

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

DISSERTATION

**Pathogenese und Prävention
der Anthrazyklin-induzierten PPE**

Eine prospektive Studie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Anja Rebecca Martschick
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr.-Ing. J. Lademann
2. Prof. Dr. med. P. Elsner
3. Prof. Dr. med. H. Tronnier

Datum der Promotion: 16.05.2010

Für Regina Martschick

Inhalt

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	8
1 Einleitung.....	9
1.1 Anthrazykline.....	10
1.2 Chemie und Wirkungsmechanismus der Anthrazykline.....	10
1.2.1 Generation freier Radikale.....	11
1.3 PEG-yliertes liposomales Doxorubicin (PLD).....	11
1.3.1 Chemie und liposomale Verkapselung.....	11
1.3.2 Pharmakokinetik.....	12
1.3.3 Indikationen und Toxizität.....	13
1.4 Epirubicin.....	14
1.4.1 Chemie und Pharmakokinetik.....	14
1.4.2 Indikationen und Toxizität.....	14
1.5 Nebenwirkungen an der Haut unter Chemotherapie.....	14
1.6 Palmar-plantare Erythrodysesthesie (PPE).....	15
1.6.1 Ätiologie und Inzidenz.....	15
1.6.2 Das klinische Bild.....	16
1.6.3 Einteilung.....	17
1.6.4 Pathophysiologische Betrachtungen.....	18
1.6.5 Therapie.....	18
1.7 Anatomischer Aufbau und Funktion der Haut.....	19
1.7.1 Epidermis.....	19
1.7.2 Dermis und Subcutis.....	20
1.7.3 Die Schweißdrüsen.....	20
1.7.4 Topographische Unterschiede.....	21
1.8 Antioxidantien in der Haut.....	22
1.9 Prinzipien der Penetration.....	22
1.10 Schweißdrüsen als Penetrationswege.....	23
1.11 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit.....	23
2 Material und Methoden.....	25
2.1 Substanzen.....	25

2.1.1	Pegyliertes liposomales Doxorubicin (Handelsname: Caelyx®).....	25
2.1.2	Epirubicin.....	27
2.1.3	Natriumfluoreszein.....	27
2.2	Studiendesign A : In-vivo Nachweis von Anthrazyklinen in der Haut.....	28
2.2.1	Patienten und Probanden.....	28
2.2.1.1	Gruppe I: Therapie mit pegyliertem liposomalem Doxorubicin (PLD).....	28
2.2.1.2	Gruppe II: Therapie mit Epirubicin.....	29
2.2.2	Methoden und Versuchsdurchführung.....	30
2.2.2.1	Das konfokale Laser-Scan-Mikroskop.....	30
2.2.2.2	Versuchsdurchführung.....	32
2.2.2.3	Bildbearbeitung.....	33
2.3	Studiendesign B.....	33
2.3.1	Patienten und Probanden.....	33
2.3.2	Methoden und Versuchsdurchführung.....	34
2.3.2.1	Applikation von Cool-packs vor intravenöser Infusion-Messung mit dem LSM.....	34
2.3.2.2	Applikation von Aluminiumchloridhexahydrat vor intravenöser Infusion-Messung mit dem LSM.....	34
2.3.2.3	Topische Applikation einer antioxidantienhaltigen Creme vor Beginn der intravenösen Chemotherapie-Messung von freien Radikalen in der Haut mit Hilfe der Raman-Spektroskopie.....	35
2.3.2.4	β -Karotin und Lycopin.....	36
2.4	Statistische Auswertung.....	37
3	Ergebnisse.....	38
3.1	In- vivo Nachweis von pegyliertem liposomalem Doxorubicin und Epirubicin in der Haut mit der Laser-Scan-Mikroskopie.....	38
3.1.1	Visuelle Darstellung der Hautschichten mittels LSM nach Applikation von Natriumfluorescein.....	38
3.1.2	Fluoreszenz von Anthrazyklinen bei Luftkontakt.....	40
3.1.3	Visuelle Darstellung der Haut nach intravenöser Infusion von Anthrazyklinen.....	40
3.1.3.1	Das Stratum corneum.....	40
3.1.3.2	Hautfurchen und Falten.....	42

3.1.3.3	Die Schweißdrüsen: der Penetrationsweg.....	43
3.1.4	Tiefenlokalisierung.....	44
3.1.5	Visuelle Darstellung der Haut nach Anthrazyklingabe an unterschiedlichen Körperregionen.....	47
3.1.5.1	Achsel, Stirn und Unterarm.....	47
3.1.5.2	Hand und Fuß.....	49
3.1.6	Nachweis der Anthrazykline in der Haut nach i.v. Infusion.....	50
3.1.7	Erster Nachweis von PLD in der Haut nach Infusionsbeginn an den verschiedenen Körperstellen.....	51
3.1.8	Erster Nachweis von Epirubicin in der Haut nach Infusionsbeginn an den verschiedenen Körperstellen.....	52
3.1.9	Erster Nachweis von Epirubicin im Vergleich zu PLD in der Haut nach Infusionsbeginn.....	53
3.1.10	Detektion von Anthrazyklinen an verschiedenen Körperregionen.....	54
3.1.11	Häufigkeit des Nachweises von PLD an verschiedenen Körperstellen.....	54
3.1.12	Häufigkeit des Nachweises von Epirubicin an verschiedenen Körperstellen.....	55
3.1.13	Häufigkeit der Fluoreszenz von Epirubicin im Vergleich zu PLD.....	55
3.2	Studiendesign B Entwicklung möglicher Präventionsstrategien gegen die PPE.....	56
3.2.1	Maßnahmen zur Verhinderung der Schweißproduktion.....	57
3.2.1.1	Verminderung der Schweißproduktion durch Kühlelemente.....	57
3.2.1.2	Blockade der Schweißsekretion durch Anwendung von Antiperspirantien.....	58
3.2.2	Nachweis von freien Radikalen in der Haut durch Konzentrationsbestimmung von β -Karotin und Lycopin.....	59
3.2.3	Konzentration von β - Karotin und Lycopin in der Haut unter systemischer Therapie mit liposomalem Doxorubicin.....	60
3.2.4	Konzentration von β -Karotin und Lycopin in der Haut bei gesunden Probanden ohne Einnahme von Medikamenten.....	62
3.2.5	Konzentration von Karotinoiden in der Haut während Infusion von PLD im Vergleich zu gesunder Haut.....	63
4	Diskussion.....	64
4.1	Pathogenese der Anthrazyklin induzierten PPE.....	64
4.1.1	Darstellung der Hautschichten mittels LSM nach Applikation von Natriumfluorescein.....	64

4.1.2	In-vivo Nachweis von PLD und Epirubicin in der Haut mittels der Laser-Scan-Mikroskopie	65
4.1.3	Die visuelle Darstellung der Haut durch Fluoreszenz der Anthrazykline.....	66
4.1.4	Der Penetrationsweg: Die Schweißdrüse	67
4.1.5	Visuelle Darstellung der Haut nach Anthrazyklininfusion an unterschiedlichen Körperregionen.....	69
4.1.6	Mögliche Penetrationswege der Anthrazykline durch die Haut.....	70
4.1.7	Zeitpunkt des ersten Fluoreszenznachweises durch Anthrazykline an verschiedenen Körperstellen	71
4.1.8	Häufigkeit einer Fluoreszenz an unterschiedlichen Körperregionen	71
4.1.9	Unterschiede zwischen Epirubicin und pegyliertem Doxorubicin in den vorliegenden Untersuchungen	72
4.2	Präventive Behandlungsmaßnahmen gegen die PPE	72
4.2.1	Hemmung der Substanzsekretion mit dem Schweiß.....	73
4.2.2	Anwendung von Kühlelementen	73
4.2.3	Anwendung von Antiperspirantien	74
4.2.4	Indirekter Nachweis freier Radikale mit der Raman-Spektroskopie	75
4.3	Therapieoption durch topische Antioxidantien	76
5	Zusammenfassung.....	78
6	Literatur	82
	Danksagung.....	87
	Publikationsliste	88
	Lebenslauf	89
	Eidesstattliche Erklärung	90

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
d	Tag
d. h.	das heißt
i. v.	intravenös
LSM	Laser-Scan-Mikroskop(-ie)
m	männlich
M	Fernmetastasierung
µm	Mikrometer
MW	Mittelwert
nm	Nanometer
PLD	pegyliertes liposomales Doxorubicin
PPE	palmar-plantare Erythrodysesthesie
N	Nodalstatus
pT	Tumorgröße
q	Intervall
R.E.	relative Einheiten
s	Sekunden
SC	Stratum corneum
SDD	Schweißdrüsendichte
STABW	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
u. a.	unter anderem
v. a.	vor allem
w	weiblich
z. B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Pro Jahr erkranken über 400.000 Menschen in Deutschland an Krebs. Zu den Behandlungsmethoden gehören neben Operationen und Strahlentherapie vor allem die Chemotherapie mit zytotoxischen Substanzen. Der Kampf gegen die Krankheit steht an erster Stelle in der Medizin. Die erheblichen Nebenwirkungen, die durch die zytotoxische Wirkung von Chemotherapeutika hervorgerufen werden, finden hierbei nur untergeordnete Bedeutung, obwohl sie häufig Ursache sind, weshalb sich ein Patient gegen eine Behandlung entscheidet oder diese nicht mehr fortführen kann.

So treten bei der Therapie mit verschiedenen Zytostatika Nebenwirkungen an der Haut auf, die zu Therapieabbruch und weiteren konsekutiven, medizinischen Maßnahmen führen können.

Unter der Therapie mit Anthrazyklinen ist die Palmar-plantare Erythrodysesthesie (PPE) eine häufige Nebenwirkung. Die PPE ist eine erythematöse Hautveränderung an Hand- und Fußflächen. Die genauen pathophysiologischen Abläufe sind bisher nicht bekannt. Die Präventionsmöglichkeiten sind ungenügend und die Therapie besteht hauptsächlich in einer Modifikation von Dosis und Intervall der Chemotherapie, die jedoch die effiziente Behandlung des Tumors beeinflussen kann. Vor allem unter dem Gesichtspunkt der palliativen Chemotherapie sind Hautnebenwirkungen an der Minderung der Lebensqualität maßgeblich beteiligt. Bei Behandlung der PPE ist die Aufklärung der pathogenetischen Zusammenhänge für dieses Ziel grundlegend.

Daher wurde eine prospektive Studie an einem Kollektiv von 12 Patientinnen mit gynäkologischen Malignomen durchgeführt. Mit einem dermatologischen Laser-Scan-Mikroskop wurde die Haut von Patienten unter der Therapie mit Anthrazyklinen untersucht um Aufschlüsse über pathogenetische Mechanismen zu erlangen.

In einer anschließenden prospektiven Studie wurden verschiedene Präventionsstrategien gegen die PPE entworfen und an einem Kollektiv von 4 Patienten unter der Therapie mit Anthrazyklinen und 2 gesunden Probanden analysiert.

1.1 Anthrazykline

Daunorubicin, Doxorubicin und Epirubicin gehören zu den wichtigsten Vertretern dieser Substanzklasse, die aus verschiedenen Spezies von Streptomyces isoliert wurden [1]. Als erste Vertreter der Anthrazykline wurden 1960 Doxorubicin und Daunorubicin eingeführt. Da die Therapie jedoch durch Nebenwirkungen wie z. B. Myelo- und Kardiotoxizität [2] limitiert ist, wurden weitere Derivate entwickelt. Es folgten 1984 Epirubicin und 1995 pegyliertes liposomales Doxorubicin (Caelyx®) in der Absicht, die unerwünschten Wirkungen zu vermindern und die antitumorale Aktivität beizubehalten.

1.2 Chemie und Wirkungsmechanismus der Anthrazykline

Charakteristisch für alle Anthrazykline sind das vom Naphthacen abgeleitete Ringsystem sowie der am gesättigten Ring alpha-glykosidisch verknüpfte Aminosucker. Die hydrophobe Region (Anthrachinon) ist koplanar und die hydrophile Region (protonierter Aminosucker, OH-Gruppe) steht gewinkelt ab [2]. Die Unterschiede zwischen den Substanzen dieser Wirkstoffgruppe liegen in der Natur der Seitenketten oder der Stereochemie des Zuckerrests. Doxorubicin und Epirubicin sind Diastereomere und unterscheiden sich chemisch nur durch eine unterschiedliche Konfiguration am Aminosucker in Stellung 4. Durch diese unterschiedliche Konfiguration entstehen jedoch große Unterschiede in Pharmakokinetik, Toxizität und Metabolismus. [2]

Die zytotoxische Wirkung der Substanzen findet v. a. in der S-Phase des Zellzyklus statt und beruht auf verschiedenen Mechanismen:

- Interkalation in die DNA und somit Hemmung der DNA- und RNA- Synthese [3], [4]
- Hemmung der Topoisomerase II, die bei der Gestaltung superhelikaler Windungen in der DNS Hydrolyse und Wiederverknüpfung durchführt; dadurch Induktion von Doppelstrangbrüchen in der DNA [5].
- Bildung freier Sauerstoffradikale, die Doppelstrangbrüche hervorrufen [6].

Bisher wurden nicht alle Wirkungs- und Schädigungsmechanismen bis ins Detail aufgeklärt.

1.2.1 Generation freier Radikale

Intermediär auftretende Anthrazyklin-, Semichinon- und Sauerstoff-Radikale reagieren mit zellulären Makromolekülen und führen zur Schädigung von DNA, Enzymen und Membranen [7], [8]. Es werden verschiedene Möglichkeiten und chemische Reaktionsabläufe diskutiert, bei denen Hydroxylradikale generiert werden [9]. So können Strangbrüche durch eine Reaktion der Anthrazykline mit dem Enzym Topoisomerase II induziert werden. Das Enzym unterstützt die DNA-Spaltung und Recyclisierung [10]. Ein weiterer Mechanismus ist die Generierung von Hydroxylradikalen (HO), die ihrerseits ebenfalls Strangbrüche induzieren [9].

Diese Mechanismen bedingen Wirkung und Nebenwirkungen der Anthrazykline. Die Kardiotoxizität der Anthrazykline wurde schon vielfach mit der Entstehung von freien Radikalen in Zusammenhang gebracht [11], [12], [13]. Bei der Extravasation von Anthrazyklinen in Haut und Fettgewebe können schwere Ulzerationen entstehen. Auch hierbei wurden freie Radikale detektiert [14], [15], [16]. So zeigten Averbuch et al. einen Zusammenhang zwischen der Anthrazyklin induzierten Hautschädigung durch freie Radikale an Schweinehaut [15].

Zur Vermeidung der chemischen Reaktionsketten kommen Radikalfänger oder auch Eisen-chelatisierende Verbindungen in Betracht. Seit Jahren werden verschiedenen Radikalfänger hinsichtlich einer Wirksamkeit bei den Anthrazyklin induzierten Paravasaten evaluiert. Substanzen die einen nachweisbaren Erfolg zeigten sind z. B. DMSO [17], [18], Pentoxifyllin [16] oder Alpha-tocopherol [17].

1.3 PEG-yliertes liposomales Doxorubicin (PLD)

1.3.1 Chemie und liposomale Verkapselung

In Cealyx® ist der Wirkstoff Doxorubicin in PEG- (Polyethylenglycol) Liposomen sogenannten Stealth®- (Stealth = engl. verborgen) Liposomen eingeschlossen. Sie besitzen an ihrer Oberfläche Methoxypolyethylenglykol (MPEG)- Ketten (Abb.1.2). Dadurch geschützt vor der Erkennung durch das Monozyten-Makrophagen-System zirkulieren die Liposomen lange im Blut [19].

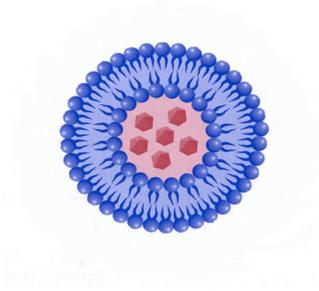


Abb. 1.1: konventionelles Liposom

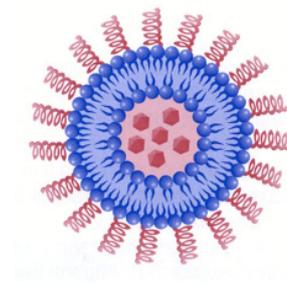


Abb. 1.2: PEG- Liposom

Bei einem mittleren Durchmesser von ca. 85-100 nm [20] können sie durch größere Endothellücken der neugebildeten Tumorkapillaren extravasieren die bis zu 400 nm groß sein können [21]. Durch physikalische und chemische Vorgänge, die nicht genau bekannt sind wird der Wirkstoff freigesetzt.

Durch die Verkapselung des Wirkstoffes Doxorubicin in pegylierte Liposomen wurden Pharmakokinetik und Toxizität deutlich beeinflusst. Besonders Hautnebenwirkungen treten öfter unter der Therapie mit der pegylierten Darreichungsform auf.

1.3.2 Pharmakokinetik

Die Pharmakokinetik von PEG-ylertem liposomalem Doxorubicin (PLD) wurde im Plasma in verschiedenen Studien untersucht und unterscheidet sich von der Kinetik der unverkapselten Form.

Schüller et al. [22] zeigten den Unterschied zwischen Doxorubicin und PLD in einer Vergleichsstudie. Die beiden Substanzen wurden mit gleicher Dosierung (50mg/m²) verabreicht und die Parameter bis zu 3 Wochen nach Verabreichung bestimmt. PLD wies nach 24 h eine 67-mal größere AUC auf als konventionelles Doxorubicin. Es besitzt ein geringes Verteilungsvolumen und bleibt überwiegend auf das vaskuläre Kompartiment beschränkt. Die Eliminationskinetik spricht für eine kontinuierliche Abgabe des liposomalen Wirkstoffes aus dem Blut.

Ferner führten Schüller et al. [22] eine Langzeitbeobachtung über weitere 3 Wochen nach einmaliger Infusion von PLD durch. Die Plasmakonzentration von PLD war 1 Woche nach Verabreichung noch annähernd so hoch wie der C_{max}-Wert nach Infusion von freiem Doxorubicin. Bei Betrachtung aller pharmakokinetischen Parameter in den Studien ist eine große Varianz zwischen den Individuen deutlich.

Die veränderte Pharmakokinetik von PLD steht mit der Hauttoxizität in engem Zusammenhang. Lyass et al. zeigte den Zusammenhang zwischen der längeren Halbwertszeit von PLD und erhöhter Hauttoxizität bei einer Untersuchung an Mammakarzinompatientinnen [23]. Auch Amantea et al. zeigten an einer Studie mit Hunden die direkte Korrelation zwischen verschiedenen pharmakokinetischen Parametern und der ausgelösten Hauttoxizität unter Therapie mit PLD [24]. Wie sich die Gewebeverteilung in der menschlichen Haut während Anthrazyklin-Infusion verhält, wurde bislang nicht untersucht.

1.3.3 Indikationen und Toxizität

PLD ist bei folgenden Indikationen zugelassen und wird dort erfolgreich eingesetzt:

- metastasierendes Mammakarzinom mit erhöhtem kardialen Risiko [20];
- fortgeschrittenes Ovarialkarzinom nach Versagen einer platinhaltigen First-Line-Chemotherapie [20];
- bei AIDS - assoziierten Kaposi-Sarkom (KS) mit niedrigen CD4-Werten und mukocutanem und viszeralem Befall [20]

Überempfindlichkeitsreaktionen, Stomatitis und die PPE sind häufige Nebenwirkungen, die in unterschiedlicher Prozentzahl je nach Dosis und Dosierungsintervall auftreten [20], [25]. Durch die liposomale Verkapselung werden bekannte Nebenwirkungen des unverkapselten Doxorubicin erheblich reduziert. Dazu gehören z. B. eine Verringerung der Kardio- und Myelotoxizität sowie von Übelkeit und Erbrechen [25]. Als eine der häufigsten Nebenwirkungen von pegyliertem Doxorubicin trat die PPE in klinischen Studien zum Mamma- und Ovarialkarzinom (Dosis: 50 mg/m²) auf. 44-46% der Patienten waren betroffen. Eine schwere PPE entwickelten 17-19,5 % der Patienten und ein Therapieabbruch erfolgte bei 3,7-7 % [20].

