikaria.....	10
1.2.1 Definition und Einteilung.....	10
1.2.2 Geschichte und Epidemiologie.....	13
1.2.3 Ätiologie und Pathomechanismus.....	14
1.2.4 Diagnostik.....	17
1.2.5 Therapie.....	19
1.3 Studienmedikament.....	21
1.4 Mikrodialyse.....	22
1.5 Zielsetzung.....	24
2. Methoden	26
2.1 Patientenkollektiv.....	26
2.1.1 Einschlusskriterien.....	27
2.1.2 Ausschlusskriterien.....	27
2.1.3 Abbruchkriterien.....	28
2.2 Studiendesign und -ablauf.....	28
2.2.1 Screening Visit.....	30
2.2.2 Visit 2 und Randomisierung.....	31
2.2.3 Visit 3.....	32
2.2.4 Visit 4 und 5.....	32
2.2.5 Visit 6 und Studienabschluss.....	32
2.3 Studienmedikation.....	33
2.3.1 Herstellung und Verblindung.....	33
2.4 Apparative Methoden.....	34
2.4.1 Kältestimulationstestungen.....	34

2.4.2	TempTest® 2.0. Gerät.....	34
2.4.3	Kälteprovokation.....	35
2.4.4	TempTest® 3.0. Gerät.....	35
2.4.5	Schwellentemperaturmessung.....	37
2.4.6	Schwellenzeitmessung.....	37
2.5	Mikrodialyse.....	38
2.5.1	Prinzip.....	38
2.5.2	Material und Durchführung.....	39
2.5.3	Histamin-Bestimmung.....	41
2.5.4	Zytokin-Bestimmung.....	41
2.6	Sicherheit.....	41
2.7	Statistik.....	41
3.	Ergebnisse	43
3.1	Patientenkollektiv.....	43
3.2	Demographische Daten.....	44
3.3	Baseline-Messungen (Visit2).....	45
3.4	Wirksamkeitsüberprüfung.....	46
3.4.1.1	Schwellentemperatur(CTT).....	46
3.4.1.2	Symptomkontrolle und individuelle CTT.....	48
3.4.2.1	Schwellenzeit (CSTT).....	51
3.4.2.2	Symptomkontrolle und individuelle CSTT.....	53
3.5	Kälteprovokation mit TempTest® 2.0.....	56
3.5.1	Quaddelgröße.....	56
3.5.2	Erythemgröße.....	57
3.5.3	Subjektive Parameter.....	59
3.5.3.1	Juckreiz.....	59
3.5.3.2	Brennen.....	60
3.6	Ergebnisse der Mikrodialyse.....	62
3.6.1	Histamin.....	62
3.6.2	Zytokine.....	66
3.6.2.1	IL-6.....	66

3.6.2.2	IL-8.....	67
3.6.2.3	TNF α	69
3.7	Unerwünschte Ereignisse (AE)	69
4.	Diskussion	71
4.1	Kälteprovokationsschwellen als Wirksamkeitskriterien.....	71
4.2	Schwellentemperatur versus Schwellenzeit.....	73
4.3	Relevanz der Quaddelmorphologie.....	74
4.4	Quaddelgröße und Erythem als Wirksamkeitskriterien.....	75
4.5	Subjektive Beschwerden- Juckreiz und Brennen.....	77
4.6	Dosissteigerung und Nebenwirkungen.....	79
4.7	Mastzell-Stabilisierung oder anti-inflammatorischer Effekt.....	80
4.8	Ausblick.....	84
5.	Literaturverzeichnis	86
6.	Abkürzungsverzeichnis	97
7.	Anhang	99
7.1	Eidesstattliche Versicherung.....	99
7.2	Lebenslauf.....	100
7.3	Publikationsverzeichnis.....	103
7.4	Danksagung.....	104

Abstrakt

Einleitung: Die Kältekontakturtikaria (KKU) ist charakterisiert durch das Auftreten von juckenden Quaddeln und Erythemen, die sich nach Exposition der Haut gegenüber Kälte entwickeln und durch die Freisetzung von Histamin und anderen pro-inflammatorischen Mastzell-Mediatoren bedingt sind. Die Symptome der KKU werden mit nicht-sedierenden H1-Antihistaminika therapiert. Bei ineffektiver Symptomreduktion wird entsprechend der aktuellen EAACI/GA²LEN/EDF/WAO-Leitlinien zur Therapie der Urtikaria eine Erhöhung bis auf der Vierfache der Standarddosis empfohlen.

Zielsetzung: Es soll die Wirksamkeit der Standarddosis von 20 mg Bilastin und einer Dosissteigerung von 40 bzw. 80 mg auf die Symptome der KKU sowie auf die Freisetzung von inflammatorischen Mediatoren nach Kältetestung (CST) untersucht werden.

Methodik: Es wurden 20 Patienten mit KKU in diese randomisierte, doppelt-verblindete, Placebo-kontrollierte Crossover-Studie eingeschlossen. Die Studienteilnehmer erhielten Placebo, 20, 40 oder 80 mg Bilastin einmal täglich für 7 Tage mit 2-wöchigen Wash-out Perioden dazwischen. Der primäre Studienendpunkt der Studie war die Veränderung der Schwellentemperatur (CTT) und Schwellenzeit (CSTT). Sekundäre Studienendpunkte waren Veränderungen der Quaddel- und Erythemgröße und des Juckreizes nach Kältetest sowie die Verträglichkeit von Bilastin und die Veränderungen der Mastzell-Mediatoren (IL-6, IL-8, TNF α) bei der Mikrodialyse.

Ergebnisse: 20mg Bilastin reduzierten hoch signifikant ($P < 0,0001$) die CTT. Zusätzlich steigerte die Dosiserhöhung auf 80 mg die Effektivität signifikant ($P < 0,04$) gegenüber den niedrigeren Dosen. In dieser Dosierung waren 12 von 20 Probanden asymptomatisch und nur einer war therapierefraktär. Bilastin führte ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion von CSTT ($P < 0,0001$) and Pruritus ($P = 0,001$). Allerdings zeigten sich hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Dosen. Die Konzentrationen von Histamin, IL-6 und IL-8 1-3 Stunden nach CST waren unter Dosiserhöhung auf 80 mg Bilastin signifikant reduziert ($P < 0,05$). Eine Behandlung

mit Bilastin wurde gut vertragen, und die Dosissteigerung führte nicht zum vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen wie Sedierung.

Schlussfolgerung: Bilastin hat effektiv die klinischen Symptome bei KCU-Patienten reduziert. *Up-Dosing* von Bilastin steigert seine Effektivität ohne sedierende Nebenwirkungen zu zeigen und unterstützt somit die aktuellen Leitlinien zur Therapie der Urtikaria.

Background: Cold contact urticaria (CCU) is characterized by itchy wheal and flare responses due to the release of histamine and other pro-inflammatory mediators after exposure to cold. The treatment of choice in CCU are non-sedating H1 antihistamines. If patients cannot be sufficiently controlled with standard dosages, the current EAACI/GA²LEN/EDF/WAO-guideline for the management of urticaria recommends high-dose H1 blockers up to 4 times the standard dose.

Objective: Aim of the study is to assess the effects of a standard 20 mg dose and up-dosing to 40 and 80 mg of bilastine in reducing the symptoms of CCU and inflammatory mediator release following cold challenge.

Methods: Twenty patients with CCU were included in this randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled 12-week study. They received placebo, 20, 40 or 80mg of bilastine daily each for 7 days with 14-day washout periods. The primary readout was change in critical temperature thresholds (CTT) and critical stimulation time thresholds (CSTT). Secondary readouts were changes in size of wheal and erythema, pruritus, levels of histamine, IL-6, IL-8 and TNF α collected by skin microdialysis and safety and tolerability of bilastine.

Results: Bilastine 20 mg was highly effective ($P<0.0001$) in reducing CTT. Up-dosing to 80 mg significantly ($P<0.04$) increased its effectiveness. At this dose 12/20 patients were symptom free and only one was refractory to treatment. Bilastine was also effective in reducing CSTT ($P<0.0001$) and pruritus ($P=0.001$) but there were no significant differences between doses. Microdialysis levels of histamine, IL-6 and IL-8 assessed 1-3 hours after cold challenge were significantly ($P<0.05$) decreased following up-dosing with 80 mg bilastine. Bilastine treatment was well-tolerated without evidence of increased sedation with dose escalation.

Conclusions: Bilastine was effective in reducing the clinical symptoms of CCU patients. Increased efficacy of bilastine with fourfold up-dosing was without sedation and supports urticaria treatment guidelines.

1. Einleitung

1.1 Urtikaria

Urtikaria ist eine heterogene Gruppe dermatologischer Erkrankungen, die ein häufiges medizinisches Problem sowohl für Betroffene als auch für behandelnde Ärzte darstellen. Die genaue Prävalenz ist nicht bekannt, es wird aber geschätzt, dass zwischen 8,8% bis 20% der europäischen Bevölkerung im Laufe des Lebens eine Form der Urtikaria entwickeln ^(1; 2).

Charakteristisches Merkmal der Erkrankung ist das Auftreten von Quaddeln sowie die Bildung von Angioödemem. Dabei handelt es sich um flüchtige Schwellungen in den oberflächlichen Schichten der Dermis (Quaddeln, Abb.1.1) bzw. in tieferen dermalen Schichten und der Subkutis (Angioödem). Die Symptome gehen mit Reflexerythem, Juckreiz und gegebenenfalls Brennen einher und bilden sich nach 1 bis maximal 24 Stunden wieder vollständig zurück ⁽³⁾. Zudem stellt die Urtikaria für Betroffene eine große Einschränkung der Lebensqualität dar und beeinflusst die Leistungsfähigkeit im Alltag ⁽⁴⁻⁶⁾.



Abb. 1.1: Quaddeln und Erythem als Manifestation der Urtikaria

Die Ätiologie der Urtikaria ist sehr unterschiedlich und oftmals nicht bekannt. Die urtikariellen Symptome beruhen auf der Freisetzung von Histamin und weiteren pro-inflammatorischen Mediatoren aus kutanen Mastzellen. Histamin bindet an H1-

Rezeptoren der Endothelien und sensorischen Nerven und verursacht Quaddelbildung, neurogenes Erythem und Juckreiz ⁽⁷⁾.

Die Klassifikation der Urtikaria richtet sich nach dem Verlauf und der Relevanz spezifischer Auslöser. So wird zwischen akuter und chronischer Urtikaria sowie zwischen spontan auftretenden und induzierbaren Urtikaria-Formen unterschieden ⁽³⁾. Bei der akuten Urtikaria treten die Symptome für weniger als sechs Wochen auf, bei der chronischen Urtikaria entstehen spontan Quaddeln über mehr als 6 Wochen, im Durchschnitt zwischen 3 und 5 Jahren. Die spontane Urtikaria tritt, anders als die induzierbaren Urtikaria-Formen, unabhängig von spezifischen externen Stimuli auf.

Tab. 1.1: Einteilung der Urtikaria ⁽³⁾

	Gruppe/ Subgruppe	Charakteristik
	Spontane Urtikaria <ul style="list-style-type: none"> • Akute Urtikaria • Chronische Urtikaria 	Spontane Quaddelbildung < 6 Wochen Spontane Quaddelbildung > 6 Wochen
Urtikaria-Formen	Physikalische Urtikaria <ul style="list-style-type: none"> • Kälteurtikaria • Druckurtikaria • Wärmeurtikaria • Solare Urtikaria • <i>Urticaria factitia</i>/ Dermographische Urtikaria • Vibratorische Urtikaria/ Angioödem 	<u>Auslösende Reize</u> <ul style="list-style-type: none"> • Kalte Luft/ Wasser/ Oberflächen • Vertikaler Druck • Lokalisierte Wärme • UV und/oder sichtbares Licht • Mechanische Scherkräfte • Vibrationen
Induzierbare	Andere induzierbare Urtikaria-Formen <ul style="list-style-type: none"> • Aquagene Urtikaria • Cholinerge Urtikaria • Kontakturtikaria • Anstrengungs-induzierte Anaphylaxie/ Urtikaria 	<u>Auslösende Reize</u> <ul style="list-style-type: none"> • Wasser • Anstieg der Körperkern-temperatur • Kontakt mit urtikariogenen Substanzen • Sport/ körperliche Anstrengung

Bei den induzierbaren Urtikaria-Formen wird die Quaddelbildung durch exogene Faktoren verursacht ^(3; 8). Dazu zählen physikalische Reize wie Wärme, Kälte, Druck und

Vibration oder aber spezifische physiologische Zustände wie aktive oder passive Erwärmung durch Anstrengung oder warmes Baden (bei cholinergischer Urtikaria). Auch der Hautkontakt mit Wasser oder mit urtikariogenen Substanzen kann eine Urtikaria induzieren ⁽³⁾. Der Verlauf der induzierbaren Urtikaria-Formen ist in der Regel chronisch. Tabelle 1.1. zeigt eine gebräuchliche Einteilung der Urtikaria.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Therapie und den zugrundeliegenden Mechanismen der Urtikaria am Beispiel der Kältekontakturtikaria (KKU), die eine Form der physikalischen Urtikaria darstellt. Die physikalischen Urtikaria-Formen sind dadurch charakterisiert, dass die urtikariellen Symptome als Reaktion auf physikalische Reize wie Druck, Vibration, Sonnenlicht oder eben Kälte entstehen ^(9; 10). Die KKU ist eine seltene, aber potentiell lebensbedrohliche Erkrankung, da es vor allem nach großflächiger Kälteexposition zum Auftreten gefährlicher anaphylaktischer Reaktionen kommen kann ^(3; 11; 12). Wegen der potentiellen Schwere der KKU und zur Gewährleistung eines ausreichenden Schutzes für die Betroffenen ist eine effektive symptomatische Therapie von großer, zum Teil lebenswichtiger Bedeutung.

Die aktuelle EAACI/GA²LEN/EDF/WAO-Leitlinie zur symptomatischen Behandlung der Urtikaria empfiehlt den Einsatz von nicht sedierenden H1-Antihistaminika (nsAH) der zweiten Generation als Therapie der ersten Wahl ⁽⁷⁾. Die Behandlung der Urtikaria gestaltet sich in vielen Fällen jedoch schwierig, da eine ausreichende Symptomreduktion unter den empfohlenen Standarddosierungen nicht möglich ist ⁽⁷⁾. Die Leitlinie bietet deshalb für therapieresistente Fälle die Option einer Dosissteigerung bis zum Vierfachen der Standarddosis. Den zusätzlichen Effekt des Aufdosierens in der Therapie der KKU konnten kürzlich durchgeführte Studien für die nsAH Desloratadin und Rupatadin belegen ⁽¹³⁻¹⁵⁾.

1.2 Kältekontakturtikaria

1.2.1 Definition und Einteilung

Die Kältekontakturtikaria (KKU) ist charakterisiert durch das Auftreten von juckenden Quaddeln und/ oder Angioödemem, die sich nach Exposition der Haut gegenüber Kälte entwickeln und durch die Freisetzung von Histamin und anderen pro-inflammatorischen Mastzell-Mediatoren bedingt sind ^(12; 16).

Die Gruppe der durch Kälte induzierbaren Urtikaria-Formen ist heterogen und umfasst

die häufig vorkommende Kältekontakturtikaria sowie seltene erworbene atypische Kälteurtikariaformen und einige familiäre Erkrankungen (Tab. 1.2).

Tab. 1.2: Durch Kälte induzierbare Urtikaria-Formen

<u>Einteilung</u>	<u>Klinische Charakteristik</u>
Kältekontakturtikaria (KKU)	<ul style="list-style-type: none"> • Direkter Kontakt mit Kälte induziert lokale Quaddelbildung; positiver Kältestimulationstest
Erworbene atypische Kälteurtikariaformen <ul style="list-style-type: none"> • Systemische Kälteurtikaria • Kälteabhängiger Dermographismus • Kälteinduzierte cholinergische Urtikaria • Verzögerte Kälteurtikaria • Lokalisierte Kältereflexurtikaria 	<ul style="list-style-type: none"> • Kalte feuchte Luft induziert lokalisierte oder generalisierte Quaddeln • Urtikarieller Dermographismus beschränkt sich auf Areale, die vor mechanischer Manipulation gekühlt wurden • Generalisiert auftretende Quaddeln nach Anstrengung in kalter Umgebung • Lokalisierte Quaddeln 12-48h nach Kälteexposition • Urtikarielle Reaktion in der Nähe, aber nicht direkt am Ort der Kälteprovokation
Familiäre Erkrankungen mit kälteinduzierten Quaddeln <ul style="list-style-type: none"> • Familiäres kälteinduziertes autoinflammatorisches Syndrom (FCAS) • Familiäre Kälteurtikaria vom verzögerten Typ • Familiäre atypische Kälteurtikaria 	<ul style="list-style-type: none"> • Generalisierte Urtikaria 1–2 h nach Kälteexposition; Assoziierte Symptome: Arthralgien, Konjunktivitis, Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen; Mutation im <i>CIAS1</i>-Gen • Lokalisierte urtikarielle Hautveränderung, 9-18 h nach Kälteexposition, können sich mit Hyperpigmentierungen zurückbilden • Soforttypreaktion nach lokaler und systemischer Kälteexposition, vergleichbar mit Kältekontakturtikaria

Bei der erworbenen Kältekontakturtikaria (KKU) werden die urtikariellen Symptome

durch den direkten Kontakt der Haut mit kalten Oberflächen, kalter Luft oder kalter Flüssigkeit ausgelöst ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Nach raschem Auftreten innerhalb weniger Minuten bilden sich die Quaddeln charakteristischerweise in einem Zeitraum bis zu einer Stunde wieder zurück. Fälle, in denen die Urticae länger persistieren, können aber auch vorkommen ^(9; 20-22). Im Kälteprovokationstest (*cold stimulation test*, CST) zeigt die KKV typischerweise eine positive Reaktion mit Ausbildung urtikarieller Symptome und Juckreiz ^(22; 23).

Das Ausmaß der Symptome sowie der Grad der Beeinträchtigung unterliegen großen interindividuellen Schwankungen. Die meisten KKV-Patienten leiden an lästigen, aber harmlosen Symptomen, die sich auf die exponierte Haut beschränken. Einige Betroffene entwickeln jedoch nach ausgiebiger Kälteexposition, z. B. beim Badengehen in kühlen Gewässern, systemische Reaktionen in Form von generalisierter Urtikaria bis hin zu anaphylaktischen Zuständen mit Todesfolge ^(11; 22). Auch lokalisierte Reaktionen können lebensbedrohliche Folgen haben: So kann der Genuss von kalten Speisen und Getränken zu Schleimhautschwellungen bei Patienten mit KKV führen und ein gefährliches laryngeales Ödem und Asphyxie zur Folge haben ⁽¹¹⁾. Der Anteil der KKV-Patienten, die mindestens einmal systemische Reaktionen nach ausgedehnter Kälteexposition entwickeln, liegt zwischen 35 und 72% ^(18; 22; 24; 25). Patienten, bei denen bereits oropharyngeale Schwellungen aufgetreten sind, scheinen besonders durch systemische Reaktionen gefährdet zu sein und stellen eine Risikogruppe dar ⁽¹¹⁾. Tabelle 1.3. zeigt eine Einteilung der KKV nach dem Schweregrad der Symptome ^(26, 27). Neben dem klinischen Beschwerdebild beeinflusst die KKV zudem nachweislich die Lebensqualität der Betroffenen und kann in Einzelfällen sogar zur Beeinträchtigung der Erwerbsfähigkeit führen ⁽²⁸⁾.

Tab. 1.3: Einteilung der Kältekontakturtikaria nach Symptomschwere ^(26; 27)

Typ I	Lokale urtikarielle Reaktion und/oder Angioödem
Typ II	Systemische Reaktion mit hypotensiven Symptomen
Typ III	Schwere systemische Reaktion mit Schwindel, Desorientierung und Schock

Die seltenen erworbenen atypischen Formen zeigen im Gegensatz zur KKV keine Hautveränderungen im CST. Die Diagnosestellung erfordert eine genaue Anamnese und weiterführende klinische und apparative Diagnostik, da die Symptome oft nur durch

spezielle Umweltbedingungen auslösbar sind ^(16; 23; 29-31). Ob diese insgesamt sehr seltenen Krankheitsbilder eine eigene Entität darstellen, ist aufgrund fehlender Langzeituntersuchungen nicht ganz klar. Sie können mitunter aus einer KCU hervorgehen ^(16; 27). In Tabelle 1.2 findet sich eine Zusammenfassung der klinischen Merkmale der verschiedenen erworbenen atypischen Kälteurtikariaformen.

Neben den erworbenen Formen sind noch drei sehr seltene autosomal-dominant vererbte Krankheiten bekannt, die mit Kälteurtikaria-Symptomen einhergehen und lebenslang persistieren ⁽¹⁶⁾. Dazu gehören die familiäre Kälteurtikaria vom verzögerten Typ, die familiäre atypische Kälteurtikaria sowie das familiäre kälteinduzierte autoinflammatorische Syndrom (*familial cold auto-inflammatory syndrome*, FCAS). Letzteres führt durch eine Mutation des NLRP3/CIAS1-Gens auf dem Chromosom 1q44 zur Aktivierung von Interleukin-1 β (IL-1 β) und zählt zur Gruppe der Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndrome (CAPS). Es geht mit einer Vielzahl zusätzlicher systemischer Beschwerden einher, wie zum Beispiel mit Fieberschüben und Gelenkbeschwerden ⁽³²⁾. Den aktuellen Leitlinien zufolge werden die hereditären Formen aufgrund wesentlicher Unterschiede im Pathomechanismus nicht mehr zum Formenkreis der Urtikaria gezählt ⁽³⁾. Sie stellen allerdings wichtige Differentialdiagnosen dar.

1.2.2 Geschichte und Epidemiologie

Die Kältekontakturtikaria wird in der medizinischen Fachliteratur erstmals Mitte des 19. Jahrhunderts als Hautschwellung mit schockartigen Symptomen nach Kälteexposition erwähnt ⁽³³⁾. Die urtikariellen Hauterscheinungen wurden als Hypersensitivität auf physikalische Kältereize beschrieben und den Formen der physikalischen Allergie zugeordnet ⁽³⁴⁾. Als Mitte des 20. Jahrhundert der Zusammenhang der Erkrankung mit lebensbedrohlichen Schockreaktionen während Wasseraktivitäten bekannt wurde, intensivierte sich die Forschung nach ihrer Pathogenese. Aufgrund der guten Reproduzierbarkeit der urtikariellen Symptome nach Kältestimulation erlangte die KCU schon früh Bedeutung als wichtiges *in-vivo*-Modell zur Untersuchung einer Soforttypreaktion ^(23; 35).

Die KCU ist nach der *Urticaria factitia* der zweithäufigste Vertreter der physikalischen

Urtikaria ⁽¹²⁾. Die Häufigkeitsangaben variieren stark in der Literatur: Die jährliche Inzidenz wird mit 0,05% angegeben ⁽¹⁹⁾. Unter Patienten mit physikalischer Urtikaria findet man die KKU zwischen 5,7% und 33,8% ^(18; 26; 36). Der Häufigkeitsgipfel zeichnet sich in der dritten Lebensdekade ab mit leichtem Überwiegen des weiblichen Geschlechts. Das mittlere Alter, bei dem die KKU auftritt, liegt zwischen 18 und 25 Jahren, allerdings kann die KKU in jedem Alter neu auftreten ^(24; 26). Ein frühes Auftreten der Erkrankung (<30.Lebensjahr) ist mit einem schwereren Verlauf assoziiert ⁽¹⁸⁾.

Die KKU ist eine chronische Erkrankung. Die mittlere Krankheitsdauer liegt zwischen 4,8 und 7,9 Jahren ^(12; 19; 22; 24). Obwohl in kalten Klimazonen eine leicht gesteigerte Inzidenz der Erkrankung beschrieben wird, sind abgrenzbare geographische Unterschiede nicht festzustellen ^(19; 26). Ein gleichzeitiges Auftreten der KKU mit anderen Erkrankungen aus dem Formenkreis der Urtikaria, v.a. der *Urticaria factitia* und der cholinergen Urtikaria, ist möglich. Neittaanmaaki *et al.* zeigten in einer Untersuchung an 220 KKU-Patienten, dass in fast 30 % der Fälle gleichzeitig eine weitere Form der Urtikaria vorliegt ⁽²⁴⁾.

1.2.3 Ätiologie und Pathomechanismus

Die Ursachen und Mechanismen, die der Kältekontakturtikaria zugrunde liegen, sind immer noch weitgehend ungeklärt.

Die KKU tritt größtenteils idiopathisch auf, selten kann sie aber auch sekundär infolge anderer Erkrankungen entstehen ⁽²²⁾. Hierzu zählen vor allem virale ^(37; 38), bakterielle ^(22; 26; 39) und parasitäre ⁽⁴⁰⁾ Infektionskrankheiten sowie Neoplasien ^(12; 41; 42), Vaskulitiden ⁽⁴³⁾ und Immundefizienzen ^(44; 45). Auch Insektenstiche und verschiedene Medikamente können mit der KKU assoziiert sein ⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾. Einige Untersuchungen wiesen beispielsweise signifikant erhöhte Antikörpertiter gegen virale Antigene bei KKU-Patienten nach ^(49; 50). Seltenerer Untersuchungsbeefunde im Blut der Patienten waren Kryoglobuline ⁽⁵⁰⁻⁵³⁾. Insgesamt sind ca. 3-4% aller Kryoglobulinämien mit der KKU assoziiert ^(20; 54), wobei bei diesen Patienten eine weiterführende Diagnostik zum Ausschluss hämatologischer und neoplastischer Erkrankungen durchgeführt werden sollte ⁽⁹⁾. In Einzelfällen konnten auch Laminin-B-Antikörper, verminderte Werte des C1-Esterase-Inhibitors und des Komplementfaktors C4 festgestellt werden ⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾. Allerdings bleibt es fraglich, ob all diese Assoziationen eine Relevanz in der Ätiologie der KKU besitzen ⁽¹⁶⁾.

Bei annähernd 20-30% der Patienten mit KKU konnten pathogenetisch relevante, im Blut zirkulierende Faktoren festgestellt werden ⁽²⁰⁾. Diese Faktoren, die sich in weiteren Untersuchungen als gegen IgE gerichtete Immunglobuline der Gruppe M identifizieren ließen, konnten bei Übertragung auf die Haut von Gesunden eine KKU hervorrufen ^(58; 59). Folgende *in-vitro*-Untersuchungen zeigten, dass diese IgM-Autoantikörper in hohen Dosen zur Histaminfreisetzung aus Mastzellen und Basophilen führen ^(60; 61).

Eine mögliche Rolle des IgE in der Pathogenese der KKU unterstreicht eine Untersuchung von Gruber *et al.*, die das Vorkommen funktioneller Anti-IgE-Antikörper vom IgG- und IgM-Typ beschrieb ⁽⁶⁰⁾. Ebenso ist der erfolgreiche Einsatz von rekombinanten Antikörpern gegen IgE (Omalizumab) bei einigen Patienten mit KKU ohne eine wesentliche pathogenetische Bedeutung des IgE nicht zu erklären ⁽⁶²⁾. Allerdings bleibt unklar, welche exakte Rolle IgE und Anti-IgE im Pathomechanismus einnehmen. Es gibt die Hypothese, dass die KKU durch Autoantikörper verursacht wird, die durch verschiedenartige Antigenstimulationen wie Infektionen oder Insektenstiche entstehen und durch molekulares Mimikry zur Ausbildung von kältesensitiven Immunkomplexen führen würden. Die Annahme, dass kalte Temperaturen die Interaktion zwischen Anti-IgE-Antikörpern (Klasse IgG oder IgM) und IgE auf den Mastzellen fördern und so eine Mastzellaktivierung und –degranulation bedingen, konnte bisher nicht ausreichend belegt werden ^(20; 63-65).

Die Pathophysiologie der urtikariellen Symptome ist demgegenüber weitreichender untersucht: Quaddeln und Juckreiz sind letztendlich Ausdruck einer komplexen Entzündungsreaktion und beruhen auf der direkten oder indirekten Aktivierung kutaner Mastzellen (MZ) ⁽¹²⁾. Eine MZ-Aktivierung führt zur unmittelbaren Degranulation biologisch aktiver Substanzen wie Histamin, Tumornekrosefaktor (TNF)- α , Serotonin, Platelet Faktor-4, Proteasen und Proteoglykanen. Mit etwas Verzögerung kommt es außerdem zur Synthese von Eicosanoiden (Leukotrien C₄, Prostaglandin D₂) und zur Produktion von Zytokinen und Chemokinen ⁽⁶⁶⁾ (Abb. 1.2).

Kutane MZ sind zahlreich um die Gefäße der oberen Dermis lokalisiert und besitzen zytoplasmatische Granula, in denen die vorgefertigten Mediatoren gespeichert sind ^(67; 68). Ihre Degranulation führt innerhalb weniger Minuten zur Entstehung der urtikariellen Hauterscheinungen ^(66; 68; 69). Der erfolgreiche Einsatz von H1-Histaminrezeptor-antagonisten in der symptomatischen Therapie der Urtikaria unterstreicht dabei die

entscheidende Rolle des Histamins im Pathomechanismus der Symptomentstehung. Seine Freisetzung bedingt innerhalb von Minuten die Erweiterung und Permeabilitätssteigerung postkapillärer Venolen und lymphatischer Gefäße ^(70; 71). Dadurch kommt es zur Flüssigkeitsansammlung im Interstitium der oberen und mittleren Dermis, die als klassische Quaddel in Erscheinung tritt. Beim Angioödem ist das Ödem in der unteren Dermis und/ oder der Subkutis lokalisiert ⁽³⁾. Die Stimulation freier Nervenendigungen, insbesondere der C-Nervenfasern, verursacht den intensiven Juckreiz sowie ein neurogenes Reflexerythem ^(3; 72). Außerdem kommt es durch Histamin zur Freisetzung von Neuropeptiden wie der Substanz P, wodurch die urtikariaspezifische Reaktion zusätzlich verstärkt wird ^(67; 73).

Andersson *et al.* untersuchten den zeitlichen Verlauf der Histaminfreisetzung im Interstitium bei KQU-Patienten mittels kutaner Mikrodialyse *in-vivo* und stellten fest, dass im Bereich der Quaddel die höchsten Konzentrationen 20 - 30 Minuten nach Kälteprovokation zu beobachten waren. Nach 50 Minuten hatte die Histaminkonzentration wieder ihren Ausgangswert erreicht ⁽⁷⁴⁾.