1.4 Epirubicin

1.4.1 Chemie und Pharmakokinetik

Epirubicin ist ein Epimer von Doxorubicinon, das sich strukturell nur geringfügig von diesem unterscheidet [2]. Nach i. v. Applikation zeigt Epirubicin eine schnelle initiale Verteilung (3-4 min) und eine langsame terminale Eliminationsphase (18-45 h) [1]. Die Halbwertszeit beträgt ca. 40 Stunden. Die Elimination erfolgt bei Epirubicin durch die 4'-O-Glucuronidierung schneller als bei Doxorubicin.

1.4.2 Indikationen und Toxizität

Epirubicin wird in Mono- oder Polychemotherapien bei folgenden Tumoren eingesetzt: Mammakarzinom, maligne Lymphome, Weichteilsarkome, Magenkarzinom, Bronchialkarzinom und Ovarialkarzinom [1]. Die empfohlene Dosis beträgt meist 75-90 mg/m² i. v. in einem Intervall von 21 Tagen.

Die häufigsten Nebenwirkungen (neben Knochenmarksdepression und GIT-Beschwerden) unter einer Therapie mit Epirubicin sind [2]:

Kardiotoxizität (Kardiomyopathie, Arrhythmien)

Haut (reversible Alopezie, Hautüberpigmentierung, Fotosensibilität)

Während die Toxizität von beiden Substanzen in Zellversuchen ähnlich war, ist die Gesamttoxizität bei der Anwendung an Menschen bei Epirubicin geringer ausgeprägt [26]. Sowohl Kardiotoxizität als auch allgemeine Hauttoxizität werden seltener beobachtet. Eine Ursache könnte die schnellere Metabolisierung und Eliminierung sein [27], [28].

1.5 Nebenwirkungen an der Haut unter Chemotherapie

Die durch Zystostatika hervorgerufenen Hautreaktionen können aufgrund des auslösenden Agens, des klinischen Bildes und histopathologischer Veränderungen klassifiziert werden.

Fitzpatrick et al. teilt in seiner Arbeit Hautreaktionen unter Zytostatikabehandlung in 3 Gruppen ein: in zytotoxische, Überempfindlichkeits-, und immunologische Reaktionen [29]. Zytotoxische Hautreaktionen entstehen entweder dosisabhängig oder stoffwechselbedingt und weisen ein homogenes histologisches Bild auf. In diese Gruppe gehören die PPE, die lokalisierte epidermale Nekrolyse und das „radiation-recall“ Phänomen. Die wichtigste histopathologische Veränderung ist hier der Keratinozytenschaden, der nach Verabreichung von vielen Chemotherapeutika zu beobachten ist. Die basalen Keratinozyten gehören zu den mitotisch aktivsten Zellen und sind besonders angreifbar. Chemotherapeutika, die spezifisch im Zellzyklus eingreifen, z. B. in der S-Phase wie Doxorubicin, treffen nur auf sich aktiv teilende Zellen, während phasenunspezifische Substanzen ruhende und sich teilende Zellen beeinflussen. Der Keratinozytenschaden ist dosisabhängig, d.h. er kann durch eine einmalige sehr hohe Dosis oder durch eine langandauernde Zufuhr des auslösenden Agens entstehen. Nicht alle Patienten sind betroffen. Einige Patienten sind durch unbekannte Faktoren mehr betroffen als andere. Fraglich bleibt, warum einige Substanzen Hauterscheinungen hervorrufen und andere nicht.

1.6 Palmar-plantare Erythrodysesthesie (PPE)

Die PPE ist eine Hautveränderung an Handinnenflächen und Fußsohlen, die hauptsächlich als Folge einer zytostatischen Chemotherapie auftritt.

Sie wurde 1974 erstmals von Zuehlke [30] als Reaktion auf eine Kurzinfusion von Mitotane beschrieben. Da das Hand-Fuß-Syndrom keine eigenständige Krankheit darstellt sondern als Nebenwirkung betrachtet werden muss, gibt es keine einheitliche Nomenklatur. Es existieren verschiedene Bezeichnungen, die das Syndrom beschreiben sollen, so z. B. palmar-plantare Erythrodysesthesie (PPE), Hand-Fuß-Syndrom und akrales Erythem.

1.6.1 Ätiologie und Inzidenz

Die PPE wird unter der Therapie mit verschiedenen Zytostatika beobachtet. Auslöser sind z. B. pegyliertes liposomales Doxorubicin (PLD) [31], Cytarabine [32], Doxorubicin [4] Docetaxel [33], Capecitabine [34] und die Therapie mit 5-Fluoruracil [35].

Die PPE tritt unterschiedlich häufig unter der Therapie mit Zytostatika auf. Bei der Behandlung mit PLD ist sie die häufigste kutane Nebenwirkung [31], wobei ihr Auftreten von der Dosierung

sowie dem Therapieintervall abhängt. Tab. 1.1 gibt einen Überblick über große Studien mit PLD in unterschiedlicher Dosierung von Sehouli et al. [36] und Rose et al. [37].

Tab. 1.1: PPE- Häufigkeit unter Therapie mit PLD in Abhängigkeit von der Dosis und dem Intervall [36], [37]

Studie	Dosierungsschema	Patienten	PPE		
			Grad 1	Grad 2	Grad 3
Rose et al.	50 mg/m ² , 4 Wochen	40			25%
	40 mg/m ² , 4 Wochen	38	Unbek.	Unbek.	0%
Sehouli et al.	20 mg/m ² , 2 Wochen	64	28%	14%	5%

Es lässt sich feststellen, dass eine Reduzierung der Dosis und eine Verlängerung des Intervalls eine verringerte Inzidenz und/oder Schweregrad der PPE bewirkt. Der Vergleich der Inzidenzgrade wird jedoch erschwert, da sich die Zahlen auf alle Schweregrade beziehen können und von unterschiedlichen Untersuchern klassifiziert werden, die Einteilung unterliegt so auch subjektiven Einflüssen. In der Literatur sind keine Hinweise auf einen Zusammenhang mit Alter, Geschlecht oder Bevölkerungsgruppen zu erkennen. Zudem ist die Inzidenz auch von der galenischen Darreichungsform abhängig; so führt PLD zu einer höheren Inzidenz als das normale Doxorubicin [31]. Im Gegensatz dazu ließ sich in der Literatur kein Hinweis für ein durch Epirubicin induziertes Hand-Fuß-Syndrom finden.

1.6.2 Das klinische Bild

Die frühesten Zeichen der PPE sind Schmerzen und ein Brennen an Handinnenflächen und Fußsohlen. Später entwickeln sich meist ein Ödem sowie ein symmetrisches scharf begrenztes Erythem. Die Veränderungen sind oft schmerzvoll und beeinträchtigen je nach Schweregrad alltägliche Aktivitäten [31]. In schweren Fällen entwickeln sich Blasen, die Wundflächen hinterlassen und bis hin zu Hospitalisierung führen können. Das Ekzem betrifft meistens die Handflächen (Abb. 1.3) und Fußsohlen (Abb. 1.4), selten den Hand- oder Fußrücken. Zur Verstärkung führen starke Reibung oder Druck. Das Syndrom ist ca. 4 Wochen nach der Behandlung reversibel. Die Läsionen heilen narbenfrei ab. Andere Lokalisationen an denen eine Dermatitis unter der Therapie mit PLD entsteht sind Achsel und Mamillenbereich [31].

Histologisch ist die PPE durch eine Reihe unspezifischer Veränderungen gekennzeichnet. In der Basalzellschicht finden sich eine milde Spongiose und verstreute nekrotische Keratinozyten. Keratinozyten im unteren Drittel der Epidermis können mit teilweiser Ablösung von der Dermis mitbetroffen sein. Zusätzlich ist ein perivaskuläres Infiltrat in der Dermis mit Lymphozyten und Eosinophilen sichtbar [31]. In der Dermis bestehen ein papilläres Ödem und dilatierte Blutgefäße.

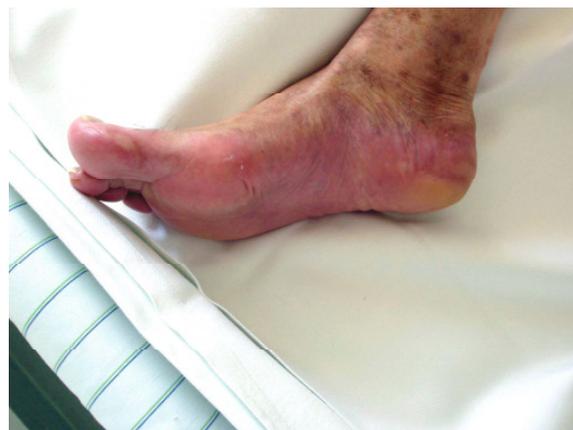


Abb. 1.3: PPE Grad III an den Händen

Abb. 1.4: PPE Grad III an den Fußsohlen

Patient, m, 72J., Kaposi-Sarkom, PLD 50mg/m²/ q 28 d, 6. Zyklus

1.6.3 Einteilung

Für die PPE existieren unterschiedliche Einteilungen. In Tab. 1.2 ist die Einteilung der Expanded Toxicity Criteria des National Cancer Institute of Canada (NCI-CTC) dargestellt. Sie unterteilt die Ausprägung der PPE in 3 Schweregrade [38].

Tab. 1.2: Version 3.0 der Common Toxicity Criteria des National Cancer Institute of Canada (aus dem Englischen übersetzt vom Autor)

Toxizität	Hand-Fuß-Syndrom
Grad 1	leichte Hautveränderungen, z.B. Erythem; ohne Schmerzen
Grad 2	Hautveränderungen, z. B. Erythem, Blasen; die täglichen Aktivitäten werden nicht wesentlich beeinträchtigt
Grad 3	Hautveränderungen mit starken Schmerzen und Beeinträchtigung täglicher Aktivitäten

1.6.4 Pathophysiologische Betrachtungen

Die genaue Entstehung des Hand-Fuß-Syndroms ist bisher unbekannt. In der Literatur finden sich unterschiedliche Theorien, die bei den einzelnen Chemotherapeutika jeweils sehr verschieden sind.

Fitzpatrick et al. [29] gehen unter der Therapie mit den verschiedenen Zytostatika von demselben Pathomechanismus aus. Nach dieser Theorie, die auf dem histopathologischen Bild basiert, entsteht durch die wiederholte oder hochdosierte Gabe der Substanzen ein kumulativ-toxischer Keratinozytenschaden. Warum einige Substanzen eine Schädigung an den Zellen hervorrufen und andere nicht bleibt offen.

Einige Autoren sehen die Ursache in lokalen anatomischen Gegebenheiten. So werden ein dichtes kapilläres Netzwerk und somit ein erhöhter Blutfluß an Hand- und Fußsohlen und die sich schnell teilende Epidermis als ursächlich angesehen [31], [39]. Auch wurden eine hohe Schweißdrüsendichte und ein dickes Stratum corneum als mögliche Ursache für eine erhöhte Konzentration in der Haut vermutet [40], [41]. Andere Autoren sehen entzündliche Vorgänge im Mittelpunkt. So wurde von Skelton et al. Beobachtet dass das Capecitabin induzierte Hand-Fuß-Syndrom unter der Behandlung mit dem COX-2-Inhibitor Celecoxib wesentlich weniger oft auftritt [42]. Es existieren ebenfalls Theorien, dass durch lokale Traumata eine erhöhte Permeabilität der Mikrokapillaren an Hand und Fuß auftritt und die Substanzen vermehrt austreten und im Gewebe akkumulieren. [43]

Fest steht der Zusammenhang mit pharmakokinetischen Parametern, der in unterschiedlichen Studien bereits verifiziert wurde (s. Kapitel 1.3.2).

1.6.5 Therapie

Eine einheitliche Therapie des Hand-Fuß-Syndroms existiert bis lang nicht. Das Management des HFS unter Zytostatikatherapie besteht aus symptomatischer Behandlung. Die wichtigste Maßnahme ist eine Modifikation der Chemotherapie, d. h. eine Dosisreduktion, Therapieunterbrechung oder Intervallverlängerung [44], [43]. Bei einem ausgeprägten Grad der PPE heißt dies zunächst Therapieabbruch und nach Abklingen Wiederbeginn mit einer niedrigeren Dosis. Zusätzlich helfen allgemeine Verhaltensmaßnahmen wie das Tragen von weiter, bequemer Bekleidung sowie Eincremen. Heißes Wasser und starke Reibung an Hand/Fußflächen sollten vermieden werden. In der Literatur gibt es unterschiedliche Ansätze für

eine Prävention oder Therapie. Ein präventiver Ansatz ist die orale Gabe von Vitamin B6 [45]. Die Behandlung mit Kortison wurde mit unterschiedlichem Erfolg versucht [44]. Als weitere Ansätze findet sich der Einsatz topischer Cremes mit verschiedenen Inhaltsstoffen und die Kühlung der betroffenen Körperstellen während der Chemotherapie [44] [46].

1.7 Anatomischer Aufbau und Funktion der Haut

Die Haut gliedert sich in 3 Schichten. Oben gelegen findet sich die Epidermis, darunter die Dermis und darunter die Subcutis. Zu den Hautanhangsgebilden gehören Haare, Nägel und Drüsen (Abb. 1.5).

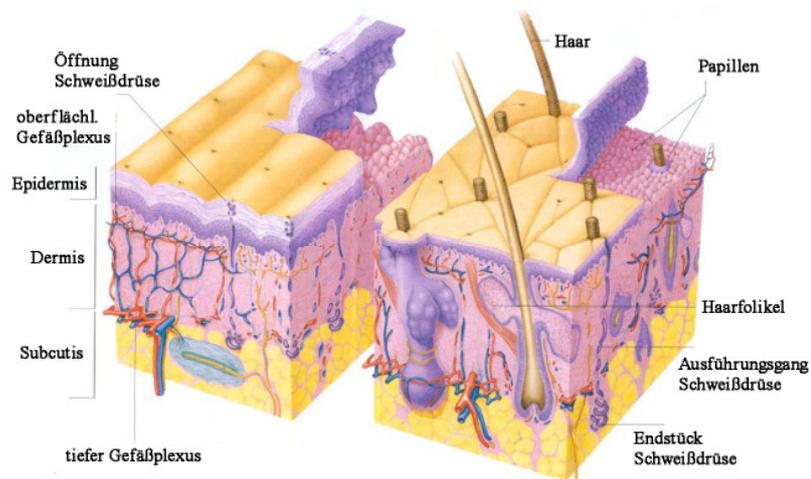


Abb. 1.5: Aufbau der Haut

aus : David J. Gawkrödger: Dermatology, © Churchill Livingstone, 2003, Seite 2-3

1.7.1 Epidermis

Die Epidermis besteht aus einem mehrschichtigen verhornten Plattenepithel, deren Schichtdicke je nach Lokalisation beim Menschen zwischen 31 und 637 μm variiert. Die Ernährung erfolgt durch Diffusion aus der Dermis.

Die Epidermis wird in 4 Schichten unterteilt. Die äußerste Schicht, das **Stratum corneum** (SC, Hornschicht) besteht aus Zelllagen von abgestorbenen, organellenlosen Keratinozyten, den Korneozyten. Der Wasseranteil ist mit 5-10% sehr niedrig. Die Dicke des SC ist an Hand- und

Fußflächen wesentlich dicker (Abb. 1.5). Die einzigartige Barrierefunktion, die die Penetration von Fremd- oder Arzneistoffen erschwert, wird durch eine Lipidmatrix gewährt, die aus Ceramiden, Cholesterol, Cholesterylestern und Fettsäuren zusammengesetzt ist [47].

Unter dem SC liegt das wenige Zelllagen dicke **Stratum granulosum**. Die Zellen enthalten Keratinhyalingranula und bilden Lamellenkörper, die saure Hydrolysen sowie Lipide enthalten. Darunter liegt das mehrschichtige, relativ breite **Stratum spinosum**. Hier finden sich große, polygonale Keratinozyten, die nach oben hin abflachen.

Die unterste Schicht ist das **Stratum basale**. Hier befinden sich hochprismatische Keratinozyten mit großen Zellkernen, die über Hemidesmosomen an der Basalmembran befestigt sind. Nach Teilung der sehr mitoseaktiven Zellen rückt eine Tochterzelle in die nächste Schicht und durchwandert in einem Zyklus von ca. 28 Tagen die Epidermis. An der Oberfläche wird sie als Hornschuppe abgeschilfert. Die gesamte Epidermis baut sich auf einer Basalmembran auf [48].

1.7.2 Dermis und Subcutis

Die Dermis gliedert sich in 2 Schichten. Das **Stratum papillare** ist die obere Schicht. Es besteht hauptsächlich aus Typ III Kollagen und bildet Papillen aus, die mit den Reteleisten der Epidermis verzahnt sind. Hier befinden sich Kapillarschlingen. An der Grenze zwischen Dermis und Subcutis bilden Arterien einen tiefen Plexus, von dem Abzweigungen aufwärts ziehen und subpapillär einen 2 oberflächlichen Plexus bilden. Von ihm ziehen die Gefäßschlingen in die Papillen, um die Epidermis zu ernähren. Das darunter gelegene, dickere **Stratum reticulare** besteht hauptsächlich aus Bindegewebe mit Typ I Kollagen. Hier beginnen Haarfollikel und Schweißdrüsen, deren Ausführungsgänge durch die Dermis und Epidermis ziehen und ihren Ausgang an der Hautoberfläche haben.

Die **Subcutis** besteht vor allem aus Binde- und Fettgewebe, ermöglicht die Verschiebbarkeit der Haut und dient als Fettspeicher und Wärmeisolator [49].

1.7.3 Die Schweißdrüsen

Es gibt zwei unterschiedliche Arten von Schweißdrüsen in der menschlichen Haut.

Die **Apokrinen Schweißdrüsen** kommen vorwiegend in der Achsel- und Perianalregion vor und münden in den Haarfollikel. Der Ausführungsgang entspricht dem der ekkrinen Schweißdrüsen.

Ekkrine Schweißdrüsen sind über den gesamten Körper verteilt. Sie erfüllen eine wichtige Rolle in der Erhaltung des Wärmehaushaltes und dienen als Ausscheidungsorgan für verschiedene Stoffe. Das geknäuelte sekretorische **Endstück** liegt an der Dermis-Subcutis-Grenze. Der **Ausführungsgang** läuft geschlängelt durch alle Hautschichten, um auf der Oberfläche des Stratum corneums zu münden [50].

1.7.4 Topographische Unterschiede

Bei der Untersuchung von pathologischen Vorgängen, die nur bestimmte Hautareale betreffen, ist es nötig sich die Unterschiede dieser Regionen zu verdeutlichen, um Rückschlüsse auf eine mögliche Pathogenese zu erhalten. Bei der menschlichen Haut kann man zwischen der dicken Leistenhaut (Hand- und Fußflächen) und der dünneren Felderhaut (z. B. Achsel, Stirn und Unterarm) unterscheiden. Die Leistenhaut besitzt keine Haare, Talg- oder Duftdrüsen, dafür aber besonders viele ekkrine Schweißdrüsen [51]. Die Koriumpapillen sind stark ausgebildet. An Hand- und Fußflächen stellt die Epidermis prozentual ca. 45% der gesamten Haut dar, an den anderen Körperregionen nur ca. 3-16%. Ein weiteres Merkmal ist das besonders dicke Stratum corneum. Ya-xian et al. [52] fanden an Hand und Fußflächen ein bis zu 8x dickeres Stratum corneum im Gegensatz zu anderen Körperregionen. Tab. 1.3 gibt einen Überblick über die relevanten Unterschiede an 5 verschiedenen Körperstellen. [53], [51], [52].

Tab. 1.3: Dicke von Epidermis und Stratum corneum (SC) und Schweißdrüsendichte (SDD) an unterschiedlichen Körperregionen

Parameter MW ± StaBW	Stirn	Achsel	Unterarm	Hand	Fuß
Dicke Epidermis [µm] (Lee et al.)	93,6 ± 22,3	70,6 ± 24,7	74,1 ± 25,4	600,9 ± 96,8	637,1 ± 186,0
Zelllagen SC (Ya-Xian et al.)	9 ±1	k. A.	16 ±4	50 ±10	86 ±36
SDD/cm ² (Hwang et al.)	206.1 ± 83,3	82,5 ± 34,0	112,4 ± 52,5	325,8 ± 124,0	221,5 ± 79,2

1.8 Antioxidantien in der Haut

Freie Radikale und andere reaktive Sauerstoff- Verbindungen können auf unterschiedliche Weise vermehrt entstehen, zum einen bei physiologischen oder metabolischen Prozessen oder durch übermäßige Einstrahlung von UV-Licht. Zum anderen durch schädigende Substanzen, denen der Körper intern oder extern ausgesetzt ist. Karotinoide spielen eine wichtige Rolle in der antioxidativen Abwehr der Haut [54]. Die fünf wichtigsten Vertreter aus der Klasse der Karotinoide in der humanen Haut sind Lycopin, α -Karotin, β -Karotin, Phytoin, und Phytofluin. Lycopin und β -Karotin machen allein über 70 % des gesamten Karotinoidgehaltes aus [55]. Sie sind Radikalfänger für freie Radikale [56] und andere reaktive Sauerstoff- Verbindungen [57]. Die Therapie mit Karotinoiden führt bei einigen Erkrankungen zu sichtbar positiven Effekten. So führen systemische Karotinoide zu einem verspäteten Erythem bei UV-Einstrahlung [58] [59]. β -Karotin systemisch wird bei Lichtdermatosen erfolgreich eingesetzt.

Mit Hilfe der Raman-Spektroskopie ist es möglich Karotinoide nicht invasiv in der Haut nachzuweisen. Die Methode ist durch eine hohe Sensitivität und Spezifität gekennzeichnet [55].

1.9 Prinzipien der Penetration

Das Stratum corneum fungiert bei der Penetration von Substanzen durch die Haut als Barriere aber auch als Reservoir, in dem Moleküle gespeichert werden können [60]. Bei der Untersuchung von Penetrationsmöglichkeiten von systemisch gegebenen Arzneimitteln sind die Prinzipien der Penetration grundlegend. Grundsätzlich existieren drei mögliche Penetrationswege durch das Stratum corneum in die tiefergelegenen Hautschichten: transzellulär, interzellulär oder über Anhangsorgane wie Schweißdrüsen oder Haarfollikel [61]. Die chemisch-physikalischen Eigenschaften sind für die Penetration eines Wirkstoffes von großer Bedeutung.

1.10 Schweißdrüsen als Penetrationswege

Schweißdrüsen können ein Penetrationsweg für verschiedene Substanzen sein. Bisher wurden einige systemisch verabreichte Substanzen im Schweiß gefunden; es gibt jedoch wenige Informationen über den Ablauf der Exkretion und den Zusammenhang mit pathologischen Hautprozessen.

In der Literatur finden sich jedoch einige Studien, die dem Schweiß als Penetrationsroute von systemisch gegebenen Substanzen eine nicht zu unterschätzende Rolle beimessen.

Itraconazol, ein breites systemisches Therapeutikum bei Pilzkrankungen, lässt sich im Schweiß nachweisen. Cauwenbergh et al. [62] zeigten die positive Korrelation zwischen einer therapeutischen Konzentration in der Haut und sehr hohen Excretionsraten durch Schweiß- und Sebumdrüsen. Er diskutierte zwei grundsätzliche Möglichkeiten für eine hohe Hautverfügbarkeit: Sekretion durch Schweiß- bzw. Sebumdrüsen und passive Aufnahme der Keratinozyten. Auch Chemotherapeutika wurden im Schweiß nachgewiesen. So wiesen Horn et al. Thiotepe im Schweiß in ähnlich hoher Konzentration wie im Serum nach. Er vermutete hier einen Zusammenhang mit der Exkretion und den sichtbaren Hautveränderungen wie Hyperpigmentation [63].

1.11 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Für die Entwicklung von Therapieoptionen gegen die durch Anthrazykline induzierte PPE ist es von grosser Bedeutung Aufschlüsse über die pathogenetischen Zusammenhänge zu erhalten. Bisher liegen dazu keine fundierten Untersuchungen vor.

Der Penetrationsweg von Anthrazykline in die Haut ist hier der erste Baustein. Ziel des ersten Teils der vorliegenden Arbeit ist es, die von Jacobi et al. [64], [65] beobachtete Exkretion von unverkapseltem Doxorubicin durch Schweißdrüsen ebenfalls bei der Infusion von Pegyliertem liposomalem Doxorubicin und Epirubicin zu untersuchen. Es soll der Penetrationsweg in die Haut beobachtet werden. Dabei wurden Epirubicin und pegyliertes Doxorubicin untersucht, um mögliche Unterschiede festzustellen. Zusätzlich wurden verschiedene Körperstellen untersucht, um eine mögliche Prädilektion der PPE zu erklären.

Im zweiten Teil der Arbeit sollen mögliche Präventionsstrategien entworfen werden. Dabei ergeben sich folgende Fragestellungen:

Untersuchungen zur Pathogenese der PPE

- Kann auch die Fluoreszenz von Pegyliertem Doxorubicin und Epirubicin genutzt werden um die Substanzen mit dem LSM in der Haut nachzuweisen?
- Welche Penetrationsroute in die Haut lässt sich erkennen und welche Strukturen der Haut lassen sich darstellen?
- Wann erreichen die Substanzen die Haut und gibt es Unterschiede zwischen den Anthrazyklinen Epirubicin und pegyliertes Doxorubicin?
- Welche Unterschiede zwischen den untersuchten Körperregionen Hand, Fuß, Stirn, Achsel und Unterarm sind zu erheben?

Mögliche Präventionsstrategien gegen die PPE

- Kann Kühlung als Präventionsstrategie die Substanzexkretion vermindern?
- Können Antiperspirantien als Präventionsstrategie die Substanzexkretion vermindern?
- Lassen sich freie Radikale in der Haut nach Infusion mit PLD vermehrt nachweisen?

2 Material und Methoden

Die vorliegende Studie untergliedert sich in zwei Studiendesigns:

Studiendesign A: Untersuchungen zur Aufklärung der PPE Pathogenese:

Prospektiver analytischer Nachweis der Anthrazykline und ihrer Metabolite in und auf der Haut bei Patienten nach systemischer Gabe von Epirubicin und pegyliertem liposomalem Doxorubicin (PLD) mit Hilfe der Laser-Scan-Mikroskopie.

Studiendesign B: Entwicklung von Präventionsstrategien gegen die PPE:

- a) Kühlung bzw. Applikation von Antiperspirantien zur Verhinderung der Schweißproduktion.
- b) Topische Applikation von antioxidantienhaltigen Externa mit parallelem Nachweis von PLD und freien Radikalen in und auf der Haut von Patienten nach systemischer Gabe mit Hilfe der Raman-Spektroskopie.

2.1 Substanzen

Für den Nachweis von Anthrazyklinen in der Haut während der intravenösen Chemotherapie wurden zwei unterschiedliche Substanzen der Anthrazyklingruppe verwandt: pegyliertes liposomales Doxorubicin (PLD) und Epirubicin.

2.1.1 Pegyliertes liposomales Doxorubicin (Handelsname: Caelyx®)

Doxorubicin besitzt die Summenformel $C_{27}H_{29}NO_{11}$ und ein Molekulargewicht von 543,53 g/mol. Die chemische Struktur besteht aus einem tetrazyklischen Chromophor, Doxorubicinon, das der Substanz eine leuchtend rote Farbe verleiht und nach Anregung fluoresziert. Doxorubicinon ist glykosidisch mit dem Aminozucker Daunosamin verknüpft (Abb. 2.1) [66].

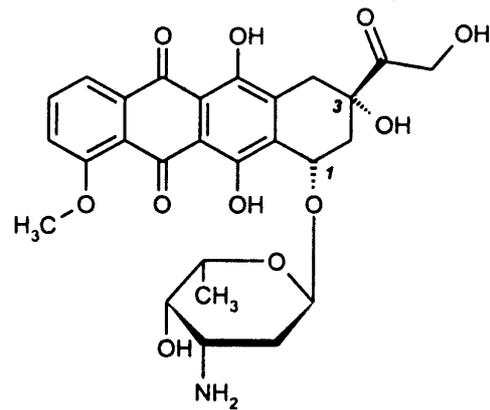


Abb. 2.1: Strukturformel von Doxorubicin

Nach Anregung durch Licht einer Wellenlänge zwischen 480 ± 40 nm zeigt Doxorubicin eine deutliche Fluoreszenz bei einer Wellenlänge von 560 ± 40 nm. Diese Emission kann qualitativ in *in-vivo* Untersuchungen mittels Laser-Scan-Mikroskopie bei einer Anregung von 488 nm detektiert werden [67].

Für die Untersuchungen wurde pegyliertes liposomales Doxorubicin (Caelyx®, Essex Pharma GmbH, München, Deutschland) verwendet. Caelyx® ist eine liposomale Zubereitung mit dem Wirkstoff Doxorubicinhydrochlorid, der in PEG-Liposomen eingeschlossen ist. Jede Flasche enthält entweder 20 mg oder 50 mg Doxorubicinhydrochlorid (2 mg/ml, pH-Wert 6,5). Bei Dosen <90 mg wird diese Lösung mit 250 ml und bei Dosen ≥ 90 mg mit 500 ml einer 5%igen Glukoselösung (Fa. Braun Melsungen, Melsungen) verdünnt. Weiterhin enthalten sind Ammoniumsulfat, Histidin als Puffer, Salzsäure zur pH-Kontrolle und Saccharose für die Isotonität. [68]

2.1.2 Epirubicin

Epirubicin besitzt die Summenformel $C_{27}H_{29}NO_{11}$ und ein Molekulargewicht von 543,53 g/mol. Die Struktur besteht wie Doxorubicin aus einem tetrazyklischen Chromophor, der glykosidisch mit einem Aminozucker verknüpft ist [69]. Nach Anregung mit Licht einer Wellenlänge zwischen 480 ± 40 nm, zeigt Epirubicin genauso wie Doxorubicin eine deutliche Fluoreszenz bei einer Wellenlänge zwischen 560 ± 40 nm. Diese Emission kann ebenfalls mit dem Laser-Scan-Mikroskop detektiert werden. Für die Versuche wurde Epirubicin (Farmorubicin®, Pharmacia GmbH, Karlsruhe, Deutschland) verwendet. Die Zubereitung vor intravenöser Infusion erfolgte wie bei Doxorubicin.

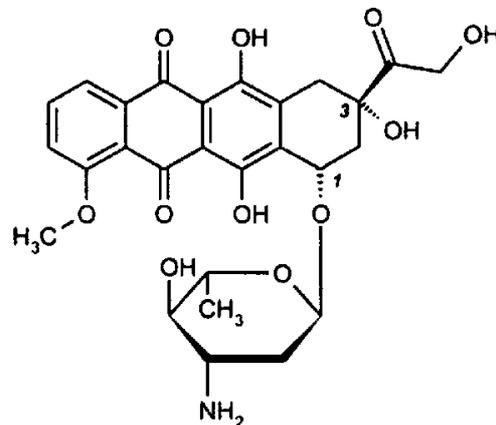


Abb. 2.2: Strukturformel von Epirubicin

2.1.3 Natriumfluorescein

Natriumfluorescein ($C_{20}H_{10}Na_2O_5$, MW=376,3 g/mol) ist ein hydrophiler Xanthenfarbstoff, der zum Färben von Seifen und Badesalzen verwendet wird. Nach Anregung mit Licht einer Wellenlänge zwischen 485 nm und 500 nm zeigt sich eine deutliche Fluoreszenz bei einer Wellenlänge von 520 nm. Diese Emission kann *in vivo* Untersuchungen mit dem LSM detektiert werden. Für die Versuche wurde Natriumfluorescein von Sigma Chemicals, Steinheim, Deutschland verwendet.

2.2 Studiendesign A : In-vivo Nachweis von Anthrazyklinen in der Haut

Die Untersuchungen wurden in Studiendesign A an 12 Patienten und einem gesunden Proband durchgeführt.

Die Versuchsprotokolle wurden vor Studienbeginn von der Ethikkommission genehmigt. Die Patienten und Probanden wurden über die Fragestellung und Zielsetzung der Untersuchung sowie über mögliche, unerwünschte Nebenwirkungen ausführlich unterrichtet. Jeder Patient unterzeichnete vor Studienbeginn eine Einverständniserklärung. Ausschlusskriterien waren Lichtempfindlichkeit, Schwangerschaft oder Stillperiode sowie Hautkrankheiten anderer Genese im Hand- und Fußbereich, z. B. atopisches Ekzem oder Psoriasis palmoplantaris.

2.2.1 Patienten und Probanden

Die Untersuchungen mit Natriumfluorescein wurden an einer gesunden Probandin durchgeführt, 27 J, keine Hauterkrankungen.

Die Studie an Patienten wurde von November 2003 bis Februar 2004 in der Ambulanz der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Charité, Campus Virchow, Berlin durchgeführt. Es wurden 12 Patientinnen prospektiv untersucht, die an einem histologisch gesicherten Mamma- oder Ovarialkarzinom erkrankt waren. Das durchschnittliche Alter betrug 57,8 Jahre (Range 38-77 Jahre). Die untersuchten Hautareale waren nicht mit Salben, Cremes, etc. vorbehandelt. Bei einigen Patienten bestand zum Zeitpunkt der Untersuchung ein Hand-Fuß-Syndrom.

2.2.1.1 Gruppe I: Therapie mit pegyliertem liposomalem Doxorubicin (PLD)

In der Gruppe I erhielten sechs Patientinnen pegyliertes liposomales Doxorubicin (PLD) in einer mittleren Dosis von 23,3 mg/m² (Range 20-40 mg/m²). Eine Übersicht zeigt Tab. 2.1.

Tab. 2.1: Patientenrelevante Daten der Gruppe I unter Therapie mit PLD

Patienten	FIGO	Vortherapien	PLD Dosis/Intervall	KOF [m ²]	berechnete Absolutdosis [mg]	Zyklus zum Zeitpunkt der Untersuchung	BMI
C1	III c	1 th -line: P/C 2 nd -line: To 3 rd -line: Tr	4rd-line 20 mg/m ² /q14d	1,6	32	4 + 5	20
C2	III c	1 th -line: P/C 2 nd -line: To/E	3rd-line: 20 mg/m ² /q14d	1,82	36,4	7 + 8	23
C3	III c	1 th -line: P/C 2 nd -line: To	3rd-line: 40 mg/m ² /q28d	1,7	68	11 + 12	32
C4	III c	1 th -line: To/C 2 nd -line: P	3rd-line: 20 mg/m ² /q14d	1,84	36,8	1	25
C5	III c	1 th -line: P/C/G 2 nd -line: To	2nd-line: 20 mg/m ² /q14d	1,68	33,6	1	23
C6	III c	1 th -line: P/C 2 nd -line: E 3 rd -line: To	4rd-line: 20 mg/m ² /q14d	1,56	31,2	4	28

P: Paclitaxel, C: Carboplatin, To: Topotecan, Tr: Treosulfan, E: Etoposid, G: Gemcitabine

Die teilnehmenden Patientinnen waren an einem fortgeschrittenen oder metastasierten, platinresistenten Ovarialkarzinom erkrankt. Die individuelle Dosis für jede Patientin wurde auf Basis von Körpergewicht und Körpergröße (Körperoberfläche) vor jeder Chemotherapie individuell berechnet. Die Dauer der Infusion betrug im Durchschnitt 30 Minuten. Im Median wurden zum Zeitpunkt der Analyse 5 Zyklen appliziert (Range 1-12 Zyklen). Die Frauen wurden in unterschiedlichen Zyklen ihrer Chemotherapie untersucht.

Zusätzlich umfasste die Chemotherapie weitere Infusionskomponenten und Begleitmedikation, die bei allen Frauen mit Caelyx-Regime identisch war. Vor der Infusion erhielten alle Patientinnen 250 ml 0,9% NaCl-Lösung i. v. sowie 5 mg Navoban i. v..

2.2.1.2 Gruppe II: Therapie mit Epirubicin

In der Gruppe II erhielten sechs Patientinnen mit metastasiertem Mamma-Karzinom Epirubicin in unterschiedlichen Chemotherapie-Regimen (Tab. 2. 2). Die mittlere Dosis war 77,5 mg/m² (Range 60-90 mg/m²). Im Median wurden zum Zeitpunkt der Analyse 4,3 Zyklen appliziert (Range 3-6 Zyklen). Die Frauen wurden in unterschiedlichen Zyklen ihrer Chemotherapie untersucht.

Vor der Zytostatikainfusion erhielten alle Patientinnen 50-100 ml 0,9% NaCl-Lösung i. v. sowie 5 mg Navoban i. v. und Dexamethason 8-20 mg i. v.. Nach der Infusion wurden 500 ml Jonosteril-Lösung i. v. verabreicht.

Tab. 2.2: Patientenrelevante Daten der Gruppe II unter Therapie mit Epirubicin

Patienten	initiales Tumorstadium	Aktuelle Therapie	KOF [m ²]	berechnete Absolutdosis [mg]	Zyklus zum Zeitpunkt der Untersuchung
E1	Primär pT2, pN1, M1 c-erbB2 3+	E 60 mg/m ² /q 21d P 90 mg/m ² /q 21d H 2 mg/kg/weekly	2	124,2	3. + 4.
E2	Primär pT1c, pN1, Mo c-erbB2 0	F 500 mg/m ² /d1+8, q 28d E 60 mg/m ² /d 1+8, q 28d C 75 mg/m ² /d 1+14,q 28d	1,68	100,8	3. + 4.
E3	Primär pT2, pN0, M1 c-erbB2 0	E 75 mg/m ² /q 21d D 75 mg/m ² /q 21d	1,96	147	6
E4	Primär rpT1c, pN0, Mo c-erbB2 3+	F 500 mg/m ² q 21d E 90 mg/m ² q 21d C 600 mg/m ² q 21d	1,58	142,2	5
E5	Rezidiv pT2, G2, M0 c-erbB2 1+	F 500 mg/m ² q 21d E 90 mg/m ² q 21d C 600 mg/m ² q 21d	1,74	156,6	3
E6	Primär pT2, pN1, Mo c-erbB2 0	F 500 mg/m ² q 21d E 90 mg/m ² q 21d C 600 mg/m ² q 21d	1,93	173,7	6

E = Epirubicin, F = 5-Floururacil, C = Cyclophosphamid, H = Herceptin, D = Docetaxel

2.2.2 Methoden und Versuchsdurchführung

2.2.2.1 Das konfokale Laser-Scan-Mikroskop

Die Experimente zum Nachweis von Anthrazyklinen auf der Haut wurden mit dem dermatologischen Laser-Scan-Mikroskop (LSM) „Stratum“ (Stratum, Optiscan Ltd, Melbourne, Australia) durchgeführt (Abb. 2.3).