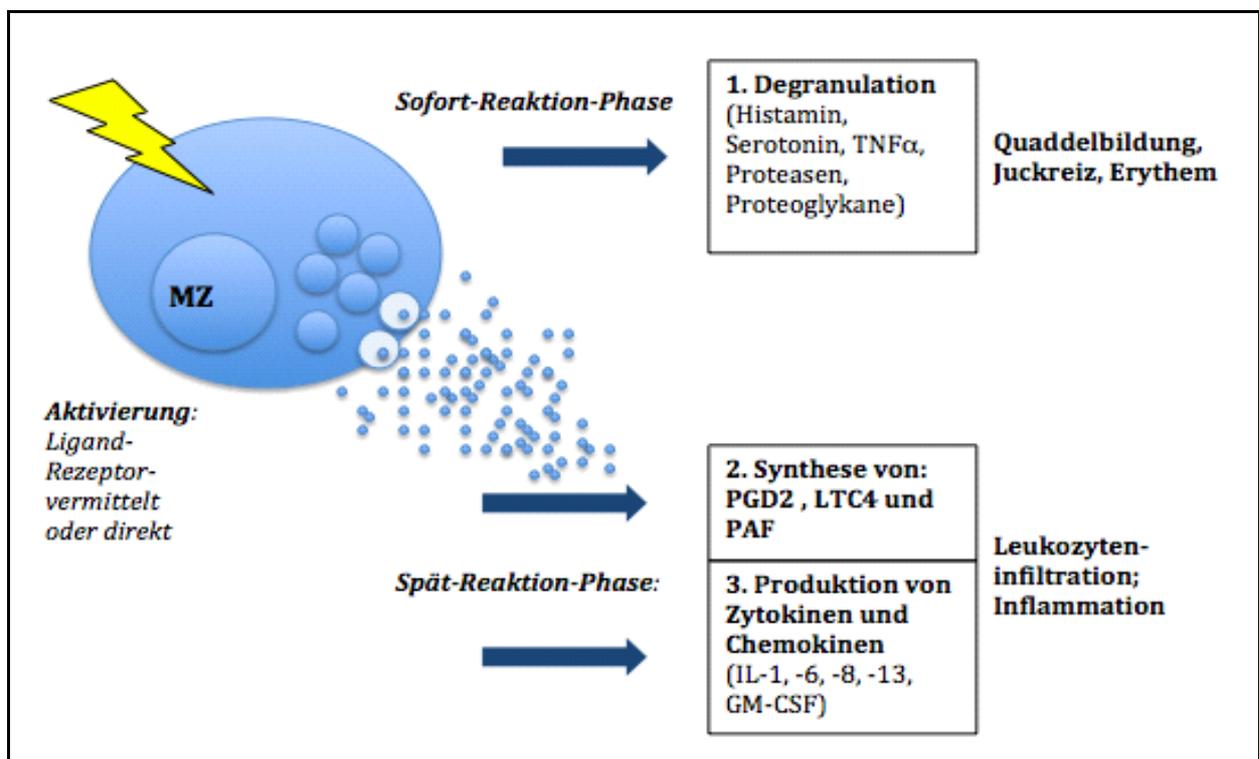


Abb.1.2: Schematische Darstellung der aktivierten Mastzelle (MZ). IL= Interleukin; TNF α = tumor necrosis factor α ; PGD₂=Prostaglandin D₂; LTC₄= Leukotrien C₄; PAF= Plättchen-aktivierender-Faktor; GM-CSF= granulocyte macrophage colony-stimulating factor.

Minuten bis Stunden nach Aktivierung produzieren MZ darüber hinaus Prostaglandin D₂, Leukotrien C₄ und Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF) sowie eine Vielzahl von verschiedenen Zytokinen und Chemokinen^(66; 75). Interleukin (IL)-1 und TNF- α aktivieren dabei als Zytokine der akuten Phase der Inflammation das Endothelium und andere Zellen und spielen so eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung von Leukozyten. Die anderen Zytokine (z.B. IL-5, -6, -8, -13) sind ebenfalls beteiligt an der Anlockung von Immunzellen, v.a. von Eosinophilen, T-Helferzellen und Makrophagen in die Dermis der stimulierten Haut^(66; 76; 77). So wird eine kutane Inflammation aufrechterhalten, die auch als Spät-Reaktion bezeichnet wird⁽⁶⁶⁾. Es ist bekannt, dass mittels kutaner Mikrodialyse einige Stunden nach Allergen-induzierter MZ-Aktivierung erhöhte Werte von IL-6 und IL-8 gemessen werden können⁽⁷⁸⁻⁸⁰⁾. Auch im Pathomechanismus der KKU ist eine gesteigerte Produktion von Zytokinen bekannt⁽⁸¹⁾, allerdings ist die Bedeutung der Spät-Reaktion für die Erkrankung nicht klar.

1.2.4 Diagnostik

Neben einer gezielten Anamnese basiert die Diagnose einer KKU wie bei allen physikalischen Urtikaria-Formen auf der Durchführung eines Provokationstests⁽³⁾.

In der wissenschaftlichen Literatur ist eine Vielzahl von diagnostischen Kälteprovokationstests (*cold stimulation test*, CST) wie z.B. mit Coolpacks, partiellen Kältebädern oder Ganzkörperexposition in kalten Räumen beschrieben worden⁽¹¹⁾. Aufgrund seiner einfachen Durchführung ist die am weitesten verbreitete Methode die fünf-minütige Applikation eines, im Plastikbeutel befindlichen, schmelzenden Eiswürfels auf die Haut des Patienten, typischerweise am volaren Unterarm^(3; 11; 26). Der Test gilt als positiv, wenn es 10 Minuten nach Provokationsende im Rahmen der Wiedererwärmung zur Quaddel- und Juckreizbildung im Testareal kommt⁽²³⁾ (Abb. 1.3).

Die genannten Methoden liefern zum Teil nur schlecht reproduzierbare Ergebnisse und sind bei großflächiger Kälteexposition (Kältebäder) mit einem erhöhten Anaphylaxierisiko verbunden^(22; 24).

Mit der Entwicklung elektronischer Geräte ist es gelungen, schnell und sicher standardisierte und reproduzierbare Kältetestungen vorzunehmen. Diese Geräte (TempTest[®], Emo Systems GmbH, Berlin) besitzen vier bis 12 Peltier-Effekt basierte Thermoelemente, die einzeln in einem Spektrum von 0-45 °C eingestellt werden können

^(82; 83). TempTest[®] ist hoch sensitiv und spezifisch in der Diagnosestellung der KKK: In einer Untersuchung wurden zum direkten Vergleich 30 KKK-Patienten und 30 Patienten mit der Diagnose einer chronischen spontanen Urtikaria (CSU) mit dem Eiskübeltest und mit TempTest[®] getestet. Dabei zeigte der Eiskübeltest bei 83% und die Provokation mit TempTest[®] bei 92 % der KKK-Patienten eine positive Reaktion. Kein Patient mit CSU reagierte bei einem der beiden Verfahren positiv ⁽⁸⁴⁾.



Abb.1.3 a.,b.: Eiskübeltest. Nach Kälteprovokation mit einem schmelzenden Eiswürfel (a.) zeigt sich ein positives Testergebnis mit Quaddel- und Erythembildung (b.).

Der entscheidende Vorteil der TempTest[®] Geräte liegt allerdings in der Möglichkeit, die individuelle Schwellentemperatur (*critical temperature threshold*, CTT) und Schwellenzeit (*critical stimulation time threshold*, CSTT) objektiv zu bestimmen. Die CTT ist die höchste Temperatur und die CSTT ist die kürzeste Zeit, bei der eine Kälteprovokation noch eine Quaddelbildung hervorruft. In Studien konnte gezeigt werden, dass die CTT mit der Krankheitsaktivität korreliert und dass sie gut für Therapiekontrollen eingesetzt werden kann ^(83; 84).

Bei anamnestischen Hinweisen auf eine KKK kann ein negativer Kältestimulationstest die Erkrankung noch nicht gänzlich ausschließen. Einzelfälle demonstrieren, dass das Auslösen einer positiven Reaktion einer längeren Provokationsdauer oder der Variation des Provokationsortes bedarf. Es ist auch beschrieben worden, dass erst die Ganzkörperexposition mit kalter Luft oder die Kühlung der Haut durch Verdunstung von Wasser oder Ethanol zu KKK-Symptomen führt ⁽⁴⁴⁾. Sind auch diese zusätzlichen

Testungen negativ, ist die gezielte Suche nach Hinweisen auf atypische Kälteurtikariaformen indiziert ^(16; 27).

Da die KKU überwiegend idiopathisch auftritt, ist in der klinischen Routine eine gezielte Ursachensuche nicht sinnvoll. Nur bei anamnestischem und klinischem Verdacht auf eine der KKU möglicherweise zugrunde liegende Erkrankung ist eine Bestimmung spezifischer Laborparameter, wie z.B. die Bestimmung von Kryoglobulinen, Entzündungsparametern und eines Differentialblutbildes, angebracht ^(3; 9; 16).

1.2.5 Therapie

Da in den meisten Fällen die Ursache der KKU nicht eruiert werden kann, beschränkt sich die Therapie auf eine Reduzierung der Symptome und basiert hauptsächlich auf der Expositionsprophylaxe und der medikamentösen symptomatischen Therapie ^(7; 12).

Betroffene Patienten müssen detailliert über mögliche Auslöser und die Gefahr lebensbedrohlicher systemischer Reaktionen aufgeklärt werden. Die Bestimmung der individuellen Urtikaria-auslösenden Schwellentemperatur und -zeit ist bei allen Patienten empfehlenswert, da deren Ergebnisse mit der Krankheitsaktivität korrelieren und als Orientierungshilfe für das persönliche Risiko und die Kälteexpositionskontrolle im Alltag dienen ^(9; 12; 84). Zur Vermeidung der Kälteexposition gehört das Tragen schützender Kleidung, der Verzicht auf Schwimmen in kühlen Gewässern und die Meidung kalter Speisen und Getränke. Außerdem sollte jeder Patient mit einem Notfallset, bestehend aus einem Antihistaminikum, einem Steroid sowie einem Epinephrin-Autoinjektor, versorgt und in seiner korrekten Anwendung eingewiesen sein ⁽⁷⁾.

Da aber die vollkommene Karenz - vor allem in kalten Regionen und bei hoher CTT - oft nicht möglich oder praktikabel ist, kommt eine symptomatische medikamentöse Therapie regelmäßig zum Einsatz ⁽⁸⁵⁾. In zahlreichen Studien haben sich nicht sedierende H1-Antihistaminika (nsAH) der zweiten Generation als effektiv und sicher in der Therapie der KKU erwiesen ^(13; 86-90) und werden von den internationalen EAACI/GA²LEN/EDF/WAO-Leitlinien als Standardtherapie empfohlen ⁽⁷⁾. Die Pharmaka dieser Klasse wirken antagonistisch am H1-Rezeptor, und sehr hohe Dosen können zumindest *in-vitro* die Histaminfreisetzung aus dermalen Mastzellen blockieren ⁽⁹¹⁾. Darüber hinaus besitzen sie anti-inflammatorische Effekte, die im Detail jedoch nicht

geklärt sind ^(92; 93). Die nsAH, deren wichtigste für die Therapie der KKU zugelassene Vertreter Loratadin, Cetirizin, Mizolastin, Fexofenadin, Rupatadin und Desloratadin sind, werden je nach Schweregrad der Symptome nur bei Bedarf oder als regelmäßige prophylaktische Therapie eingesetzt ⁽¹⁶⁾. Allerdings zeigen viele Patienten keine ausreichende Symptomreduktion unter den üblichen Dosierungen. Die aktuellen Leitlinien empfehlen deswegen eine individualisierte Auswahl des AH und eine stufenweise Steigerung bis auf das Vierfache der Standarddosis ⁽⁷⁾. Im Falle von Desloratadin und Rupatadin konnte die Überlegenheit des Aufdosierens gegenüber der Standardtherapie belegt werden ⁽¹³⁻¹⁵⁾.

In schweren Fällen und bei Nichtansprechen auf hochdosierte nsAH kommen weitere Therapieoptionen in Betracht: Die Therapie mit Cyproheptadin und mit dem Mastzellstabilisator Ketotifen ⁽⁹⁴⁻⁹⁶⁾, der additive Gebrauch der Leukotrienantagonisten Monteluklast und Zafirluklast ⁽⁹⁷⁻⁹⁹⁾ sowie eine immunsuppressive Behandlung mit Corticosteroiden oder Cyclosporin A ^(100; 101) wurden erfolgreich in der Behandlung der KKU eingesetzt. Auch die Wirksamkeit von Anti-IgE-Antikörpern (Omalizumab) ^(62; 102) und des IL-1-Rezeptorantagonists Anakinra ⁽¹⁰³⁾ ist für äußerst therapierefraktäre Einzelfälle beschrieben. Die topische Applikation von Capsaicin, dem Schärfereiz verursachenden Alkaloid aus der Chilibeere, konnte in Untersuchungen ebenfalls urtikarielle Symptome reduzieren, vermutlich weil es zur Depletion von Neuropeptiden aus sensorischen Nervenfasern führt ⁽⁷³⁾.

Zusätzlich zur symptomatischen Behandlung existieren einige wenige kurative Therapieansätze: So kann bei KKU Patienten eine antibiotische Behandlung in Betracht gezogen werden. Einzelne Fallberichte weisen auf das Abheilen oder eine deutliche Besserung der KKU nach der Gabe von Penicillin oder Tetrazyklin über eine Dauer von 2–4 Wochen hin ^(19; 104; 105). Allerdings ist nicht klar, ob die Antibiotika einen nicht bekannten Infektfokus sanieren oder ob sie direkt oder indirekt den Pathomechanismus der Erkrankung beeinflussen ⁽¹²⁾.

Wie bei anderen physikalischen Urtikariaformen ist bei der KKU eine Toleranzinduktion durchführbar. Regelmäßige Kälteexposition mit kalten Bädern oder in Kühlkammern soll in stufenweiser Steigerung letztendlich zum Verschwinden der klinischen Symptome führen ⁽¹⁰⁶⁾. Die Kältesensibilisierung ist aber nicht besonders praktikabel und die Compliance gering: Zur Aufrechterhaltung der Kältetoleranz müssen Patienten täglich

die Kälteexposition beibehalten. Zudem ist das Risiko systemischer Nebenwirkungen hoch, und sie muss zumindest initial unter ärztlicher Aufsicht stattfinden ⁽¹⁰⁷⁾.

1.3 Studienmedikament

In der BUCUM-Studie wurde die Wirksamkeit von Bilastin bei Patienten mit KKU überprüft. Dabei handelt es sich um ein neues nsAH der Firma FAES FARMA (Bilbao, Spanien), das seit 2010 – in Deutschland unter dem Handelsnamen Bitosen® - in den Ländern der Europäischen Union auf dem Markt ist und zur symptomatischen Behandlung der allergischen Rhinokonjunktivitis und der Urtikaria zugelassen ist ⁽¹⁰⁸⁾.

Der chemische Name (IUPAC-Bezeichnung) ist 2-[4-(2-(4-(1-(2-ethoxyethyl)-1H-benzimidazol-2-yl)piperidin-1-yl)ethyl)phenyl]-2-methylpropionsäure.

Pharmakologische Studien konnten *in-vitro* und *in-vivo* zeigen, dass Bilastin als effektiver H1-Histaminrezeptorantagonist wirkt und zudem in hohen Dosen anti-inflammatorische Eigenschaften besitzt ^(109, 110). Seine anti-histaminerge Potenz ist der von Cetirizin gleichwertig und 5-10 mal größer als die von Fexofenadin. Bilastin ist hochspezifisch und zeigt keine oder nur minimale Effekte an 30 anderen untersuchten Rezeptoren ⁽¹⁰⁹⁾.

Nach oraler Aufnahme wird Bilastin schnell resorbiert und erreicht nach ca. 1 Stunde einen Plasmaspitzenpiegel. Die orale Bioverfügbarkeit liegt bei ca. 60%, die Halbwertszeit liegt bei 14,5 Stunden und die Plasmaproteinbindung ist mit 84-90% hoch. Bilastin wird nach oraler Zufuhr ohne Metabolisierung im menschlichen Organismus über den Darm (67%) oder die Nieren (33%) ausgeschieden. Es wird nicht von der Leber metabolisiert und hat auch keinen Einfluss auf die CYP450-Isoenzyme ^(109; 111). Eine Dosisanpassung ist bei älteren Patienten oder Patienten mit Leber- oder Niereninsuffizienz nicht nötig ⁽¹¹²⁾. Bilastin ist ein Substrat von P-Glykoprotein, einem Molekül, das den Übertritt zur Blut-Hirn-Schranke limitiert. Unter der empfohlenen Standardddosis zeigt Bilastin keine sedierenden Eigenschaften, verstärkt nicht die Effekte von Alkohol oder Sedativa und beeinflusst auch nach Verdoppelung der Standardddosis (40 mg) nicht die Fahrtauglichkeit ⁽¹¹³⁾. Insgesamt zeichnet sich Bilastin durch eine gute Verträglichkeit aus. Es wurden keine anticholinergen Effekte oder kardiotoxischen Nebenwirkungen von Bilastin registriert. Schwere Nebenwirkungen sind unter einer Behandlung mit Bilastin nicht aufgetreten ⁽¹¹¹⁾.

Bilastin hat sich in klinischen Studien als wirksames H1-Antihistaminikum bewiesen. In einer randomisierten doppelt-verblindeten und placebo-kontrollierten Studie mit 525 Patienten mit chronischer spontaner Urtikaria (CSU) reduzierte Bilastin in einer Dosis von 20 mg einmal täglich effektiv und sicher urtikarielle Symptome und war dabei in seiner Wirksamkeit vergleichbar mit Levocetirizin ⁽¹¹⁴⁾. In der Therapie der allergischen Rhinitis war Bilastin in einer randomisierten Studie mit 75 Allergikern, die mit Graspollen provoziert wurden, genauso wirksam wie Fexofenadin und Cetirizin ⁽¹¹⁵⁾. Studien zur saisonalen allergischen Rhinitis (SAR) zeigten, dass Bilastin eine vergleichbare Effektivität wie 10 mg Cetirizin und 5 mg Desloratadin besitzt ^(116; 117).

1.4 Mikrodialyse

Das Wissen über die zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen, die zur Entstehung von Symptomen der Kältekontakturtikaria führen, ist lückenhaft. Das liegt vor allem an der Komplexität der immunologischen Zusammenhänge von Zellen und ihren Mediatoren. Zur exakteren Charakterisierung dieser Mechanismen wurden zahlreiche Methoden entwickelt, um das zeitliche und örtliche Auftreten von endogenen Substanzen, die eine Rolle in der Entstehung der KCU spielen, in der Dermis bestimmen zu können. Allerdings sind die zur Verfügung stehenden Methoden wie die Entnahme einer Hautbiopsie oder die Hautblasentechnik (*suction-blister*) mit einer Verletzung des Gewebes verbunden und können zudem nur punktuelle Messungen liefern ⁽¹¹⁸⁾.

In der vorliegenden Arbeit hingegen kommt die kutane Mikrodialyse zum Einsatz. Sie ist eine etablierte minimal-invasive Technik, bei der semipermeable Sonden in die obere Dermis implantiert und kontinuierlich mit steriler Kochsalz-Lösung perfundiert werden. Das Prinzip der Mikrodialyse basiert auf der passiven Diffusion von extrazellulären Substanzen entlang eines Konzentrationsgradienten über die semipermeable Membran der Sonde (siehe 2.5.1; Abb.2.6). Sie ermöglicht so die kontinuierliche Sammlung kleiner, wasserlöslicher Moleküle der extrazellulären Flüssigkeit *in-vivo*. Der Vorteil gegenüber den anderen Methoden liegt in der Möglichkeit, zeitliche Variationen der Produktion und Ausschüttung von bestimmten Substanzen lokalisiert im intakten Gewebe zu erfassen ⁽¹¹⁸⁾. Initial fand die Mikrodialyse in der tierexperimentellen Hirnforschung zur Bestimmung von Neurotransmittern und kleinen hydrophilen

Substanzen Gebrauch ⁽¹¹⁹⁾. Bald jedoch wurde die Technik für den Einsatz im Fettgewebe, im Muskel, am Auge und im Gastrointestinaltrakt weiterentwickelt ⁽¹²⁰⁾. An der Haut führten Anderson *et al.* die Mikrodialyse das erste Mal Anfang der 90er-Jahre nach topischer Applikation von Ethanol durch ⁽¹²¹⁾. Seitdem wurde sie an der Haut in einer Vielzahl von Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Xenobiotika und zur Bestimmung von endogenen Metaboliten (Glykose, Laktat) sowie vasoaktiver Substanzen (z.B. Histamin, NO und Prostaglandine) eingesetzt ^(78; 122). Seit einigen Jahren ist durch den Einsatz von großporigen Dialyse-Membranen auch die Untersuchung von höher-molekularen Substanzen wie Plasmaproteinen, Zytokinen und Neuropeptiden möglich ^(120; 123). Clough *et al.* konnten anhand eines Allergen-induzierten Urtikaria-Modells zeigen, dass die Mikrodialyse ein geeignetes Verfahren zur zeitlichen Charakterisierung der dermalen Zytokinproduktion ist ⁽⁷⁸⁾. In der Untersuchung von inflammatorischen und immun-vermittelten Hauterkrankungen hat sich die Technik der Mikrodialyse mittlerweile etabliert ⁽¹²³⁾.

1.5 Zielsetzung

Die Symptome der KCU persistieren über viele Jahre und sind in der Regel nicht kausal behandelbar. Daher nimmt die symptomatische Therapie mit nicht sedierenden Antihistaminika (nsAH) immer noch die höchste Priorität ein und wird von den internationalen EAACI/GA²LEN/EDF/WAO-Leitlinien als Therapie der ersten Wahl empfohlen. Häufig kommt es jedoch unter den empfohlenen Standarddosierungen zu einer nicht ausreichenden Symptomreduktion, was bei Betroffenen zu einer massiven Einschränkung der Lebensqualität führen kann. Aufgrund der potentiellen Schwere der KCU kann eine insuffiziente Behandlung im schlimmsten Fall auch lebensbedrohliche Komplikationen wie Ersticken durch oropharyngeale Ödeme oder Ertrinken durch anaphylaktischen Schock bei Aktivitäten im Wasser begünstigen. Zur Verbesserung der Symptomkontrolle schlagen die aktuellen Leitlinien daher eine Dosissteigerung von nsAH bis zum Vierfachen der täglichen Standarddosis für therapierefraktäre Patienten vor ⁽³⁾. Trotz einiger neuer Untersuchungen bleibt die Anzahl randomisierter Studien, die den dosisabhängigen antihistaminergen Effekt und seine Verträglichkeit in der Therapie der Urtikaria belegen, sehr übersichtlich und auf wenige nsAH beschränkt.

Das Hauptziel dieser Arbeit liegt darin, die Gültigkeit der Leitlinie am Beispiel der KCU zu überprüfen. Es soll untersucht werden, ob die Wirksamkeit des neuen Antihistaminikums Bilastin durch Dosissteigerung auf das Vierfache der vom Hersteller empfohlenen Tagesdosis auf urtikarielle Symptome verbessert werden kann. Anhand der Veränderung der individuellen Schwellentemperatur (CTT) und Schwellenzeit (CSTT) sollen die Effekte der empfohlenen Standarddosis von 20 mg Bilastin mit einer Steigerung der Dosis auf 40 mg bzw. 80 mg verglichen werden. Gleichzeitig soll die Auswirkung der Therapie auf Quaddelgröße, Erythem und Juckreizbildung charakterisiert werden und dabei die Sicherheit und Verträglichkeit der Behandlung bewertet werden.

Für das nsAH Desloratadin konnte kürzlich gezeigt werden, dass der hochdosierte Einsatz von nsAH effektiver in der Therapie der KCU wirkt als die Standarddosis ⁽¹³⁻¹⁴⁾. Allerdings sind die zugrundeliegenden Mechanismen dieses zusätzlichen Therapieeffekts noch völlig unklar. Auf Ebene der Mediatorausschüttung von kutanen

Mastzellen (MZ) bleibt zu klären, ob der Effekt auf eine stabilisierende Wirkung gegenüber den MZ zurückgeht - wie *in-vitro*-Studien mit sehr hohen Dosen zeigen konnten ⁽⁹¹⁾ - oder ob es sich um zusätzliche Effekte auf Rezeptorebene handelt. Außerdem ist nicht bekannt, ob eine Dosissteigerung anti-inflammatorische Prozesse, die für nsAH und auch Bilastin bekannt sind, beeinflusst oder sogar steigern kann. Ein weiteres Ziel der Arbeit ist deshalb, die Auswirkungen der Therapie mit Bilastin auf die kälteinduzierte Aktivierung von MZ zu untersuchen. Mögliche Veränderungen der Degranulation sowie von anti-inflammatorischen Effekten sollen mit Hilfe der Mikrodialyse durch Charakterisierung der Histaminausschüttung und der Zytokinproduktion von IL-6, IL-8 und TNF α vor, während und nach Kälteprovokation gezeigt werden.

2. Methoden

Die BUCUM-Studie (BUCUM= *Bilastine Up-dosing and Characterization of Underlying Mechanisms*) wurde an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Deutschland, durchgeführt. Sponsor und Leiter der klinischen Prüfung war Herr Prof. Dr. med. Marcus Maurer, beauftragte Sub-Investigatorin war Frau Dr. med. Karoline Krause. Die Studie wurde entsprechend den Direktiven der Deklaration von Helsinki, den internationalen Leitlinien "*Good Clinical Practice*" und den Standard Operating Procedures (SOPs) des Allergie-Centrums-Charité und des Koordinationszentrums für Klinische Studie (KKS) der Charité - Universitätsmedizin Berlin durchgeführt. Die Genehmigung der Studie erfolgte durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales, Geschäftsstelle der Ethik-Kommission des Landes Berlin am 04.08.2010 (EudraCT Nummer: 2010-019344-39) und durch das Bundesamt für Arzneimittel (BfArM) am 09.08.2010. Durch drei Monitoring-Besuche wurden die vorschriftsmäÙe Durchführung der Studie und das einwandfreie Datenmanagement überprüft.

2.1 Patientenkollektiv

Es wurden insgesamt 20 Patienten mit der Diagnose einer Kältekontakturtikaria (KKU), die mindestens 6 Wochen vor dem Screening gestellt wurde, in die Studie eingeschlossen. Die Fallzahl wurde mittels einer Power von 80% (gepaarter t-Test), eines zweiseitigen Signifikanzniveaus von 5% und eines mittelgroÙen Effekts von 1,2 Standardabweichungen abgeschätzt. Zur Rekrutierung der Studienpopulation wurden KKU-Patienten aus der Urtikaria-Sprechstunde des Allergie-Centrums-Charité der Charité - Universitätsmedizin Berlin postalisch über den Ablauf, die Ziele und potenzielle Risiken der Studie informiert. Es wurden zusätzlich dermatologische Kliniken und niedergelassene Dermatologen im Raum Berlin und Brandenburg angeschrieben und über die Studie informiert. Außerdem wurden Informationen zur Studie auf der Homepage des Allergie-Centrums-Charité veröffentlicht. Hierfür lag eine Genehmigung der Ethik-Kommission des Landes Berlin vor.

2.1.1 Einschlusskriterien

Voraussetzung für Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, war das Vorliegen einer chronischen, seit über sechs Wochen bestehenden KKK mit Quaddel- und Juckreizbildung. Bei gebärfähigen Frauen sowie auch bei Männern war eine zuverlässige Kontrazeption (Pearl-Index $<1\%$) während und mindestens drei Monate nach Studienabschluss erforderlich. Teilnehmende Patienten mussten über 18 Jahre sein und durften nicht an einer anderen klinischen Studie einen Monat vor, während und einen Monat nach der BUCUM-Studie teilnehmen. Nach ausführlicher Aufklärung über den Ablauf der Studie, ihre Ziele, ihren medizinischen Nutzen sowie über mögliche Risiken und Pflichten der Probanden musste von allen Patienten eine Einverständniserklärung zur freiwilligen Teilnahme unterschrieben werden.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen von der BUCUM-Studie wurden Patienten mit bekannten, klinisch relevanten Allergien sowie mit akuten oder chronischen Erkrankungen des Immunsystems, des Gastrointestinaltrakts oder des Herz-Kreislaufsystems. Patienten mit schweren Nieren- und Lebererkrankungen waren ebenfalls nicht für eine Teilnahme geeignet. Weitere Ausschlusskriterien waren bekannte oder neu auftretende allergische Reaktionen auf das Prüfmedikament oder Bestandteile davon. Nicht geeignet waren auch Patienten, die in einer psychiatrischen Klinik untergebracht waren sowie Insassen eines Gefängnisses. Für Patienten mit bekannten epileptischen Erkrankungen sowie für Patienten, die aufgrund einer Tumorerkrankung eine Strahlen- bzw. Chemotherapie erhielten, war eine Teilnahme an der BUCUM-Studie ebenfalls nicht möglich. Probanden mit hereditärer Galaktose-Intoleranz, Laktasemangel oder Malabsorption von Glukose und Galaktose und Patienten mit exzessivem Alkohol- und Tabakabusus wurden gleichsam von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Für die Studie nicht geeignet waren auch schwangere (positiver β -hCG-Nachweis im Urin) oder stillende Patientinnen.

Während der Studie war die Einnahme oder Anwendung folgender Medikamente nicht zulässig:

- Zwei Wochen vor Beginn der Therapie mit dem Studienmedikament sowie

während der gesamten Studie: orale H1- und H2-Antihistaminika, Leukotrienantagonisten, trizyklische Antidepressiva, Antipsychotika, Aluminium oder Magnesium beinhaltende Antazida, Ketokonazole, Erythromycin, Diltiazem, Cylosporin, Ritonavir sowie topisch applizierte Antihistaminika, Kortikosteroide und Mastzellstabilisatoren.

- Vier Wochen vor Beginn der Therapie mit dem Studienmedikament sowie während der gesamten Studie: Systemische Kortikosteroide, UV-Therapie (inklusive PUVA) sowie systemische Immunsuppressiva.

Darüber hinaus war den Teilnehmern die Einnahme von Zitrusfrüchten 24 Stunden vor und während des 3., 4., 5. und 6. Studientages untersagt, da diese die Absorption, Verteilung und den Metabolismus des Prüfpräparats möglicherweise beeinflussen.

2.1.3 Abbruchkriterien

Abbruchkriterien, die zum sofortigen Absetzen der Studienmedikation und zum Ausschluss der Patienten von der Studie führen, waren das Auftreten von schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen, neuer allergischer Reaktionen gegen die Studienmedikation sowie eines der in 2.1.2 aufgeführten Ausschlusskriterien. Ebenso führte der Widerruf des Einverständnisses sowie mangelnde Compliance zum sofortigen Ausschluss aus der Studie.

2.2 Studiendesign und -ablauf

Die BUCUM-Studie, eine prospektive, randomisierte, doppelt-verblindete und Placebo-kontrollierte Untersuchung im Tripple-Crossover-Design, umfasste insgesamt 6 Visiten, die über einen Zeitraum von 3 Monaten stattfanden. Es wurde ein inkomplettes Crossover-Design angewandt, um für die Mikrodialyse an den Visiten 3 und 6 die Effekte der Standarddosis von 20 mg Bilastin mit dem Vierfachen der Standarddosis von 80 mg Bilastin vergleichen zu können. Abbildung 2.1 zeigt das Design der BUCUM-Studie.

Primärer Endpunkt der BUCUM-Studie war

- die Veränderung in der Schwellentemperatur (CTT) und Schwellenzeit (CSTT), die sowohl für konfluierende als auch für nicht-konfluierende Quaddeln nach Behandlung mit Bilastin in verschiedenen Dosierungen (20 mg, 40 mg und 80 mg) bestimmt wurde.

Sekundäre Endpunkte der Studie waren

- die Anzahl der Patienten, die unter Therapie mit Placebo oder Bilastin in verschiedenen Dosierungen (20 mg, 40 mg und 80 mg) keine Urtikaria-typischen Symptome mehr nach CST entwickelten.
- die Veränderung der Größe von Quaddeln und Erythem nach CST sowie die Auswirkung auf Juckreiz und Brennen nach Behandlung mit Placebo oder Bilastin in verschiedenen Dosierungen (20 mg, 40 mg und 80 mg).
- Veränderung der Freisetzung von Mastzell-Mediatoren Histamin sowie die Zytokine IL-6, IL-8 und TNF α nach einer Behandlung mit Bilastin in Standarddosierung (20 mg) und hochdosierter Form (80 mg) im Vergleich zur Baseline-Messung ohne Therapie.
- Sicherheit und Verträglichkeit der Behandlung. Dies umfasste vor Studienbeginn und nach Studienabschluss eine körperliche Untersuchung, die Entnahme und Analyse einer venösen Blutprobe und eine EKG-Untersuchung sowie die detaillierte Dokumentation von unerwünschten Nebenwirkungen während der Studie.