Die Laser-Scan-Mikroskopie ist ein hochauflösendes bildgebendes Verfahren, das die Beobachtung an lebenden Zellen möglich macht. Hierdurch wird die Betrachtung von oberflächlichen und tiefer liegenden zellulären Strukturen der Haut nicht invasiv möglich.

Das Grundprinzip der konfokalen Laser-Scan-Mikroskopie ist in Abb. 2.4 schematisch dargestellt.



Abb. 2.3: Das Laser-Scan-Mikroskop

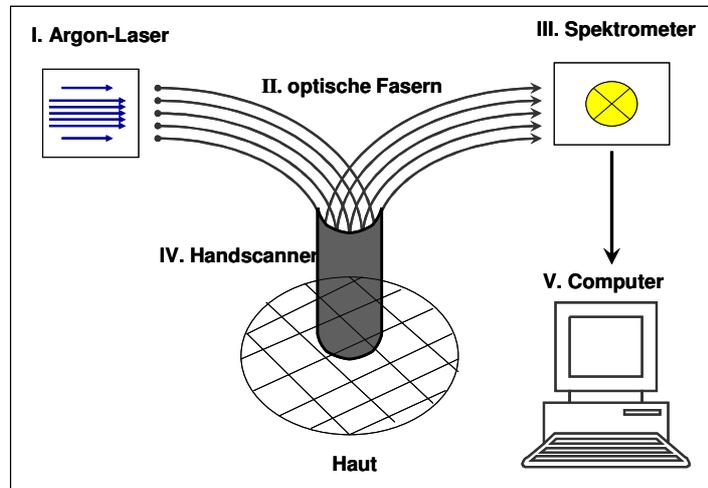


Abb. 2.4: Der prinzipielle Meßaufbau

Der Messaufbau besteht aus einem Argon-Laser, der ein sichtbares blaues Licht mit einer Wellenlänge von 488 nm aussendet. Dieses Licht wird durch Lichtleitfasern bis zu einem Handstück geleitet, welches direkt auf die Haut aufgesetzt wird. Das Licht wird durch eine Linse am Ende des Handscanners auf die Hautebene fokussiert. Mit Hilfe dieses Scanners wird die Hautebene abgerastert, es entsteht ein Bild mit einer Auflösung von 1024x1024 Pixeln. Die Zeitspanne um ein Bild mit dieser Auflösung zu generieren beträgt 1,4 s. Das Bild entspricht einem lateralen Sichtfeld von 250 μm x 250 μm , das homogen ausgeleuchtet wird. Um Ebenen in unterschiedlichen Tiefen der Haut darzustellen, wird die Lage des Fokus mit Hilfe eines Handrädchens am Handstück variiert. Der Brennpunkt wird so in tiefere Hautschichten verlagert. Mit dem LSM können Hautschichten bis zu einer Tiefe von 200 μm fokussiert werden.

Mit einer Laserwellenlänge bei 488 nm werden Substanzen angeregt und geben Fluoreszenzlicht ab, welches durch die Lichtleitfasern dem Spektrometer und Detektor zugeführt wird. Dem Lichtdetektor sind verschiedene Spektralfilter vorgeschaltet. Diese gewährleisten die Auswahl bestimmter Detektionswellenlängen. Die untersuchten fluoreszierenden Substanzen emittieren im Spektralbereich von >500 nm. Dabei ist die natürliche Untergrundfluoreszenz der Haut vernachlässigbar gering. Die Signale werden in ein Bild umgewandelt, das gespeichert und weiterverarbeitet wird.

Das entstandene Bild ähnelt einem histologischen Horizontalschnittbild. Es können sowohl anatomische Strukturen in ihrem natürlichen Umfeld als auch *in-vivo* Vorgänge in Echtzeit

betrachtet werden. Die Verteilung eines exogenen Farbstoffes im Fluoreszenzmodus wird genutzt, um einen sichtbaren Kontrast zu erhalten. Eine angezeigte Tiefenskala gibt die Relativen Einheiten des Analog-Digital-Konverters an. Die Skala umfasst einen Bereich von 900 Relativen Einheiten, was einem Bereich von 0-250 μm entspricht. Die maximale Eindringtiefe in die menschliche Haut beträgt dabei 200 μm .

Abhängig von der topographischen Region können die verschiedenen Epidermisschichten sowie der obere Teil der Dermis inspiziert werden. Die Eindringtiefe variiert bei den unterschiedlichen Körperstellen.

2.2.2.2 Versuchsdurchführung

Die Patienten wurden an neun verschiedenen Hautarealen mit dem Laser-Scan-Mikroskop untersucht. Die erste Untersuchung erfolgte zunächst als Leermessung vor der Chemotherapie, um eine Eigenfluoreszenz der Haut im untersuchten Spektralgebiet aus anderen Gründen auszuschließen. Nach intravenöser Verabreichung der Chemotherapie mit PLD oder Epirubicin wurden die Patientinnen nach ein, zwei, drei, vier und fünf Stunden jeweils an folgenden neun Körperstellen untersucht:

- Stirn: Regio frontalis
- Achsel rechts/links: Fossa axillaris
- Unterarm rechts/links: Regio antebrachialis anterior
- Hand rechts/links: Palma manus, Thenar
- Fuss rechts/links: Planta pedis, Ferse

Die Vorbereitung bestand aus alkoholischer Desinfektion (Softasept N, B. Braun, Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) des Handstückes, um auszuschließen dass sich Spuren der letzten Messung an der Oberfläche befanden. An jeder Körperstelle wurde bei jeder Messung mindestens dreimal ein unterschiedliches Areal vermessen. Als Nachweis wurde mindestens 1 positives Signal gewertet.

Zur Untersuchung der Fluoreszenzdauer der Anthrazykline an Luft wurden 5 ml PLD auf eine Glasplatte aufgetragen und die Fluoreszenz bis zur Löschung verfolgt. Die weiteren Infusionskomponenten und die Begleitmedikation wurden hinsichtlich einer Fluoreszenz im untersuchten Spektralbereich untersucht.

Aus vorherigen Messungen mit dem Farbstoff Natriumfluoreszein ist bekannt, dass das Darstellungsspektrum an Hand und Fuß fast auf die oberste Schicht der Epidermis, das Stratum corneum beschränkt ist. Selten ließ sich das darunterliegende Stratum granulosum darstellen. An anderen Körperstellen, wie z. B. Achsel, Stirn und Unterarm war es möglich alle Epidermisschichten, den oberen Teil der Dermis sowie die Papillen mit Gefäßplexus zu inspizieren. Aus diesem Grund wurden mit dem LSM Voruntersuchungen an gesunden Probanden durchgeführt. An Hand, Fuß, Stirn und Unterarm wurde Natriumfluoreszein appliziert, um zu ermitteln welche Hautschichten an den unterschiedlichen Arealen darstellbar sind.

2.2.2.3 Bildbearbeitung

Die Bildbearbeitung der Digitalfotos erfolgte mit Adobe Photoshop 5.5. Dieses Programm ermöglicht Analysen in verschiedenen Ebenen. Nach Aufnahme und Speicherung der Bilder wurden diese nachbearbeitet, um die Abbildung zu verbessern. Jedes Bild wurde mit denselben Einstellungen in Bezug auf Helligkeit und Kontrast bearbeitet.

2.3 Studiendesign B

2.3.1 Patienten und Probanden

Es wurden insgesamt 4 Patienten untersucht, die eine Therapie mit PLD erhielten. Zusätzlich wurden 2 gesunde Probanden untersucht. Tab. 2.4 gibt einen Überblick über die Charakteristika der Gruppe III.

Tab. 2.4: Gruppe III: Charakteristika der Patienten und Probanden

	Alter [Jahre]	Geschlecht	Diagnose	PLD Dosis/Intervall
Patient A	56	w	Stewart-Treves-Syndrom	20 mg/m ² /q 3 Mon.
Patient B	53	m	metastasiertes Spinaliom	20 mg/m ² /q 28d
Patient C	64	w	Stewart-Treves-Syndrom	50 mg/m ² /q 28d
Patient D	65	m	spindelzelliges Angiosarkom	20 mg/m ² /q 28d
Proband 1	28	m	keine Erkrankungen	/
Proband 2	26	m	keine Erkrankungen	/

Die Studie wurde in der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie, Campus Mitte, Universitätsmedizin Charité, Berlin durchgeführt. Einschlusskriterien für die unterschiedlichen Probandenkollektive waren neben dem Mindestalter von 18 Jahren, keine bekannte durch Licht oder verwendete Substanzen provozierbare Überempfindlichkeit, keine Schwangerschaft oder Stillperiode, sowie eigenverantwortliche Entscheidungsfähigkeit. Die zu untersuchende Hautareale waren klinisch unauffällig und nicht mit Salben, Cremes, etc. vorbehandelt. Zu dem Zeitpunkt der Untersuchung befanden sich die gesunden Probanden in einem guten gesundheitlichen Zustand und es lagen in der Vor- und aktuellen Anamnese keine Hauterkrankungen vor.

2.3.2 Methoden und Versuchsdurchführung

2.3.2.1 Applikation von Cool-packs vor intravenöser Infusion-Messung mit dem LSM

Patient A erhielt vor der Chemotherapie im Bereich der linken Körperseite kühlende Maßnahmen. An Achseln, Hand und Fuß wurden Kühlelemente verwendet. Die rechte Körperseite wurde nicht gekühlt. Es erfolgten vergleichende Laser-Scan-mikroskopische Messungen an beiden Körperseiten.

2.3.2.2 Applikation von Aluminiumchloridhexahydrat vor intravenöser Infusion-Messung mit dem LSM

Patient B erhielt Aluminiumchloridhexahydrat in Form eines Rollapplikators. Dieser wurde einmal täglich zwischen zwei Zyklen Chemotherapie im Bereich der linken Axille angewendet. Die rechte Körperseite wurde nicht behandelt. Es erfolgten vergleichende Laser-Scan-mikroskopische Messungen an beiden Körperseiten.

2.3.2.3 Topische Applikation einer antioxidantienhaltigen Creme vor Beginn der intravenösen Chemotherapie-Messung von freien Radikalen in der Haut mit Hilfe der Raman-Spektroskopie

Bei den Patienten C und D erfolgte der indirekte Nachweis von freien Radikalen in und auf der Haut nach systemischer Gabe von Anthrazyklinen durch die Raman-spektroskopische Detektion der Antioxidantien β -Karotin und Lycopin in der Haut.

Eine Pflegecreme mit Zusätzen von 0,05% β -Karotin wurde vor der Infusion topisch auf den Handballen (Thenar) einer Hand der Patienten appliziert. Die Konzentration von β -Karotin vor und während der Behandlung wurde an diesem Hautareal mit der Raman-Spektroskopie gemessen. Als Vergleich wurden gesunde Probanden, denen ebenfalls die β -karotinhaltige Creme appliziert wurde, über den gleichen Zeitraum vermessen.

Mit Hilfe der Raman-Spektroskopie ist es möglich, die Antioxidantien β -Karotin und Lycopin in der menschlichen Haut nicht invasiv nachzuweisen.

Abb. 2.5 gibt einen Überblick über den prinzipiellen Meßaufbau: Zum Nachweis von β -Karotin und Lycopin wird ein Argon-Laser genutzt, welcher nacheinander bei 488 und 514 nm emittiert. Die Strahlung wird durch eine optische Quarzfaser zu einem Handstück geführt (Abb. 2.6). Dieses kann an beliebigen Körperstellen aufgesetzt werden.

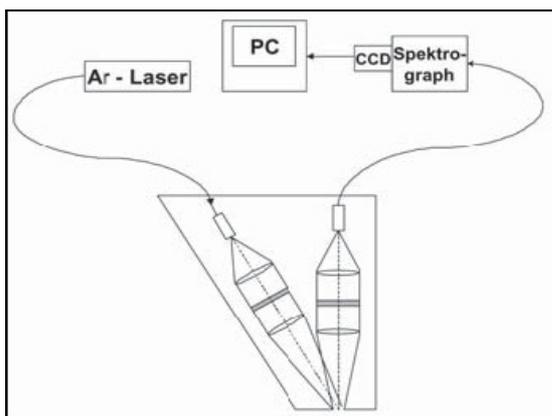


Abb. 2.5: Der schematische Meßaufbau



Abb. 2.6: Messung am Handballen

Mit Hilfe eines optischen Abbildungs- und Filtersystems werden die beiden Anregungswellenlängen auf die Haut projiziert. In der Haut erfolgt eine simultane Anregung von β -Karotin und Lycopin. Die entstehende Raman-Strahlung kann durch ein zweites

Abbildungssystem erfasst und in ein Bündel aus sechs optischen Fasern eingekoppelt werden. Die Signalauswertung erfolgt mit Hilfe eines Spektrometers, das mit einer CCD-Kamera verbunden ist. Die Meßzeit für eine Messung beträgt 30 ms. Es erfolgen jeweils 5 Messungen an derselben Hautstelle, aus denen mit Hilfe der Software der Mittelwert automatisch gebildet wird.

2.3.2.4 β -Karatotin und Lycopin

Spektroskopisch ist der Nachweis aufgrund von aktiven Raman-Banden möglich. Die Strahlung des Argonlasers bei 488 und 514 nm wird zur Resonanzanregung von β -Karatotin und Lycopin genutzt.

Die Absorptionsbanden der beiden Substanzen sind zueinander verschoben. Sie besitzen Absorptionsmaxima bei 488 und 514 nm, die mit den Emissionslinien des Argonlasers übereinstimmen. Sowohl β -Karatotin als auch Lycopin absorbieren die Laserstrahlung bei 488 nm. Die Absorption des Lycopins bei 514,5 nm ist jedoch wesentlich höher als die von β -Karatotin (Abb. 2.7). Die Absorptionsunterschiede werden bei der Signalauswertung genutzt, um die Konzentrationen von β -Karatotin und Lycopin zu bestimmen. Voraussetzung ist, dass eine Anregung bei 488 und 514 nm erfolgt. Die Intensität des Raman-Signals ist ein Maß für die Konzentration der Karotinoide in der Haut.

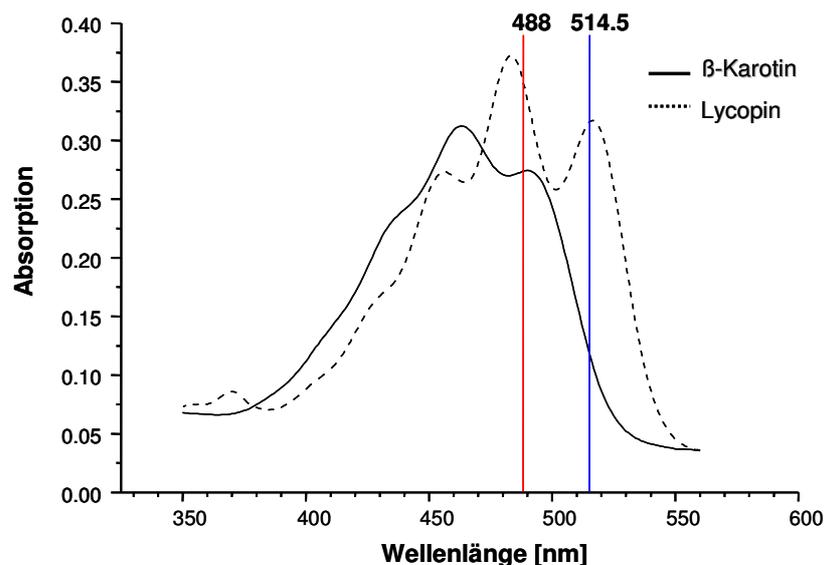


Abb. 2.7: Absorptionsspektren von β -Karatotin und Lycopin in der Haut

2.4 Statistische Auswertung

Für alle Experimente wurden die Mittelwerte explorativ und die Standardabweichungen mit dem Programm Microsoft Excel 2000 berechnet.

Weiterführende statistische Auswertungen wurden in der vorliegenden Arbeit statistisch mit dem Programm SPSS 11.0 durchgeführt. Es wurde das erste Auftreten einer Fluoreszenz und die Häufigkeit einer Fluoreszenz an unterschiedlichen Körperstellen nach Infusion mit Epirubicin und PLD verglichen. Bei der Fragestellung ob Unterschiede bestehen, wurde der Friedmann-Test durchgeführt. Der Friedmann Test ist ein nicht parametrischer Test über die Homogenität der Verteilung bei abhängigen Stichproben. Unter der Hypothese, das kein Unterschied in der Verteilung der Werte an den einzelnen Beobachtungspunkten bestehen, wurde der p-Wert der Teststatistik berechnet. Der p-Wert ist als asymptotische Signifikanz in den Tabellen angegeben. Bei einem Signifikanzniveau von $p=0,1$ werden Unterschiede in den Verteilungen als signifikant interpretiert.

Fraglich ist, ob sich die beiden untersuchten Substanzen Epirubicin und PLD hinsichtlich des ersten Nachweises und der Häufigkeit eines Nachweises an verschiedenen Körperstellen unterscheiden. Hierzu wurde ein Mann-Whitney-Test durchgeführt. Dieser Test ist ein nicht parametrischer Test für die Prüfung der Homogenität der Verteilung.

3 Ergebnisse

3.1 In- vivo Nachweis von pegyliertem liposomalem Doxorubicin und Epirubicin in der Haut mit der Laser-Scan-Mikroskopie

In den vorliegenden Untersuchungen sollten Anthrazykline *in- vivo* in der Haut mittels LSM in Echtzeit nachgewiesen werden. Dazu wurden Patientinnen vor und während intravenöser Anthrazyklin-Infusion mit der Laser-Scan-Mikroskopie bis 5 h nach Infusion untersucht. Ferner sollten Daten zum Zeitverhalten von Anthrazyklinen in der Haut gewonnen werden und verschiedene Körperstellen untersucht werden, um mögliche Rückschlüsse auf die Pathogenese des Hand-Fuß-Syndroms zu erhalten. Es wurden zwei unterschiedliche Substanzen verwandt, Epirubicin und liposomales Doxorubicin, die Analysen der beiden Substanzen wurden miteinander verglichen.

Das Probandenkollektiv bestand in beiden Gruppen jeweils aus 6 Patientinnen. Die Untersuchungen wurden entsprechend dem Versuchsdesign in Kapitel 2.2.2.2 durchgeführt und die Frauen vor, während und nach der Chemotherapie untersucht.

Für die Interpretation der Bilder war es wichtig, LSM Bilder der normalen gesunden Haut zu kennen. Aus diesem Grund wurde in einer Voruntersuchung die Haut eines gesunden Probanden untersucht. Die Untersuchungen wurden entsprechend Kap. 2.2.1. durchgeführt.

3.1.1 Visuelle Darstellung der Hautschichten mittels LSM nach Applikation von Natriumfluorescein

Nach Aufbringen des fluoreszierenden Farbstoffes Natriumfluorescein auf die Haut eines gesunden Probanden war es durch das LSM möglich, zelluläre Strukturen darzustellen und die verschiedenen Hautschichten zu erkennen.

An der Oberfläche ließ sich die oberste Hautschicht, das Stratum corneum darstellen. In Abb. 3.1.a sind große, teils organellenlose Zellen abgebildet, die Kerneozyten, welche sich teilweise im Ablösungsprozess befinden. Darunter folgte das Stratum spinosum. In Abb. 3.1.b

sind die kleinen, stachelartigen Zellen dieser Hautschicht abgebildet. In der Mitte zieht eine Furche durch das Bild.