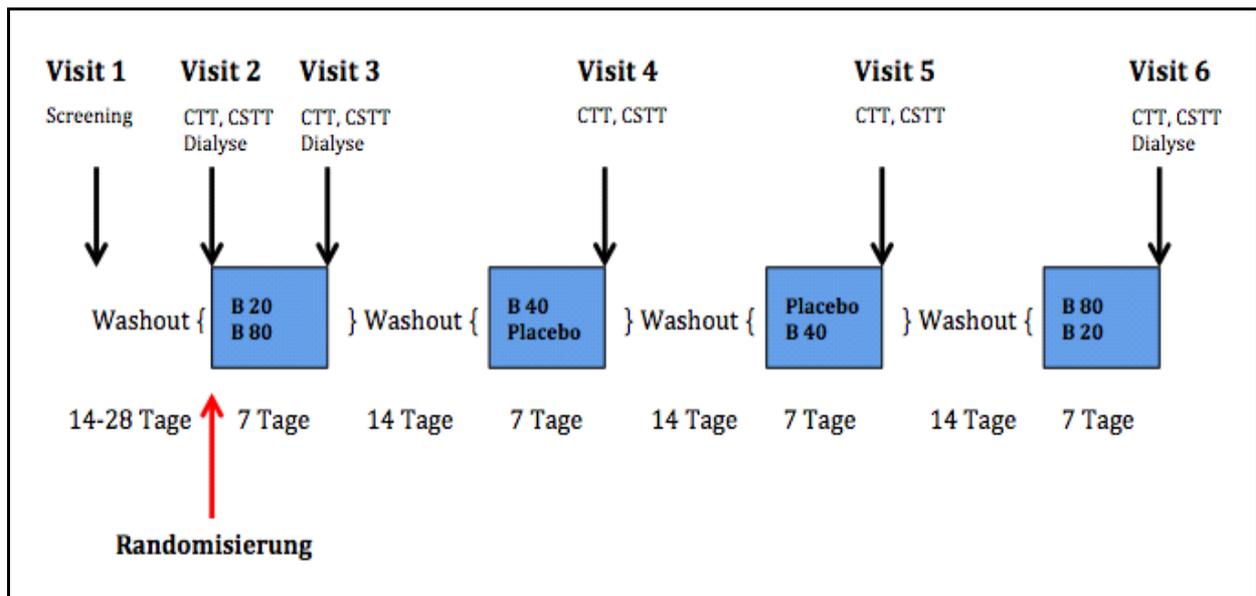


Abb.2.1: Design der BUCUM-Studie. In diese doppelt-verblindete, Placebo-kontrollierte Studie im Cross-over Design wurden insgesamt 20 Patienten mit KKK eingeschlossen und jeweils für sieben Tage mit 20, 40 und 80 mg Bilastin (B) und Placebo behandelt. Die Studiendauer betrug für jeden Patienten 3 Monate. Es wurde die Schwellentemperatur (*critical temperature threshold*, CTT) und Schwellenzeit (*critical stimulation time threshold*, CSTT) gemessen sowie die kutane Mikrodialyse zur Bestimmung von Histamin- und Zytokin-Konzentrationen durchgeführt.

2.2.1 Screening Visit

Interessierte Patienten mit der Diagnose einer KKK wurden zu einem Screening Visit eingeladen. Ergänzend zu den bereits zugeschickten schriftlichen Informationen erfolgte ein ausführliches Aufklärungsgespräch über Ziele, Ablauf, Nutzen, eventuelle Nebenwirkungen sowie Rechte und Pflichten der Probanden. Nach Klärung aller Fragen musste von jedem Studienteilnehmer eine Einverständniserklärung zur freiwilligen Teilnahme unterschrieben werden. Es folgte eine ausführliche Anamnese zu vorbestehenden Erkrankungen und regelmäßiger Einnahme von Medikamenten. Mittels TempTest® 2.0. (siehe 2.4.2) erfolgte dann die 5-minütige Kälteprovokation mit 4°C am volaren Unterarm der Probanden. Nur Patienten, die eine positive Reaktion mit Quaddelbildung zeigten, erhielten bei Zutreffen aller Einschlusskriterien, Abwesenheit aller Ausschlusskriterien und Vorhandensein einer schriftlichen Einverständniserklärung eine Screeningnummer und wurden in die Studie aufgenommen. Es folgten eine körperliche Untersuchung und eine venöse Blutabnahme zur Blutbild- und Elektrolytkontrolle sowie zur Bestimmung der Nieren- und Leberwerte. Zuletzt wurde eine elektrokardiographische Untersuchung (EKG) durchgeführt, und gebärfähige

Frauen mussten eine Urinprobe zur β -hCG Bestimmung abgeben. Alle laborchemischen Untersuchungen wurden vom Zentrallabor der Charité-Universitätsmedizin durchgeführt. In einem Case Report File (CRF) wurden alle Daten der teilnehmenden Probanden pseudonymisiert dokumentiert.

2.2.2 Visit 2 und Randomisierung

Nach einer Washout-Phase von 14-28 Tagen, an denen die Einnahme von antihistaminergen Medikamenten nicht gestattet war, erschienen alle eingeschlossenen Patienten zu einer zweiten Visite. Nach erneuter Überprüfung der Teilnahmebedingungen und Dokumentation möglicher Änderungen der Begleitmedikation wurde eine Kälteprovokationstestung mit dem TempTest® 3.0 (siehe 2.4.4) Gerät durchgeführt. Bei Ausbleiben einer positiven Reaktion auf den Kältereiz wurde der Patient von der Studie ausgeschlossen. Bei einem positiven Test mit Quaddelbildung wurden die individuelle Schwellentemperatur (*critical temperature threshold*, CTT) und die Schwellenzeit (*critical stimulating time threshold*, CSTT) für konfluierende und nicht-konfluierende Quaddeln ermittelt. Quaddel- und Erythemgröße sowie Juckreizstärke wurden nach Durchführung einer Kälteprovokation mittels TempTest® 2.0 bestimmt. Eine Mikrodialyse wurde ebenfalls durchgeführt zur Bestimmung der Histamin-, IL-6-, IL-8- und TNF α - Konzentration in der Dermis vor und nach Kälteprovokation. Alle Patienten wurden daraufhin zu einer der vier Behandlungsgruppen randomisiert. Die Randomisierung erfolgte doppelt-verblindet, und die Randomisierungsnummern wurden aufsteigend, beginnend mit der kleinsten Nummer, vergeben. Nach ausführlicher Aufklärung über die korrekte Einnahme des Prüfpräparats wurde den Probanden entsprechend der Randomisierungsnummer die Studienmedikation ausgehändigt. Die vier Randomisierungsgruppen unterschieden sich dabei durch verschiedene Therapiesequenzen, wobei die Dosierungen von Bilastin in zwei Gruppen gesteigert und in zwei Gruppen gesenkt wurden:

- | | | | | | | | |
|----|-------|---|---------|---|---------|---|-------|
| 1) | 20 mg | – | 40 mg | – | Placebo | – | 80 mg |
| 2) | 20 mg | – | Placebo | – | 40 mg | – | 80 mg |
| 3) | 80 mg | – | 40 mg | – | Placebo | – | 20 mg |
| 4) | 80 mg | – | Placebo | – | 40 mg | – | 20 mg |

Der nun folgende doppelt-verblindete Teil der Studie umfasste vier weitere Behandlungs-Visiten, V3-V6: An allen Visiten wurden zur Wirksamkeitsüberprüfung der Studienmedikation Kälteprovokationstestungen mittels TempTest® durchgeführt. Dabei wurde neben der individuellen CTT und CSTT (TempTest® 3.0) auch ein Kälteprovokationstest mit TempTest® 2.0 durchgeführt, um Quaddel- und Erythemgröße sowie Juckreizbildung zu erfassen. An den Visiten, an denen eine Mikrodialyse durchgeführt wurde, V3 und V6, erhielten die Patienten entsprechend der Behandlungsgruppe, in die sie randomisiert wurden, 20 oder 80 mg Bilastin. An den Visiten 4 und 5 erhielten die Patienten entweder 40 mg Bilastin oder Placebo. Eine Mikrodialyse wurde bei diesen Visiten nicht durchgeführt (Abb. 2.1).

2.2.3 Visit 3

Die Einnahme der Studienmedikation wurde von den Probanden am Morgen nach der 2. Visite begonnen und für 7 Tage fortgeführt. Am letzten Tag der Einnahme erschienen die Studienteilnehmer zur Visite 3. Es wurden mögliche unerwünschte Nebenwirkungen im Rahmen der Medikamenteneinnahme erfasst sowie Änderungen hinsichtlich der Begleitmedikation dokumentiert. Anschließend erfolgten die Kälteprovokationstestungen und eine Mikrodialyse sowie die Ausgabe der Studienmedikation entsprechend der Randomisierungsnummer.

2.2.4 Visit 4 und 5

Nach einer Washout-Phase von jeweils 14 +/- 2 Tagen wurde das Studienmedikament für sieben Tage morgens eingenommen. Am siebten Tag der Einnahme erschienen die Patienten zur 4. bzw. zur 5. Visite. Nach Dokumentation von möglichen unerwünschten Nebenwirkungen der Medikation und Überprüfung der Begleitmedikation und Compliance des Probanden erfolgten die Kälteprovokationstestungen. Danach wurde die jeweilige Studienmedikation ausgehändigt.

2.2.5 Visit 6 und Studienabschluss

Nach einer erneuten Washout-Phase von 14 +/- 2 Tagen erfolgte die 6. und letzte Studienvisite. Die Änderungen der Begleitmedikation und eventuelle neu aufgetretene Nebenwirkungen infolge der Einnahme der Studienmedikation wurden erfragt. Nach

Durchführung der Kältestimulationstestungen erfolgte eine Mikrodialyse. Zum Studienabschluss fand bei jedem Patienten in Analogie zum Screening Visit eine körperliche Untersuchung statt. Eine Blutabnahme (Blutbild, Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium, AP, ALT, AST und γ -GT), eine erneute elektrokardiographische Untersuchung sowie eine Urinprobe zur β -hCG Bestimmung bei gebärfähigen Frauen wurden ebenfalls durchgeführt. Der Studienabschluss wurde im CRF dokumentiert.

2.3 Studienmedikation

2.3.1 Herstellung und Verblindung

Die Studienmedikation wurde von der Firma FAES FARMA hergestellt, konfektioniert und verblindet.

Zur Durchführung der Studie wurden identisch erscheinende Tabletten mit entweder 20mg Bilastin oder Placebo hergestellt. Die Patienten erhielten vor jeder Behandlungsphase die Studienmedikation für sieben Tage. Entsprechend der erforderlichen Zieldosis bestand die Tagesdosis aus einer Kombination von vier Tabletten mit:

- 1 Tablette 20 mg Bilastin und 3 Placebo-Tabletten (Bilastin 20 mg)
- 2 Tabletten 20 mg Bilastin und 2 Placebo-Tabletten (Bilastin 40 mg)
- 4 Tabletten 20 mg Bilastin (Bilastin 80 mg)
- 4 Placebo- Tabletten (Placebo)

Die vier Tabletten in diesen verschiedenen Kombinationen waren in identische Aluminium-Blister verpackt und mit Randomisierungsnummer und Einnahmeanweisungen versehen. Jeweils sieben identische Blister wurden in einer mit Randomnummer und Visitnummer etikettierten Pappschachtel zum jeweiligen Zeitpunkt an den Probanden ausgehändigt. Die Patienten wurden aufgefordert, die Studienmedikation morgens mindestens eine Stunde nach Nahrungsaufnahme einzunehmen sowie auf Fruchtsäfte und Zitrusfrüchte zu verzichten.

2.4 Apparative Methoden

2.4.1 Kältestimulationstestungen

In der BUCUM-Studie wurde zur Induktion von Kälteurtikaria-Symptomen die Haut der Probanden mit Kältereizen stimuliert. Neben Quaddel- und Erythemgröße sowie Juckreiz und Brennen in einer subjektiven Beschwerdeskala wurden CTT und CSTT gemessen.

Zur Kälteprovokationstestung (*cold stimulation test*, CST) kamen zwei unterschiedliche Geräte zum Einsatz: Das TempTest® 2.0 zur einfachen Kälteprovokationstestung von 4°C und dessen Weiterentwicklung TempTest® 3.0 zur Bestimmung der CTT und CSTT. Nach jedem Einsatz erfolgte zur hygienisch einwandfreien Anwendung eine Reinigung der Temperaturköpfe mit einer 70%-Propanol Desinfektionslösung.

2.4.2 TempTest® 2.0.

Das TempTest® 2.0 wurde von der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin in Kooperation mit der Firma Emo Systems GmbH (Berlin, Deutschland) entwickelt und beruht auf einer Peltier-Effekt gestützten Technik, bei der mit Niederspannung betriebene thermoelektrische Elemente als Kälte- und Hitzekörper fungieren. Entsprechend der verwendeten Stromrichtung und Stromintensität wird eine Seite des Elements gekühlt, während die andere Seite sich erhitzt ⁽¹⁶⁾.

TempTest® 2.0 (Abb. 2.2) besitzt vier thermische Elemente, die in Kunststoff eingelassen sind und sicher auf verschiedene Testareale der Haut aufgebracht werden können. Die Kontaktfläche zur Kälteapplikation hat einen Durchmesser von 3 cm. Der Temperaturbereich erstreckt sich von 0° bis 45° C (+/-0,1° C).

Die Regulation der Temperaturköpfe findet im zentralen Mikroprozessor statt, welcher die eigentliche Temperatur am Provokationsareal fortwährend misst, adjustiert und anzeigt.

In der BUCUM-Studie wurde bei allen Visiten TempTest® 2.0 zur einmaligen Kälteprovokationstestung eingesetzt. Außerdem wurde das Gerät zur Induktion einer Urtika im Bereich der Mikrodialyse eingesetzt.

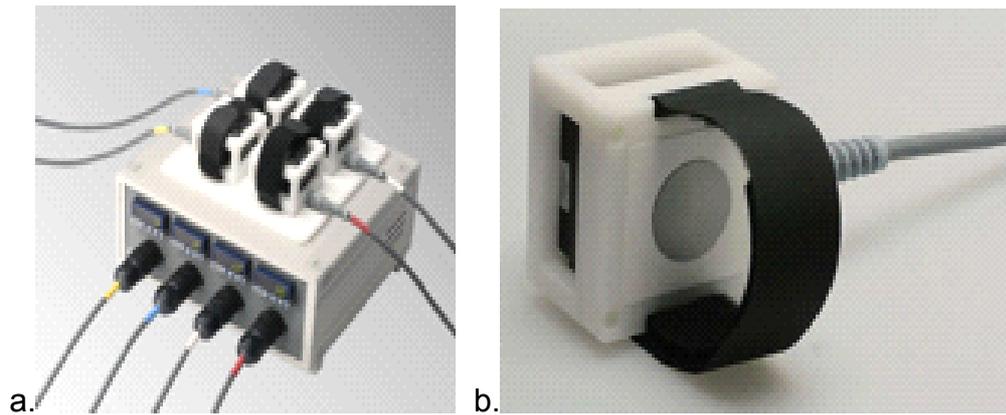


Abb. 2.2 a., b.: TempTest® 2.0 (a); Provokationsareal mit thermoelektrischem Element (b).

2.4.3 Kälteprovokation

Ein Thermoelement des TempTest® 2.0 Gerätes wurde auf 4°C gekühlt und für 5 Minuten mittig auf den volaren Unterarm des Patienten platziert. 10 Minuten nach Ende der Provokation wurde das Ergebnis der Provokation abgelesen. Bei einem alleinigen Erythem galt die Kälteprovokation als negativ. Der minimale und maximale Durchmesser der aufgetretenen Quaddel und des Erythems wurden gemessen. Außerdem wurden subjektive Beschwerden wie lokaler Juckreiz und Brennen erfragt und ihre Stärke dokumentiert.

2.4.4 TempTest® 3.0

Zur Bestimmung der CTT und CSTT wurde TempTest® 3.0 eingesetzt (Abb. 2.3 und 2.4). Es wurde ebenfalls in einer Kooperation der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie der Charité-Universitätsmedizin und der Firma Emo Systems GmbH entwickelt und erfolgreich in vorangegangenen Studien eingesetzt. Anwendung zur Diagnosestellung findet das Gerät auch in der Urtikaria Sprechstunde des Allergie-Centrums-Charité, Berlin.

Es verfügt über einen Temperaturkopf, in dem zwölf thermoelektrische Peltier-Elemente von 10 mm Durchmesser zweireihig in einem Hartplastikgehäuse eingebettet sind. Durch leichten Druck lässt sich der Kopf manuell auf der Haut des Probanden fixieren. So entsteht ein direkter Kontakt zwischen der Hautoberfläche und den Elementen, die thermisch sowie zeitlich einzeln angesteuert und reguliert werden können. Mit Hilfe dieses Gerätes können Dauer der Kältestimulation und Temperaturen im Bereich von 4°

bis 42° C (+- 0,1°C) für jedes Element separat eingestellt werden. Um klinische Symptome standardisiert und reproduzierbar zu erfassen, wurde im Rahmen der Studie TempTest® 3.0 als sicheres und hochspezifisches Verfahren zur exakten Bestimmung der individuellen CTT und CSTT eingesetzt.

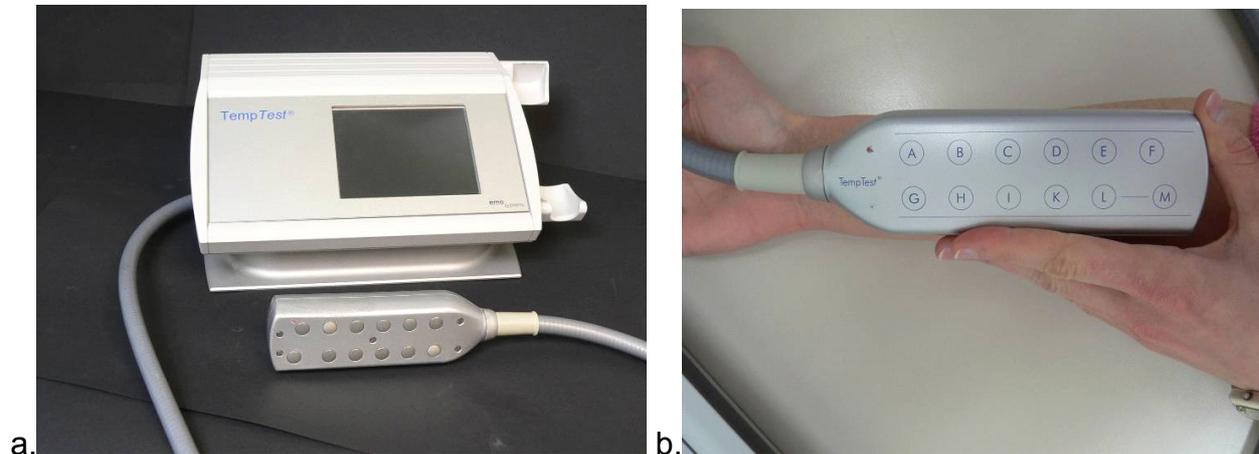


Abb. 2.3 a.,b.: TempTest® 3.0 (a); Temperaturkopf mit 12 thermoelektrischen Elementen (b).



Abb. 2.4: Beispiel für konfluierende und nicht konfluierende Quaddeln bei einem Patienten 10 Minuten nach dem Schwellentemperaturtest mit TempTest® 3.0.

2.4.5 Schwellentemperaturmessung

Als Schwellentemperatur (*critical temperature threshold*, CTT) war die höchste Temperatur im Messbereich von 4° bis 32°C definiert, bei der es 10 Minuten nach einer 5-minütigen Kälteprovokation noch zur Quaddelbildung kam. Zusätzlich wurde bei jeder Messung die höchste Temperatur, bei der sich eine konfluierende Quaddel bildete, dokumentiert. Als konfluierend war eine Urtika definiert, die sich über den gesamten Durchmesser der Thermoelementoberfläche ausbreitete (Abb. 2.4). Um entsprechende Schwellentemperaturen bei den Visiten 2, 3, 4, 5 und 6 festzustellen, wurden die Thermoelemente des TempTest® 3.0 auf 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 und 26° C gekühlt und für 5 Minuten auf die mediale Seite des Unterarms der Patienten aufgebracht. In den Fällen, in denen auf jedem Testareal eine Urtika entstand und die CTT >26°C lag, wurden zusätzliche Messungen bei 28, 30 und 32°C durchgeführt. Ergebnisse wurden 10 Minuten nach der Messung interpretiert und dokumentiert.

2.4.6 Schwellenzeitmessung

Die Schwellenzeit (*critical stimulation time threshold*, CSTT) war definiert als kürzeste Zeit in einem Zeitraum von 30 Sekunden bis 5 Minuten, bei der es zur Quaddelentstehung kommt. In Analogie zur Schwellentemperaturmessung erfolgte auch die Dokumentation der kürzesten Zeit, bei der eine konfluierende Quaddel entstand. Mittels TempTest® 3.0 wurde dafür die Haut an einer bisher unprovokierten Stelle des volaren Unterarms 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 und 300 Sekunden lang jeweils bei 4 °C provoziert. Die Interpretation der Testergebnisse erfolgte in Analogie zur Schwellentemperaturmessung 10 Minuten nach abgeschlossener Messung (Abb. 2.5).

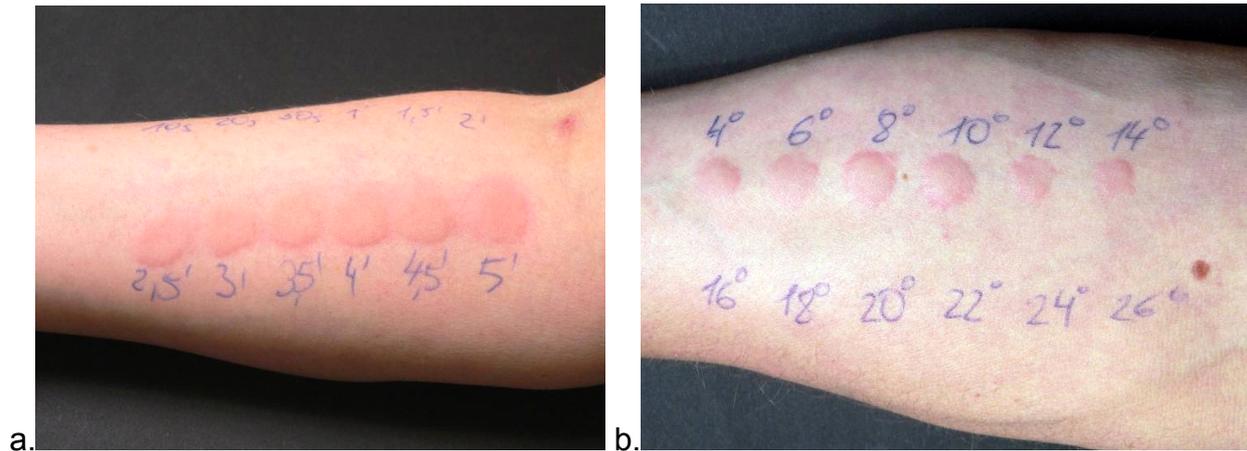


Abb.2.5 Schwellenzeitmessung (a)- und Schwellentemperaturmessung (b). Das Ergebnis zeigt eine Schwellenzeit (CSTT) von 2,5 Minuten und eine Schwellentemperatur (CTT) 14°C. Die CTT für konfluierende Quaddelbildung liegt bei 10°C.

2.5 Mikrodialyse

2.5.1 Prinzip

Das Prinzip der Mikrodialyse basiert auf einer semipermeablen Membran, die über eine Führungskanüle ca. 0,6-0,8 mm tief in die Haut eingebracht wird. Durch diese findet ein Stoffaustausch entlang eines Konzentrationsgradienten zwischen dem interstitiellen Raum der Dermis und einer Dialyseflüssigkeit statt. Über den zuführenden Schenkel wird durch eine Hochpräzisionspumpe physiologische Kochsalzlösung als Dialyseflüssigkeit mit einer konstanten Geschwindigkeit von 1-5 $\mu\text{l}/\text{min}$ durch die Membran gespült und gesammelt ⁽¹¹⁸⁾. Entsprechend der Porengröße der Membranen können Moleküle nur bis zu einem bestimmten Molekulargewicht frei diffundieren, wobei als *Cut-off* das Molekulargewicht bezeichnet wird, bei dem 80% der Moleküle mit einem definierten Gewicht nicht mehr über die semipermeable Membran diffundieren ⁽¹¹⁸⁾. Die gebräuchlichen Katheter haben einen Cut-off von 2.000-10.000 Dalton. Eine graphische Darstellung des Prinzips der Mikrodialyse ist in Abbildung 2.6 zu finden.

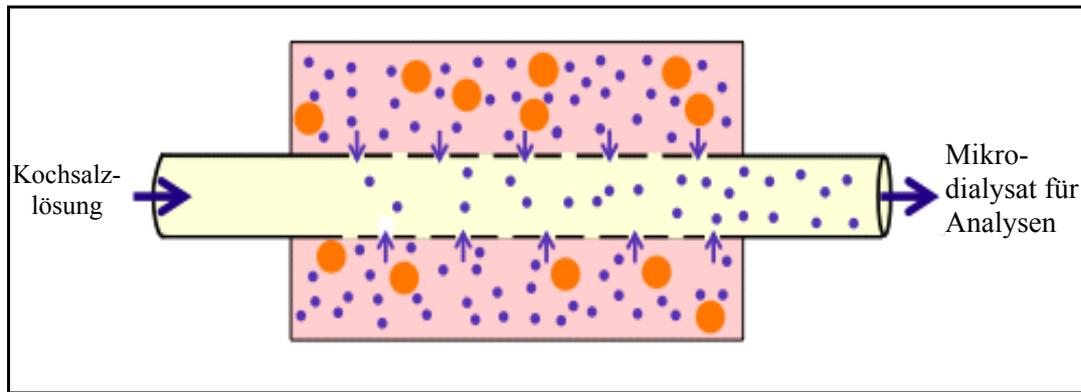


Abb. 2.6: Prinzip der Mikrodialyse. Der Cut-Off der semipermeablen Membran bestimmt die Größe der Moleküle, die in das Lumen diffundieren und dann mit dem Perfusat herausfließen.

2.5.2 Material und Durchführung

In der BUCUM-Studie wurde eine kutane Mikrodialyse zur Bestimmung der Histaminausschüttung sowie zur Messung der Produktion der Zytokine IL-6, IL-8 und TNF α in der Dermis durchgeführt.

Dazu wurden Mikrodialyse-Sonden (3000 kDa Cut off) im Abstand von 0,5 cm in die obere Dermis des volaren Unterarms der Probanden implantiert. Jede Sonde verlief 20 mm durch die obere Dermis in einer Tiefe von ca. 0,7 mm und wurde mit steriler physiologischer Kochsalzlösung perfundiert. Mit einer Mikroinfusionspumpe (CMA 400 Syringe Pump[®], CMA Mikrodialysis, Kista, Schweden) wurde das Perfusat mit einer Geschwindigkeit von 3 μ l/min durch die implantierten Sonden gepumpt (Abb. 2.7). Nach einer halben Stunde, in der sich die Haut vom Trauma des Einstichs und der lokalen Betäubung erholen konnte, wurde das Mikrodialysat zur Baseline-Bestimmung der Mediatoren für 30 Minuten gesammelt. Danach erfolgte eine CST mit dem TempTest[®] 2.0 am Hautareal der zwei proximalen Sonden. Das Mikrodialysat des distalen Areals diente als unprovokierte Kontrolle. Es wurde Dialysat zur Histaminbestimmung in zwei sich anschließenden Perioden nach Beginn der Kälteprovokation gesammelt: 0-20 Minuten und 20-60 Minuten. Darüber hinaus wurde im Zeitraum von 2-3 Stunden nach Kälteprovokation Mikrodialysat zur Bestimmung der Zytokinkonzentrationen gesammelt. Die Auffangbehälter wurden unmittelbar nach Dialysatgewinnung auf Eis gekühlt und nach Beendigung der Mikrodialyse bei -80° C bis zur Analyse gelagert. Abbildung 2.8 zeigt das Mikrodialyse-Setting der BUCUM-Studie.

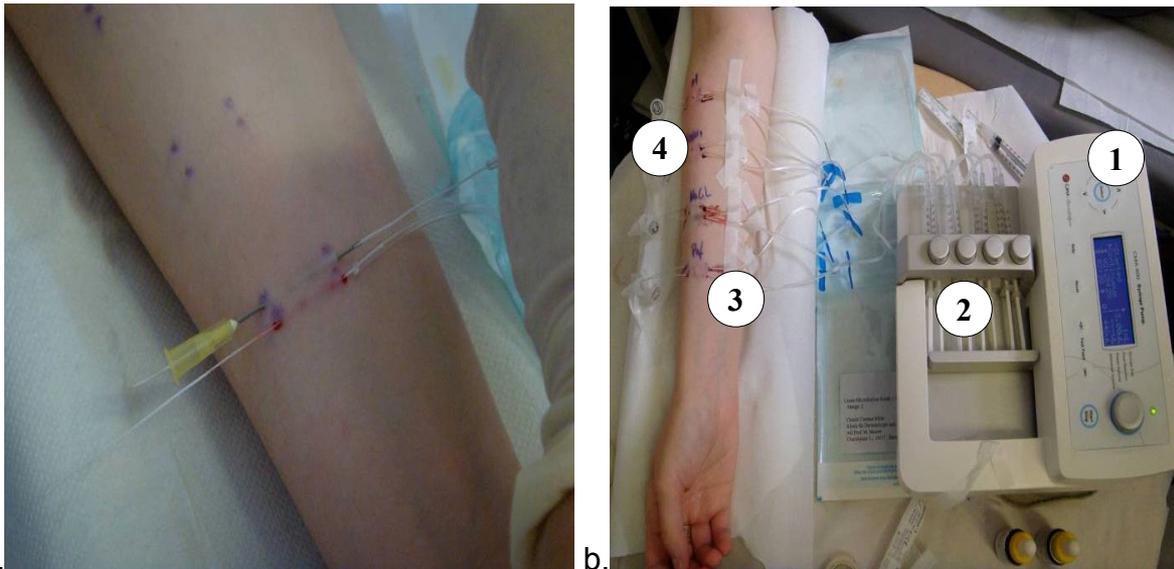


Abb. 2.7 a.,b.: Mikrodialyse. Implantation der semipermeablen Sonde über Führungskanüle (a.); Beispiel eines Mikrodialyse-Settings (b.) 1: Mikroinfusionspumpe, 2: physiologische Kochsalzlösung, 3: implantierte Dialysesonden, 4: Auffangbehälter für Dialysat.



Abb. 2.8: Mikrodialyse-Setting der BUCUM-Studie nach fünfminütiger Kälteprovokation mit 4°C auf der proximalen Seite des volaren Unterarms. Unprovokede Kontrolle auf der linken Seite (distal).

2.5.3 Histamin-Bestimmung

Die Histamin-Konzentrationen in den Mikrodialysaten wurden im Histareader® (REFlab, Dänemark) gemessen. Zur Analyse von Histamin wurden die Mikrodialysate auf eine Fiberglas-Matrix aufgebracht. Das im Mikrodialysat befindliche Histamin bindet an Fiberglas. Nach Waschen und Proteinentfernung wird Histamin wieder aus der Matrix gelöst und an o-Pfthaldialdehyde (OPA) gebunden. OPA ist ein Fluorochrome, dessen Emissionen im Fluorezenz-Reader der Firma REFlab gemessen wurden. So kann indirekt die Höhe der Histaminkonzentration bestimmt werden.