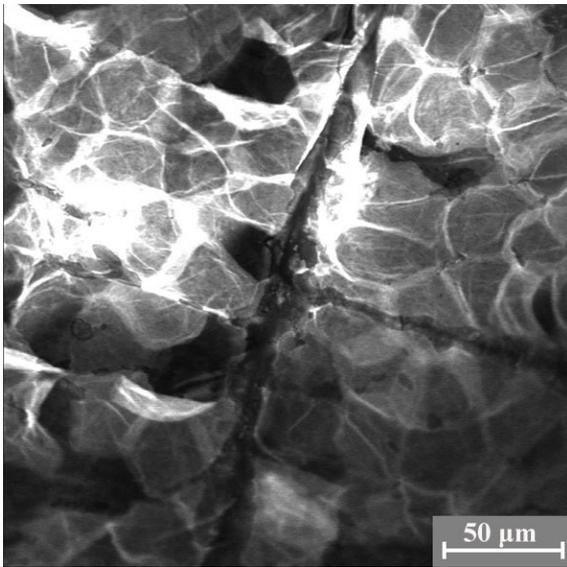


Abb. 3.1.a: Stratum corneum

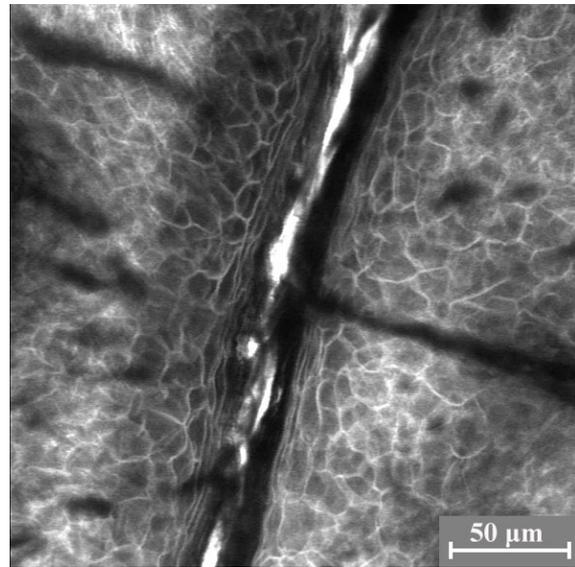


Abb. 3.1.b: Stratum spinosum

Abb. 3.1.a-b: gesunde Haut nach externem Aufbringen von Natriumfluoreszein

Es erfolgte eine Einsicht bis zur Basalzellschicht und den oberen Teilen der Dermis. In Abb. 3.1.c ist der Übergang der Epidermis zur Dermis mit ihren Papillen abgebildet.

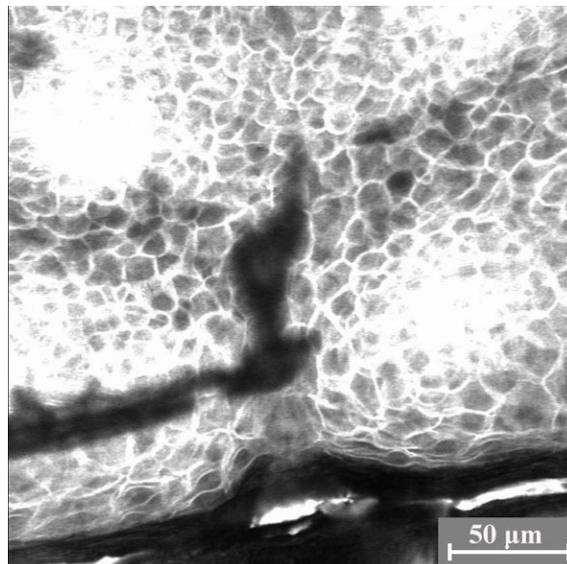


Abb. 3.1.c: obere Dermis mit Papillen

Abb. 3.1.c: gesunde Haut nach externem Aufbringen von Natriumfluoreszein

Unterscheiden kann man die einzelnen Schichten aufgrund der zellulären Morphologie und der Tiefenlokalisierung. Zusätzlich können Hautanhangsgebilde, wie Haare, Haarfollikel und Schweißdrüsen abgebildet werden.

Die bekannten topographischen Unterschiede an den unterschiedlichen Körperstellen waren mittels LSM ebenfalls nachweisbar. Hand und Fuß, also Regionen mit einem sehr dicken Stratum corneum, konnten höchstens bis zum Stratum granulosum analysiert werden. An Regionen mit einem dünneren Stratum corneum, wie z. B. Unterarm, Stirn und Achsel waren Messungen mit dem LSM bis in den dermalen Bereich inklusive Papillen möglich.

3.1.2 Fluoreszenz von Anthrazyklinen bei Luftkontakt

Die Fluoreszenz der Anthrazykline wird durch Tageslicht bzw. Luftkontakt gelöscht. Fluoreszenzsignale von liposomalem Doxorubicin und Epirubicin konnten in-vitro auf einer Glasplatte bei Tageslicht und Luftkontakt über 2 Stunden nachgewiesen werden, wobei die Fluoreszenzintensität kontinuierlich abnahm. Analoge Ergebnisse wurden unter Ausschluss von Tageslicht erzielt, wobei zu berücksichtigen ist, dass auch die Laserstrahlung zur Fluoreszenzlöschung beitragen kann.

3.1.3 Visuelle Darstellung der Haut nach intravenöser Infusion von Anthrazyklinen

Vor der intravenösen Infusion der Substanzen wurde bei jeder Patientin an den Körperregionen Stirn, Achsel, Unterarm, Hand und Fußballen eine Leermessung mit dem LSM durchgeführt. Bei den Leermessungen ließen sich bei keinem Patienten vor der Infusion mit den Anthrazyklinen fluoreszierende Substanzen feststellen. Nach Beginn der Infusion mit Anthrazyklinen wurde in der Haut jeder Patientin ein Fluoreszenzsignal detektiert. Je nach Stärke und Lokalisation war es möglich zelluläre Strukturen zu erkennen.

3.1.3.1 Das Stratum corneum

Abb. 3.2 zeigt ein Areal am rechten Fuß einer Patientin 4 Stunden nach Infusionsbeginn mit Epirubicin. Es sind große, unregelmäßige, polygonale, flache Zellen zu erkennen, die sich durch ihr Aussehen und die Tiefenlokalisierung eindeutig als Korneozyten identifizieren lassen.

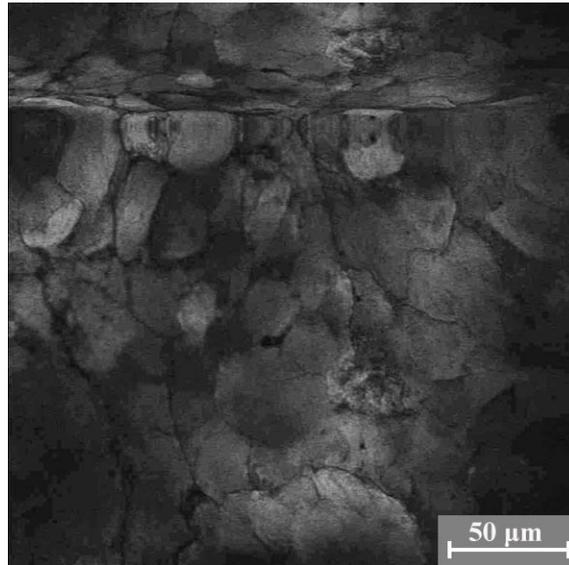


Abb. 3.2: Korneozyten an der Hautoberfläche Patientin E1, Fuß rechts, nach 4 h

Abb. 3.3 zeigt ein Areal an der linken Hand einer Patientin 4 h nach der Infusion mit liposomalem Doxorubicin. Sichtbar ist eine unregelmäßige Anfärbung einzelner Korneozyten. Sowohl unter der Therapie mit liposomalem Doxorubicin als auch unter der Therapie mit Epirubicin konnte durch die Fluoreszenz der Substanzen das Straum corneum dargestellt werden. Die deutlich sichtbare Darstellung gelang nur an Hand und Fuß.

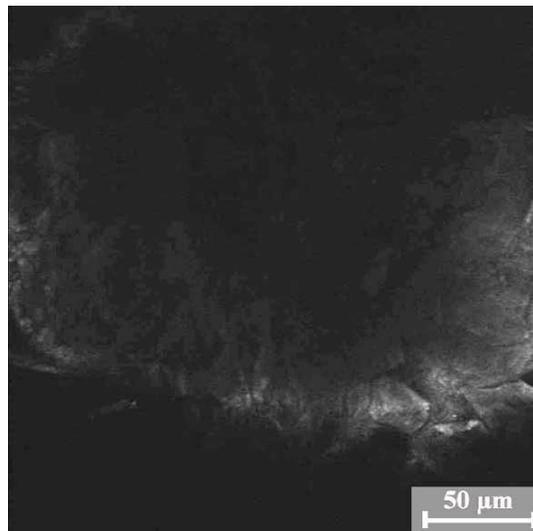


Abb. 3.3: unregelmäßige Anfärbung der Korneozyten Patientin C4, Hand links, nach 4 h

3.1.3.2 Hautfurchen und Falten

Abb. 3.4 zeigt ein Hautareal am Unterarm einer Patientin 3 Stunden nach einer Infusion mit Epirubicin. Die unterschiedlich breiten, dunklen Vertiefungen (Pfeil violett) sind Hautfurchen, die beim Verfolgen in die Tiefe schmäler wurden und an Hand und Fuß deutlich breiter waren als an den anderen Regionen. Furchen stellten sich selten hell dar. Meistens waren sie als dunkle Vertiefungen zwischen den fluoreszierenden Zellverbänden sichtbar. Auf der Hautoberfläche waren Furchen und Falten gut darstellbar.

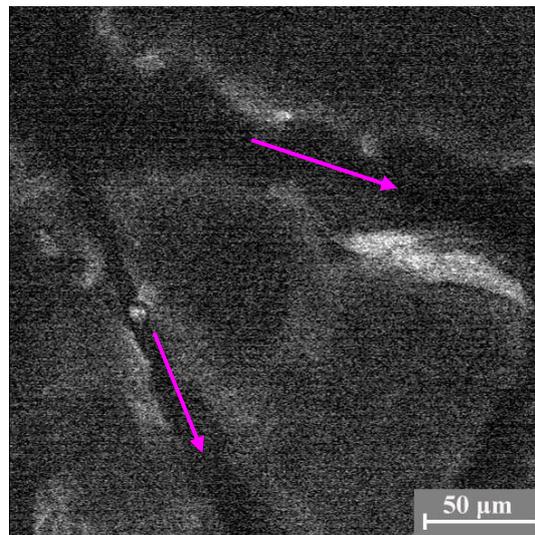


Abb. 3.4: Hautfurchen
Patientin E 5, Unterarm links, nach 3 h

Abb. 3.5 stellt Hautfurchen und Fluoreszenz an den Rändern am Unterarm einer Patientin 3 Stunden nach Infusion mit Epirubicin dar.

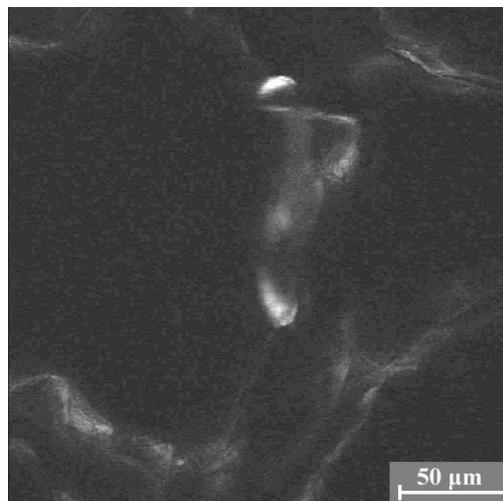


Abb. 3.5: Hautfurchen
Patient E 2, Unterarm links, nach 3h

3.1.3.3 Die Schweißdrüsen: der Penetrationsweg

Mit dem LSM konnte nachgewiesen werden, dass die Anthrazykline aus den Schweißdrüsen auf die Haut austreten (Abb. 3.6 a-c), wobei sie sich auf der Hautoberfläche lateral verteilen (Abb. 3.6 a-c) und sich homogen ausbreiten.

Die Abb. 3.6.a zeigt die Oberfläche mit dem Endstück des Schweißdrüsenausführungsganges (Pfeile violett) in dieser Schicht. Er besitzt ein rundliches bis zwiebelschalenartiges, dunkles Aussehen. Um ihn herum ist eindeutig vermehrte Fluoreszenz festzustellen.

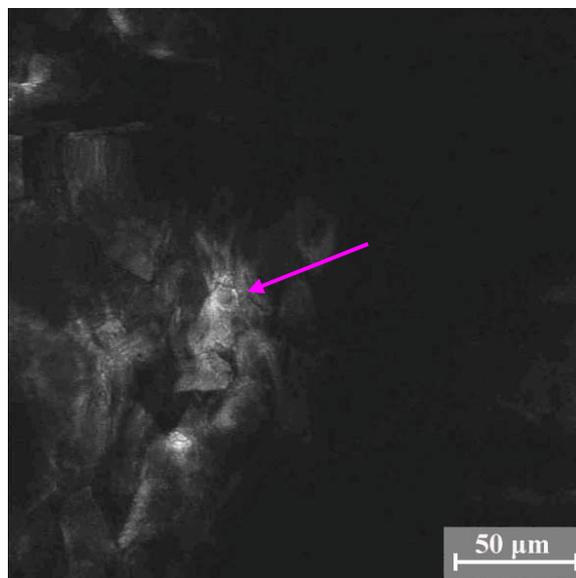


Abb. 3.6.a Endstück Schweißdrüsenausführungsgang
Patientin C 4, Hand links

Die Abbildung entstand nach Infusion mit liposomal verkapseltem Doxorubicin an der Hand. An Hand und Fuß ließen sich öfter als an den anderen Körperregionen Schweißdrüsen darstellen. Sowohl unter Therapie mit Epirubicin als auch mit PLD ließ sich eine starke Fluoreszenz innerhalb der Schweißdrüsen und -gänge nachweisen.

Die Aufnahmen der Abb. 3.6 b-c zeigen die typische Morphologie der Schweißdrüsen nach Verlagerung der Scanebene in die Tiefe. Deutlich sichtbar konnten die durch die Epidermis ziehenden Ausführungsgänge der Schweißdrüsen visualisiert werden. Diese besaßen rundliche Durchmesser und die im Schweiß enthaltene Substanz fluoreszierte stark. In der Umgebung fanden sich dezente, gesprenkelte Fluoreszenzansammlungen.

Abb. 3.6 b zeigt zwei Ausführungsgänge bei Ihrem Weg durch die Epidermis (Pfeile violett).

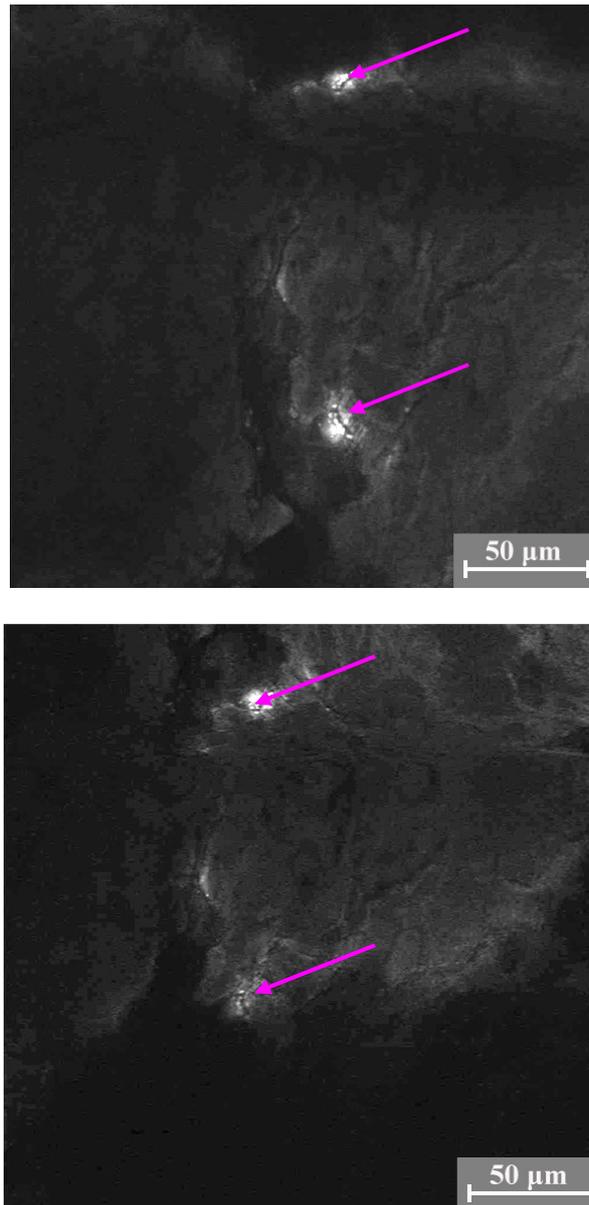


Abb. 3.6 a-b: Exkretion von Epirubicin aus einer Schweißdrüse an der Hand, Patient E1 nach 2h

Abb. 3.6.c zeigt die Ausführungsgänge derselben Lokalisation in einer tieferen Scanebene.

3.1.4 Tiefenlokalisierung

Eine Tiefenangabe in μm war aufgrund der Einteilung der Tiefenskala in relative Einheiten nicht möglich. Dennoch konnten Aussagen getroffen werden, in welcher Hautschicht sich die Fluoreszenz befindet.

An allen Hautstellen ist eine maximale Einsicht von 200 μm gegeben, die durch die Physiologie der Haut verringert sein kann. Am Thenar der Handfläche und Ferse am Fuß war mit dieser maximalen Einsicht nur eine Darstellung des Stratum corneum möglich. Hier konnte differenziert werden zwischen oberflächlichen und tiefen Schichten des Stratum corneum. An Stirn, Achsel und Unterarm war eine maximale Einsicht bis in den Bereich der Dermis und der Papillen gegeben.

Abb. 3.7 a zeigt die linke Hand einer Patientin 3 h nach Infusion mit PLD bei 50 r. E., also an der Oberfläche des Stratum corneum, sichtbar sind Schweißdrüsenausführungsgänge und ein Endstück, sowie die sich lateral verteilende Fluoreszenz.

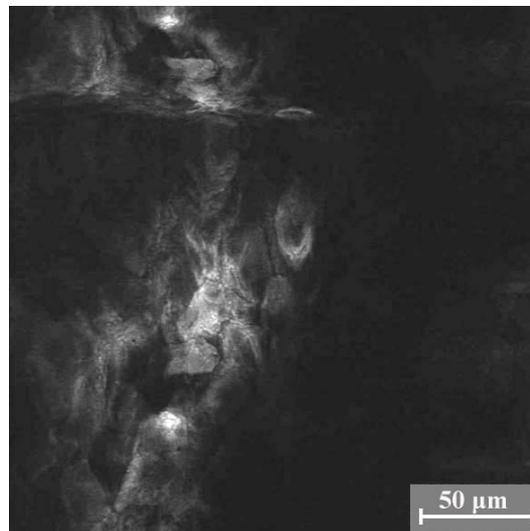


Abb. 3.7.a: Scanebene bei 50 r. E
Patientin C4, Hand links, nach 3h

Abb. 3.7.b zeigt dieselbe Stelle der Hand bei 200 r. E., man erkennt eine leichte Fluoreszenz mit Anfärbung einzelner Kerneozyten.