2.5.4 Zytokin-Bestimmung

Die Messung der Zytokine im Mikrodialysat erfolgte mit FlowCytomix® Pro2.4 (eBioscience, USA). Das Mikrodialysat wurde mit Kunststoff-Kügelchen (*beads*), die mit Antikörpern gegen humanes IL-6, IL-8 und TNF α beschichtet sind, nach Biotinylierung für 2 Stunden bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubiert. Danach wurden die Proben gewaschen und mit Streptavidin-PE-Lösung eine weitere Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneuter Waschung wurden die Proben im Durchfluss-Zytometer (MacsQuant Analyzer, Miltenyi Biotec GmbH, Deutschland) analysiert und die Ergebnisse mit Software von eBioscience ausgewertet.

2.6 Sicherheit

Es wurden bei allen teilnehmenden Patienten vor Studienbeginn und nach Studienabschluss eine körperliche Untersuchung, eine Entnahme und Analyse einer venösen Blutprobe und eine EKG-Untersuchung durchgeführt. Außerdem wurden alle Probanden bei jeder Studienvisite nach neu aufgetretenen unerwünschten Nebenwirkungen, die möglicherweise während der Behandlungsphase mit der Studienmedikation oder während der Wash-out-Phase auftraten, befragt. Da das in dieser Studie verwendete H1-Antihistaminikum bereits zugelassen ist und sich in zahlreichen Studien als sicher erwiesen hat, wurden die Studienpatienten nach Abschluss der Studie nicht weiter beobachtet.

2.7 Statistik

Die statistische Auswertung wurde durch das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin unter Anwendung des SPSS 18.0

(SPSS Software GmbH, München) durchgeführt.

Die Ergebnisse der CTT, CSTT sowie die Bewertung des Juckreizes sind als Median mit einem 75% Konfidenzintervall angegeben. Aufgrund fehlender Normalverteilung der Daten wurden die Signifikanzen der Unterschiede mittels des nicht-parametrischen Wilcoxon-Tests berechnet. Der Chi-Quadrat-Test für Unterschiede gegenüber der Behandlung wurde mit dem nicht-parametrischen Test von Friedman errechnet. Die Ermittlung der Signifikanz-Werte für die Anzahl der Patienten, die auf die Behandlung positiv oder negativ angesprochen haben, erfolgte mit dem Exakt Test von Fischer.

Die Messergebnisse der Quaddel- und Erythemgröße wurden als Mittelwerte (\pm Standardabweichung) angegeben, und die Signifikanzen der Unterschiede wurden durch den nicht-parametrischen Wilcoxon-Tests berechnet.

Die Ergebnisse für Histamin und Zytokine wurden als Mittelwerte (\pm Standardfehler des Mittelwertes, SEM) angegeben. Die Signifikanzen der Unterschiede wurden aufgrund der Normalverteilung der Mikrodialyse-Daten unter Verwendung des Student-t Testes für paarige Daten ermittelt.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Es wurden insgesamt 23 Patienten für die BUCUM-Studie gescreent (Visit 1). Bei der Kälteprovokation zu Beginn der zweiten Visite zeigten allerdings zwei dieser Patienten ein negatives Testergebnis ohne Ausbildung von Quaddeln und wurden von der Studie wieder ausgeschlossen. Ein weiterer Proband rief nach Studieneinschluss seine Einverständniserklärung zurück. Die verbleibenden 20 KKU-Patienten wurden randomisiert und beendeten die Studie protokollgemäß nach der sechsten Visite. Das Screening begann im September 2010 und der letzte Teilnehmer schloss die BUCUM-Studie im August 2011 ab.

Alle Studienteilnehmer erfüllten jegliche Einschlusskriterien und keines der Ausschlusskriterien. Häufigste Nebenerkrankungen, die klinisch nicht relevant waren und daher keine Ausschlusskriterien darstellten, waren Allergien (40 %), muskuloskeletale (30 %) und psychiatrische Erkrankungen (30 %) (Tab. 3.1).

Tab. 3.1: Nebenerkrankungen der Studienteilnehmer (n=20).

	Anzahl	%
Allergien	8	40,0
Muskuloskeletale Erkrankungen	6	30,0
Psychiatrische Erkrankungen	6	30,0
Kardiovaskuläre Erkrankungen	4	20,0
Endokrine Erkrankungen	4	20,0
Andere Hauterkrankungen	3	15,0
Gastrointestinale Erkrankungen	3	15,0
Atemwegserkrankungen	2	10,0
Ophthalmologische Erkrankungen	1	5,0
Erkrankungen im HNO-Bereich	1	5,0
Stoffwechselerkrankungen	1	5,0

3.2 Demographische Daten

Unter den 20 teilnehmenden Patienten fanden sich 13 Frauen (65%) und 7 Männer (35%) im Alter von 22 - 68 Jahren (Mittelwert: 44,9 Jahre, Standardabweichung: 15,7 Jahre) (Abbildung 3.1). Die mittlere Körpergröße der Probanden betrug 171,2 cm (Standardabweichung: 9,4 cm) und das mittlere Körpergewicht der Probanden lag bei 77,5 kg (Standardabweichung: 15,6 kg) (Tabelle 3.2).

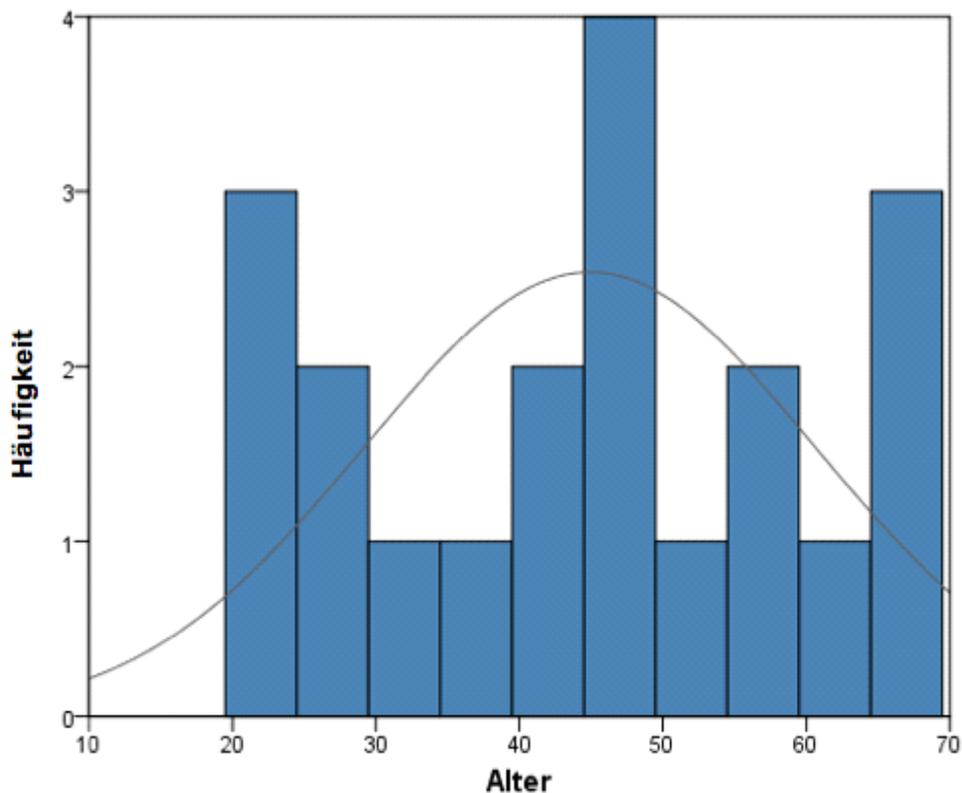


Abb. 3.1: Histogrammdarstellung des Probandenalters; n=20

Tab. 3.2: Demographische und anthropometrische Daten des Patientenkollektivs (n=20).

	Mittelwert	Standardabweichung
Alter (Jahre)	44,9	15,7
Gewicht (kg)	77,5	15,6
Körpergröße (cm)	171,2	9,4

3.3 Baseline-Messungen (Visit 2)

Die Messergebnisse an Visit 2 fanden ohne vorherige Medikation und unter strenger mindestens 2-wöchiger Karenz antihistaminischer Substanzen statt. Sie repräsentieren somit die durchschnittliche Krankheitsaktivität des KKV-Patientenkollektivs der Studie.

Die mediane Schwellentemperatur (CTT) der 20 Probanden zu diesem Zeitpunkt lag bei 19°C (27-4°C) und die mediane Schwellenzeit (CSTT) betrug 90s (30-270s). 14 bzw. 15 der 20 Probanden zeigten auch konfluierende Quaddelbildung bei der Schwellentemperatur- bzw. Schwellenzeitmessung. Der Durchmesser der mittels TempTest® 2.0 induzierten Quaddel lag im Durchschnitt bei 25,4 mm (Standardabweichung 11,2 mm) und der Durchmesser des Begleiterythems betrug im Mittel 40,5 mm (Standardabweichung 11 mm). Die Schwere des Juckreizes, der im Zuge der Quaddelentstehung auftrat, wurde von den 20 Studienteilnehmern auf einer Skala von 0-3 durchschnittlich mit 1,75 (Standardabweichung 1,7) bewertet und das Ausmass des Brennens mit 0,45 (Standardabweichung 0,9). Die Baseline-Werte der Kälteprovokationstestungen am Visit 2 sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst.

Tab. 3.3: Durchschnittliche Baseline-Messwerte (Visit 2) der Kälteprovokationstestungen (n=20).

TempTest® 3.0	CTT (Schwellentemperatur in °C)	19 (27-4 °C)
	CSTT (Schwellenzeit in sec.)	90 (30-270s)
TempTest® 2.0	Quaddelgröße in mm	25,4 (Standardabweichung 11,2)
	Erythemgröße in mm	40,5 (Standardabweichung 11)
	Juckreiz (Skala von 0-3)	1,75 (Standardabweichung 1,7)
	Brennen (Skala von 0-3)	0,45 (Standardabweichung 0,9)

3.4 Wirksamkeitsüberprüfung

3.4.1.1 Schwellentemperatur (*Critical temperature threshold, CTT*)

Die Effekte von Bilastin auf die Schwellentemperatur (CTT) ist primäres Wirksamkeitskriterium der Studie und in Abbildung 3.2 in Form eines Wolkendiagramms dargestellt. Die mediane CTT der 20 Probanden, bei der es noch zur Entwicklung von Quaddeln kam, war für die Behandlung mit Placebo 18°C (22-9°).

Standarddosis: Nach 7-tägiger Behandlung mit Bilastin in der Standarddosis von 20 mg lag die mediane CTT der 20 teilnehmenden KKV-Patienten bei 6°C (13-<4°C), was eine hoch signifikante Reduktion gegenüber der Placebo-Behandlung darstellt ($P < 0,0001$).

Up-dosing: Die medianen CTTs des Patientenkollektivs lagen nach der Behandlung mit 40 mg und 80 mg Bilastin unter der minimalen Provokationstemperatur von 4°C. Die Werte von <4°C (11-<4°C) bzw. <4°C (5,5-<4°C) waren hoch signifikant ($P < 0,0001$) gegenüber der Placebo-Behandlung.

Eine Therapie mit 80 mg Bilastin war außerdem auch signifikant effektiver als eine Behandlung mit 20 und 40 mg Bilastin. So war die mediane Schwellentemperatur einer einwöchigen Behandlung mit 80 mg signifikant niedriger als bei der Behandlung mit der Standarddosis von 20 mg ($P = 0,003$) sowie auch gegenüber der Behandlung mit 40 mg Bilastin ($P = 0,04$). Die Messergebnisse Schwellentemperaturtestung illustrieren also einen Behandlungsvorteil durch *Up-dosing*, da eine Dosissteigerung auf das Vierfache der Standarddosis einen zusätzlichen therapeutischen Effekt zeigt.

Bei der Schwellentemperaturmessung zeigten 12 der 20 Probanden unter Placebo-Therapie auch eine konfluierende Quaddelbildung. Der Behandlungseffekt von Bilastin in den unterschiedlichen Dosen gegenüber Placebo ist auch bei der Schwellentemperaturbestimmung von konfluierenden Quaddeln feststellbar (Ergebnisse nicht dargestellt). Allerdings zeigen sich hier keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Dosierungen.

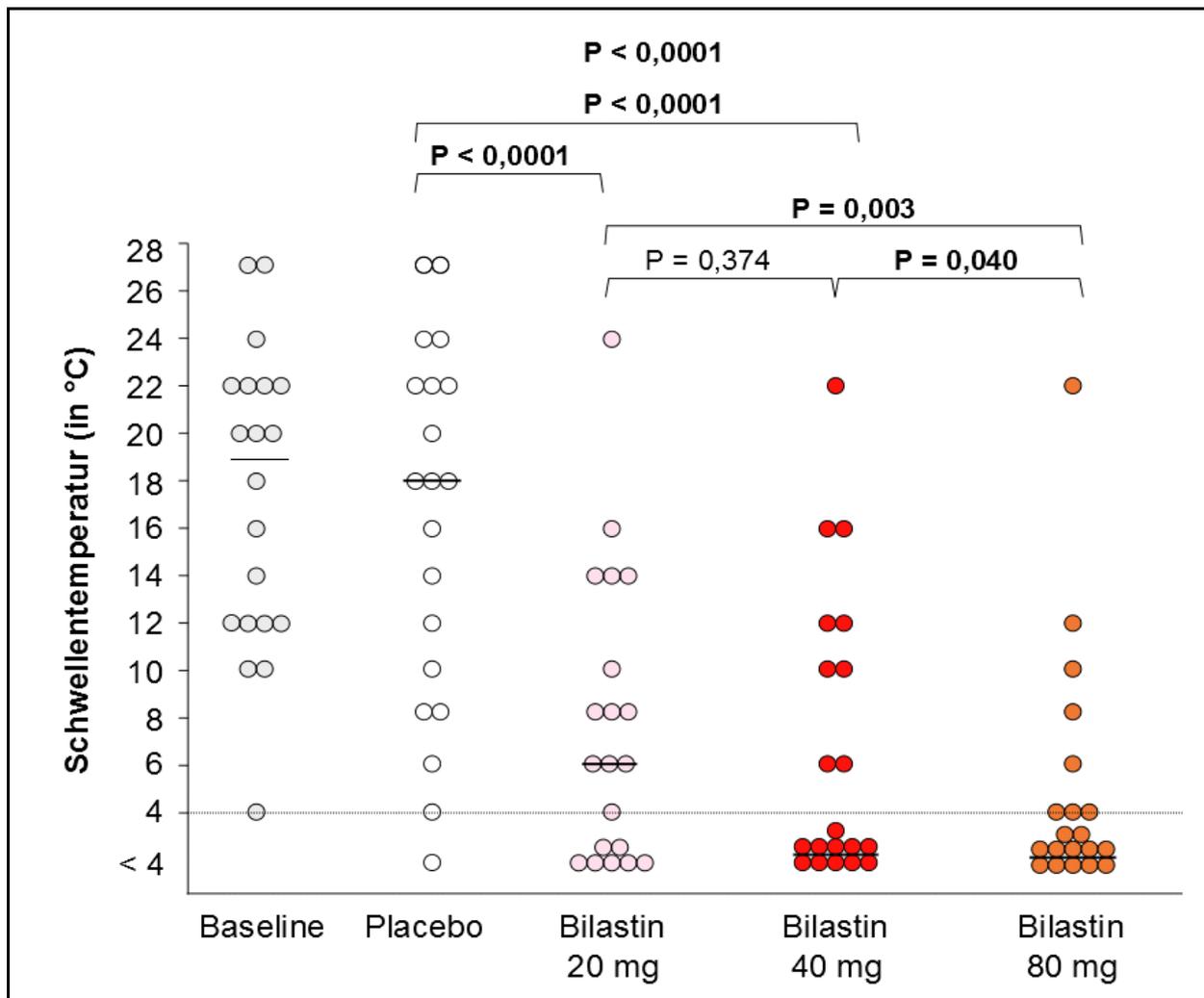


Abb. 3.2: Schwellentemperaturen (CTT) der Quaddelbildung nach Kälteprovokation mit TempTest® 3.0 vor und nach Behandlung mit Bilastin oder Placebo. Das Wolkendiagramm stellt die Ergebnisse der Schwellentemperaturmessung zur Baseline (Visit 2), nach Placebo-Behandlung sowie nach Therapie mit Bilastin in aufsteigender Dosierung (20, 40 und 80 mg) dar. Die Kreise symbolisieren die Einzelergebnisse der Studienteilnehmer und die horizontalen Linien zeigen den Median des Patientenkollektivs an. Die Werte des jeweils angegebenen Signifikanzniveaus für die Unterschiede der CTT sind mit Wilcoxon's nicht-parametrischen Test berechnet, n=20.

3.4.1.2 Symptomkontrolle und individuelle CTT

Ein weiterer Endpunkt der Studie war die Anzahl jener Studienteilnehmer, die unter Therapie symptomfrei wurde und keine urtikariellen Effloreszenzen nach dem CST zeigte (CTT= $<4^{\circ}\text{C}$). Das individuelle Ansprechen auf die Therapie mit Bilastin im Rahmen der Schwellentemperaturmessung stellt Tabelle 3.4 dar.

Unter Behandlung mit Placebo zeigte nur einer der 20 Studienteilnehmer keine Symptome nach Durchführung der Schwellentemperaturmessung. Bei 19 traten nicht-konfluierende Urticae auf, 12 zeigten auch konfluierende Quaddeln (nicht dargestellt).

Nach 7-tägiger Behandlung mit 20 mg Bilastin waren 7 Patienten nach der Kälteprovokation symptomfrei. Von den 13 symptomatischen Patienten zeigte nur noch ein Proband eine konfluierende Quaddelbildung. Die Anzahl symptomfreier Patienten war unter Behandlung mit 20 mg Bilastin gegenüber der Placebo-Gruppe signifikant höher ($P=0,044$).

Nach Steigerung der Dosis auf 40 bzw. 80 mg Bilastin erhöhte sich die Zahl symptomfreier Patienten sogar auf 11 bzw. 12 ($P=0,0012$ bzw. $P=0,0004$). Ein signifikanter Unterschied im Vergleich der verschiedenen Dosierungen untereinander bestand allerdings nicht. Ein Patient war auch nach Erhöhung der Dosierung therapierefraktär und zeigte konfluierende Urticae.

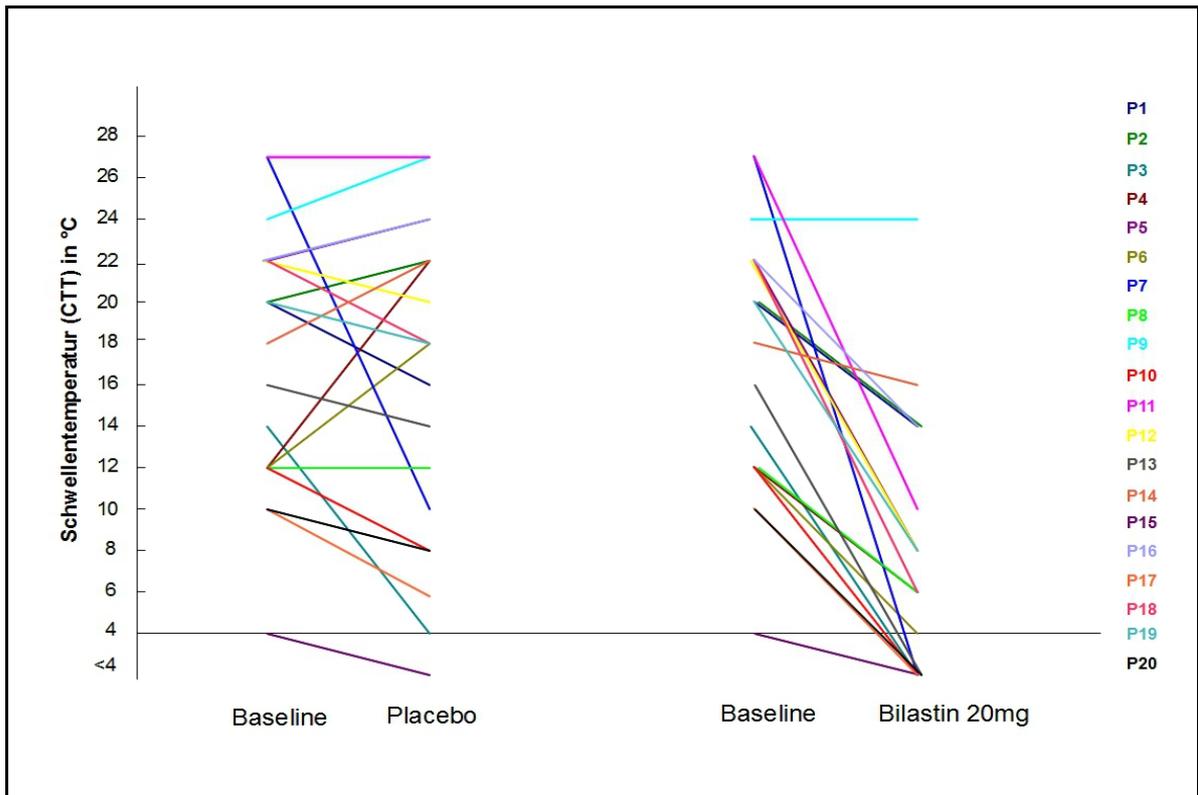
Der Therapieeffekt wird noch deutlicher, wenn zur Charakterisierung des individuellen Ansprechens die Patienten in komplette Responder (CTT $< 4^{\circ}\text{C}$), partielle Responder und Nicht-Responder unterteilt werden. Partielle Responder sind definiert als Patienten, die symptomatisch bleiben, aber eine Reduktion ihrer CTT von $>5^{\circ}\text{C}$ gegenüber der unbehandelten Baseline-Messung (Visit 2) zeigen. Tabelle 3.5 stellt eine Zusammenfassung des individuellen Ansprechens auf die Behandlung dar. In Abbildung 3.3 ist das individuelle Therapieansprechen graphisch wiedergegeben und unterstreicht die Wirksamkeitssteigerung durch *Up-dosing*.

Tab. 3.4: Darstellung der Anzahl symptomfreier und symptomatischer Patienten unter Placebo und Bilastin (BL) in aufsteigender Dosierung nach Schwellentemperaturmessung, n=20.

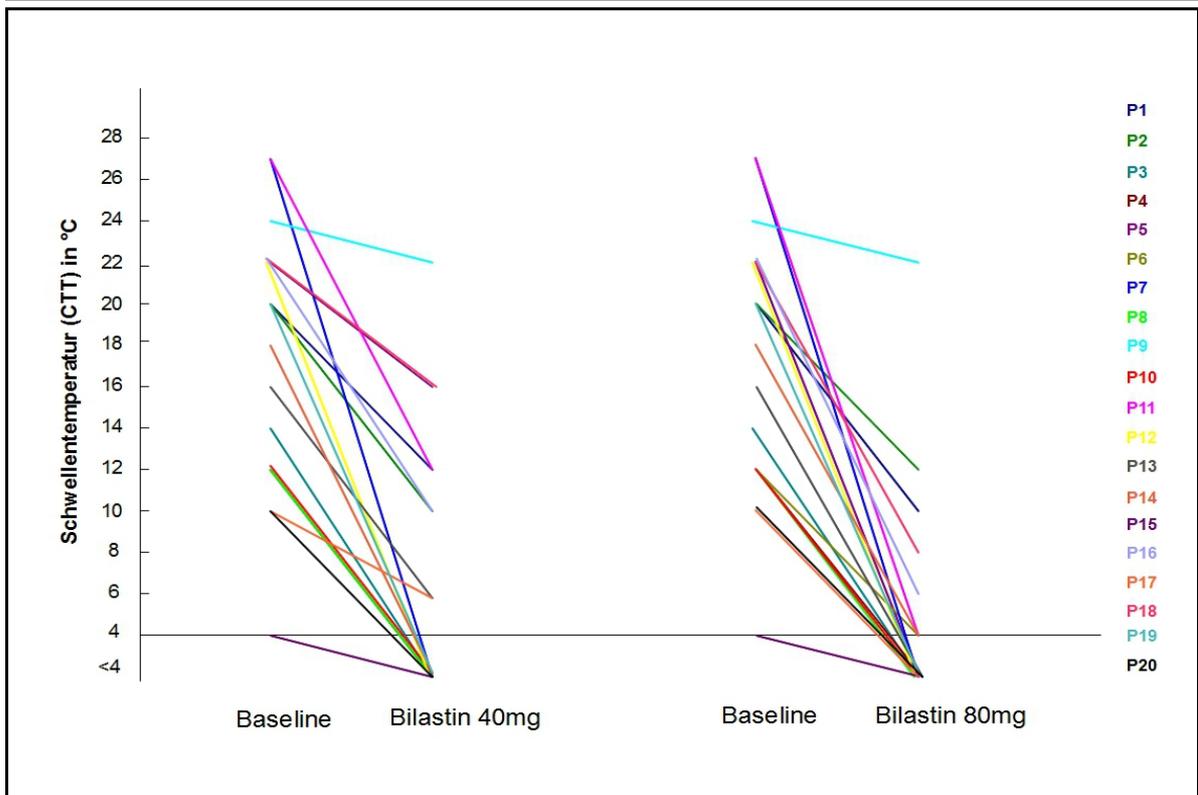
	Placebo	BL 20 mg	BL 40 mg	BL 80 mg
Symptomatisch (Quaddelbildung)	19 (95%)	13 (65%)	9 (45%)	8 (40%)
Symptomfrei	1 (5%)	7 (35%)	11 (55%)	12 (60%)

Tab. 3.5: Individuelles Ansprechen auf die Therapie mit Bilastin.

	Responder kompl. CTT <4°C	Responder part. >5°C Reduktion der CTT	Responder insgesamt
Placebo	1 (5%)	2 (10%)	3 (15%)
Bilastin 20 mg	7 (35%)	8 (40%)	15 (75%)
Bilastin 40 mg	11 (55%)	6 (30%)	17 (85%)
Bilastin 80 mg	12 (60%)	7 (35%)	19 (95%)



a.



b.

Abb. 3.3 a.,b.: Individuelle Ergebnisse der CTT-Messung. Im oberen Diagramm sind die individuellen CTT der 20 Studienpatienten ohne Therapie (Baseline; Visit 2) im Vergleich zur Placebo-Behandlung (a., links) sowie zur Therapie mit 20 mg Bilastin (a., rechts) wiedergegeben. Das untere Diagramm illustriert den zusätzlichen Effekt des *Up-dosings*: Hier sind die individuellen Baseline-Messwerte denen nach Therapie mit 40 mg Bilastin (b., links) sowie mit 80 mg Bilastin (b., rechts) gegenübergestellt; P=Patient.

3.4.2.1 Schwellenzeit (*Critical stimulation time threshold, CSTT*)

Neben der Schwellentemperatur wurde auch die Schwellenzeit (CSTT) der Quaddelentstehung nach Kälteprovokation als Wirksamkeitskriterium der Bilastin-Therapie herangezogen.

Abbildung 3.4 zeigt den Einfluss von Bilastin auf die Schwellenzeit der Quaddelentstehung. Die mediane CSTT der 20 Studienprobanden betrug nach Placebo-Behandlung 90s (37,5-172,5s).

Standarddosis: Nach einwöchiger Einnahme von täglich 20 mg Bilastin verlängerte sich die mediane Zeit bis zum Auftreten von Quaddeln auf 270s (157,5->300s). Im Vergleich zur Placebo-Behandlung stellte dies eine signifikante Reduktion der urtikariellen Symptome dar ($P \leq 0,0001$).

Up-dosing: Die Behandlung mit 40 bzw. 80 mg Bilastin erhöhte die mediane CSTT der 20 Studienpatienten auf Werte oberhalb der maximalen Provokationsdauer: >300 (165->300s) bzw. >300s (127,5->300s) ($P \leq 0,0001$). Die leichte Effektsteigerung gegenüber 20 mg Bilastin war allerdings statistisch nicht signifikant.

Bei der Durchführung der Schwellenzeitmessung zeigten unter Placebo-Therapie 14 der 20 Probanden auch eine konfluierende Quaddelentstehung. Auch in der Schwellenzeitbestimmung der konfluierenden Quaddeln zeigt sich eine Bilastinbehandlung in allen Dosierungen signifikant wirksamer (Ergebnisse nicht dargestellt).

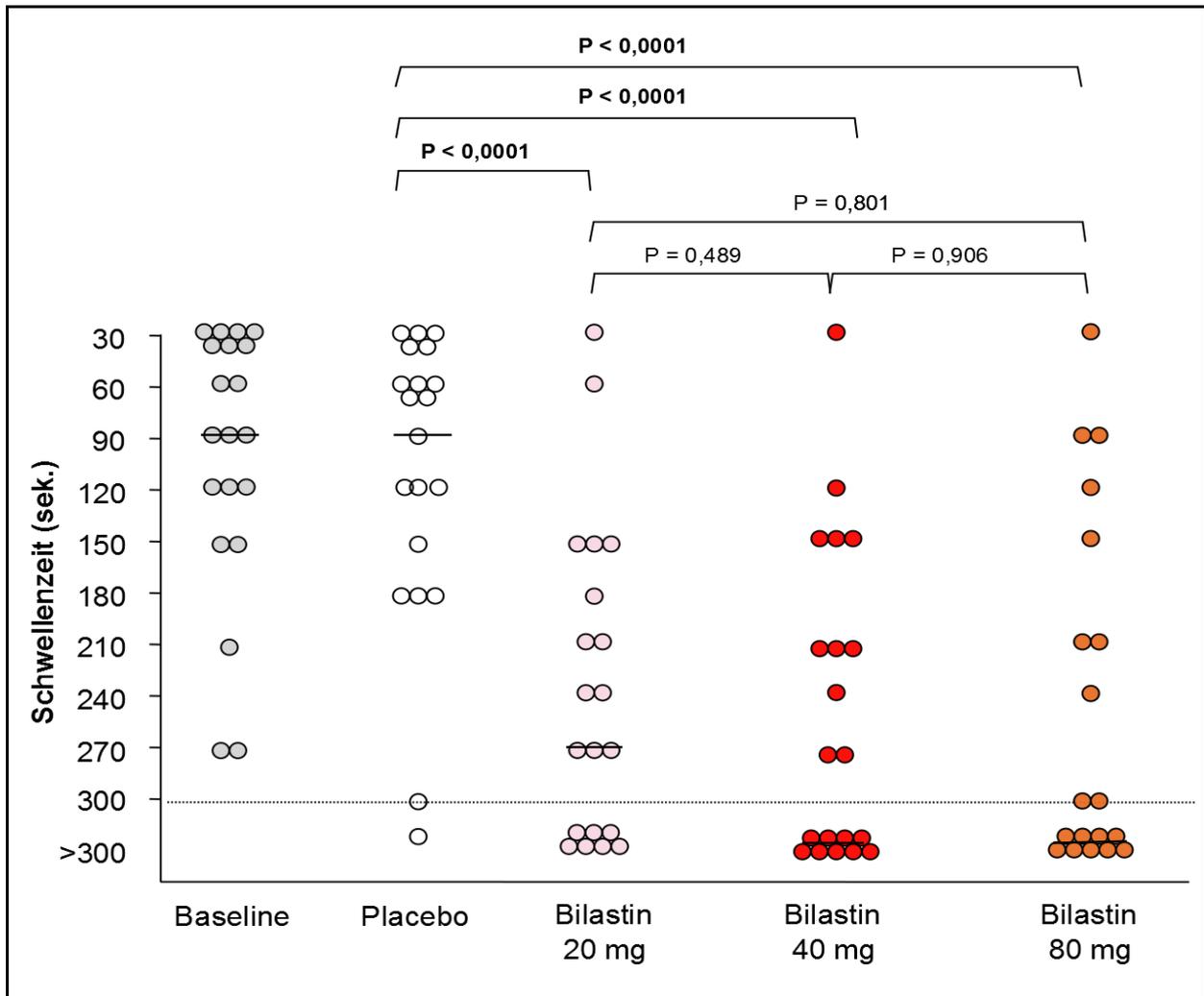


Abb. 3.4: Schwellenzeit (CSTT) der Quaddelbildung nach Kälteprovokation mit TempTest® 3.0 vor und nach Behandlung mit Bilastin oder Placebo. Das Wolkendiagramm stellt die Ergebnisse der Schwellenzeitmessung zur Baseline (Visit 2), nach Placebo-Behandlung sowie nach Therapie mit Bilastin in aufsteigender Dosierung (20, 40 und 80 mg) dar. Die Kreise symbolisieren die Einzelergebnisse der Studienteilnehmer und die horizontalen Linien zeigen den Median des Patientenkollektivs an. Die Werte des jeweils angegebenen Signifikanzniveaus für die Unterschiede der CSTT sind mit Wilcoxon's nicht-parametrischen Test berechnet, n=20.

3.4.2.2 Symptomkontrolle und individuelle CSTT

Das individuelle Ansprechen auf die Therapie wurde auch im Rahmen der Schwellenzeitmessung ausgewertet und ist in Tabelle 3.6 wiedergegeben. Zur weiteren Charakterisierung des individuellen Therapieeffekts werden in Tabelle 3.7 die Studienpatienten in komplette Responder (CSTT >300 sec bei 4°C), partielle Responder und Nicht-Responder unterteilt. Partielle Responder sind bei der Schwellenzeitmessung definiert als Patienten, die symptomatisch bleiben, aber eine Steigerung der CSTT von >50 sec gegenüber der unbehandelten Kontrollmessung (Visit 2) zeigen.

Nach der maximalen Kälteprovokationsdauer von 300 Sekunden war unter Behandlung mit Placebo ein Patient symptomfrei. In der Behandlungsgruppe, die einmal täglich 20 mg Bilastin einnahm, zeigten 6 Probanden keine Symptome mehr nach einem 300 Sekunden dauernden Kältereiz von 4°C, was einer signifikanten Verbesserung gegenüber Placebo entsprach (P=0,0092). Die Anzahl symptomfreier Probanden konnte unter Behandlung mit 40 mg bzw. 80 mg Bilastin auf jeweils 9 erhöht werden. Auch dies entspricht einer signifikanten Verbesserung gegenüber der Placebo-Behandlung (P=0,008), zwischen den verschiedenen Dosierungen besteht allerdings kein signifikanter Unterschied.

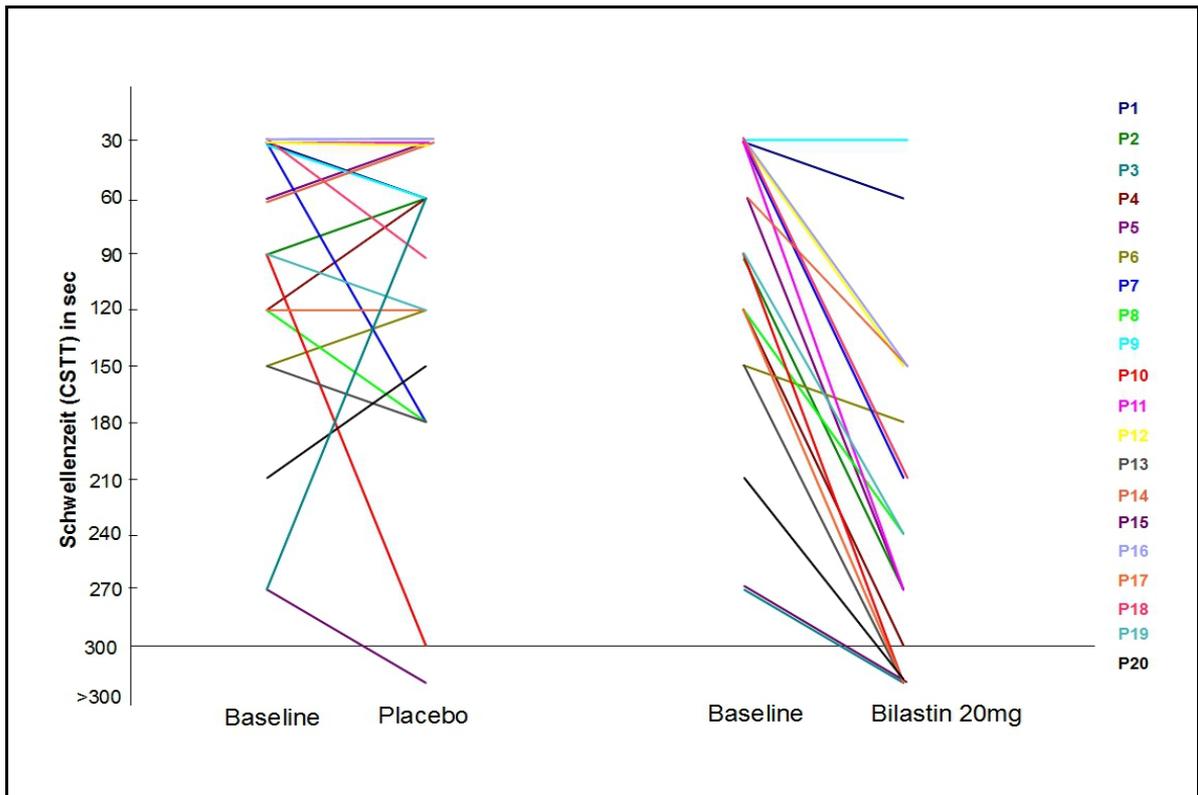
Abbildung 3.5 stellt das individuelle Therapieansprechen der 20 Studienteilnehmer graphisch dar.

Tabelle 3.6: Darstellung der Anzahl symptomfreier und symptomatischer Patienten unter Placebo und Bilastin (BL) in aufsteigender Dosierung nach Schwellenzeitmessung, n=20.

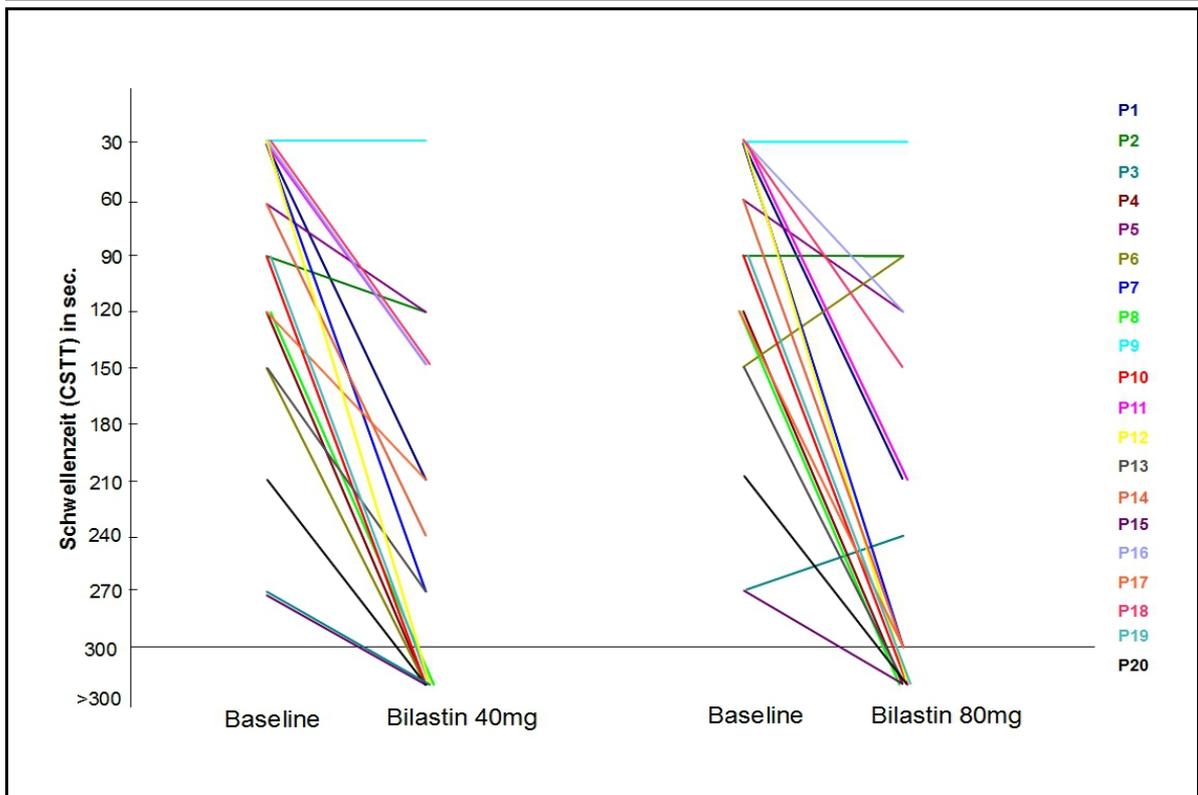
	Placebo	20 mg	40 mg	80 mg
Symptomatisch (Quaddelbildung)	19 (95%)	14 (70%)	11(55%)	11 (55%)
Symptomfrei	1 (5%)	6 (35%)	9 (45%)	9 (45%)

Tabelle 3.7: Individuelles Ansprechen auf die Therapie mit Bilastin.

	Responder kompl. CSTT >300s bei 4°C	Responder part. >50s Steigerung der CSTT	Responder insgesamt
Placebo	1 (5%)	2 (10%)	3 (15%)
Bilastin 20 mg	6 (30%)	9 (45%)	15 (75%)
Bilastin 40 mg	9 (45%)	8 (40%)	17 (85%)
Bilastin 80 mg	9 (45%)	7 (35%)	16 (95%)



a.



b.

Abb. 3.5 a.,b.: Individuelle Ergebnisse der CSTT-Messung. Im oberen Diagramm sind die individuellen CSTT der 20 Studienpatienten ohne Therapie (Baseline, Visit 2) im Vergleich zur Placebo-Behandlung (a., links) sowie zur Therapie mit 20 mg Bilastin (a., rechts) wiedergegeben. Das untere Diagramm illustriert den Effekt des *Up-dosings*: Hier ist der Vergleich der Baseline-Messwerte mit denen nach Therapie mit 40 mg Bilastin (b., links) sowie mit 80 mg Bilastin-Therapie (b., rechts) dargestellt; P=Patient.

3.5 Kälteprovokationstest mit TempTest® 2.0

3.5.1 Quaddelgröße

Nach Behandlung mit Placebo lag der mittlere Quaddeldurchmesser nach Kältestimulationstest (CST) mit TempTest® 2.0 (4°C für 5min) bei 24,5 mm (Standardabweichung 15,6 mm). Nach der Einnahme von 20 mg Bilastin über einen Zeitraum von 7 Tagen reduzierte sich der mittlere Durchmesser der Quaddel auf 5,6 mm (Standardabweichung 9,9 mm), was einer Reduktion um 77,2 % entspricht. Nach 7-tägiger Behandlung mit 40 mg bzw. 80 mg Bilastin reduzierte sie sich weiter auf 4,1 mm bzw. 4,3 mm (Standardabweichung 8,5 bzw. 7,5 mm; 83,3% bzw. 82,4 % Reduktion). Die Reduktion der Quaddelgröße war für alle Dosierungen hoch signifikant ($P \leq 0,0001$) gegenüber der Placebo-Behandlung. Zwischen den Dosierungen untereinander waren die Unterschiede allerdings nicht signifikant. Die mittlere Quaddelgröße unter Placebo und Therapie ist in Tabelle 3.8 sowie in Abbildung 3.6 dargestellt.

Tab. 3.8: Mittelwerte und Standardabweichungen des Quaddeldurchmessers in mm nach CST und Signifikanzen für den Vergleich zu Placebo; BL= Bilastin.

	Baseline	Placebo	BL 20 mg	BL 40 mg	BL 80 mg
Mittelwert (mm)	25,4	24,4	5,6	4,1	4,3
Standardabw. (mm)	11,2	15,6	9,9	8,5	7,5
Signifikanz			$P \leq 0,0001$	$P \leq 0,0001$	$P \leq 0,0001$

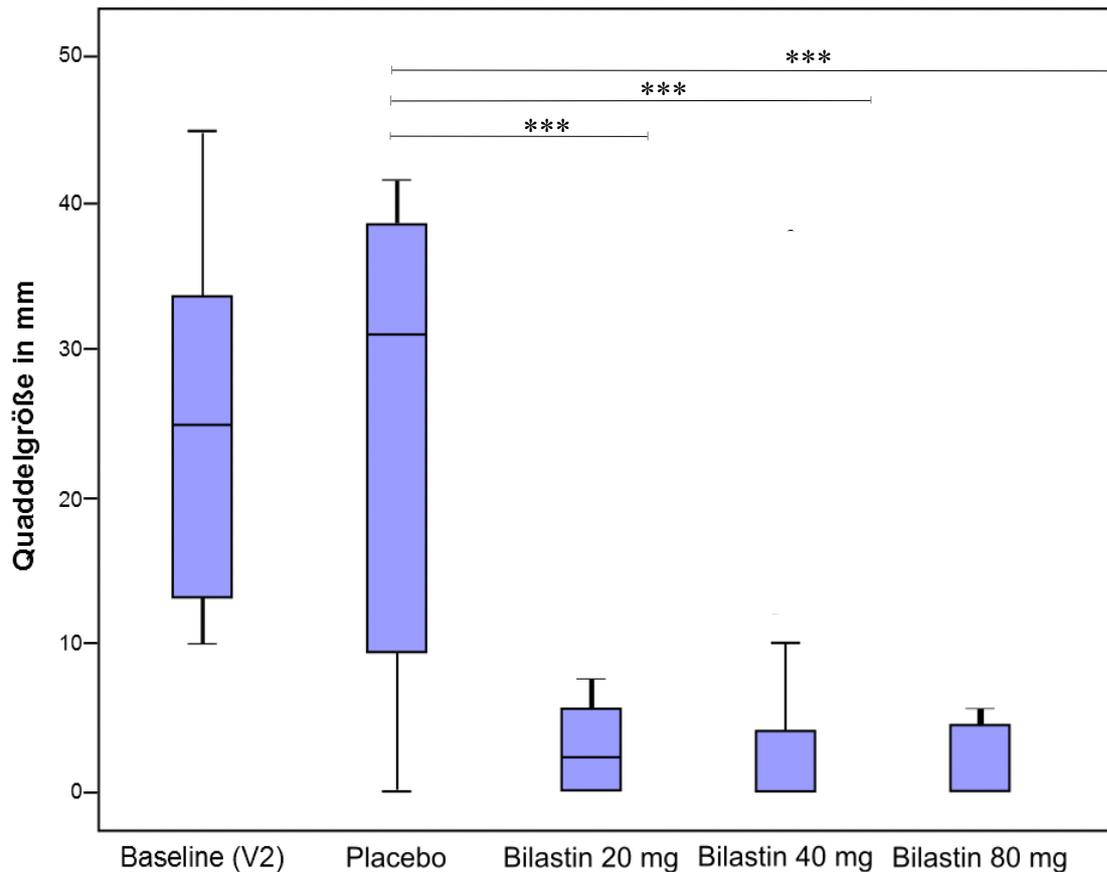


Abb. 3.6: Größe der Quaddeln 10 Minuten nach CST mit TempTest® 2.0 (5min 4°C). Die Boxplots zeigen die Größe der Quaddeldurchmesser in mm für Baseline, Placebo und Bilastin in aufsteigender Dosierung. Der Durchmesser der Kontaktfläche des TempTest® 2.0 beträgt 30 mm. Die Balken der Boxplots bestehen aus dem Median (schwarzer Strich), der 1.Quartile (unteres Ende; 25% Percentile) und der 3.Quartile (oberes Ende; 75% Percentile) der Messwerte. Die Whiskers geben Minimum und Maximum der Werte an (Ausreißer nicht dargestellt). Die Werte des jeweils angegebenen Signifikanzniveaus für die Unterschiede der Quaddelgröße gegenüber Placebo sind mit Wilcoxon's nicht-parametrischen Test berechnet; ***= $P \leq 0,0001$; $n=20$.

3.5.2 Erythemgröße

Die mittlere Größe des Begleiterythems, das im Zuge der Quaddelentstehung nach CST auftritt, war ohne Therapie (Baseline, Visit 2) 40,5 mm (Standardabweichung 7 mm). Zwischen der Placebo- und Bilastin-Behandlung zeigten sich keine Unterschiede im Ausmaß des mittleren Durchmessers der Rötung: Der mittlere Durchmesser des Erythems von Patienten, die mit Placebo therapiert wurden, betrug 35,1 mm (Standardabweichung 14,1 mm). Die mittleren Werte für die Behandlung mit 20, 40 bzw. 80 mg Bilastin unterschieden sich mit 32,9 mm, 34,9 mm bzw. 32,0 mm (Standardabweichung 9,9, 10,3 bzw. 12,5 mm) unwesentlich von dem der Placebo-

Behandlung. Die Ergebnisse der Größenmessung des Begleiterythems nach Kälteprovokation sind in Tabelle 3.9 sowie Abbildung 3.7 illustriert.

Tab.3.9: Mittelwerte und Standardabweichungen der Erythemgröße nach CST und Signifikanzen für den Vergleich zu Placebo; BL= Bilastin.

	Baseline	Placebo	BL 20 mg	BL 40 mg	BL 80 mg
Mittelwert (mm)	40,5	35,13	32,9	34,9	32,0
Standardabw. (mm)	11	14,11	9,93	10,3	12,52
Signifikanz			P=0,295	P=0,904	P=0,108

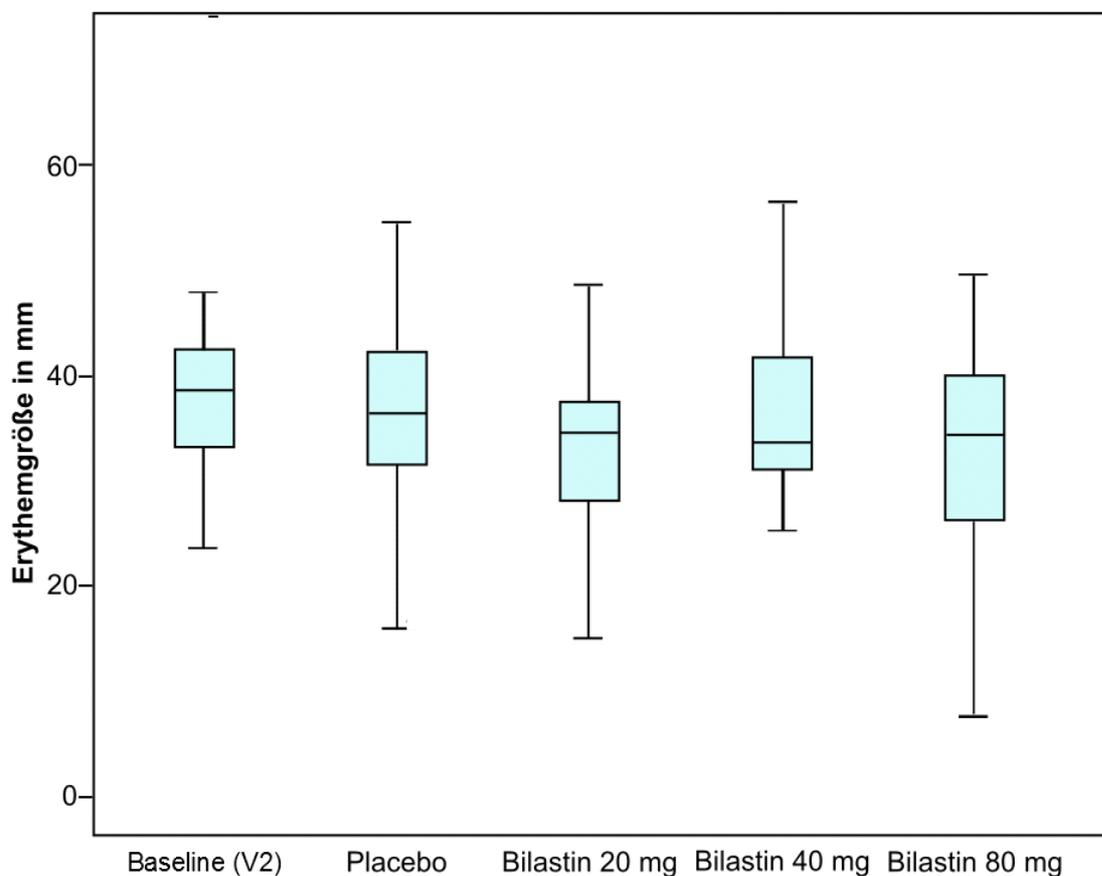


Abb.3.7: Erythemgröße 10 Minuten nach CST mit (5min 4°C). Die Boxplots zeigen die Größe der Erythemdurchmesser in mm für Baseline, Placebo und Bilastin in aufsteigender Dosierung. Der Durchmesser der Kontaktfläche des TempTest® 2.0 beträgt 30mm. Die Balken der Boxplots bestehen aus dem Median (schwarzer Strich), der 1.Quartile (unteres Ende; 25% Perzentile) und der 3.Quartile (oberes Ende; 75% Perzentile) der Messwerte. Die Whiskers geben Minimum und Maximum der Werte an (Ausreißer nicht dargestellt). Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der einzelnen Dosierungen und Placebo; n=20.

3.5.3 Subjektive Parameter

3.5.3.1 Juckreiz

Die Wirkung von Bilastin auf die Schwere des Juckreizes, der nach Kälteprovokation auf einer Skala von 0-3 subjektiv von den Probanden bewertet wurde, ist in Abb. 3.8 sowie Tabelle 3.10 dargestellt. Nach Placebo-Behandlung wurde die mediane Juckreizschwere mit 2.0 (1.25-3.0) bewertet. Drei Patienten gaben überhaupt keinen Pruritus im Rahmen der Quaddelbildung an.

Standarddosis: Nach einer Behandlung mit 20 mg Bilastin verspürten 13 von 20 Patienten nach Kälteprovokation keinen Juckreiz mehr (P=0,044 versus Placebo). Die mediane Juckreizschwere lag bei 0 (0-1) und unterschied sich signifikant gegenüber Placebo (P=0,001).

Up-dosing: Nach Dosissteigerung auf 40 mg bzw. 80 mg Bilastin war der mediane Pruritus-Wert 0 (0-1) bzw. 0,5 (0-1), was ebenfalls einen signifikanten Unterschied zur Placebo-Behandlung darstellt (P=0.001 bzw. P<0.003). Außerdem empfanden unter diesen Dosen 12 bzw. 10 Probanden überhaupt keinen Juckreiz mehr. Unterhalb der verschiedenen Dosierungen bestanden jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Tab.3.10: Juckreiz nach CST (TempTest© 2.0). Die Tabelle gibt die Häufigkeit und den Schweregrad des Pruritus nach Kälteprovokation wieder; BL= Bilastin.

Therapie	Juckreizstärke (0-3)				gesamt
	kein Juckr. = 0	mild = 1	moderat = 2	stark = 3	
Baseline	4 (20%)	2 (10%)	9 (45%)	5 (25%)	20 (100%)
Placebo	3 (15%)	2 (10%)	9 (45%)	6 (30%)	20 (100%)
BL 20 mg	13 (65%)	6 (30%)	1 (5%)	-	20 (100%)
BL 40 mg	12 (60%)	7 (35%)	1 (5%)	-	20 (100%)
BL 80 mg	10 (50%)	7 (35%)	3 (15%)	-	20 (100%)

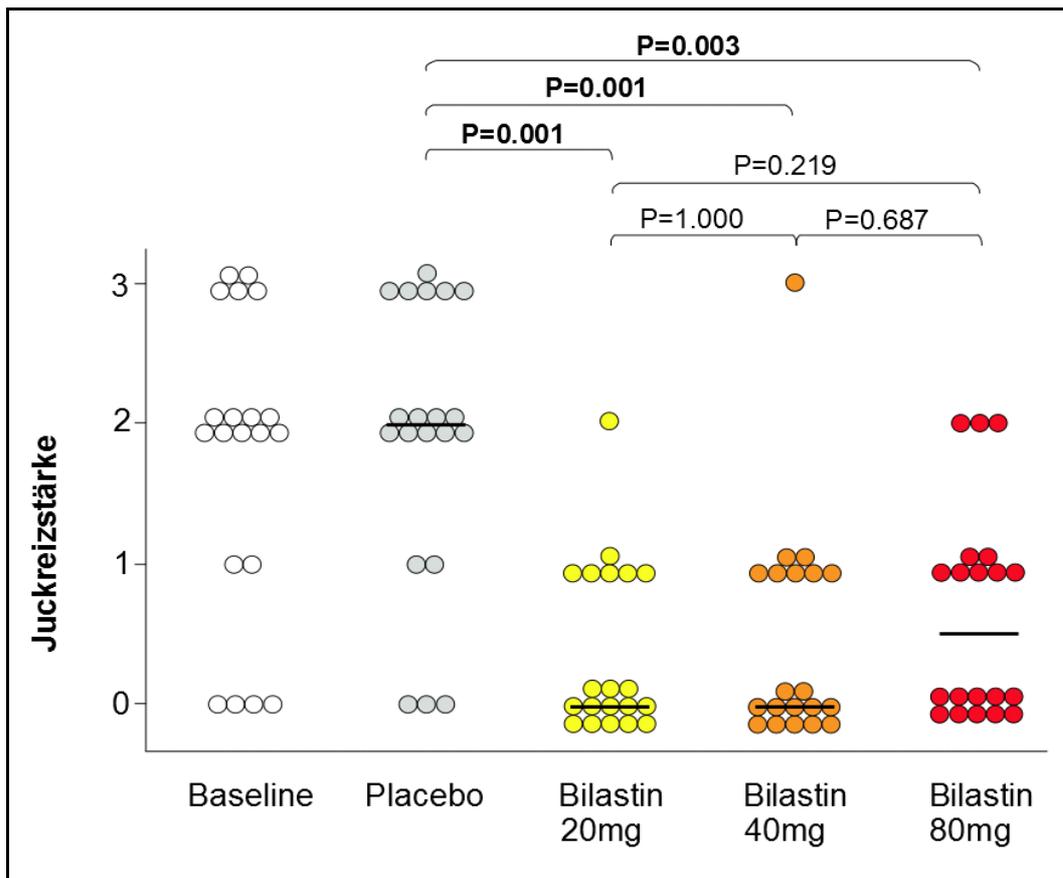


Abb.3.8: Bewertung des Juckreizes nach CST mit TempTest© 2.0 mittels einer dreistufigen Likert-Skala (0=kein Juckreiz; 1= leichter, 2= moderater, 3=starker Juckreiz). Die Punkte des Wolkendiagramms geben die individuelle Bewertung der Juckreizstärke nach Kältetestung von jedem Studienteilnehmer an. Die Striche geben den Median des Patientenkollektivs wieder. P-Werte sind mit Wilcoxon's nicht-parametrischen Test berechnet.

3.5.3.2 Brennen

Fünf Patienten aus der Placebo-Gruppe gaben nach Kälteprovokation eine brennende Missempfindung im Bereich der provozierten Haut an. Einer dieser Probanden gab das Brennen als sehr stark an (Grad 3), zwei jeweils als mittel (Grad 2) und leicht (Grad 1). Nach Einnahme von 20 mg Bilastin empfanden nur noch zwei Patienten ein Brennen, einer als mittelstark und der andere als leicht. Unter den Probanden, die 40 mg Bilastin für sieben Tage eingenommen hatten, gab nur noch ein Patient eine leichte brennende Missempfindung nach Kälteprovokation an. Nach der einwöchigen Einnahme von 80 mg Bilastin verspürten allerdings wieder drei Patienten eine brennende Missempfindung, zwei in leichter Form, einer in mittelstarker Ausprägung. Die Anzahl der Vorkommnisse war zu gering, um eine aussagekräftige statistische Analyse durchzuführen (Tab. 3.11).

Tab.3.11: Brennen nach CST (TempTest© 2.0). Die Tabelle gibt die Häufigkeit und den Schweregrad des Brennens nach Kälteprovokation wieder; n=20; BL= Bilastin.

	Baseline	Placebo	BL 20 mg	BL 40 mg	BL 80 mg
kein Brennen	15 (75%)	14 (70%)	18 (90%)	19 (95%)	17 (85%)
leicht	2 (10%)	4 (20%)	1 (10%)	1 (5%)	2 (10%)
moderat	2 (10%)	2 (10%)	1 (10%)	0	1 (5%)
stark	1 (5%)	0	0	0	0

Bis auf zwei Ausnahmen, gaben alle Patienten, die ein Brennen nach Kälteprovokation verspürten, auch Juckreiz an: Nur ein Proband unter Placebo und ein weiterer Studienteilnehmer unter 20 mg Bilastin gaben ein leichtes Brennen ohne Juckreiz an.

3.6 Ergebnisse der Mikrodialyse

3.6.1 Histamin

Zur Bestimmung der Histaminkonzentration in der Dermis wurde eine kutane Mikrodialyse an drei Visiten durchgeführt (Baseline, 20 mg und 80 mg Bilastin). Das Dialysat wurde in den Zeiträumen 0-20 Minuten und 20-60 Minuten nach Kälteprovokation gesammelt (Abb. 3.9).

Die mittlere Histaminkonzentration (\pm SEM) der Baselinephase (vor CST) war bei unbehandelten Probanden (Visit 2) 21,5 ng/ml (\pm 2,7). Unter Therapie mit 20 bzw. 80 mg Bilastin waren die Werte mit 15,6 ng/ml (\pm 0,9) bzw. 15,6 ng/ml (\pm 1,4) zwar niedriger, aber nicht signifikant unterschiedlich.

0-20 Minuten: Bei unbehandelten Patienten (Visit 2) lag in der unprovokierten Haut der Kontrollseite die mittlere Histaminkonzentration des Dialysats in der ersten Sammelperiode von 0-20 Minuten bei 19,2 (\pm 1,8) ng/ml, was mit den Werten der Baselinephase vergleichbar ist. Nach der Kälteprovokation (5 min 4°C) wurde im selben Zeitraum auf der Provokationsseite ein Anstieg der mittleren Histaminkonzentration auf 108,0 (\pm 18,1) ng/ml gemessen. Dieser kälteinduzierte Anstieg auf das 5,6-fache der Baseline-Konzentration ist hoch signifikant ($P \leq 0,0001$).

Auch nach einer Behandlung mit 20 mg bzw. der 80 mg Bilastin stieg die mittlere Histaminkonzentration in der provozierten Haut in diesem Zeitraum um den Faktor 5,7 bzw. 6,4 gegenüber der nicht provozierten Haut an. Ein signifikanter Unterschied zwischen unbehandelten und behandelten Patienten bestand nicht, womit eine Bilastin-Behandlung die kälteinduzierte Histaminausschüttung nicht unterdrückt (Tab. 3.12).

Tab.3.12: Mittelwerte (+Standardfehler des Mittelwertes, SEM) der Histaminkonzentration in ng/ml 20 min nach CST auf der kälteprovozierten Seite und der Kontrollseite. Signifikanzen für den Vergleich der kältestimulierten Seite zur unprovokierten Kontrolle; BL= Bilastin.

Histamin (ng/ml)	unbehandelt	BL 20 mg	BL 80 mg
0-20 min Dialysat	Visit 2		
Kontrolle	19,2 (\pm 1,8)	15,6 (\pm 1,04)	15,1 (\pm 1,3)
Provokation	108,0 (\pm 18.1) ($P \leq 0,0001$)	91,2 (\pm 6,8) ($P \leq 0,0001$)	96,8 (\pm 17,4) ($P \leq 0,0001$)

20-60 Minuten: Im Dialysat, das über den folgenden Zeitraum von 20-60 Minuten nach der Kälteprovokation gesammelt wurde, betrug die mittlere Histaminkonzentration der unprovokierten Kontrollseite bei Patienten ohne Therapie (Visit 2) 20,9 (+/- 2,1) ng/ml. In der kälteprovozierten Haut war die Histaminkonzentration im Dialysat zu diesem Zeitpunkt zwar schon wieder deutlich gesunken, mit 35,7 (+/- 6,2) ng/ml allerdings noch im Vergleich zur unprovokierten Kontrollseite erhöht. Dieser Unterschied war signifikant (P=0,005).