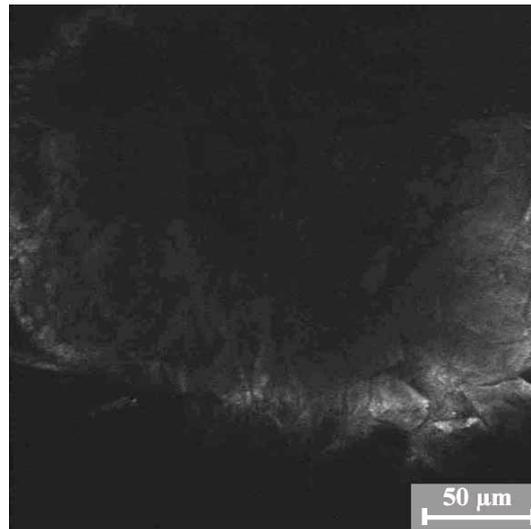


Abb. 3.7.b: Scanebene bei 200 r. E.
Patientin C4, Hand links, nach 3h

Abb. 3.7. c entstand nach Verlagerung der Scan Ebene in die maximale Tiefe von 400 r. E., es ist lediglich eine inhomogenem leichte Fluoreszenz ohne erkennbare Strukturen zu sehen.

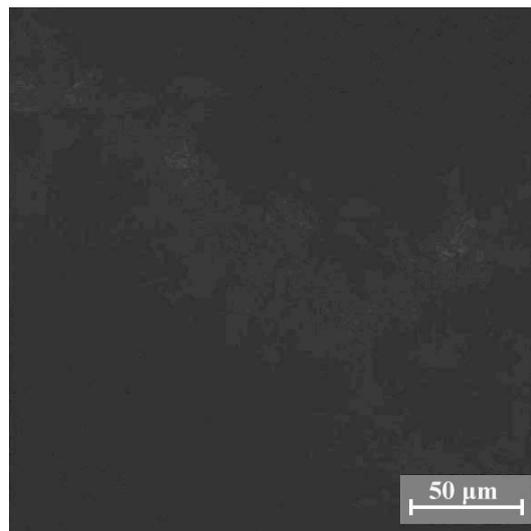


Abb. 3.7.c: Patientin C4, Hand links, nach 3h bei 400 r. E

Nach 1 h war bei den Patienten das Fluoreszenzsignal vor allem an der Oberfläche lokalisiert. Nach 2-5 h wurden die Anthrazykline auch in tieferen Schichten der Stratum corneums/ bzw. der Epidermis nachweisbar. An Hand und Fuß wurde die Substanz bis in die tiefen Schichten des Stratum corneums detektiert. Auch an Achsel, Stirn und Unterarm war nach 1h Fluoreszenz oberflächlich feststellbar, In den weiteren Stunden nach der Infusion konnte das Signal in tieferen Korneozytenlagen festgestellt werden, in der Höhe der Epidermis/Dermis Grenze und den Papillen konnte ebenfalls eine schwache Fluoreszenz nachgewiesen werden. Es zeigten sich keine Unterschiede zur Verteilung in die Tiefe zwischen Epirubicin und PLD.

3.1.5 Visuelle Darstellung der Haut nach Anthrazyklingabe an unterschiedlichen Körperregionen

Bei der qualitativen Bildauswertung zeigten sich Unterschiede zwischen den verschiedenen Körperregionen. Diese können aufgrund von charakteristischen Merkmalen in 2 unterschiedliche Gruppen unterteilt werden: zum einen zur Gruppe der Leistenhaut (Hand- und Fußinnenflächen), zum anderen zur Felderhaut (Achsel, Stirn und Unterarm).

3.1.5.1 Achsel, Stirn und Unterarm

Differenziert werden kann Felderhaut wie sie an Stirn, Achsel und Unterarm vorkommt. An den drei Körperregionen zeigte sich ein ähnliches Fluoreszenzmuster. Hier wurde die Fluoreszenz besonders in Furchen, Haaren und Follikeln lokalisiert. Die Intensität der Fluoreszenz war selten komplett über die gesamte Abbildung verteilt sondern war sehr dezent. Das charakteristische Bild zeichnete sich durch verschiedene Merkmale aus und soll an exemplarischen Abbildungen illustriert werden.

In der Abb. 3.8 ist deutlich eine Hautfurche am Unterarm zwei Stunden nach Beginn der Chemotherapie mit Epirubicin als dunkler Spalt (Pfeil violett) zu erkennen. Am Rande der Furche ist Fluoreszenz sichtbar, welche einen schmalen Streifen des an der Furche liegenden Zellverbandes anfärbt.

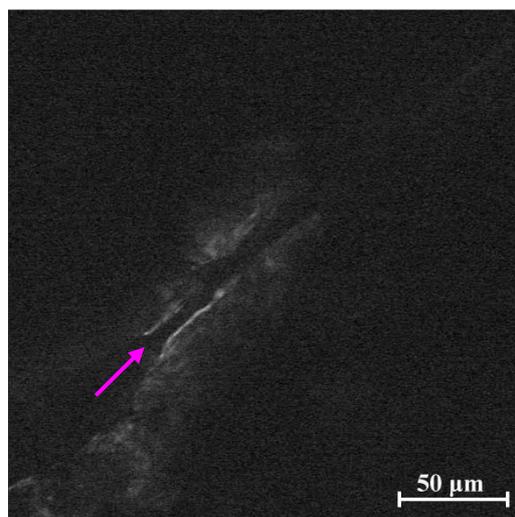


Abb. 3.8: Hautfurche am Unterarm
Patientin C1, Unterarm rechts, nach 3 h

Abb. 3.9 zeigt eine oberflächliche Schicht des Stratum corneum am Unterarm. Die Abbildung entstand 2 h nach der Chemotherapie mit liposomalem Doxorubicin. Sichtbar ist eine fragmentäre Anfärbung der Korneozyten (Pfeil violett). Die Korneozyten liegen teilweise regellos, überlappend übereinander.

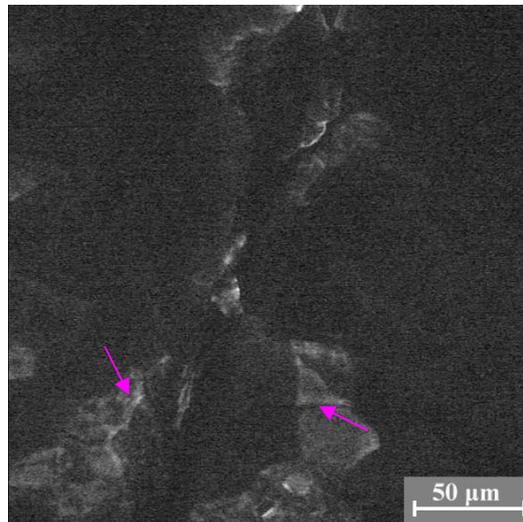


Abb. 3.9: Korneozyten am Unterarm
Patientin C1, Unterarm rechts, nach 2h

An der Felderhaut zeigte sich ein weiteres charakteristisches Fluoreszenzmuster, das in der folgenden Abbildung dargestellt ist.

Abb. 3.10. zeigt die Achselregion einer Patientin 2 h Stunden nach Epirubicin Infusion. Auch hier ist ersichtlich, dass die Fluoreszenz nicht im gesamten Abschnitt sichtbar ist. Die untersuchten, fluoreszierenden Substanzen sind von der Umgebung klar abgrenzbar und verteilen sich kaum.

Bei den meisten Abbildungen an den Körperregionen Achsel, Stirn und Unterarm ist die detektierte Fluoreszenz nicht homogen im extrazellulären Raum verteilt und ließ dadurch die Zellverbände sichtbar werden, noch reicherte sie sich intrazellulär an.

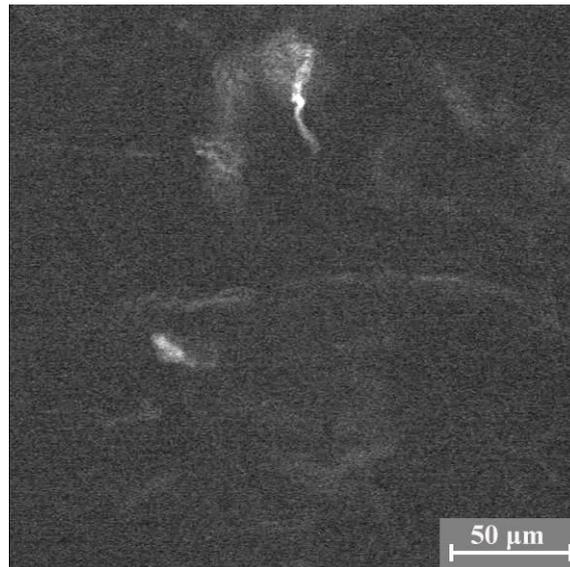


Abb. 3.10: Patientin E2, Achsel nach 2 h

3.1.5.2 Hand und Fuß

Im Gegensatz dazu zeigte sich an Hand und Fuß ein nahezu identisches, charakteristisches Fluoreszenzmuster, was in dieser Ausprägung an keiner anderen Körperstelle gesehen werden konnte.

Abb. 3.11.a zeigt einen Bereich der Ferse einer Patientin 4 h nach Infusion mit PLD. Die Fluoreszenzintensität war sehr stark und zeigte sich in klar begrenzten Strukturen.

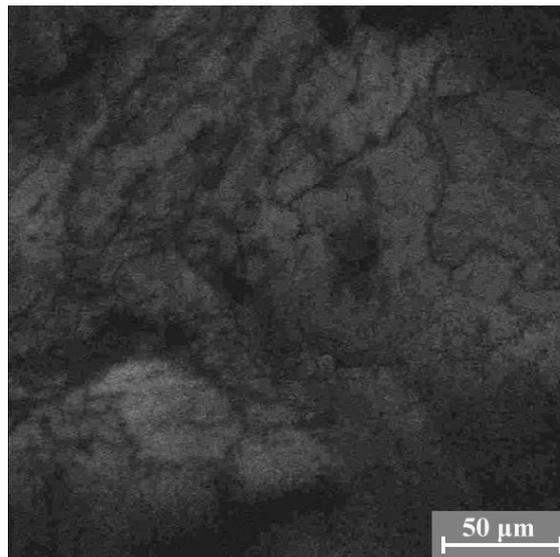


Abb. 3.11.a: charakteristisches Fluoreszenzmuster an der Ferse 4 h nach Gabe von PLD

Abb. 3.11.b zeigt die Ferse einer Patientin 4 h nach Infusion mit Epirubicin. Auch hier erkennt man eine ähnliche Struktur, die das gesamte Areal einnimmt.

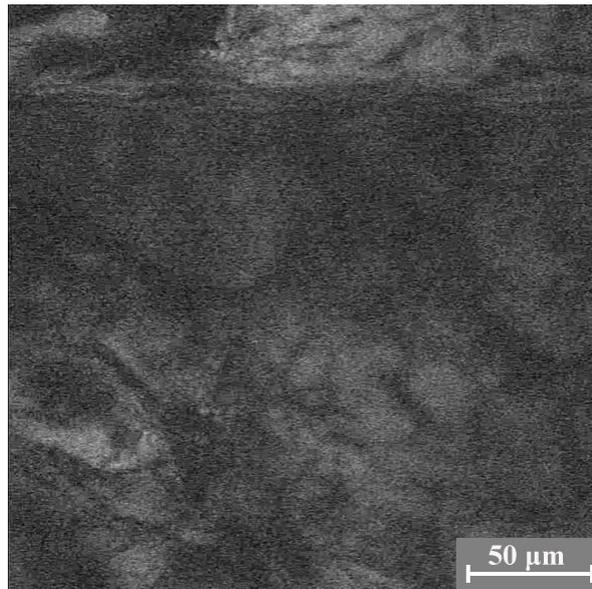


Abb. 3.11.b: charakteristisches Fluoreszenzmuster Ferse 4 h nach Gabe von Epirubicin

Bei den dargestellten Abbildungen handelt es sich um Bilder aus tieferen Zellschichten des Stratum Corneum, nahe den lebenden Zellen im Stratum granulosum. Das charakteristische Fluoreszenzmuster war an Hand- und Fußinnenflächen nach Infusion mit PLD und Epirubicin zu sehen. Bei den meisten Abbildungen nahm diese Fluoreszenz das gesamte Bild ein und war sehr deutlich sichtbar.

An Hand und Fuß wurden, wie es der normalen Anatomie entspricht, keine Haare gefunden, dafür jedoch eine vermehrte Anzahl von Schweißdrüsen, was für die so genannte Leistenhaut charakteristisch ist. Die Befurchung an Hand und Fuß war wesentlich tiefer und nicht so schmal wie an den Regionen mit Felderhaut.

3.1.6 Nachweis der Anthrazykline in der Haut nach i.v. Infusion

Vor der intravenösen Infusion der Substanzen wurde bei jeder Patientin an den Körperregionen Stirn, Achsel, Unterarm, Hand und Fußballen eine Leermessung mit dem LSM durchgeführt. Bei den Leermessungen ließen sich bei keinem Patienten vor der Infusion mit den Anthrazyklinen fluoreszierende Substanzen feststellen.

Durchschnittlich $1,4 \pm 0,9$ Stunden nach Beginn der i. v. Infusion konnte bei allen Patienten das erste Fluoreszenzsignal nachgewiesen werden. Das Fluoreszenzsignal war dann während der weiteren Messvorgänge bis 5 Stunden nach Beginn der Infusion detektierbar.

Tab.3.1: Zeitpunkt des ersten Nachweises der Anthrazykline in der Haut nach i. v. Infusion

Zeitpunkt der Detektion der Anthrazykline nach Infusion [h] MW \pm STABW					
	Stirn	Achsel	Unterarm	Hand	Fuß
	2,0 \pm 1,27	2,05 \pm 1,19	1,95 \pm 0,96	1,30 \pm 1,03	1,70 \pm 1,06

3.1.7 Erster Nachweis von PLD in der Haut nach Infusionsbeginn an den verschiedenen Körperstellen

Nach Infusion mit Caelyx betrug die durchschnittliche Zeit bis zur Detektierung der Fluoreszenz 1,5 \pm 0,8 h. Eine zusammenfassende Übersicht über den ersten Nachweis von PLD in der Haut nach der Infusion an den unterschiedlichen Körperstellen gibt die Tab 3.2.

Tab.3.2: Erster Nachweis von PLD in der Haut nach intravenöser Infusion

	N	Mittelwert	StabW	Minimum	Maximum
Stirn	6	2,416	1,428	1	5
Achsel	6	2	1,125	1	4
Unterarm	6	2	0,917	1	3
Fuß	6	2	0,816	1	3
Hand	6	1	0,816	1	3

An der Stirn betrug die durchschnittliche Zeit bis zur Detektion der Fluoreszenz 2,4 h; an der Achsel 2,1 h; am Unterarm 1,9 h; am Fuß 1,6 h und an der Hand 1,3 h.

Bei der Fragestellung ob Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Körperstellen bestehen, wurde der Friedmann-Test durchgeführt (Tab. 3.3).

Tab.3.3 Friedmann Test

Detektion der ersten Fluoreszenz an den untersuchten Körperstellen nach Infusion mit PLD			
	mittlerer Rang		
Stirn	4,08	N	6
Achsel	3,42	Chi-Quadrat	8,87
Unterarm	3,17	df	4
Fuss	2,58	asymptotische Sigifikanz	0,064
Hand	1,75		

An Hand und Fuß treten die Signale signifikant früher auf (asymptotische Signifikanz =0,064).

3.1.8 Erster Nachweis von Epirubicin in der Haut nach Infusionsbeginn an den verschiedenen Körperstellen

Nach Infusion mit Epirubicin betrug die durchschnittliche Zeit bis zur Detektierung der Fluoreszenz $1,5 \pm 0,9$ h. Eine zusammenfassende Übersicht über den ersten Nachweis von Epirubicin in der Haut nach der Infusion an den unterschiedlichen Körperstellen gibt die Tab. 3.4.

Tab.3.4: Erster Nachweis von Epirubicin in der Haut nach intravenöser Infusion

	N	Mittelwert	StabW	Minimum	Maximum
Stirn	6	2	1,26	1	4
Achsel	6	3	1,37	1	5
Unterarm	6	2	1,09	1	3
Fuß	6	2	1,54	1	4
Hand	6	1	0,81	1	3

An der Stirn betrug die durchschnittliche Zeit bis zur Detektion der Fluoreszenz 2 h; an der Achsel 2,5 h; am Unterarm 1,5 h; am Fuß 2 h und an der Hand 1,3 h.

Bei der Fragestellung ob Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Körperstellen bestehen, wurde ein Friedmann-Test durchgeführt (Tab. 3.5).

Tab.3.5 Friedmann Test

Detektion der ersten Fluoreszenz an den untersuchten Körperstellen nach Infusion mit Epirubicin

	mittlerer Rang		
Stirn	3,08	N	6
Achsel	4,08	Chi-Quadrat	8
Unterarm	2,92	df	4
Fuss	2,92	asymptotische Sigifikanz	0,092
Hand	2		

Die Signale an Hand und Fuß treten auch nach Infusion mit Epirubicin signifikant am frühesten auf (asymptotische Signifikanz beträgt 0,092).

3.1.9 Erster Nachweis von Epirubicin im Vergleich zu PLD in der Haut nach Infusionsbeginn

Fraglich ist, ob sich die beiden untersuchten Substanzen Epirubicin und PLD hinsichtlich des ersten Nachweises unterscheiden. Hierzu wurde ein Mann-Whitney-Test durchgeführt. (Tab. 3.6)

Tab. 3.6 Mann-Whitney-U-Test

	Stirn	Achsel	Unterarm	Hand	Fuß
Mann-Whirney-U	14	14	13,5	18	18
Wilcoxon-W	35	35,5	34,5	39	39
Z	0,65	0,57	0,74	0	0
Asymptotische Signifikanz	0,51	0,56	0,45	1	1
Exakte Signifikanz	0,58	0,58	0,48	1	1

Hierbei ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem ersten Nachweis der beiden Substanzen. Ein Überblick gibt die nachfolgende Abbildung.

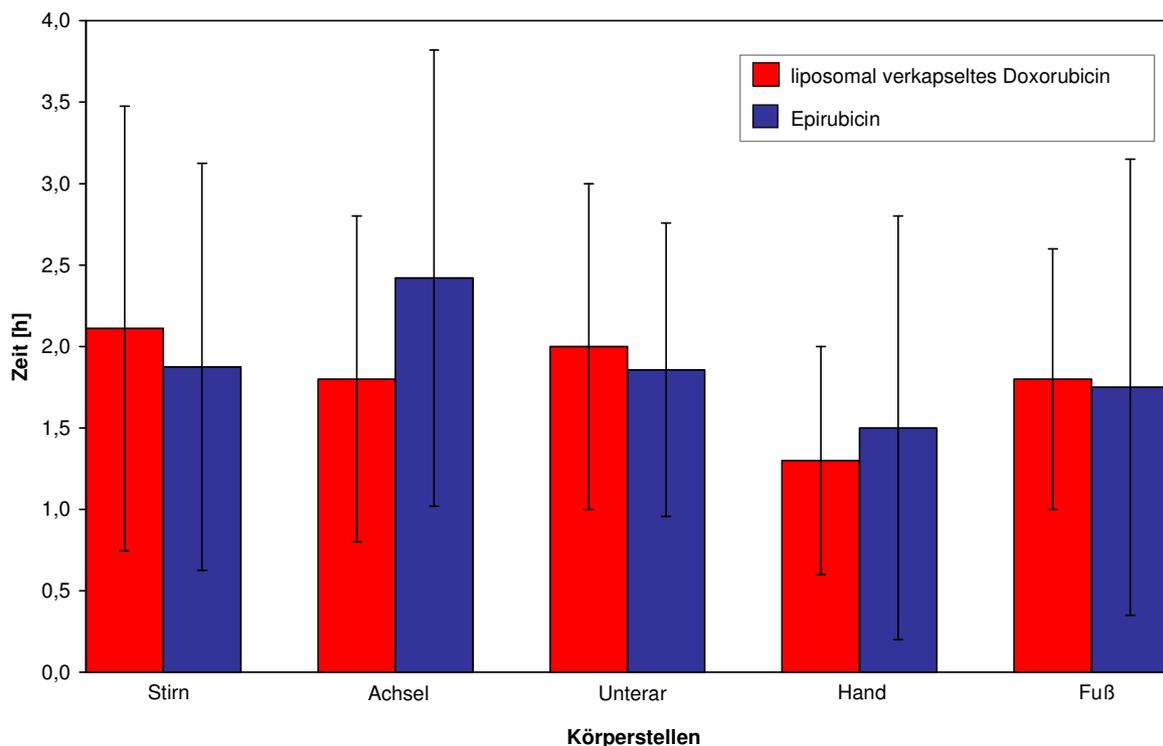


Abb. 3.12: Aktivitätsbeginn der Anthrazykline Epirubicin und Doxorubicin in der Haut nach standardisierter Infusion bei den untersuchten Patientinnen

3.1.10 Detektion von Anthrazyklinen an verschiedenen Körperregionen

Betrachtet man alle durchgeführten Messungen bei den Patienten, so gibt es Unterschiede in der Häufigkeit bei dem Auftreten des Fluoreszenzsignals, also dem messbaren Nachweis der Anthrazykline, an den unterschiedlichen Körperregionen.