Nach der Behandlung mit der Standarddosis von 20 mg Bilastin bzw. der Steigerung auf 80 mg Bilastin war die mittlere Histaminkonzentration in der provozierten Haut 23,7 (+/- 3,2) ng/ml bzw. 23,5 (+/- 3,1) ng/ml. Diese Werte waren signifikant niedriger (P=0,02 bzw. P=0,013) als bei Patienten ohne Therapie. Im Zeitraum der zweiten Sammelperiode führte also eine Bilastin-Behandlung zur Reduktion der Histaminkonzentration in der kältestimulierten Haut. Eine Behandlung mit 20 mg Bilastin hatte hierbei aber einen vergleichbaren Effekt wie mit 80 mg. Die Ergebnisse der Histaminbestimmung der Spätphase sind in Tabelle 3.13 dargestellt. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Histaminbestimmungen ist in Abbildung 3.9 zu finden.

Tab.3.13: Mittelwerte (+Standardfehler des Mittelwertes, SEM) der Histaminkonzentration in ng/ml 20-60 min nach CST auf der kälteprovozierten Seite und der unprovokierten Kontrollseite; BL= Bilastin.

Histamin (ng/ml)	unbehandelt	BL 20 mg	BL 80 mg
20-60 min Dialysat	Visit 2		
Kontrolle	20,9 (± 2,1)	18	15,9
Provokation	35,7 (± 6,2)	23,7 (± 3,2)	23,5 (± 3,1)

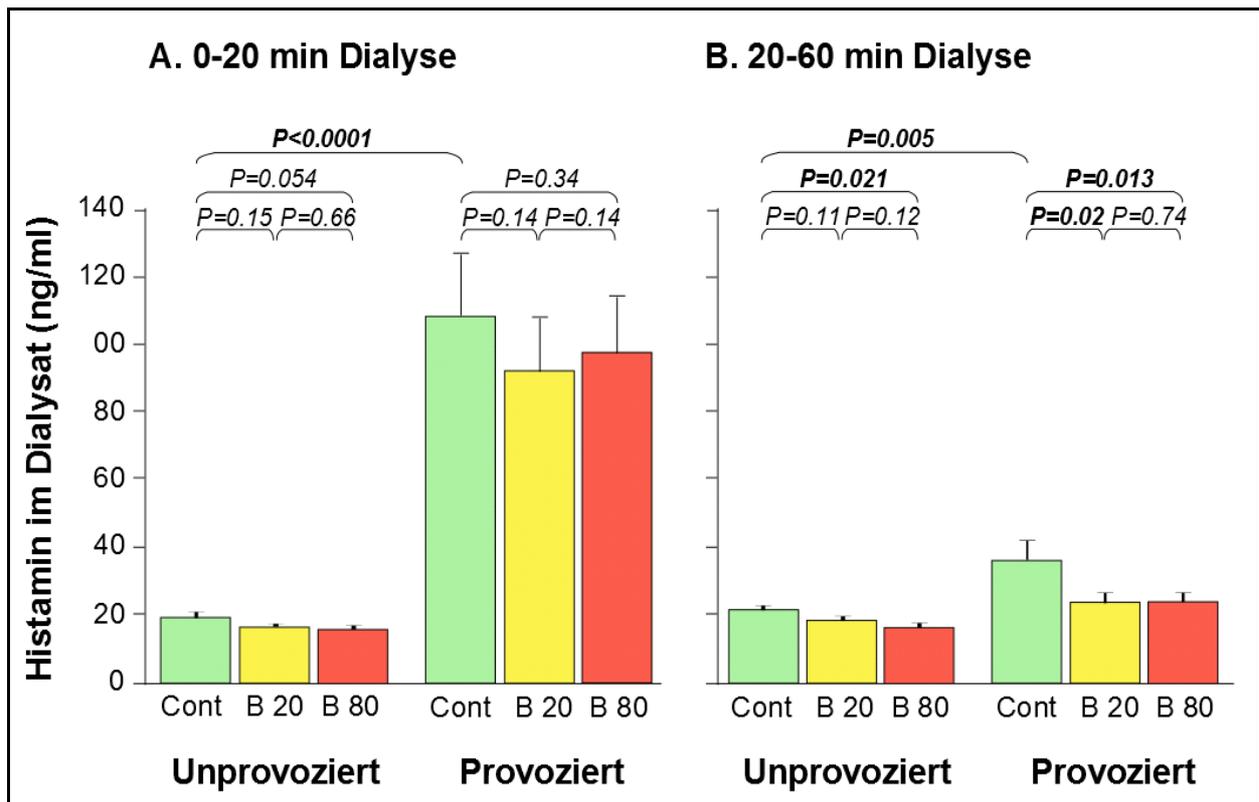


Abb.3.9: Histaminkonzentrationen im Mikrodialysat nach Kälteprovokation. Die Säulendiagramme geben die Konzentrationsbestimmungen von Histamin nach CST für beide Sammlerperioden nebeneinander wieder und stellen die Werte der unprovokierten Kontrollhaut denen des provozierten Hautareals gegenüber. Cont= unbehandelt (Visit 2); B 20= Bilastin 20mg, B 80= Bilastin 80mg

Zwischen den 20 Probanden bestanden zum Teil große quantitative Unterschiede in der Histaminausschüttung, die im ersten Zeitraum von 0-20 Minuten im Mikrodialysat gemessen wurde. Abbildung 3.10 gibt die gemessenen Histaminkonzentrationen aller 20 Studienteilnehmer am Visit 2 (unbehandelt) vor und nach Kälteprovokation im Vergleich wieder.

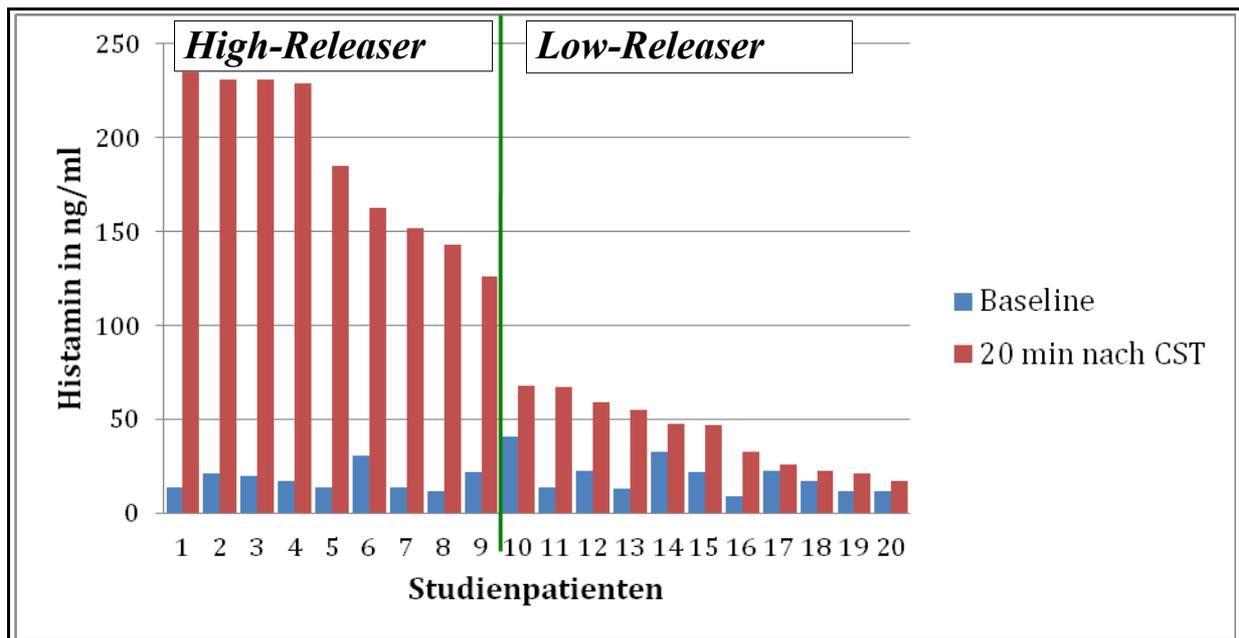


Abb. 3.10: Histaminausschüttung nach Kälteprovokation. Das Säulendiagramm zeigt die gemessene Histaminkonzentration in ng/ml zur Baseline (blau) und 20min nach Kälteprovokation (rot) bei allen 20 Probanden am Visit 2 (unbehandelt). Die Werte sind absteigend geordnet und zeigen große interindividuelle Unterschiede auf. Die grüne Linie trennt Patienten mit starker kälteinduzierter Histaminausschüttung (>100 ng/ml Anstieg) und schwacher (<60 ng/ml).

Während die Histaminkonzentrationen in unprovoked Haut bei allen Patienten vergleichbare Werte ohne große Schwankungen aufweisen (19,2 ng/ml, SEM \pm 1,6 ng/ml; blaue Säulen), zeigen sich bei den Messungen 20 Minuten nach dem 5-minütigen Kältereiz von 4°C große interindividuelle Unterschiede (rote Säulen). Es fällt auf, dass bei 9 Patienten ein kälteinduzierter Histaminanstieg im Dialysat von über 100 ng/ml gegenüber unprovoked Haut festgestellt werden kann, bei vier Probanden sogar von über 200 ng/ml. Durchschnittlich liegt der Anstieg der Histaminkonzentration bei diesen *High-Releasern* bei 170 ng/ml (SEM \pm 14,9 ng/ml). Die restlichen 11 Patienten weisen einen deutlich geringeren Anstieg der Histaminkonzentration auf, im Durchschnitt 22,3 ng/ml (SEM \pm 5,0 ng/ml; 53 bis 3 ng/ml). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der gemessenen Histaminausschüttung in den ersten 20 Minuten nach CST und den individuellen Provokationsschwellen sowie dem individuellen Therapieansprechen konnte allerdings nicht festgestellt werden. Auch zeigten sich keine Unterschiede in der Geschlechterverteilung und im Alter zwischen den *High-Releasern* und dem restlichen Patientenkollektiv.

3.6.2 Zytokine (Interleukin-6, Interleukin-8 und TNF α)

Mit Hilfe der Mikrodialyse wurden die Konzentrationen der Zytokine Interleukin (IL-) 6, Interleukin (IL-) 8 und TNF α vor und 2-3 Stunden nach Kälteprovokation bestimmt.

3.6.2.1 Interleukin-6

Bei Patienten ohne vorangegangene Therapie (Visit 2, Baseline) war im Mikrodialysat, das 2 bis 3 Stunden nach Kälteprovokation (4°C 5min) gesammelt wurde, sowohl in der kälteprovozierten Haut als auch in der unprovozierten Kontrollstelle am gleichen Arm ein deutlicher Anstieg der IL-6-Konzentration gegenüber den Ausgangswerten vor CST (Baseline) zu beobachten. Allerdings war der gemessene Anstieg in der kälteprovozierten Haut etwas stärker ausgeprägt: Im Mikrodialysat, das hier 2-3 Stunden nach Kälteprovokation (4°C/ 5min) gesammelt wurde, war die mittlere IL-6-Konzentration 156,6 pg/ml (+/-20,8), wogegen im Dialysat der unprovozierten Kontrollhaut eine IL-6-Konzentration von 117,1 pg/ml (+/-29,5) gemessen wurde (Tab. 3.14). Statistisch signifikant war dieser Unterschied allerdings nicht.

Auch nach vorhergehender einwöchiger Therapie mit Bilastin konnte ein Konzentrationsanstieg von IL-6 gegenüber der Baseline-Messung vor Kälteprovokation beobachtet werden: Verglichen mit den oben beschriebenen Messergebnissen ohne vorherige Behandlung war der IL-6-Anstieg nach 7-tägiger Behandlung mit 20 mg Bilastin einmal täglich nicht signifikant kleiner. Nach Aufdosieren auf 80 mg Bilastin konnte jedoch im Mikrodialysat aus der kälteprovozierten Haut eine signifikante Reduktion der IL-6-Konzentration von 34% (P=0,026) gegenüber der Messung ohne Therapie (Baseline) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 3.11 A).

Tab.3.14: Mittelwerte (+Standardfehler des Mittelwertes, SEM) der IL-6-Konzentration in pg/ml 3 Stunden nach CST; BL= Bilastin.

Mikrodialysat:	IL-6 (pg/ml)	unbehandelt	BL 20 mg	BL 80 mg
<i>unprovozierte Kontrollhaut</i>	Baseline	1,0 (± 0,5)	1,9 (± 1,1)	1,9 (± 1,3)
	2-3 h	117,1 (± 29,5)	84,2 (± 16,5)	128 (± 35,1)
<i>kälteprovozierte Haut</i>	Baseline	1,5 (± 0,7)	0,7 (± 0,5)	22,1 (± 21,4)
	2-3 h	156,6 (± 20,8)	138,5 (± 29,5)	103,2 (± 23,7)

3.6.2.2 Interleukin-8

Für IL-8 sind die mittleren Konzentrationen (+/- SEM) vor und nach Kältetestung in Tabelle 3.15 angegeben.

Bei unbehandelten Patienten (Visit 2, Baseline) war im Mikrodialysat der provozierten Haut 3 Stunden nach Kälteprovokation die gemessene IL-8-Konzentration 60% (P=0,002) höher als im Mikrodialysat aus der unprovozierten Kontrollhaut. Somit führte eine Kälteprovokation zu einem signifikanten Anstieg der IL-8-Produktion.

Dieser IL-8-Anstieg wurde durch eine Therapie mit 20 mg Bilastin täglich für sieben Tage nicht gehemmt. 20 mg Bilastin führte zu keiner signifikanten Reduktion der IL-8 Konzentration, verglichen mit den Werten ohne Therapie. Allerdings zeigte die Dosissteigerung auf 80 mg auch bei IL-8 eine signifikante Reduktion von 37% (P=0,004) im Vergleich mit den Werten der unbehandelten Patienten (Abb. 3.11 B).

Tab.3.15: Mittelwerte (+Standardfehler des Mittelwertes, SEM) der IL-8-Konzentration in pg/ml 3 Stunden nach CST; BL= Bilastin.

Mikrodialysat:	IL-8 (pg/ml)	unbehandelt	BL 20 mg	BL 80 mg
<i>unprovozierte Kontrollhaut</i>	Baseline	1,1 (±2)	1,6 (±1,3)	1,5 (±1)
	2-3 h	75,19 (±15,2)	50,2 (±9,9)	77,7 (±17,5)
<i>kälteprovozierte Haut</i>	Baseline	1,4 (±0,6)	1,2 (±1)	8,0 (±7,4)
	2-3 h	120,2 (±15,4)	88,9 (±21,5)	75,6 (±15,3)

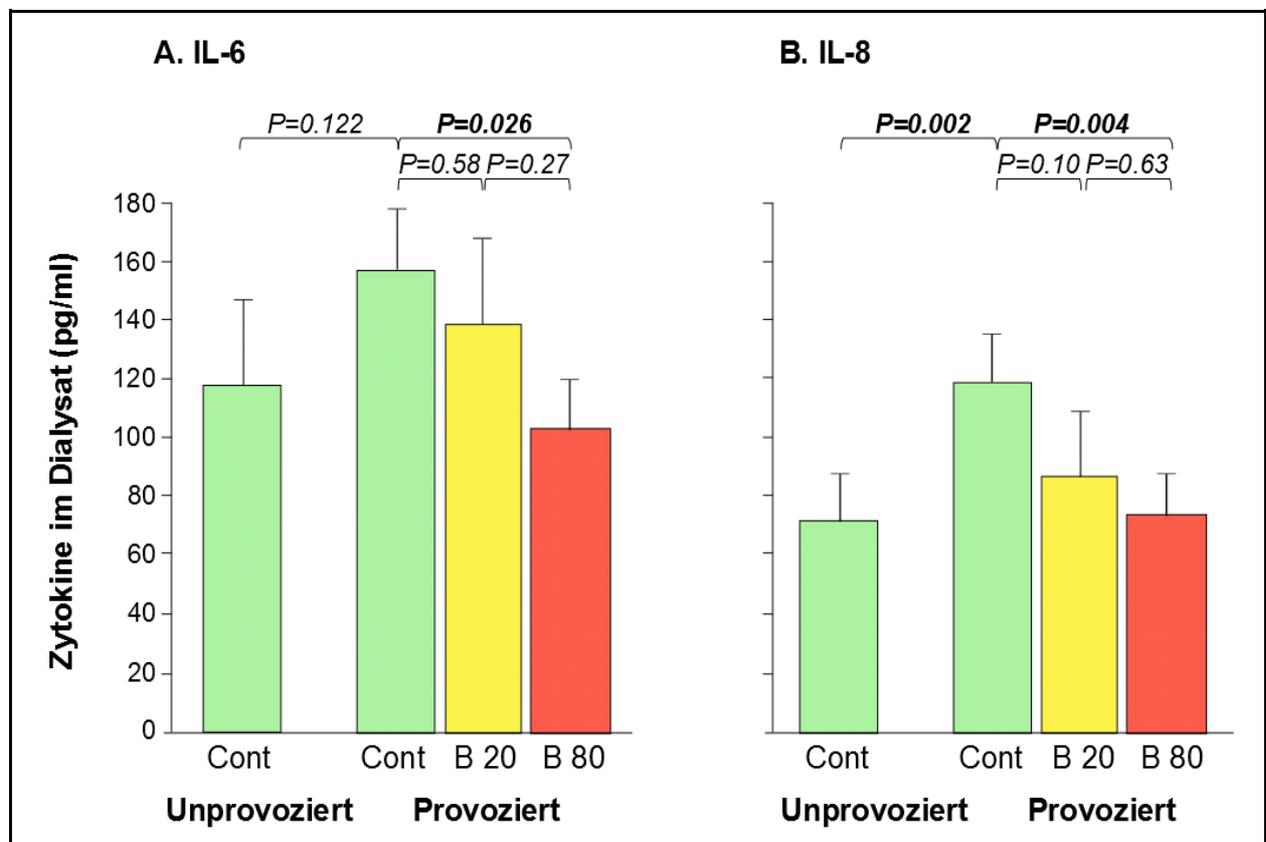


Abb. 3.11: Konzentration von IL-6 und IL-8 im Mikrodialysat 2-3 Stunden nach Kälteprovokation. Die Säulendiagramme geben die Konzentrationsbestimmungen von den Zytokinen IL-6 und IL-8 3 Stunden nach CST wieder und stellen die Werte der unprovozierten Kontrollhaut denen des provozierten Hautareals gegenüber. Cont= Kontrolle, unbehandelt (Visit 2).

3.6.2.3 TNF α

Nur bei 7 von 20 Patienten konnte die TNF α -Konzentration im Dialysat bestimmt werden, die Konzentration der anderen Patienten lag unterhalb der Nachweisgrenze (Nachweisbereich 0-20000 pg/ml). Drei Patienten, bei denen eine Messung gelang, zeigten einen leichten Anstieg nach Kälteprovokation. In Tabelle 3.16 finden sich die Ergebnisse für TNF α wieder.

Tab.3.16: Mittelwerte (+Standardfehler des Mittelwertes, SEM) der TNF α -Konzentration in pg/ml 3 Stunden nach CST; BL= Bilastin.

Mikrodialysat:	TNF α (pg/ml)	unbehandelt	BL 20 mg	BL 80 mg
<i>unprovokede Kontrollhaut</i>	Baseline	2,5 (+/-1,3)	6,1 (+/-2,8)	2,6 (+/-0,9)
	2-3 h	3,8(+/-1,9)	1,6 (+/-1)	13,2 (+/-7,6)
<i>kälteprovokede Haut</i>	Baseline	2,9 (+/-1,1)	7,9 (+/-4,7)	4,6 (+/- 1,6)
	2-3 h	2,4 (+/-1.1)	22,4 (+/-17)	6,7 (+/-5,4)

3.7 Unerwünschte Ereignisse (AE)

Im Verlauf der Studie ist es weder zum Auftreten von schweren unerwünschten Ereignissen (*Severe Adverse Events*, SAE) noch zum Verdacht auf unerwartete schwere ungewünschte Reaktionen (*Suspected Unexpected Severe Adverse Reaction*, SUSAR) gekommen. Kein Patient musste die Studie vorzeitig abbrechen. Insgesamt wurden 17 unerwünschte Ereignisse (*Adverse Events*, AE) zwischen den Visiten 2 und 6 (Behandlungsphase) dokumentiert. Nach der 7-tägigen Einnahme von 40 mg Bilastin beklagte ein Patient Müdigkeit, ein anderer gab Schwindel und Kopfschmerz an. Das Auftreten von Kopfschmerzen wurde auch von zwei weiteren Probanden berichtet, je einmal nach Behandlung mit 20 bzw. 40 mg Bilastin. Magenschmerzen traten bei insgesamt fünf Patienten auf, je zweimal unter 20 bzw. 40 mg und einmal unter 80 mg Bilastin. Ein Patient klagte nach 7-tägiger Einnahme von 20 mg Bilastin über Obstipation.

Aus der Analyse der unerwünschten Nebenwirkungen geht hervor, dass eine Dosissteigerung von 20 mg auf 80 mg Bilastin nicht zu einer Zunahme von

unerwünschten Ereignissen geführt hat.

Tabelle 3.17 fasst alle unerwünschten Ereignisse zusammen, die während der Studie von den Probanden angegeben wurden. Oben nicht genannte Ereignisse stehen wahrscheinlich nicht mit dem Studienmedikament in Zusammenhang.

Tab. 3.17: Unerwünschte Ereignisse (AE) während der BUCUM-Studie

Nebenwirkung AE (adverse event)	Screening	Placebo	BL 20mg	BL 40mg	BL 80mg	Σ
Refluxbeschwerden	2	0	0	0	0	2
Kopfschmerzen	1	0	1	2	0	4
Müdigkeit	0	0	0	1	0	1
Magenschmerzen	0	0	2	2	1	5
Infekt der oberen Atemwege	1	0	1	0	0	2
Hautausschlag	1	0	0	1	0	2
Schwindel	2	0	0	1	0	3
Obstipation	2	0	1	0	0	3
Lumboischalgie	2	0	0	0	0	2
Bronchitis/ Laryngitis	0	0	0	0	3	3
Unruhe	1	0	0	0	0	1
Atemnot	0	1	0	0	0	1
Σ	12	1	5	7	4	29

4. Diskussion

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, dass die Gabe des neuen H1-Antihistaminikums Bilastin die Symptome der KKU effektiv reduziert. Zudem ist eine Dosissteigerung nachweislich wirksamer als die Standarddosis, was die aktuellen Leitlinien unterstützt. Vor allem aber zeigt sich, dass eine hochdosierte Therapie sicher und verträglich ist: Somnolenz, Schwindel und Kopfschmerz als Ausdruck möglicher zentral-nervöser Nebenwirkungen sowie gastro-intestinale Beschwerden sind nach Aufdosieren nicht häufiger als unter Standarddosis aufgetreten.

Zum ersten Mal wurden die Effekte einer leitliniengerechten Therapie der KKU auf die Freisetzung von Mastzellmediatoren untersucht. Zwar zeigte sich, dass die entscheidende kälteinduzierte Histaminausschüttung in den ersten 20 Minuten durch die Gabe von Bilastin nicht beeinflusst wurde, allerdings waren Histamin eine Stunde und die Zytokine IL-6 und IL-8 drei Stunden nach Kältestimulation signifikant in der mit 80 mg behandelten Gruppe reduziert.

4.1 Kälteprovokationsschwellen als Wirksamkeitskriterien

Zur Evaluation der Wirksamkeit der Therapie mit Bilastin auf urtikarielle Symptome wurden in der BUCUM-Studie die Schwellentemperatur (CTT) und die Schwellenzeit (CSTT) herangezogen. Da die Höhe der CTT nachweislich mit der Schwere und Krankheitsaktivität der KKU korreliert, ist die Schwellentemperatur ein gutes Maß zur Beurteilung von KKU-Symptomen und eignet sich zur Therapiekontrolle ⁽⁸⁴⁾.

Studien, die die Effekte von Bilastin auf die Symptome der KKU untersuchen, sind in der Literatur nicht zu finden. Für die allergische Rhinitis und die chronische Urtikaria hingegen ist die Wirksamkeit der Standarddosis von 20 mg belegt ^(114; 124). Allerdings fehlen Daten über eine leitliniengerechte Dosissteigerung von Bilastin bei therapierefraktären Patienten. Church *et al.* untersuchten den Effekt von 20 und 50 mg Bilastin im Vergleich mit 10 mg Cetirizin auf Histamin-induzierte Quaddeln und stellten fest, dass sich die Wirksamkeit der beiden nsAH nicht signifikant unterschieden ⁽¹²⁵⁾. Die Untersuchung zeigte allerdings, dass 50 mg Bilastin länger wirksam waren.

Für andere nsAH existieren hingegen Studien, die sich mit der Wirksamkeit höherer

Dosen auf die Symptome der KKV befasst haben. Von besonderer Bedeutung sind dabei drei Studien für die nsAH Desloratadin und Rupatadin. In diesen Arbeiten wurden ebenfalls die Kälteprovokationsschwellen CTT und CSTT als Studienendpunkte herangezogen. Ihre Studienergebnisse lassen sich somit besonders gut mit den Resultaten der BUCUM-Studien vergleichen.

In der ersten Arbeit aus dem Jahr 2009 verglichen Siebenhaar *et al.* Desloratadin in seiner Standarddosis von 5 mg gegenüber einer vierfachen Steigerung der Dosis auf 20 mg. Die tägliche Einnahme von 5 mg für eine Woche reduzierte die CTT von 20,5 °C auf 15,2°C (26% Reduktion), die Schwellenzeit verlängerte sich entsprechend von 72 sec auf 142,8 sec. Sieben der 30 Studienpatienten zeigten darüber hinaus keine Symptome mehr nach Provokation mit der niedrigsten Testtemperatur von 4 °C. Die Steigerung auf 20 mg reduzierte die mittlere CTT zusätzlich auf 11 °C (47% Reduktion), verlängerte die CSTT auf 232,8 sec und führte dazu, dass 50% der Patienten symptomfrei wurden ⁽¹³⁾.

Eine zweite Studie von Magerl *et al.* von 2012 untersuchte ebenfalls die Effekte einer Dosissteigerung von Desloratadin auf die CTT ⁽¹⁴⁾. Die zweiwöchige Einnahme von 5 mg Desloratadin führte zu einer Reduktion der mittleren CTT von 22 °C auf 19°C (14% Reduktion). Unter der Behandlung mit der Standarddosis war kein Patient frei von urtikariellen Symptomen. Nach Erhöhung der Dosis auf 20 mg konnte eine Verminderung der mittleren CTT auf 12 °C (45% Reduktion) beobachtet werden. Die Kälteprüfung führte bei 5 von 15 Patienten nicht mehr zur Ausbildung von Symptomen.

Metz *et al.* bestimmten in einer dritten Studie aus dem Jahr 2010 die mittleren Provokationsschwellen von 21 KKV Patienten, nachdem die doppelte Standarddosis von Rupatadin (20 mg) für zwei Wochen eingenommen wurde ⁽⁹⁰⁾. Diese Therapie führte zu einer Reduktion von 18°C auf 6 °C (57%), wobei 52% der Studienpatienten symptomfrei wurden. Bei der Messung der CSTT konnte durch die hochdosierte Therapie eine Verlängerung um 114 sec gegenüber Placebo festgestellt werden.

Auch für andere nsAH finden sich in der Literatur Studien, die in der Therapie der KKV einen zusätzlichen Effekt auf urtikarielle Symptome durch Steigerung der Dosis belegen konnten, ohne allerdings dabei die Kälteprovokationsschwellen als Studienendpunkte heranzuziehen. Magerl *et al.* wiesen beispielsweise die Effektivität eines zweifachen

Aufdosierens von Ebastin durch eine signifikante Reduktion von Quaddelgröße und Juckreiz nach. 17 der 22 Studienteilnehmer blieben unter dieser Therapie sogar symptomfrei nach Kältetestung ⁽⁸⁹⁾.

Die Ergebnisse der erwähnten Studien entsprechen denen der BUCUM-Studie und unterstreichen den zusätzlichen Behandlungseffekt einer Dosissteigerung in der Therapie der KKV. Im direkten Vergleich der Provokationsschwellen der drei erstgenannten Studien fällt auf, dass Bilastin sowohl mit seiner empfohlenen Standarddosis als auch mit den gesteigerten Dosen effektiver die Symptome der KKV reduziert hat und mehr Patienten symptomfrei wurden: die 7-tägige Einnahme der Standarddosis von 20 mg Bilastin reduzierte die mittlere CTT von 18°C auf 6 °C (68% Reduktion). Bei der Schwellenzeitmessung verlängerte sich die CSTT von 90s auf 270s (150% Verlängerung) und 35% der Patienten zeigten bereits unter dieser Dosis keine Symptome mehr. Die Steigerung der Dosis erst auf 40 mg und dann auf 80 mg führte zu einer signifikanten Verbesserung der Wirksamkeit. Bei 80 mg war die mittlere CTT auf <4°C reduziert, die CSTT auf >300s verlängert, und 60% aller Patienten waren symptomfrei.

Diese Unterschiede sollte man allerdings relativieren, da bei allen Studien nur kleine Patientenzahlen untersucht wurden. Außerdem war bei den genannten Desloratadin-Studien der durchschnittliche Ausgangswert der CTTs bei den unbehandelten Studienteilnehmern höher, womit auch die durchschnittliche Krankheitsaktivität des Patientenkollektivs als höher betrachtet werden muss. Um diese Unterschiede möglichst klein zu halten, sind weitere randomisierte Studien mit größeren Patientenzahlen notwendig. Die verschiedenen nsAH sollten dabei durch Ermittlungen der Provokationsschwellen direkt miteinander verglichen werden. So könnten therapierelevante Unterschiede im Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil identifiziert und eine für jeden Patienten individualisierte Auswahl eines geeigneten nsAH ermöglicht werden.

4.2 Schwellentemperatur versus Schwellenzeit

In der vorliegenden Arbeit konnte der zusätzliche Therapieeffekt durch *Up-dosing* lediglich anhand der Veränderung der Schwellentemperatur (CTT) festgestellt werden.

Die Schwellenzeit (CSTT) verlängerte sich zwar signifikant gegenüber Placebo, im Gegensatz zur Schwellentemperatur bestand jedoch zwischen 20 mg und seinem Zwei- bzw. Vierfachen kein signifikanter Unterschied. In den oben bereits erwähnten Studien von Siebenhaar *et al.* und Metz *et al.* hingegen konnte eine signifikante Wirksamkeitssteigerung durch *Up-dosing* auch für die CSTT gezeigt werden. Gründe für diese Abweichungen sind wohl wieder im kleinen Patientenkollektiv zu suchen. Man sollte allerdings bedenken, dass gerade die Schwellentemperatur (CTT) den entscheidenden Parameter im Patientenalltag darstellt und das Ausüben zahlreicher Aktivitäten im Freien und im Haushalt beeinflusst. Korrelationen zwischen der Schwellentemperatur und subjektiv empfundener Krankheitsschwere wurden bereits von Mlynek *et al.* dargelegt ⁽⁸⁴⁾. Aus diesen Gründen sollte in zukünftigen Studien, die sich mit der Therapie der KCU befassen, in erster Linie die Veränderung der CTT als wichtigstes Wirksamkeitskriterium untersucht werden.

4.3 Relevanz der Quaddelmorphologie

In der BUCUM-Studie wurden CTTs und CSTTs sowohl für konfluierende als auch für nicht-konfluierende Quaddeln bestimmt. Die oben dargestellten Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf das Entstehen nicht-konfluierender Quaddeln.

Die morphologische Unterscheidung der Quaddel ist für die Diagnosestellung nicht von Bedeutung, da die Entwicklung von jedem Quaddeltyp als eine positive Reaktion gilt und das Bestehen einer KCU beweist. In den Leitlinien wird nicht einmal zwischen konfluierender und nicht-konfluierender Quaddel differenziert ⁽³⁾. Im alltäglichen Patientenleben spielt zudem nicht die Morphologie, sondern die Quaddelentstehung an sich und der damit einhergehende Juckreiz für die Lebensqualität die entscheidende Rolle. Allerdings ist aus wissenschaftlichen Aspekten eine Differenzierung nicht unwesentlich. Die Morphologie der Quaddel kann als Ausdruck des Umfangs aktivierter Mastzellen gewertet werden: Je nach einwirkender Temperatur, Kontaktzeit und individueller Schwere der Erkrankung entstehen konfluierende, sich über die gesamte Fläche des Kältekontakts ausstreckende Quaddeln oder nicht-konfluierende, nur einen Teil der Kontaktfläche einnehmende Urticae. Schwer betroffene Patienten zeigen oft schon bei hohen Temperaturen und kurzer Einwirkzeit der Kälte konfluierende Quaddeln. Es ist zwar belegt, dass die Höhe der CTT an sich mit der

Krankheitsschwere korreliert, allerdings sind keine Daten zu finden, die einen Zusammenhang zwischen dem expliziten Auftreten und der CTT bzw. CSTT von konfluierenden Urticae und dem Schweregrad der KKV zeigen. Hieraus könnte sich ein prognostischer Faktor ableiten. In der Literatur wird kaum zwischen den beiden Formen unterschieden. Allerdings ist zu beachten, dass die exakte Bestimmung der Schwellenwerte sowohl für konfluierende und als auch für nicht-konfluierende Urticae eine spezielle Situation bei Kältestestungen mit TempTest® 3.0 darstellt, da das Gerät mit seinen 12 Temperaturelementen eine differenzierte Kältestimulation ermöglicht. Bei älteren Methoden zur CST, insbesondere dem Eiswürfeltest, ist eine solche Differenzierung nicht möglich. Viele Autoren unterscheiden dementsprechend nicht die Morphologie der Quaddeln, und in den meisten Studien finden sich auch keine Angaben zur verwendeten Definition ^(82; 84; 90). Um prognostisch relevante Unterschiede aus dem Auftreten der Quaddelform untersuchen zu können, sollte sich für Studien, die die Symptome der KKV anhand der Provokationsschwellen beurteilen, eine einheitliche Definition der Quaddelmorphologie durchsetzen und angegeben werden. Die Etablierung von TempTest® 3.0 oder Geräten mit ähnlichen Eigenschaften zur CST wäre eine wichtige Voraussetzung dafür.

Letztendlich sind aber die Provokationsschwellen für nicht-konfluierende Quaddeln von größerer Bedeutung, da viele Patienten nach den gebräuchlichen Kälteprovokationstests (CST) gar keine konfluierenden Urticae entwickeln. Auch die Effekte des *Up-dosings* sind anhand der CTT für konfluierende Quaddeln in der Regel nicht darstellbar, da sie oft schon unter den Standarddosen nicht mehr auftreten. Im Alltag sind diese Patienten aber weiterhin symptomatisch und zeigen beim CST nicht-konfluierende Quaddeln. In der BUCUM-Studie zum Beispiel zeigten 8 von 20 Patienten unter Placebo-Behandlung eine konfluierende Quaddelbildung nach CST. Schon die Einnahme von 20 mg Bilastin führte dazu, dass nur noch bei einem Patienten konfluierende Urticae auftraten. Eine Verbesserung der Therapie durch Dosissteigerung spiegelt sich demnach lediglich bei den Temperaturschwellen für nicht-konfluierende Quaddeln wider.

4.4 Quaddelgröße und Erythem als Wirksamkeitskriterien

Die Größe der kälteinduzierten Quaddeln und des begleitenden Erythems sind neben

der Juckreizbewertung die klassischen Beurteilungskriterien von KQU-Symptomen und dienten vor Etablierung der Provokationsschwellen in Studien als Standard zur Therapiebewertung.

Die 7-tägige Behandlung mit Bilastin reduzierte den Quaddeldurchmesser signifikant von 20,4 mm auf 5,6 mm (72% Reduktion). Das verwendete Provokationsgerät, TempTest® 2.0, besitzt eine 30 mm durchmessende Kontaktfläche. Die Dosissteigerung führte zwar zu einer kleinen zusätzlichen, allerdings statistisch nicht signifikanten Abnahme der Quaddelgröße auf 4,1 bzw. 4,3 mm (40 bzw. 80 mg Bilastin).

Auch Zuberbier *et al.* konnten für die chronische spontane Urtikaria (CSU) den Effekt der vom Hersteller empfohlenen Bilastin-Dosis auf die Quaddelgröße und Quaddelanzahl zeigen ⁽¹¹⁴⁾. Für das nsAH Desloratadin wurde lediglich für 20 mg eine hochsignifikante Abnahme der Quaddelgröße beobachtet, wogegen die Standarddosis 5 mg sogar zu einer leichten Zunahme führte ⁽¹⁴⁾. In der von Siebenhaar *et al.* publizierten Cross-Over Studie wurde beim Vergleich von Placebo, 5 mg und 20 mg Desloratadin die größte Abnahme des Quaddelvolumens ebenfalls nach Gabe von 20 mg erzielt ⁽¹³⁾. In dieser Studie wurde die Größe der Urticae nicht zweidimensional, sondern mit Hilfe der Volumetrie dreidimensional gemessen. Vorteil dieser Methode ist eine genauere Erfassung der Quaddelgröße, insbesondere bei stark asymmetrischer Quaddelmorphologie. Auch für andere nsAH existieren Daten, die eine signifikante Reduktion der Quaddelgröße belegen ^(87; 89; 90).

Dass auch die Erhöhung der Bilastin-Dosis zu einer weiteren Abnahme der Quaddelgröße führt, konnte die vorliegende Studie nicht zeigen. Im Gegensatz zu den vergleichbaren Studien mit Desloratadin zeigte allerdings schon die Standarddosis von Bilastin eine hochsignifikante Abnahme. Die klinische Relevanz, die eine zusätzliche Reduktion des Quaddelvolumens für die Betroffenen im Alltag hat, ist ohnehin fraglich. Die Ermittlung der Quaddelgröße rückt im Fall der KQU aufgrund der wesentlich genaueren und aussagekräftigeren Kälteprovokationsschwellen in den Hintergrund.

Erytheme bilden zusammen mit Quaddeln und Pruritus die klassische Trias der Urtikaria, allerdings wird das Auftreten von Rötungen in den Leitlinien nur nebensächlich erwähnt ⁽³⁾. Die bereits genannte Untersuchung von Magerl *et al.* zeigte, dass Patienten

vor Therapiebeginn im Durchschnitt eine Erythemgröße von $22,0 \pm 9,5$ mm aufwiesen (TempTest® 2.0). Im Verlauf der Behandlung mit 5 mg und 20 mg Desloratadin konnte eine signifikante Abnahme des Rötungsdurchmessers zugunsten der höheren Dosis erreicht werden. In der thermographischen Untersuchung, die Siebenhaar *et al.* zur Erythembewertung verwendeten, konnte eine kleine signifikante Abnahme der hyperämischen Reaktion unter Therapie festgestellt werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie für das nsAH Bilastin widersprechen den Vergleichsstudien und zeigen keine Veränderung der Erythemgröße nach Kältestimulation sowohl für die Standarddosis als auch nach Dosiserhöhung. Allerdings sind Studien, die im Einklang mit diesen Ergebnissen stehen, ebenso in der Literatur zu finden: Ebastin führte beispielsweise zu keiner Abnahme des Erythems⁽⁸⁹⁾. In wie weit die Reduktion des hyperämischen Hautareals im Rahmen der Quaddelbildung überhaupt mit der Wirksamkeit von nsAH zusammenhängt, ist ohnehin zu hinterfragen. Histamin führt u.a. zur Stimulation von freien Nervenendigungen, welche dann Neuropeptide freisetzen, die eine Vasodilatation bewirken⁽⁷³⁾. Aus Mikrodialyse-Studien ist bekannt, dass im Bereich des um die Quaddel herum entstehenden Erythems keine signifikante Erhöhung der Histaminkonzentration zu messen ist und die erythematöse Reaktion am ehesten einen neurogenen Reflex darstellt^(126; 127). Antihistaminika greifen in diesen Mechanismus nicht wesentlich ein. Zudem ist eine Rötung eine physiologische Reaktion auf einen Kältereiz und Ausdruck der Wiedererwärmung, die auch bei Gesunden zu beobachten ist.

Die Messung der Quaddel- und Erythemgröße nach CST liefert oft ungenaue Ergebnisse. Durch die Messung der CTT und CSTT mittels elektronischer Geräte steht ein viel genaueres Verfahren zur objektiven Erfassung von KJU-Symptomen zur Verfügung. Zumindest für die KJU sollte die Evaluation der Quaddelgröße und des Erythem daher für klinische Folgestudien von sekundärer Bedeutung sein.

4.5 Subjektive Beschwerden- Juckreiz und Brennen

Das Auftreten einer juckenden Missempfindung nach CST ist eine wesentliche Komponente der KJU und seine Beseitigung sollte im Mittelpunkt der Therapie stehen. Lokaler Juckreiz ist der am meisten beeinträchtigende Parameter unter der

Symptomtrias der Erkrankung. Mit seiner Reduktion unter Behandlung steigt auch die Lebensqualität der Patienten an ⁽¹²⁸⁾.

Bis auf zwei Patienten entwickelten unter Placebo-Behandlung alle Teilnehmer der BUCUM-Studie einen deutlichen Juckreiz nach CST. Mit Bilastin wurde der Pruritus in allen Dosierungen signifikant unterdrückt. Allerdings zeigten sich zwischen den verschiedenen Dosen keine signifikanten Unterschiede.

Für Bilastin sind die Juckreiz-mildernden Effekte aus der Therapie der CSU bekannt ⁽¹¹⁴⁾. Die Wirksamkeit von nsAH auf die Ausprägung des Juckreizes ist bei KKU-Patienten durch zahlreiche Studien belegt ^(89; 90). Hingegen fehlen Daten, die beweisen, dass eine Erhöhung der AH-Dosis zu einer zusätzlichen Reduktion des Juckreizes führt. Siebenhaar *et. al.* konnten eine signifikante Abnahme des Pruritus ausschließlich bei dem Vergleich von 20 mg Desloratadin mit Placebo feststellen. Zwischen 5 mg und 20 mg zeigten sich keine Unterschiede bezüglich der Juckreizausprägung. Diese Ergebnisse decken sich mit denen, die Magerl *et al.* veröffentlichten, und stimmen auch mit den Resultaten der BUCUM-Studie überein.

Ein Grund, dass Wirksamkeitsunterschiede in dieser Arbeit zwischen den verschiedenen Dosierungen nicht festgestellt werden konnten, könnte darin liegen, dass zur individuellen Bewertung des Juckreizes nur eine vier-stufige Likert-Skala angewendet wurde. Dazu kommt, dass es sich bei der Juckreizmessung um eine subjektive Bewertung handelt, die von psychologischen und sozialen Einflüssen abhängt und intraindividuell zwischen unterschiedlichen Messzeitpunkten stark variieren kann. Da es sich beim Juckreiz um ein zentrales Symptom der KKU handelt und dieses im Zentrum der Krankheitswahrnehmung steht, sollten zukünftige Studien detaillierter auf den Juckreiz eingehen, seine Charakteristika untersuchen sowie mit größeren Patientenzahlen arbeiten.

Ein Gefühl des Brennens wird neben dem Juckreiz ebenfalls von einigen KKU-Patienten nach Kältereizung beschrieben. Es ist aber unklar, in wie weit sich das Empfinden von Brennen vom Pruritus unterscheidet. Manche Autoren differenzieren diese beiden Termini nicht. In einer Studie wurden Juckreizcharakteristika bei 100 Patienten mit CSU analysiert. Das Pruritusempfinden wurde dabei von den meisten Patienten als stechend, prickelnd oder eben brennend angegeben ⁽¹²⁹⁾. Somit wurde Brennen als Beschreibung der Pruritusempfindung interpretiert. Die aktuellen Leitlinien empfehlen dagegen eine

exaktere Beurteilung, die Juckreiz und Brennen unterscheidet ⁽³⁾.

Auch in der BUCUM-Studie wurde separat nach Juckreiz und Brennen gefragt. Hierbei zeigte sich, dass nur sehr wenige Patienten ein Brennen nach CST angeben. Darüber hinaus fiel auf, dass Brennen fast ausschließlich in Kombination mit Juckreiz angegeben wurde, was dafür spricht, dass es sich um ein Symptom handelt, das nicht genau vom Juckreiz differenziert werden kann.

Die beschriebenen Ergebnisse spiegeln sich in den Vergleichsarbeiten von Magerl *et al.* und Siebenhaar *et al.* wider, in der für die Brennstärke keine signifikanten Differenzen nach Therapie von 5 mg, 20 mg Desloratadin und Placebo gefunden wurden ^(13; 14). Die Autoren beschloss, dass eine Unterscheidung zwischen Pruritus und Brennen nicht nötig sei, da Brennen ein für die KGU weniger charakteristisches Merkmal darstelle.

Dagegen zeigt die bereits erwähnte Studie, bei der 22 KGU-Patienten mit 20 mg Ebastin behandelt wurden, in eine andere Richtung. Hier berichteten nach Placebo-Therapie zwölf Patienten über eine brennende Missempfindung. Nach Therapie waren es nur noch vier, die ein Brennen verspürten ⁽⁸⁹⁾. Auch in der KGU-Studie von Metz *et al.* wies der Vergleich von 20 mg Rupatadin, einem nsAH, das gleichzeitig PAF inhibiert, und Placebo in gleicher Weise eine signifikante Abnahme der Stärke des Brennens auf ⁽⁹⁰⁾.

Eine eindeutige Erklärung für diese Unterschiede gibt es nicht. Es wäre denkbar, dass in den letztgenannten Studien das Symptom Brennen besser erfragt wurde. Für Folgestudien ist eine genauere Untersuchung klinischer Juckreiz- sowie Brennencharakteristika von besonderer Bedeutung. Es sind auch noch viele Fragen zu pathogenetischen Aspekten des Entstehens von Juckreiz und Brennen offen, die Anlass für weitere Studien gäben. Um die Symptomkontrolle zu optimieren und neue therapeutische Strategien zu entwickeln, sollten zentrale und periphere Entstehungsmechanismen von Pruritus und insbesondere die neuroimmunologische Interaktion zwischen Mastzellen, seinen Mediatoren und sensorischen Nervenfasern erforscht werden.

4.6 Dosissteigerung und Nebenwirkungen

Die Verwendung des Zwei- bis Vierfachen der empfohlenen Antihistaminikadosis geht auch immer mit der Gefahr einher, dass der erhoffte zusätzliche Therapieeffekt nur mit einer Häufung unerwünschter Nebenwirkungen erzielt wird.

Die vorliegende Studie zeigte, dass eine hochdosierte Behandlung mit Bilastin nicht zu einer Zunahme von unerwünschten Nebenwirkungen führte. Nur ein Patient gab an, Müdigkeit nach der Einnahme von 40 mg Bilastin zu verspüren.

Diese Erkenntnis spiegelt sich auch in vergleichbaren Studien für andere nsAH wider. So zeigten Siebenhaar *et al.*, dass Müdigkeit gleich oft unter 5 mg wie unter 20 mg auftrat ⁽¹³⁾. Magerl *et al.* unterstrichen, dass Desloratadin auch unter dem Vierfachen der Standarddosis sicher und verträglich ist ⁽¹⁴⁾. Die Erhöhung von Ebastin und Rupatadin auf das Zweifache der Standarddosis führte ebenso nicht zu einem häufigeren Auftreten von Nebenwirkungen und wurden von KKV-Patienten gut toleriert ^(89; 90).

Wichtig sind allerdings Einflüsse auf kognitive Reaktionen, da diese von Patienten selbst nicht erkannt und angegeben werden können. Eine pharmakologische Besonderheit von Bilastin ist seine Wechselwirkung mit einigen Transport-Systemen, darunter insbesondere mit P-Glykoprotein. Dieses limitiert sein Übertreten über die Blut-Hirn-Schranke. Klinische Studien zeigten mit objektiven psychomotorischen Tests und gezielter Befragung nach subjektiven sedierenden Effekten, dass Bilastin keine Wirkung auf das ZNS hat. Auch Lorazepam und Alkohol zeigen keine Wechselwirkung mit Bilastin. Conen *et al.* stellten fest, dass sich Bilastin in der Dosis von 20 mg und 40 mg nicht auf die Fahrtüchtigkeit auswirkt ⁽¹¹³⁾. Das Fehlen von sedierenden Nebenwirkungen, insbesondere bei erhöhten Dosierungen, wurde durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstrichen. Bei der Interpretation der aufgezeigten Resultate kann man schlussfolgern, dass nsAH und insbesondere Bilastin ein sicheres Wirksamkeitsprofil bei Patienten mit KKV aufweisen, selbst wenn sie in höheren Dosen als der empfohlene Standard eingenommen werden. Für die Lebensqualität von KKV-Patienten, die zur ausreichenden Kontrolle ihrer Erkrankung auf höhere Dosen angewiesen sind, ist diese Eigenschaft der nsAH von großer Bedeutung.

4.7 Mastzell-Stabilisierung oder anti-inflammatorischer Effekt

Der Behandlungsvorteil durch Aufdosieren von nsAH in der Therapie der KKV konnte in klinischen Studien demonstriert werden und spiegelt sich auch in den Ergebnissen der BUCUM-Studie wider. Der Frage, welche Mechanismen diesen zusätzlichen Behandlungseffekt bei der KKV bedingen, wurde hier ebenfalls nachgegangen.

Wie erwartet konnte nach Kälteprovokation bei unbehandelten Patienten mittels Mikrodialyse ein Anstieg der Histaminkonzentration (5,6-fach in der vorliegenden Arbeit) gegenüber der unprovokierten Kontrollseite in den ersten 20 Minuten registriert werden. Dies ist aus einer Vielzahl anderer Studien bekannt ^(70; 71; 74; 130). Es zeigte sich darüber hinaus, dass die 7-tägige Einnahme von Bilastin in keiner Dosis diesen Anstieg verringern konnte. Obwohl die Hemmung der Histaminausschüttung von MZ durch H1-Antihistaminika, inklusive Bilastin, schon oft *in-vitro* demonstriert werden konnte, sind die eingesetzten Arzneistoffmengen wesentlich höher als solche, die normalerweise während der klinischen Therapie in der Dermis erreicht werden ^(91; 131-133). Die Beobachtung, dass Bilastin die Histamin-Ausschüttung *in-vivo* nicht unterdrückt, steht im Einklang mit vorherigen Studien. In diesen zeigte sich mittels *skin-chamber*-Technik oder kutaner Mikrodialyse, dass nsAH eine Allergen- bzw. Codein-induzierte Histamin-Freisetzung auf MZ *in-vivo* nicht reduzieren ^(67; 133; 134).

Im Mikrodialysat, das im Zeitraum von 20 bis 60 Minuten nach Kälteprovokation analysiert wurde, konnte bei Unbehandelten eine kleine, aber signifikante Erhöhung der Histaminkonzentration in der provozierten gegenüber der unprovokierten Kontrollseite festgestellt werden. Aus einer Mikrodialyse-Untersuchung von Andersson *et al.* geht hervor, dass die höchsten Histaminkonzentrationen 20 - 30 Minuten nach Provokation zu beobachten sind. Nach 50 Minuten hat die Histaminkonzentration ihren Ausgangswert erreicht ⁽⁷⁴⁾. Somit ist die Erhöhung der Histaminkonzentration im Dialysat der zweiten Sammelperiode bemerkenswert. Obwohl die Mechanismen, die diese Erhöhung bedingen, nicht ganz geklärt sind, könnte vermutet werden, dass ein Teil der Histaminkonzentration durch das Einwirken und die Aktivierung von basophilen Granulozyten bedingt ist. Dieses Phänomen ist für die Spät-Phasen-Reaktion bei Allergen-induzierten Hautreaktionen beschrieben worden ⁽¹³⁵⁻¹³⁷⁾, die auch im Rahmen der Urtikaria eine Rolle spielen. Allerdings soll die zelluläre Infiltration der Spät-Reaktion bei der KKU nicht besonders ausgeprägt sein, was auf die eher flüchtige Natur der Erkrankung zurückgeführt wird ⁽¹³⁸⁾.

Interessanterweise zeigte sich, dass die späte Histaminerhöhung (20-60 min) bei Patienten, die mit Bilastin behandelt wurden, signifikant reduziert wurde. Dieser Effekt von Bilastin war sowohl für 20 mg als auch für 80 mg zu beobachten, zwischen den

Dosen bestand jedoch kein Unterschied. Diese Erkenntnis sollte Anlass für weitere Studien geben, sich mit MZ-vermittelten Prozessen im Rahmen der Symptomentstehung genauer auseinanderzusetzen und den Einfluss von nsAH auf diesen Prozess zu charakterisieren. Während die Effekte von Histamin auf die Effektorzellen mittlerweile gut charakterisiert sind, sollte dem Einfluss der Basophilen im Pathomechanismus der KCU nachgegangen werden. Zu untersuchen wäre, ob sich daraus neue therapeutische Strategien ableiten lassen.

Eine weitere interessante Beobachtung ist, dass bei den 20 Studienteilnehmern große interindividuelle Unterschiede in der Quantität der Histaminausschüttung bestanden. Eine Korrelation zwischen der Höhe der Histaminausschüttung und den Ergebnissen der Provokationsschwellenmessungen (CTT, CSTT) konnte allerdings nicht festgestellt werden. Diese Erkenntnis wirft viele neue Fragen auf. Es bleibt zu klären, in wie weit andere MZ-vermittelte und MZ-unabhängige Faktoren neben Histamin in der Pathophysiologie der KCU zur Entstehung der Symptome beitragen. Hier sind sicherlich weitere Studien nötig, die sich *in-vitro* und *in-vivo*, z.B. mittels Mikrodialyse, mit der Frage auseinandersetzen, wo interindividuelle Unterschiede beim Wirkmechanismus von Histamin in der Pathogenese der KCU bestehen. So könnten der Einsatz der nsAH optimiert und neue Behandlungsstrategien für therapierefraktäre Patienten entwickelt werden.

Das Vorliegen einer inflammatorischen Reaktion im Rahmen der Quaddelentstehung der KCU wird unterstützt durch die Beobachtung eines Anstiegs von IL-6 und IL-8. Beide Zytokine, IL-6 und IL-8, spielen eine wichtige Rolle in der Regulation von Immunprozessen. IL-8 ist ein Schlüsselzytokin bei der lokalen Rekrutierung von Immunzellen, insbesondere von neutrophilen Granulozyten ⁽¹³⁹⁾. Der Nachweis einer vermehrten Produktion der Zytokine spricht für eine inflammatorische Antwort der Haut. Ein Anstieg, allerdings in geringerem Umfang, wurde auch auf der unprovokierten Kontrollseite 2-3 Stunden nach CST beobachtet. Letzterer wird zu Beginn der Mikrodialyse durch die Implantation der Sonden in die Haut verursacht ⁽¹²³⁾. Clough *et al.* konnten in einer Mikrodialyse-Untersuchung signifikant erhöhte Werte der Zytokine IL-6 und IL-8 bei Allergen-induzierten Quaddeln messen ⁽⁷⁸⁾. Über die Bedeutung der

Zytokine in der Pathogenese der KKU ist bisher wenig bekannt. Im Vergleich zu anderen Formen der Urtikaria ist die zelluläre Infiltration der Spät-Reaktion bei der KKU weniger stark ausgeprägt ⁽¹³⁸⁾. In einer immunhistochemischen Untersuchung an läsionalen Biopsien beobachteten Hermes *et al.* bei einem KKU-Patienten eine vermehrte Immunoreaktivität für TNF α und IL-3 an endothelialen und perivaskulären Zellen der oberen Dermis 30 Minuten nach CST. IL-8 hingegen war nicht vermehrt nachweisbar ⁽⁸¹⁾.

In der BUCUM-Studie wurde bei untherapierten Patienten nach Kälteprovokation ein kleiner, statistisch signifikanter Anstieg von IL-8 und ein kleiner, allerdings nicht signifikanter Anstieg von IL-6 gegenüber der Kontrollhaut registriert. Der Konzentrationsanstieg der Zytokine IL-6 und IL-8 drei Stunden nach CST wurde durch 80 mg, nicht aber durch 20 mg Bilastin signifikant reduziert. Auch auf Ebene der MZ-vermittelten Zytokinproduktion ist der Nutzen des Aufdosierens von Bilastin in der Therapie der KKU daher anhand eines zusätzlichen anti-inflammatorischen Effekts darstellbar.

TNF α , das dritte Zytokine, das in dieser Arbeit untersucht wurde, ließ sich nach 3 Stunden nur bei 7 Patienten nachweisen und zeigte nur bei 3 Patienten einen kleinen Anstieg nach CST. Es wird postuliert, dass dieses Zytokin eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Urtikaria spielen könnte, da es die Expression von Oberflächenmolekülen zur Rekrutierung von Leukozyten bedingt ^(66; 81). TNF α ist allerdings sehr flüchtig, daher ist es nicht verwunderlich, dass es im Dialysat der meisten Patienten nicht nachgewiesen werden konnte. Das zeigt auch die Arbeit von Clough *et al.*, die mittels Mikrodialyse einen signifikanten Anstieg von TNF α nur bei 3 von 11 Patienten nach Allergen-Provokation feststellen konnten. In dieser Studie wurde TNF α allerdings schon nach 30 Minuten gemessen. Nach 3 Stunden waren die Konzentrationen wieder am Ausgangswert. Auch in der oben genannten immunhistochemischen Untersuchung wurde TNF α vermehrt nach 30 Minuten festgestellt ⁽⁸¹⁾. Der frühe Anstieg könnte sich damit erklären lassen, dass Mastzellen auch vorgefertigtes TNF α speichern und nach Aktivierung freisetzen ⁽¹⁴⁰⁾. Die TNF α -Bestimmungen in der vorliegenden Studie wurden im Dialysat vorgenommen, das im Zeitraum von 2 bis 3 Stunden nach Kältestimulation gesammelt wurde. Ein mögliches

frühes Ansteigen der TNF α -Konzentration konnte somit nicht erfasst werden.

Die Durchführung der kutanen Mikrodialyse hat in der vorliegenden Studie interessante Details zur Pathophysiologie der KCU und seiner Therapie mit nsAH aufzeigen können. So weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die gesteigerte Wirksamkeit von Bilastin in höheren Dosen durch zusätzliche anti-inflammatorische Effekte vermittelt sein könnte. Diesem Zusammenhang sollte in weiteren klinischen und experimentellen Studien nachgegangen werden.

4.8 Ausblick

Dies ist die erste Studie für das neue H1-Antihistaminikum Bilastin, die am Beispiel der KCU Behandlungsvorteile durch eine Steigerung der empfohlenen Tagesdosis aufzeigt. Die Kälteprovokationsschwellen sowie die Quaddelgröße und das Juckreizgefühl wurden unter Therapie mit Bilastin deutlich reduziert. Zugleich verringerte sich die Schwellentemperatur (CTT) signifikant nach Steigerung auf das 2- und 4-fache der Standarddosis. Unerwünschte Ereignisse traten unter Therapie mit höheren Bilastin-Dosen nicht vermehrt auf und stellen somit kein Gegenargument für eine hochdosierte Bilastin-Behandlung dar.

Die Studie setzt die Bemühungen einiger vorangegangener Studien fort, mittels TempTest[®] objektiv und standardisiert die therapeutischen Effekte des Aufdosierens von nsAH auf die Symptome der KCU zu untersuchen. Hier sind weitere Studien nötig, damit vergleichbare Daten für eine möglichst große Anzahl von Patienten zur Verfügung stehen und alle in der Therapie der KCU wirksamen nsAH verglichen werden können. Zukünftige Studien sollten auch objektive und standardisierte Verfahren zur Bewertung des Juckreizes und der Auswirkung auf die Lebensqualität anwenden, um auch hier die Vergleichbarkeit zu verbessern.

Zum ersten Mal wurden mit Hilfe der Mikrodialyse die Effekte der *Up-dosings* auf die Freisetzung von Histamin und der Mastzell-vermittelten Zytokinproduktion untersucht. Anhand einer Reduktion von Histamin 20-60 Minuten sowie IL-6 und IL-8 2-3 Stunden nach CST konnte eine anti-inflammatorische Wirkung von Bilastin *in-vivo* festgestellt werden, die insbesondere für das Vierfache der Standarddosis zu beobachten war. Die

Resultate der Mikrodialyse unterstützen den Nutzen des *Up-dosings* auch auf Mediatorebene. Allerdings bleiben hier viele Fragen offen, die durch weitere *in-vivo* und *in-vitro* Studien zu klären sind. Vor allem ist dabei unklar, worauf die Verbesserung urtikarieller Symptome unter 80 mg Bilastin letztendlich zurückzuführen ist. Dies konnte diese Studie nicht klären. Eine Hemmung der MZ-Degranulation konnte am Beispiel von Histamin in der frühen Phase (0-20 min) nicht gezeigt werden. Interessant sind auch die großen intraindividuellen Unterschiede in der Quantität der Histaminfreisetzung. Hier könnten Subgruppenuntersuchungen Unterschiede im Pathomechanismus aufzeigen. Es sollten sich auch Studien anschließen, die mögliche Zusammenhänge der Histaminfreisetzung und der klinischen Symptomschwere untersuchen.

Diese Studie trägt zu einer Verbesserung der Therapie von KGU-Patienten bei und zeigt zusätzlich neue Charakteristika der zugrundeliegenden Mechanismen auf. Für eine Optimierung und Individualisierung der Therapie sollten sich allerdings sowohl standardisierte klinische Studien als auch experimentelle Untersuchungen anschließen. Nur so kann langfristig die Anzahl therapierefraktärer Patienten in der Therapie der KGU reduziert werden.

5. Literaturverzeichnis

- 1) Zuberbier T, Balke M, Worm M, Edenharter G, Maurer M. Epidemiology of urticaria: a representative cross-sectional population survey. *Clin Exp Dermatol*. 2010 Dec;35(8):869-73.
- 2) Axelrod S, Davis-Lorton M. Urticaria and angioedema. *Mt Sinai J Med*. 2011 Sep-Oct;78(5):784-802.
- 3) Zuberbier T, Bindslev-Jensen C, Canonica W et al. EAACI/GA2LEN/EDF/WAO guideline: definition, classification and diagnosis of urticaria. *Allergy* 2009;64: 1417–26.
- 4) Weldon DR. Quality of life in patients with urticaria. *Allergy Asthma Proc*. 2006 Mar-Apr;27(2):96-9.
- 5) Grob JJ, Gaudy-Marqueste C. Urticaria and quality of life. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2006 Feb;30(1):47-51.
- 6) O'Donnell BF, Lawlor F, Simpson J, Morgan M, Greaves MW. The impact of chronic urticaria on the quality of life. *Br J Dermatol*. 1997 Feb;136(2):197-201.
- 7) Zuberbier T, Bindslev-Jensen C, Canonica W et al. EAACI/GA2LEN/EDF guideline: management of urticaria. *Allergy*. 2006 Mar;61(3):321-31.
- 8) Hartmann K, [Urticaria. Classification and diagnosis]. *Hautarzt*. 2004 Apr;55(4):340-3.
- 9) Fleischer M, Grabbe J. [Physical urticaria]. *Hautarzt*. 2004 Apr;55(4):344-9.
- 10) Kontou-Fili K, Borici-Mazi R, Kapp A, Matjevic LJ, Mitchel FB. Physical urticaria: classification and diagnostic guidelines. An EAACI position paper. *Allergy*. 1997 May;52(5):504-13.
- 11) Mathelier-Fusade P, Aissaoui M, Bakhos D *et al*. Clinical predictive factors of severity in cold urticaria. *Arch Dermatol* 1998; 134: 106–7.
- 12) Siebenhaar F, Weller K, Mlynek A, Magerl M, Altrichter S, Vieira Dos Santos R, Maurer M, Zuberbier T. Acquired cold urticaria: clinical picture and update on diagnosis and treatment. *Clin Exp Dermatol*. 2007 May;32(3):241-5.
- 13) Siebenhaar F, Degener F, Zuberbier T, Martus P, Maurer M. High-dose desloratadine decreases wheal volume and improves cold provocation thresholds compared with standard-dose treatment in patients with acquired cold urticaria: a randomized, placebo-controlled, crossover study. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Mar;123(3):672-9.
- 14) Magerl M, Pisarevskaja D, Staubach P, Martus P, Church MK, Maurer M. Critical temperature threshold measurement for cold urticaria: a randomized controlled trial of H(1) -antihistamine dose escalation. *Br J Dermatol*. 2012 May;166(5):1095-9.