An der Hand betrug die Häufigkeit einer Fluoreszenz durch Anthrazykline im Durchschnitt 87%, am Fuß 77%, am Unterarm 59%, an der Achsel 53% und an der Stirn 53%. Die Fluoreszenz war nicht bei allen Patienten gleich und zeigte interindividuelle Unterschiede. An Hand- und Fußballen ließen sich die Chemotherapeutika am häufigsten nachweisen, an Stirn, Achsel und Unterarm war der Nachweis deutlich seltener.

3.1.11 Häufigkeit des Nachweises von PLD an verschiedenen Körperstellen

Mit dem LSM wurden 3 Messungen bei jedem Patient an jeder untersuchten Körperregion durchgeführt. Ein positives Signal galt als positiver Nachweis der Substanz. So konnte eine Aussage getroffen werden, wie oft ein positiver Nachweis an einer Körperregion erfolgte. Dabei wurden alle Messungen der Patientengruppe unter PLD ausgewertet (Tab. 3.7). Bei der Fragestellung ob Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Körperstellen bestehen, wurde ein Friedmann-Test durchgeführt (Tab. 3.8).

Tab. 3.7: Häufigkeit des Nachweises von PLD an unterschiedlichen Körperregionen

	N	Mittelwert	StabW	Minimum	Maximum
Stirn	6	3	1,26	1	4
Achsel	6	3,66	0,51	3	4
Unterarm	6	3,33	1,63	1	5
Hand	6	4,83	0,4	4	5
Fuß	6	4,5	0,83	3	5

Tab. 3.8 Friedmann Test

Häufigkeit des Nachweises von PLD an unterschiedlichen Körperregionen

	mittlerer Rang		
Stirn	2,08	N	6
Achsel	2,42	Chi-Quadrat	9,34
Unterarm	2,58	df	4
Fuss	4,17	asymptotische Sigifikanz	0,053
Hand	3,75		

Die asymptotische Signifikanz beträgt 0,053. An Hand und Fuß ließ sich signifikant öfter Fluoreszenz nachweisen, als an den anderen Körperregionen.

3.1.12 Häufigkeit des Nachweises von Epirubicin an verschiedenen Körperstellen

Es wurden alle Messungen der Patientengruppe unter Epirubicin ausgewertet (Tab. 3.9). Bei der Fragestellung ob Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Körperstellen bestehen, wurde ein Friedmann-Test durchgeführt (Tab. 3.10).

Tab. 3.9: Häufigkeit des Nachweises von Epirubicin an unterschiedlichen Körperregionen

	N	Mittelwert	StabW	Minimum	Maximum
Stirn	6	2,16	1,72	0	5
Achsel	6	1,83	0,93	1	3
Unterarm	6	2,66	1,75	0	5
Hand	6	4,33	1,63	1	5
Fuß	6	3	1,54	1	5

Tab. 3.10 Friedmann Test

Häufigkeit des Nachweises von Epirubicin an unterschiedlichen Körperregionen

	mittlerer Rang		
Stirn	2,3	N	6
Achsel	2,17	Chi-Quadrat	9,63
Unterarm	2,67	df	4
Fuss	4,5	asymptotische Sigifikanz	0,45
Hand	3,3		

Die asymptotische Signifikanz beträgt 0,045. Auch nach Infusion mit Epirubicin ließ sich an Hand und Fuß signifikant öfter Fluoreszenz nachweisen als an den anderen Körperregionen.

3.1.13 Häufigkeit der Fluoreszenz von Epirubicin im Vergleich zu PLD

Am häufigsten erfolgte der Nachweis bei beiden Substanzen an Hand und Fuß. Eine vergleichende Übersicht ist in Abb. 3.13 dargestellt.

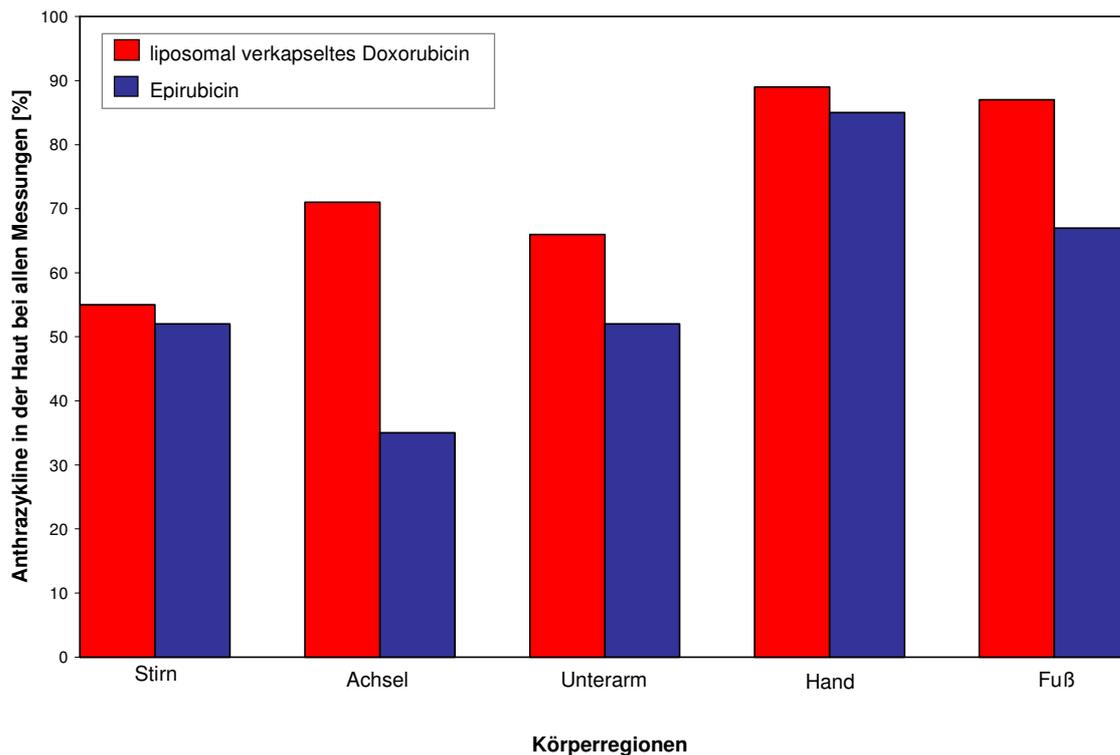


Abb. 3.13: Positiver Nachweis der Anthrazykline in der Haut an verschiedenen Körperstellen

Bei der Fragestellung ob sich PLD häufiger als Epirubicin nachweisen lässt, wurde ein Mann-Whitney-Test durchgeführt (Tab. 3.11).

Tab. 3.11 Mann-Whitney-U-Test

	Stirn	Achsel	Unterarm	Hand	Fuß
Mann-Whitney-U	12	2	14	17	7
Wilcoxon-W	33	23	35	38	28
Z	0,978	2,67	0,65	0,123	1,84
Asymptotische Signifikanz	0,328	0,07	0,514	0,902	0,65
Exakte Signifikanz	0,394	0,009	0,589	0,937	0,93

Der einzige Unterschied zwischen Epirubicin und Doxorubicin ergab sich an der Achsel. Unter Infusion mit Caelyx war hier die Substanz häufiger nachweisbar. Sonst ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Substanzen.

3.2 Studiendesign B

Entwicklung möglicher Präventionsstrategien gegen die PPE

Die Pathogenese des Hand-Fuß-Syndroms ist bisher unzureichend bekannt. Eine effektive, allgemein angewandte Prävention oder Therapie existiert bisher nicht. Basierend auf dem

ersten Teil der Ergebnisse, in dem pathogenetische Zusammenhänge offensichtlich wurden, wurden im zweiten Schwerpunkt dieser Arbeit verschiedene Therapieoptionen entworfen, die überprüft und hinsichtlich einer möglichen klinischen Verwendung evaluiert werden sollten.

3.2.1 Maßnahmen zur Verhinderung der Schweißproduktion

Mit dem LSM konnte gezeigt werden, dass Anthrazykline über Schweißdrüsen auf die Haut gelangen. Nachdem sie sich auf der Oberfläche verteilen, penetrieren sie in tiefere Schichten des Stratum corneum. Ziel der Untersuchungen war es, die Aktivität der Schweißdrüsen zu beeinflussen, um die Substanzsekretion mit dem Schweiß zu verhindern.

Die beiden zur Verfügung stehenden, nicht invasiven, leicht durchführbaren Behandlungsmaßnahmen waren regionale Kühlung und die topische Anwendung von Aluminiumchloridhexahydrat, einem Antiperspirant. Beide Therapieoptionen wurden an einer Körperseite bei unterschiedlichen Patienten untersucht und mit unbehandelten Arealen an der anderen Körperseite verglichen. Die Versuchsdurchführung erfolgte entsprechend Kapitel 2.3.1.3. Zur Untersuchung einer erfolgreichen Reduktion der Schweißdrüsenaktivität wurden beide Körperseiten mit dem Laser-Scan-Mikroskop untersucht und das Vorhandensein von Anthrazyklinen in der Haut vor und während der i. v. Chemotherapie bestimmt. Die Abbildungen wurden miteinander verglichen.

3.2.1.1 Verminderung der Schweißproduktion durch Kühlelemente

An der linken Körperseite wurden an Achsel, Hand und Fuß 15 min vor der Chemotherapie Kühlelemente angewendet.

Die Fluoreszenz war an beiden Körperseiten ab ca. 1 h nach intravenöser Infusion nachweisbar. Über den Messzeitraum von 5 Stunden war die Fluoreszenz durch Anthrazykline an allen untersuchten Hautarealen sowohl an der gekühlten als auch an der ungekühlten Körperseite in ähnlichem Maß nachweisbar.

Abb. 3.14.a zeigt die linke vorher gekühlte Hand der Patientin 2h nach Beginn der Infusion mit PLD. Deutlich sichtbar ist das Fluoreszenzsignal, welches homogen die gesamte Abbildung färbt.

Abb. 3.14.b zeigt die rechte unbehandelte Handinnenfläche der Patientin. Auch hier breitet sich das Fluoreszenzsignal homogen aus.

Die gezeigten Abbildungen der Handinnenfläche sind exemplarisch für die anderen untersuchten Areale an der Achsel und Fußinnenfläche. Auch hier zeigte sich bei Betrachtung aller Abbildungen kein Unterschied zwischen den unterschiedlich vorbehandelten Körperseiten.

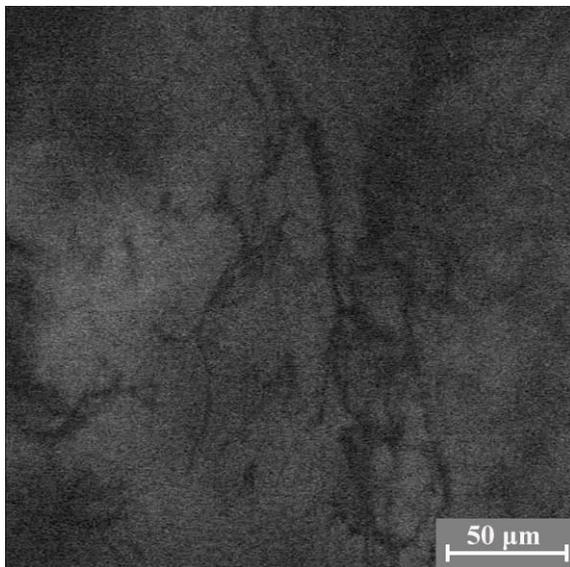


Abb. 3.14.a: Hand links nach 2h
Behandlung mit Kühlelementen

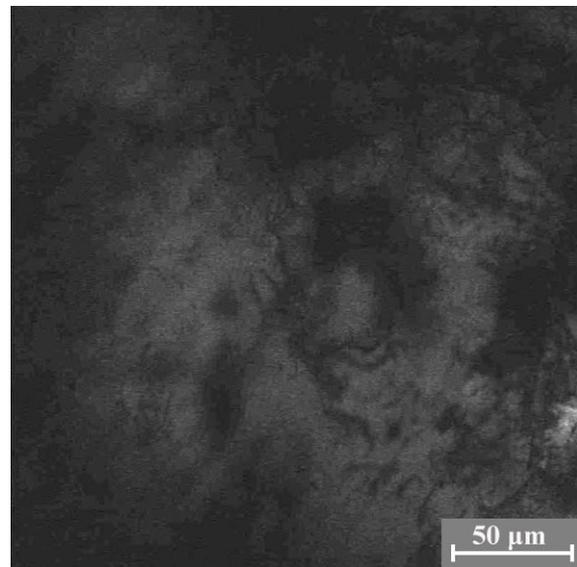


Abb.3.14.b: Hand rechts nach 2 h
unbehandeltes Areal

3.2.1.2 Blockade der Schweißexkretion durch Anwendung von Antiperspirantien

Nach einwöchiger Anwendung von Aluminiumchloridhexahydrat als Rollapplikator im Bereich der linken Körperseite an Händen, Füßen und im axillären Bereich erfolgte die nächste Infusion mit PLD. Vor und während der Infusion wurde die Haut mittels LSM untersucht.

An beiden Körperseiten zeigt sich ca. 1 h nach der Infusion ein vergleichbares Fluoreszenzsignal. PLD war an der vorbehandelten und unbehandelten Haut an allen Regionen ohne Intensitätsunterschied über den Messzeitraum von 5 h nachweisbar.

Abb. 3.15.a zeigt die linke Achselregion, die mit dem Antiperspirant vorbehandelt wurde. Deutlich sichtbar ist die Fluoreszenz des Anthrazyklins eine Stunde nach Infusion.

Abb. 3.15.b zeigt ein unbehandeltes Areal der Achselhaut an der rechten Körperseite. Auch hier fluoresziert das Anthrazyklin sichtbar. Die Fluoreszenz ist v. a. entlang der unterschiedlich breiten Furchen eine Stunde nach Infusion detektierbar. Die Abbildungen der Haut an der Achsel (Abb. 3.15.a-b) sind exemplarisch für die anderen Körperstellen.

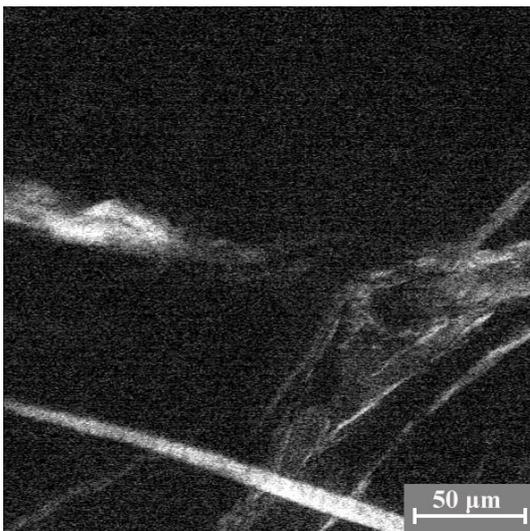


Abb. 3.15.a: Achsel links
Behandlung mit Antiperspirant

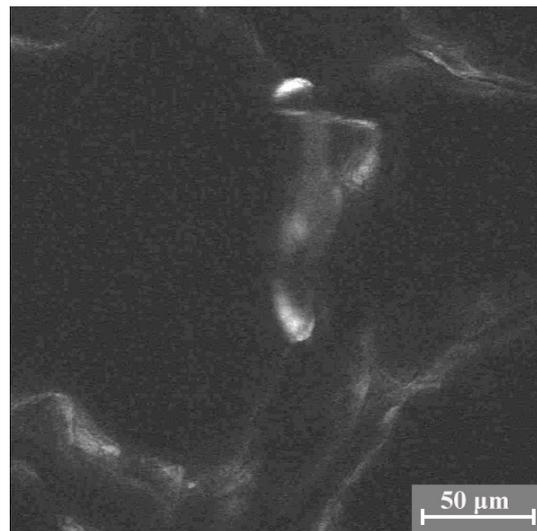


Abb.3.15.b: Achsel rechts
unbehandeltes Hautareal

3.2.2 Nachweis von freien Radikalen in der Haut durch Konzentrationsbestimmung von β -Karotin und Lycopin

Bei zwei Patienten unter Therapie mit liposomalem Doxorubicin wurde versucht, die Entstehung von freien Radikalen auf der Hautoberfläche während Infusion mit PLD nachzuweisen.

Dazu wurde bei den Patienten C und D vor der zytostatischen Infusion eine β -Karotinhaltige Salbe am linken Handballen appliziert. Die Konzentration von β -Karotin auf der Hautoberfläche wurde mit Hilfe der Raman-Spektroskopie detektiert. Ein Abfall der Konzentrationen entsteht durch den Zerfall der Substanzen unter Radikaleinwirkung. Die Ausgangsmessung erfolgte vor der Chemotherapie.

Um ersichtlich zu machen, in wie fern ein toxisches Arzneimittel die antioxidative Kapazität der Haut beansprucht, wurden zwei gesunde Probanden untersucht und die Ergebnisse miteinander verglichen. Die gesunden Probanden wurden zu gleichen Zeitpunkten gemessen, die Untersuchungen erfolgten ebenfalls am linken Handballen und es wurde dieselbe Creme verwendet.

3.2.3 Konzentration von β - Karotin und Lycopin in der Haut unter systemischer Therapie mit liposomalem Doxorubicin

Die Patientin C wurde bei 2 aufeinander folgenden Zyklen einer Chemotherapie mit einem Abstand von 4 Wochen untersucht. Die Leermessung erfolgte direkt nach Auftragen der Creme und betrug 1 relative Einheit. Dann wurde die intravenöse Chemotherapie gestartet. In der Tab. 3.12 ist der Verlauf der Karotinoide Konzentrationen während 170 min dargestellt.