- 15) Church MK. Efficacy and tolerability of rupatadine at four times the recommended dose against histamine- and platelet-activating factor-induced flare responses and ex vivo platelet aggregation in healthy males. *Br J Dermatol*. 2010 Dec;163(6):1330-2.
- 16) Krause K, Degener F, Altrichter S, Ardelean E, Kalogeromitros D, Magerl M, Metz M, Siebenhaar F, Weller K, Maurer M. [Cold-induced urticaria and angioedema. Classification, diagnosis and therapy]. *Hautarzt*. 2010 Sep;61(9):743-9.
- 17) Magerl M, Borzova E, Giménez-Arnau A, Grattan CE, Lawlor F, Mathelier-Fusade P, Metz M, Mlynek A, Maurer M; EAACI/GA2LEN/EDF/UNEV. The definition and diagnostic testing of physical and cholinergic urticarias-EAACI/GA2LEN/EDF/UNEV consensus panel recommendations. *Allergy*. 2009 Dec;64(12):1715-21.
- 18) Katsarou-Katsari A, Makris M, Lagogianni E, Gregoriou S, Theoharides T, Kalogeromitros D. Clinical features and natural history of acquired cold urticaria in a tertiary referral hospital: a 10-year prospective study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008 Dec;22(12):1405-11.
- 19) Möller A, Henning M, Zuberbier T, Czarnetzki-Henz BM. [Epidemiology and clinical aspects of cold urticaria]. *Hautarzt*. 1996 Jul;47(7):510-4.
- 20) Wanderer AA, Hoffman HM. The spectrum of acquired and familial cold-induced urticaria/urticaria-like syndromes. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2004 May;24(2):259-86, vii.
- 21) Kivity S, Schwartz Y, Wolf R, Topilsky M. Systemic cold-induced urticaria--clinical and laboratory characterization. *J Allergy Clin Immunol*. 1990 Jan;85(1 Pt 1):52-4.
- 22) Wanderer AA, Grandel KE, Wasserman SI *et al*. Clinical characteristics of cold-induced systemic reactions in acquired cold urticaria syndromes: recommendations for prevention of this complication and a proposal for a diagnostic classification of cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 417–23.
- 23) Wanderer AA. Cold urticaria syndromes: historical background, diagnostic classification, clinical and laboratory characteristics, pathogenesis, and management. *J Allergy Clin Immunol*. 1990 Jun;85(6):965-81.
- 24) Neittaanmaaki H. Cold urticaria. Clinical findings in 220 patients. *J Am Acad Dermatol*. 1985 Oct;13(4):636-44.
- 25) Alangari AA, Twarog FJ, Shih MC, Schneider LC. Clinical features and anaphylaxis in children with cold urticaria. *Pediatrics*. 2004 Apr;113(4):e313-7.
- 26) Möller A, Henz BM. Cold urticaria. In: Henz BM, Zuberbier T, Grabbe J, Monroe E, eds. *Urticaria: clinical, diagnostic and therapeutic aspects*. 1998: 69.
- 27) Wanderer AA. Systemic cold urticaria (atypical acquired cold urticaria) *J Allergy Clin Immunol*. 1991 Jan;87(1 Pt 1):137-8.

- 28) Nürnberg W, Grabbe J, Glawe HJ, Stoll R. [Sociomedical implications of the inability to commute in patients with cold urticaria]. *Hautarzt*. 2010 Mar;61(3):241-5.
- 29) Illig L, Paul E, Brück K, Schwennicke HP. Experimental investigations on the trigger mechanism of the generalized type of heat and cold urticaria by means of a climatic chamber. *Acta Derm Venereol*. 1980;60(5):373-80.
- 30) Kaplan AP. Unusual cold-induced disorders: cold-dependent dermatographism and systemic cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1984 Apr;73(4):453-6.
- 31) Gandhi C, Healy C, Wanderer AA, Hoffman HM. Familial atypical cold urticaria: description of a new hereditary disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Dec;124(6):1245-50.
- 32) Hoffman HM, Wanderer AA, Broide DH. Familial cold autoinflammatory syndrome: phenotype and genotype of an autosomal dominant periodic fever. *J Allergy Clin Immunol*. 2001 Oct;108(4):615-20.
- 33) Bourdon H, Note sur l'urticaire intermittente. *Bull Mem Soc Med Hop Paris* 1866; 3:259–262.
- 34) Duke WW. Urticaria caused specifically by the action of physical agents. *JAMA* 1924;83:3-9.
- 35) Rose B, Studies on blood histamine in cases of allergy: blood histamine during wheal formation. *J Allergy* 1941;12:327–334.
- 36) Koeppel MC, Bertrand S, Abitan R, Signoret R, Sayag J. [Urticaria caused by cold. 104 cases]. *Ann Dermatol Venereol*. 1996;123(10):627-32.
- 37) Lin RY, Schwartz RA. Cold urticaria and HIV infection. *Br J Dermatol*. 1993 Oct;129(4):465-7.
- 38) Morais-Almeida M, Marinho S, Gaspar A, Arede C, Loureiro V, Rosado-Pinto J. Cold urticaria and infectious mononucleosis in children. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2004 Nov-Dec;32(6):368-71.
- 39) Kränke B, Mayr-Kanhäuser S, Aberer W. *Helicobacter pylori* in acquired cold urticaria. *Contact Dermatitis*. 2001 Jan;44(1):57-8.
- 40) Miralles Lopez JC, Lopez Andreu FR, Sanchez-Gascon F, Lopez Rodriguez C, Negro Alvarez JM. Cold urticaria associated with acute serologic toxoplasmosis. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2005 May-Jun;33(3):172-4.
- 41) Török L, Borka I, Szabó G. Waldenström's macroglobulinaemia presenting with cold urticaria and cold purpura. *Clin Exp Dermatol*. 1993 May;18(3):277-9.

- 42) Rawnsley HM, Shelley WB. Cold urticaria with cryoglobulinemia in a patient with chronic lymphocytic leukemia. *Arch Dermatol.* 1968 Jul;98(1):12-7.
- 43) Wanderer AA, Nuss DD, Tormey AD, Giclas PC. Urticarial leukocytoclastic vasculitis with cold urticaria. Report of a case and review of the literature. *Arch Dermatol.* 1983 Feb;119(2):145-51.
- 44) Ombrello MJ, Remmers EF, Sun G et al. Cold urticaria, immunodeficiency, and autoimmunity related to PLCG2 deletions. *N Engl J Med.* 2012 Jan 26;366(4):330-8.
- 45) Sibbald RG, Eady RA, Kobza-Black A, Greaves MW. Cold urticaria and complement C2 deficiency. *Br J Dermatol.* 1979 Jul;101 Suppl 17:45.
- 46) Kalogeromitros D, Gregoriou S, Papaioannou D, Mousatou V, Makris M, Katsarou-Katsari A. Acquired primary cold contact urticaria after Hymenoptera sting. *Clin Exp Dermatol.* 2004 Jan;29(1):93-5.
- 47) Chang TW. Cold Urticaria and Photosensitivity due to griseofulvin. *JAMA.* 1965 Sep 6;193:848-50.
- 48) Burns MR, Schoch DR, Grayzel AI. Cold urticaria and an oral contraceptive. *Ann Intern Med.* 1983 Jun;98(6):1025-6.
- 49) Doeglas HM, Rijnten WJ, Schröder FP, Schirm J. Cold urticaria and virus infections: a clinical and serological study in 39 patients. *Br J Dermatol.* 1986 Mar;114(3):311-8.
- 50) Barranco Sanz P, Lopez Serrano [Cold urticaria associated with serologic markers of hepatitis B and cryoglobulinemia]. *C.Allergol Immunopathol (Madr).* 1987 May-Jun;15(3):167-9.
- 51) Costanzi JJ, Coltman CA Jr. Kappa chain cold precipitable immunoglobulin G (IgG) associated with cold urticaria. I. Clinical observations. *Clin Exp Immunol.* 1967 Mar;2(2):167-78.
- 52) Costanzi JJ, Coltman CA Jr, Donaldson VH. Activation of complement by a monoclonal cryoglobulin associated with cold urticaria. *J Lab Clin Med.* 1969 Dec;74(6):902-10.
- 53) Koda H, Kanaide A, Asahi M, Urabe H. Essential IgG cryoglobulinemia with purpura and cold urticaria. *Arch Dermatol.* 1978 May;114(5):784-6.
- 54) Claudy A. Cold urticaria. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2001 Nov;6(2):141-2.
- 55) Stafford CT, Jamieson DM. Cold urticaria associated with C4 deficiency and elevated IgM. *Ann Allergy* 1986; 56:313–6.
- 56) Petit A, Schnitzler L, Lassoued K et al. Anti-lamin-B autoantibodies in a patient with cold urticaria. *Dermatology* 1992; 185: 143–5.

- 57) Nilsson T, Back O. On the role of the C1-esterase inhibitor in cold urticaria. *Acta Derm Venereol* 1984; 64:197–202.
- 58) Sherman WB, Seebohm PM. Passive transfer of cold urticaria. *J Allergy*. 1950 Sep;21(5):414-24.
- 59) Samsøe-Jensen T. Cold urticaria; report of a case: passive transfer and in vitro experiments with skin cells. *Acta Derm Venereol*. 1955;35(2):107-10.
- 60) Gruber BL, Baeza ML, Marchese MJ, Agnello V, Kaplan AP. Prevalence and functional role of anti-IgE autoantibodies in urticarial syndromes. *J Invest Dermatol*. 1988 Feb;90(2):213-7.
- 61) Wanderer AA, Maselli R, Ellis EF, Ishizaka K. Immunologic characterization of serum factors responsible for cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1971 Jul;48(1):13-22.
- 62) Boyce JA. Successful treatment of cold-induced urticaria/anaphylaxis with anti-IgE. *J Allergy Clin Immunol*. 2006 Jun;117(6):1415-8.
- 63) Wanderer AA. A potential new therapy for cold urticaria and chronic idiopathic urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Feb;119(2):517; author reply 517-8.
- 64) Sabroe RA, Fiebiger E, Francis DM, Maurer D, Seed PT, Grattan CE, Black AK, Stingl G, Greaves MW, Barr RM. Classification of anti-FcεRI and anti-IgE autoantibodies in chronic idiopathic urticaria and correlation with disease severity. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Sep;110(3):492-9.
- 65) Hide M, Francis DM, Grattan CE, Hakimi J, Kochan JP, Greaves MW. Autoantibodies against the high-affinity IgE receptor as a cause of histamine release in chronic urticaria. *N Engl J Med*. 1993 Jun 3;328(22):1599-604.
- 66) Hennino A, Bérard F, Guillot I, Saad N, Rozières A, Nicolas JF. *Clin Rev Allergy Immunol. Pathophysiology of urticaria*. 2006 Feb;30(1):3-11.
- 67) Perzanowska M, Malhotra D, Skinner SP, Rihoux JP, Bewley AP, Petersen LJ, Church MK. The effect of cetirizine and loratadine on codeine-induced histamine release in human skin in vivo assessed by cutaneous microdialysis. *Inflamm Res*. 1996 Sep;45(9):486-90.
- 68) Church MK, Clough GF. Human skin mast cells: in vitro and in vivo studies. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1999 Nov;83(5):471-5.
- 69) Wasserman SI, Ginsberg MH. Release of platelet factor 4 into the blood after cold challenge of patients with cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74:275–9.
- 70) Kaplan AP, Garofalo J, Sigler R, Hauber T. Idiopathic cold urticaria: in vitro demonstration of histamine release upon challenge of skin biopsies. *N Engl J Med*. 1981 Oct;305(18):1074-7.

- 71) Neittaanmäki H, Karjalainen S, Fräki JE, Kiistala U. Suction blister device with regulation of temperature: demonstration of histamine release and temperature change in cold urticaria. *Arch Dermatol Res.* 1984;276(5):317-21.
- 72) Grattan CE, Sabroe RA, Greaves MW. Chronic urticaria. *J Am Acad Dermatol.* 2002 May;46(5):645-57.
- 73) Toth-Kasa I, Jancso G, Obal F Jr, Husz S, Simon N. Involvement of sensory nerve endings in cold and heat urticaria. *J Invest Dermatol.* 1983 Jan;80(1):34-6.
- 74) Andersson T, Wardell K, C. Human in vivo cutaneous microdialysis: estimation of histamine release in cold urticaria. *Acta Derm Venereol.* 1995 Sep;75(5):343-7.
- 75) Grandel KE, Farr RS, Wanderer AA et al. Association of platelet-activating factor with primary acquired coldurticaria. *N Engl J Med* 1985;313:405–9.
- 76) Haas N, Schadendorf D, Henz BM. Differential endothelial adhesion molecule expression in early and late whealing reactions. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998 Mar;115(3):210-4.
- 77) Soter NA, Wasserman SI, Austen KF. Cold urticaria: release into the circulation of histamine and eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis during cold challenge. *N Engl J Med.* 1976 Mar 25;294(13):687-90.
- 78) Clough GF, Jackson CL, Lee JJ, Jamal SC, Church MK. What can microdialysis tell us about the temporal and spatial generation of cytokines in allergen-induced responses in human skin in vivo? *J Invest Dermatol.* 2007 Dec;127(12):2799-806.
- 79) Lee CE, Neuland ME, Teaford HG, Villacis BF, Dixon PS, Valtier S, Yeh CH, Fournier DC, Charlesworth EN. Interleukin-6 is released in the cutaneous response to allergen challenge in atopic individuals. *J Allergy Clin Immunol.* 1992 May;89(5):1010-20.
- 80) Teran LM, Carroll MP, Frew AJ, Redington AE, Davies DE, Lindley I, Howarth PH, Church MK, Holgate ST. Leukocyte recruitment after local endobronchial allergen challenge in asthma. Relationship to procedure and to airway interleukin-8 release. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996 Aug;154(2 Pt 1):469-76.
- 81) Hermes B, Prochazka AK, Haas N, Jurgovsky K, Sticherling M, Henz BM. Upregulation of TNF-alpha and IL-3 expression in lesional and uninvolved skin in different types of urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 1999 Feb;103(2 Pt 1):307-14.
- 82) Wanderer AA. Cold temperature challenges for acquired cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 May;115(5):1096; author reply 1097.
- 83) Siebenhaar F, Staubach P, Peltier effect-based temperature challenge: an improved method for diagnosing cold urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 2004 Nov;114(5):1224-5.

- 84) Mlynek A, Magerl M, Siebenhaar F, Weller K, Vieira Dos Santos R, Zuberbier T, Zalewska-Janowska A, Maurer M. Results and relevance of critical temperature threshold testing in patients with acquired cold urticaria. *Br J Dermatol*. 2010 Jan;162(1):198-200.
- 85) Krause K, Zuberbier T, Maurer M. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cold contact urticaria. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2010 Jul;10(4):243-9.
- 86) Di Leo E, Nettis E, Cassano N, Foti C, Delle Donne P, Vena GA, Vacca A. Treatment of acquired cold urticaria with rupatadine. *Allergy*. 2009 Sep;64(9):1387-8.
- 87) Dubertret L, Pecquet C, Murrieta-Aguttes M, Leynadier F. Mizolastine in primary acquired cold urticaria. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48:578–583.
- 88) Juhlin L, Vos C de, Rihoux JP. Inhibiting effect of cetirizine on histamine-induced and 48/80-induced wheals and flares, experimental dermographism, and cold-induced urticaria. *J Allergy Clin Immunol*. 1987;80:599–602.
- 89) Magerl M, Schmolke J, Siebenhaar F et al. Acquired cold urticaria symptoms can be safely prevented by ebastine. *Allergy*. 2007;62:1465–1468.
- 90) Metz M, Scholz E, Ferran M et al. Rupatadine and its effects on symptom control, stimulation time, and temperature thresholds in acquired cold urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2010;104:86–92.
- 91) Weller K, Maurer M. Desloratadine inhibits human skin mast cell activation and histamine release. *J Invest Dermatol*. 2009 Nov;129(11):2723-6.
- 92) Assanasen P, Naclerio RM. Antiallergic anti-inflammatory effects of H1-antihistamines in humans. *Clin Allergy Immunol*. 2002;17:101-39.
- 93) Church MK, Collinson AD, Okayama Y. H1-receptor antagonists: antiallergic effects in vitro. In: Simons FER, ed. *Histamine and H1-Receptor Antagonists in Allergic Disease*, Chap. 5. New York: Dekker. 1996; 117–144.
- 94) Hausteil UF, Kirchhof B. [Treatment of acquired cold urticaria with ketotifen]. *Dermatol Monatsschr*. 1984;170(8):536-7.
- 95) St-Pierre JP, Kobric M, Rackham A. Effect of ketotifen treatment on cold-induced urticaria. *Ann Allergy*. 1985 Dec;55(6):840-3.
- 96) Wanderer AA, St Pierre JP, Ellis EF. Primary acquired cold urticaria. Double-blind comparative study of treatment with cyproheptadine, chlorpheniramine, and placebo. *Arch Dermatol*. 1977 Oct;113(10):1375-7.
- 97) Bonadonna P, Lombardi C, Senna G et al. Treatment of acquired cold urticaria with cetirizine and zafirlukast in combination. *J Am Acad Dermatol*. 2003; 49:714–716.

- 98) Di Lorenzo G, Pacor ML, Mansueto P, Esposito-Pellitteri M, Ditta V, Lo Bianco C, Leto-Barone MS, Di Fede G, Rini GB. Is there a role for antileukotrienes in urticaria? *Clin Exp Dermatol.* 2006 May;31(3):327-34.
- 99) Hani N, Hartmann K, Casper C, Peters T, Schneider LA, Hunzelmann N, Scharffetter-Kochanek K. Improvement of cold urticaria by treatment with the leukotriene receptor antagonist montelukast. *Acta Derm Venereol.* 2000 May;80(3):229.
- 100) Black AK, Eady RA, Greaves MW, Keahey TM, Sibbald G. Treatment of acquired cold urticaria by prednisone: dissociation of histamine release and clinical improvement [proceedings]. *Br J Clin Pharmacol.* 1980 Jan;9(1):116P-117P.
- 101) Marsland AM, Beck MH. Cold urticaria responding to systemic ciclosporin. *Br J Dermatol.* 2003;149:214–215.
- 102) Metz, M., Altrichter, S., Ardelean, E., Keßler, B., Krause, K., Magerl, M., Siebenhaar, F., Weller, K., Zuberbier, T., and Maurer, M.: Anti-IgE treatment of patients with recalcitrant physical urticaria. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011;154:177-180.
- 103) Bodar EJ, Simon A, de Visser M, van der Meer JW. Complete remission of severe idiopathic cold urticaria on interleukin-1 receptor antagonist (anakinra). *Neth J Med.* 2009 Oct;67(9):302-5.
- 104) Raap U, Liekenbrocker T, Wieczorek D et al. New therapeutic strategies for the different subtypes of urticaria. *Hautarzt.* 2004;55:361–366
- 105) Liebeskind H, Schwarze G. [Penicillin therapy in cold contact urticaria]. *Hautarzt.* 1974 Oct;25(10):482-5.
- 106) Black AK, Sibbald RG, Greaves MW. Cold urticaria treated by induction of tolerance. *Lancet.* 1979 Nov;2(8149):964.
- 107) Mackensen YA von, Sticherling M. Cold urticaria: tolerance induction with cold baths. *Br J Dermatol.* 2007;157:835–836
- 108) Jauregui I, Garcia-Lirio E, Soriano AM, Gamboa PM, Antapara I. An overview of the novel H1-antihistamine bilastine in allergic rhinitis and urticaria. *Expert Rev Clin Immunol.* 2012 Jan;8(1):33-41.
- 109) Corcostegui R, Labeaga L, Innerarity A, Berisa A, Orjales A. Preclinical pharmacology of bilastine, a new selective histamine H1 receptor antagonist: receptor selectivity and in vitro antihistaminic activity. *Drugs R D.* 2005;6(6):371-84.
- 110) Corcostegui R, Labeaga L, Innerarity A, Berisa A, Orjales A. In vivo pharmacological characterisation of bilastine, a potent and selective histamine H1 receptor antagonist. *Drugs R D.* 2006;7(4):219-31.
- 111) Church MK. Safety and efficacy of bilastine: a new H(1)-antihistamine for the

- treatment of allergic rhinoconjunctivitis and urticaria. *Expert Opin Drug Saf.* 2011 Sep;10(5):779-93.
- 112) Lucero ML, Gonzalo A, Mumford R, Betanzos M, Alejandro A. An overview of bilastine metabolism during preclinical investigations. *Drug Chem Toxicol.* 2012 Jun;35 Suppl 1:18-24.
- 113) Conen S, Theunissen EL, Van Oers AC, Valiente R, Ramaekers JG.J Acute and subchronic effects of bilastine (20 and 40 mg) and hydroxyzine (50 mg) on actual driving performance in healthy volunteers. *Psychopharmacol.* 2011 Nov;25(11):1517-23.
- 114) Zuberbier T, Oanta A, Bogacka E, Medina I, Wesel F, Uhl P, Antépara I, Jáuregui Comparison of the efficacy and safety of bilastine 20 mg vs levocetirizine 5 mg for the treatment of chronic idiopathic urticaria: a multi-centre, double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Allergy.* 2010 Apr;65(4):516-28.
- 115) Horak F, Zieglmayer P, Zieglmayer R, Lemell P. The effects of bilastine compared with cetirizine, fexofenadine, and placebo on allergen-induced nasal and ocular symptoms in patients exposed to aeroallergen in the Vienna Challenge Chamber. *Inflamm Res.* 2010 May;59(5):391-8.
- 116) Kuna P, Bachert C, Nowacki Z, van Cauwenberge P, Agache I, Fouquert L, Roger A, Sologuren A, Valiente R; Bilastine International Working Group.) Efficacy and safety of bilastine 20 mg compared with cetirizine 10 mg and placebo for the symptomatic treatment of seasonal allergic rhinitis: a randomized, double-blind, parallel-group study. *Clin Exp Allergy.* 2009 Sep;39(9):1338-47.
- 117) Bachert C, Kuna P, Sanquer F, Ivan P, Dimitrov V, Gorina MM, van de Heyning P, Loureiro A; Bilastine International Working Group. Comparison of the efficacy and safety of bilastine 20 mg vs desloratadine 5 mg in seasonal allergic rhinitis patients. *Allergy.* 2009 Jan;64(1):158-65.
- 118) Gottlob A, Abels C, Landthaler M, Szeimies RM. [Cutaneous microdialysis. Use in dermatology]. *Hautarzt.* 2002 Mar;53(3):174-8.
- 119) Bito L, Davson H, Levin E, Murray M, Snider N. The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, in vivo dialysate of brain, and blood plasma of the dog. *J Neurochem.* 1966 Nov;13(11):1057-67.
- 120) Clough GF. Microdialysis of large molecules. *AAPS J.* 2005 Oct 26;7(3):E686-92.
- 121) Anderson C, Andersson T, Molander M. Ethanol absorption across human skin measured by in vivo microdialysis technique. *Acta Derm Venereol* 1991 71:389–393
- 122) Clough GF, Church MK. Vascular responses in the skin: an accessible model of inflammation. *News Physiol Sci.* 2002 Aug;17:170-4.
- 123) Stenken JA, Church MK, Gill CA, Clough GF. How minimally invasive is microdialysis sampling? A cautionary note for cytokine collection in human skin and

other clinical studies. *AAPS J.* 2010 Mar;12(1):73-8.

124) Carter NJ. Bilastine: in allergic rhinitis and urticaria. *Drugs.* 2012 Jun;72(9):1257-69.

125) Church MK. Comparative inhibition by bilastine and cetirizine of histamine-induced wheal and flare responses in humans. *Inflamm Res.* 2011 Dec;60(12):1107-12.

126) Petersen LJ, Church MK, Skov PS. Histamine is released in the wheal but not the flare following challenge of human skin in vivo: a microdialysis study. *Clin Exp Allergy.* 1997 Mar;27(3):284-95.

127) Clough GF, Bennett AR, Church MK. Effects of H1 antagonists on the cutaneous vascular response to histamine and bradykinin: a study using scanning laser Doppler imaging. *Br J Dermatol.* 1998 May;138(5):806-14.

128) Ring J, Hein R, Gauger A, Bronsky E, Miller B. Once-daily desloratadine improves the signs and symptoms of chronic idiopathic urticaria: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Int J Dermatol.* 2001 Jan;40(1):72-6.

129) Yosipovitch G, Ansari N, Goon A, Chan YH, Goh CL. Clinical characteristics of pruritus in chronic idiopathic urticaria. *Br J Dermatol.* 2002 Jul;147(1):32-6.

130) Nuutinen P, Harvima IT, Ackermann L. Histamine, but not leukotriene C4, is an essential mediator in cold urticaria wheals. *Acta Derm Venereol.* 2007;87(1):9-13.

131) Okayama Y, Benyon RC, Lowman MA, Church MK. In vitro effects of H1-antihistamines on histamine and PGD2 release from mast cells of human lung, tonsil, and skin. *Allergy.* 1994 Apr;49(4):246-53.

132) Baroody FM, Naclerio RM. Antiallergic effects of H1-receptor antagonists. *Allergy.* 2000;55 Suppl 64:17-27.

133) Charlesworth EN, Massey WA, Kagey-Sobotka A, Norman PS, Lichtenstein LM. Effect of H1 receptor blockade on the early and late response to cutaneous allergen challenge. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992 Sep;262(3):964-70.

134) Roquet A, Raud J, Hallden G, van Hage-Hamsten M, Hed J, Hansson LO, Zetterström O, Grönneberg R. Effects of loratadine on anti-IgE-induced inflammation, histamine release, and leukocyte recruitment in skin of atopics. *Allergy.* 1995 May;50(5):414-20.

135) Kleinjan A, McEuen AR, Dijkstra MD, Buckley MG, Walls AF, Fokkens WJ. Basophil and eosinophil accumulation and mast cell degranulation in the nasal mucosa of patients with hay fever after local allergen provocation. *J Allergy Clin Immunol.* 2000 Oct;106(4):677-86.

136) Macfarlane AJ, Kon OM, Smith SJ, Zeibecoglou K, Khan LN, Barata LT, McEuen

AR, Buckley MG, Walls AF, Meng Q, Humbert M, Barnes NC, Robinson DS, Ying S, Kay AB. Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in late-phase allergic reactions in the lung and skin. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Jan;105(1 Pt 1):99-107.

137) Bacon AS, Ahluwalia P, Irani AM, Schwartz LB, Holgate ST, Church MK, McGill JI. *J Allergy Clin Immunol*. Tear and conjunctival changes during the allergen-induced early- and late-phase responses. 2000 Nov;106(5):948-54.

138) Haas N, Toppe E, Henz BM. Microscopic morphology of different types of urticaria. *Arch Dermatol*. 1998 Jan;134(1):41-6.

139) Harada A, Sekido N, Akahoshi T, Wada T, Mukaida N, Matsushima K. Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. *Journal of Leukocyte Biology* 1994 Nov;56(5):559-64.

140) Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 May;88(10):4220-4.

6. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
AE	Adverse event (unerwünschtes Ereignis)
AH	Antihistaminikum
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BL	Bilastin
BUCUM	Bilastine Up-dosing and Characterization of Underlying Mechanisms
CAPS	Cryopyrin associated periodic syndrome (Cryopyrin assoziierte periodische Syndrome)
CFR	Case report Form (Prüfbogen)
cm	Zentimeter
CST	Cold Stimulation Test (Kälteprovokationstest)
CSTT	Critical Stimulation Time Thresholds (Schwellenzeit)
CSU	chronisch spontane Urtikaria
CTT	Critical Temperature Thresholds (Schwellentemperatur)
CYP450	Cytochrom P450
EAACI	European Academy of Allergology and Clinical Immunology
EDF	European Dermatology Forum
EKG	Elektrokardiogramm
EudraCT	European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trial
FACS	Familial Cold Auto-inflammatory Syndrome
GA ² LEN	Global Allergy and Asthma European Network
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	hour (Stunde)
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IgE	Immunglobulin E

IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL	Interleukin
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
kg	Kilogramm
KKS	Kompetenzzentrum für Klinische Studien
KKU	Kältekontakturtikaria
mg	Milligramm
min	Minute
MZ	Mastzelle
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
nsAH	nicht-sedierendes Antihistaminikum
PAF	plättchenaktivierender Faktor
pg	Pikogramm
PUVA	Psoralen-aktivierte UV-A
SAE	Serious adverse event (schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis)
SAR	Saisonale allergische Rhinitis
SEM	Standard Error of the Mean (Standardfehler des arithmetischen Mittels)
SOP	Standard Operating Procedure (Standardvorgehensweise)
Tab.	Tabelle
TNF α	Tumor necrosis factor α
UV	Ultraviolett
V	Visit (Studiensite)
WAO	World Allergy Organization
γ -GT	γ -Glutamyltransferase
β -HCG	β -humanes Choriongonadotropin
μ m	Mikrometer
μ g	Mikrogramm

7. Anhang

7.1 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Adrian Spohr, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Experimenteller Nachweis der Symptomreduktion bei Patienten mit Kältekontakturtikaria durch Dosissteigerung von Bilastin.“ 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

7.2 **Lebenslauf**

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

7.3 Publikationsliste

Originalarbeiten

Krause K, Spohr A, Zuberbier T, Church MK, Maurer M. Up-dosing with bilastine results in improved effectiveness in cold contact urticaria. *Allergy*. 2013 Jul;68(7):921-8. doi: 10.1111/all.12171. Epub 2013 Jun 6.

Kongressbeiträge und Posterpräsentationen

Krause K, Spohr A, Zuberbier T, Church MK, Maurer M. High-dose bilastine effectively reduces temperature thresholds in cold contact urticaria. 4th International Consensus Meeting on Urticaria 2012. Berlin, November 2012

7.4 Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen bedanken, die zum Gelingen der vorliegenden Arbeit Beitrag geleistet haben.

Mein Dank gilt im Besonderen Prof. Dr. med. M. Mauer für die Überlassung des Themas sowie für seine beispielhafte Betreuung und konstruktive Beratung.

Zudem möchte ich mich herzlich bei Dr. med. K. Krause für ihre freundschaftliche Unterstützung und stetige Ansprechbarkeit für inhaltliche und organisatorische Fragen bedanken.

Ausdrücklich bedanken möchte ich mich zudem bei der gesamten Arbeitsgruppe. Martin Church gilt meine Dankbarkeit für seine wertvolle fachliche Unterstützung und Prof. Dr. rer. nat. P. Martus bezüglich der Unterstützung bei der statistischen Auswertung. Namentlich will ich mich auch bei Hesna Gözlükaya und Nikki Rooks bedanken sowie bei Marina Fröhlich.

Zuletzt bin ich meiner Familie und meinen Freunden für deren Hilfe und moralischen Beistand sehr verbunden.