Tab. 3.12: Konzentration der Karotinoide in der Haut bei Patient C unter Therapie mit liposomalem Doxorubicin in Abhängigkeit von der Zeit

Patient C 1. Messung		Patient C 2. Messung	
Zeit [min]	Konzentration der Karotinoide [rel Einheiten]	Zeit [min]	Konzentration der Karotinoide [rel Einheiten]
0	1	0	1
20	0,94	10	0,72
40	0,92	55	0,58
60	0,82	100	0,58
80	0,64	150	0,55
100	0,75	170	0,47
125	0,61		
150	0,68		
170	0,57		

Nach 60 min betrug die Messung 0,82 rel. Einheiten, damit sank die Konzentration um 18%. Nach 150 min betrug die Messung 0,68 rel. Einheiten, damit sank die Konzentration um 32%. Nach 170 min erreichte die Konzentration einen Wert von 0,57 rel. Einheiten. Sie sank also ca. 3h nach Infusionsbeginn um 43%.

Im zweiten untersuchten Zyklus bei derselben Patientin wurde nach 60 min ein Wert von 0,58 rel. Einheiten gemessen. Die Konzentration sank somit um 42%. Nach 150 min betrug der Wert der rel. Einheiten 0,55. Der Konzentrationsabfall betrug folglich 45%. Nach 170 min

wurde ein Wert von 0,47 rel. Einheiten gemessen. Die Konzentration von β - Karotin sank über den beobachteten Zeitraum von ca. 3 h nach intravenöser Chemotherapie somit um 53%.

Bei beiden Messungen zeigte sich ein kontinuierlicher Abfall der Konzentrationen über den beobachteten Zeitraum. Nach 60 min sank die Konzentration im Mittel um 30%, nach 150 min im Mittel um 38,55% und nach 170 min im Mittel um 48%.

Patient D wurde ebenfalls in zwei aufeinander folgenden Zyklen seiner Chemotherapie mit PLD untersucht.

Die Leermessung erfolgte wie bei Patient C vor der Chemotherapie. Ausgehend von einer relativen Einheit zeigte sich bei beiden Messungen ein Konzentrationsabfall der Karotinoide im Verlauf der Chemotherapieinfusion.

Tab. 3.13: Konzentration der Karotinoide in der Haut bei Patient D unter Therapie mit Liposomalem Doxorubicin in Abhängigkeit von der Zeit

Patient D 1. Messung		Patient D 2. Messung	
Zeit [min]	Konzentration der Karotinoide [rel. Einheiten]	Zeit [min]	Konzentration der Karotinoide [rel. Einheiten]
0	1	0	1
45	0,43	45	0,67
85	0,64	85	0,48
120	0,68	130	0,4
165	0,54	185	0,43
190	0,53		

Nach 85 min betrug die Messung 0,64 rel. Einheiten, damit sank die Konzentration um 36%. Nach 190 min erreichte die Konzentration einen Wert von 0,53 rel. Einheiten. Sie sank somit ca. 3h nach Infusionsbeginn um 47%.

Im zweiten untersuchten Zyklus von Patient D wurde nach 85 min ein Wert von 0,48 rel. Einheiten gemessen. Die Konzentration sank somit um 52%. Nach 190 min wurde ein Wert von 0,43 rel. Einheiten gemessen. Die Konzentration von β - Karotin sank über den beobachteten Zeitraum von ca. 3 h nach intravenöser Chemotherapie somit um 57%.

Bei beiden Messungen am 2. untersuchten Patienten zeigte sich ebenfalls ein kontinuierlicher Abfall der Konzentrationen über den beobachteten Zeitraum. Die Berechnung der Mittelwerte beider Messungen ergibt, dass die Konzentration nach 85 min im Mittel um 44% gesunken ist, nach 180 min um 52%.

Bei beiden Patienten zeigt sich ausgehend von einer Konzentration von 1 relativen Einheit ein Konzentrationsabfall der Karotinoide von über 40 % im Verlauf der Chemotherapie mit PLD.

3.2.4 Konzentration von β -Karotin und Lycopin in der Haut bei gesunden Probanden ohne Einnahme von Medikamenten

Es wurden zwei gesunde Probanden vermessen, um den Abbau von Karotinoiden durch äußere Einflüsse in gesunder Haut ohne medikamentöse Therapie zu bestimmen. Auch hier zeigte sich eine Reduzierung der Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit (Tab.3.14)

Bei Proband 1 betrug die Messung nach 50 min 0,94 rel. Einheiten. Die Konzentration sank somit um 6 %. Nach 170 min wurde ein Wert von 0,78 rel. Einheiten gemessen, die β -Karotin Konzentration sank somit am Ende des beobachteten Zeitraumes um 22 %.

Bei Proband 2 betrug die Messung nach 47 min 0,96 r.E.. Hier sank die Konzentration um 4 %. Nach 168 min. ergab die Messung 0,75 r.E und damit eine Abnahme um 25 %.

Tab. 3.14: Konzentration der Karotinoide in der Haut bei gesunden Probanden in Abhängigkeit von der Zeit

Proband 1		Proband 2	
Zeit [min]	Konzentration der Karotinoide [rel. Einheiten]	Zeit [min]	Konzentration der Karotinoide [rel. Einheiten]
0	1	0	1
15	1	15	1
30	0,95	30	0,93
51	0,94	47	0,96
72	0,86	67	0,87
96	0,87	93	0,82
127	0,81	124	0,77
170	0,78	168	0,75

Betrachtet man beide Probanden so nahm die Konzentration nach 50 min im Mittel um 5% ab, nach 170 min im Mittel um 23,5 %.

3.2.5 Konzentration von Karotinoiden in der Haut während Infusion von PLD im Vergleich zu gesunder Haut

Der Vergleich zwischen dem Konzentrationsabfall von β -Karotin und Lycopin in gesunder Haut und der von Patienten unter Chemotherapie mit PLD soll in der folgenden Abbildung verdeutlicht werden. In Abb. 3.16 ist der Konzentrations-Zeitverlauf von Probanden mit gesunder Haut und den Patienten (unter Infusion) graphisch dargestellt.

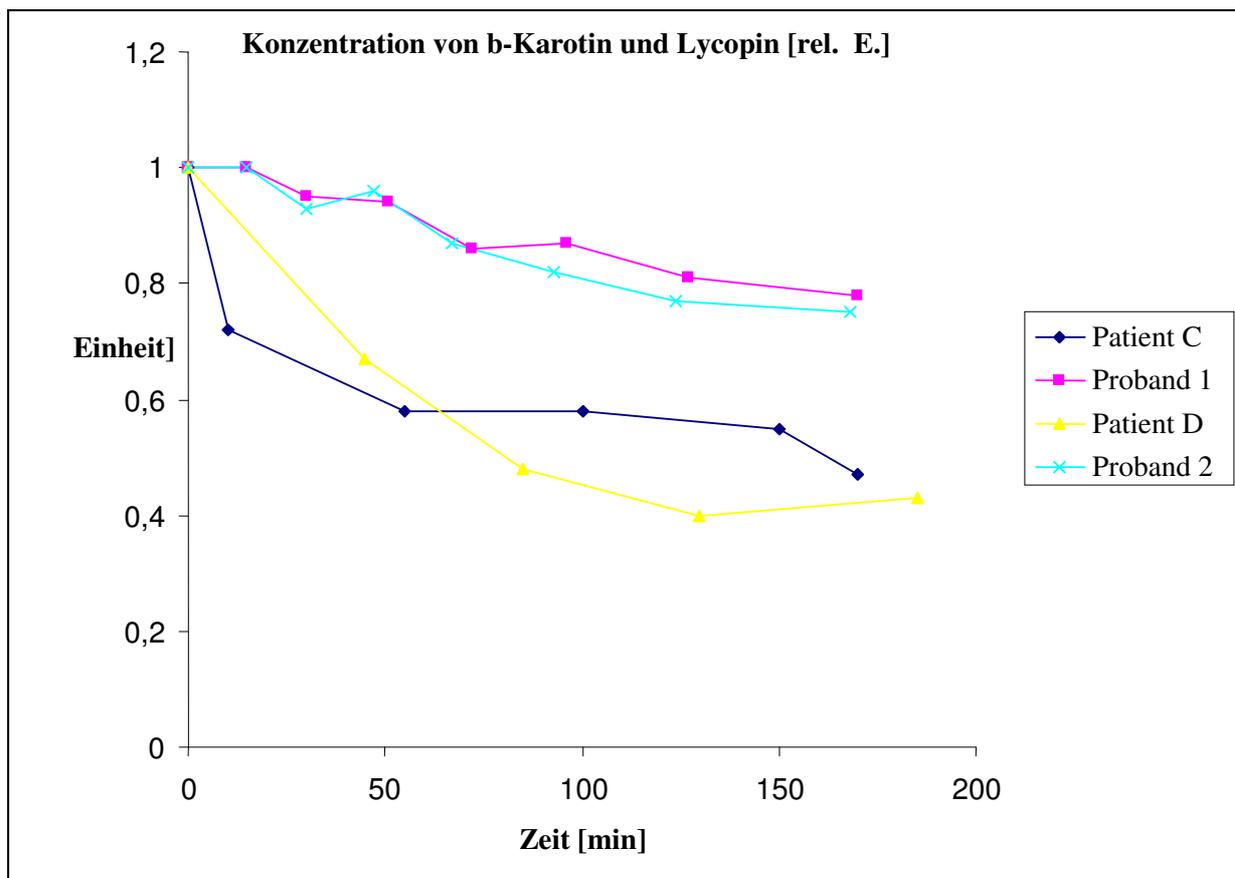


Abb. 3.16: Konzentrationsabfall der Karotinoide in der gesunden Haut im Vergleich zu Haut nach intravenöser Infusion mit PLD

Es konnte gezeigt werden, dass die Konzentration an β -Karotin 170 Minuten nach einer Doxorubicininfusion deutlich reduziert ist (um > 40%), während die Konzentration an β -Carotin bei gesunden Vergleichsprobanden (ohne Doxorubicin-Infusion) nach der gleichen Zeit nur um ca. 20% gesunken ist.

4 Diskussion

4.1 Pathogenese der Anthrazyklin induzierten PPE

Ziel der Untersuchungen war es, Aufschlüsse über eine mögliche Pathogenese der PPE zu erhalten. Dabei wurden unterschiedliche Fragestellungen untersucht. Zunächst sollte untersucht werden, ob mit der Methode LSM ein Nachweis der Anthrazykline Epirubicin und pegyliertes liposomales Doxorubicin in der Haut erfolgen kann. Dabei sollte Aufschluss über eine mögliche Penetrationsroute der Anthrazykline in die Haut erlangt werden und festgestellt werden, wann die Substanzen nach intravenöser Chemotherapie die Haut erreichen und ob Unterschiede zwischen den untersuchten Körperregionen vorliegen.

Da Epirubicin der Substanz Doxorubicin strukturell sehr ähnlich ist und fast nie eine PPE auslöst, sollte untersucht werden welche Unterschiede zwischen den Substanzen zu erheben sind.

4.1.1 Darstellung der Hautschichten mittels LSM nach Applikation von Natriumfluorescein

In der Voruntersuchung an gesunder Haut war es nach topischer Anwendung von Natriumfluorescein möglich, die genaue zelluläre Morphologie der einzelnen Hautschichten zu visualisieren.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass sich mit der Laser-Scan-Mikroskopie das Stratum corneum, Stratum spinosum sowie die obere Dermis mit Papillen klar darstellen läßt. Auch Hautanhangsorgane, wie Haare, Haarfollikel und Schweißdrüsen konnten deutlich visualisiert werden. Durch die vorliegende Untersuchung verschiedener Körperstellen konnten topographische Unterschiede ermittelt werden. Mit dem LSM können an Hand und Fuß nur Zelllagen bis zum Stratum corneum eingesehen werden, an den anderen Körperstellen war eine Darstellung bis zur oberen Dermis möglich. Die Abbildungen kann man sich ähnlich einer histologischen Schnittdarstellung vorstellen. Der Anschnitt erfolgt jedoch nicht vertikal sondern horizontal. Von der Hautoberfläche bis zur Basalzellschicht sind so Schnittbilder der lebenden Haut in verschiedenen Tiefen möglich.

Diese visuellen Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen anderer Autoren überein [70], [71], [72]. So zeigten Swindle et al. ebenfalls die exakte Darstellung der verschiedenen Hautschichten mit einem topischen Fluoreszenzfarbstoff [70]. Auch in Ihren Untersuchungen mit dem LSM konnten an Hand und Fuß, also Regionen mit einem sehr dicken Stratum corneum, höchstens bis zum Stratum granulosum analysiert werden. An Regionen mit einem dünneren Stratum corneum, wie z. B. Unterarm, Stirn und Achsel waren Messungen mit dem LSM bis in den dermalen Bereich inklusive Papillen möglich.

4.1.2 In-vivo Nachweis von PLD und Epirubicin in der Haut mittels der Laser-Scan-Mikroskopie

In den vorliegenden Untersuchungen wurde untersucht ob sich die Anthrazykline pegyliertes liposomales Doxorubicin und Epirubicin in der Haut während der Infusion nachweisen lassen. Grundlage war die Beobachtung von Jacobi et al. und Smoock et al. [64], [65]. Hier wurde Doxorubicin während intravenöser Infusion mittels LSM in der Hornschicht nachgewiesen.

Die Ergebnisse der Studie zeigen deutlich dass es möglich ist, auch die fluoreszierende Eigenschaft der Anthrazykline Epirubicin und pegyliertes Doxorubicin zu nutzen um diese in der Haut nachzuweisen. Mit Hilfe der Laser-Scan-Mikroskopie konnten sowohl Epirubicin als auch liposomales Doxorubicin nach intravenöser Chemotherapie in der Haut detektiert werden. Vorherige Untersuchungen über einen Nachweis von Epirubicin und pegyliertes Doxorubicin in der Haut während und nach intravenöser Infusion liegen bisher nicht vor.

Die Fluoreszenz der Arzneimittel ist dagegen bekannt und wurde schon in früheren Untersuchungen anderer Autoren zum Nachweis genutzt. So gelang der positive Nachweis von Doxorubicin [73] und Epirubicin [74] im Plasma durch die HPLC- Methode mit gekoppelter Fluoreszenz Detektion. Auch in Urin und Galle wurden beide Substanzen und ihre Metabolite mit dieser Methode bestimmt [75]. In Zellkulturen gelang ein positiver intrazellulärer Nachweis durch Untersuchungen mit einem konfokalen Mikroskop [76]. Ein positiver Nachweis in der Haut gelang an entnommenen Gewebeproben bei Ratten mit einem Fluoreszenz Mikroskop [77]. In dem dermatologischen konfokalen Laser-Scan-Mikroskop der vorliegenden Studie wird ein konfokales Mikroskop mit einer gleichzeitigen Fluoreszenzdetektion gekoppelt. Diese Methode erlaubt damit Analysen der Haut ohne

invasiv Gewebeproben zu entnehmen. Die Untersuchungen konnten in unterschiedlichen Zeiträumen während und nach der Infusion durchgeführt werden. Damit ist erstmals der positive *in-vivo* Nachweis der verabreichten Zytostatika PLD und Epirubicin nach intravenöser Infusion in der Haut an verschiedenen Körperstellen erfolgt. Einen interessanten Ausblick wirft diese Methode auch auf die Detektion von anderen systemisch gegebenen Substanzen in Echtzeit in der Haut.

4.1.3 Die visuelle Darstellung der Haut durch Fluoreszenz der Anthrazkyline

Bis jetzt wurde das LSM noch nicht oft für den Nachweis systemisch gegebener Substanzen eingesetzt und es liegen kaum LSM-Abbildungen der Haut durch Anthrazyklin-induzierte Fluoreszenz vor. Bei der Fragestellung, ob die Fluoreszenz von Anthrazyklinen auch zelluläre Strukturen erkennen lässt, dienen die Abbildungen der Haut aus den Voruntersuchungen mit Natriumfluoreszein als Vergleich.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Fluoreszenz der Anthrazykline nicht nur nachweisbar war sondern deutlich genug war um zelluläre Strukturen zu erkennen. Das Stratum corneum, die oberflächlichste Hautschicht ließ sich mehrfach eindeutig identifizieren. Je nach Intensität der Fluoreszenz war diese Hautschicht komplett darstellbar oder es waren einzelne Zellen dieser Schicht zu erkennen. Es gelangen deutliche Abbildungen von großen, unregelmäßig geformten, polygonalen übereinanderlappenden Zellen, die als Korneozyten identifiziert werden konnten. Die Interpretation erfolgte aus dem Vergleich mit Natriumfluoreszein Bildern, in denen die Korneozyten dieselbe Morphologie aufweisen. An Hand und Fuß waren Korneozyten aufgrund der stärkeren Fluoreszenz am häufigsten und sehr deutlich zu erkennen.

Von der Oberfläche bis in die Tiefe konnten Hautfurchen und Falten verfolgt werden, die sich zur Tiefe hin zuspitzten und an Hand und Fuß deutlich breiter waren als an anderen Regionen. Selten stellten sich Furchen hell dar, d. h. dass die Substanz sich in den Furchen befindet. Meistens waren die Furchen dunkel und die Zellverbände am Rande der Furchen fluoreszierten, was für eine intrazelluläre Verteilung spricht. Die Substanzen konnten je nach Verteilungsphase intra- oder extrazellulär vorgefunden werden. Die Hautoberfläche stellt ein

wellenförmiges Relief dar, das durch Unebenheiten, Furchen oder Falten charakterisiert ist. So kann ein unregelmäßiges Erscheinungsbild der Haut hervorgerufen werden. Die Deutlichkeit der Abbildungen war abhängig von der Intensität der inhomogenen Fluoreszenz. Weitere Hautschichten konnten nicht eindeutig klassifiziert werden. Zwischen den beiden untersuchten Substanzen ließ sich kein Unterschied feststellen.

Durch ihre Fluoreszenz waren Anthrazykline nicht nur in-vivo nachweisbar, sondern es war möglich, zelluläre Strukturen zu erkennen und eine Lokalisation der Substanzen vorzunehmen. Die Schwierigkeit bei der Interpretation der Bilder wird durch die ungleiche Fluoreszenz der Anthrazykline auf der Hautoberfläche hervorgerufen. Die Deutlichkeit der Bilder wird durch die wesentlich geringere Fluoreszenzintensität der Anthrazykline und ihre unterschiedliche inter- und intrazelluläre Verteilung bestimmt. So ist es nicht möglich die spezifischen Zellen aller Hautschichten analog den Farbstoffergebnissen darzustellen.

4.1.4 Der Penetrationsweg: Die Schweißdrüse

Neben den zellulären Strukturen der Hautschichten konnten Anhangsorgane wie Haare und Schweißdrüsen visualisiert werden.

In den Ergebnissen zeigten die Ausführungsgänge der Schweißdrüsen, die geschlängelt durch die Epidermis ziehen, eine helle Fluoreszenz. Die Substanzen liegen hier in konzentrierter Form vor und werden über die Schweißdrüsen zur Hautoberfläche transportiert. Die Ausführungsgänge besitzen einen rundlichen Durchmesser und lassen sich bei ihrem Weg von der Hautoberfläche in tiefere Schichten der Epidermis verfolgen. In der Umgebung fanden sich dezente, gesprenkelte Fluoreszenzansammlungen, die dafür sprechen, dass auch in tieferen Ebenen ein Austritt der Anthrazykline stattfindet.

Das Endstück des Ausführungsganges, das auf der Hautoberfläche mündet, stellte sich dunkel dar. Um das Endstück herum ließ sich vermehrte Fluoreszenz feststellen, die sich vom Ausführungsgang aus nach lateral verteilte. Wahrscheinlich sorgt ein aktiver Transport für die Exkretion der Substanzen aus dem Lumen heraus, so dass dieses sich dunkel darstellt. Dieser Exkretionsmechanismus war sowohl unter liposomalem Doxorubicin als auch unter Epirubicin zu beobachten.

Mit der Methode Laser-Scan-Mikroskopie konnte in den vorliegenden Untersuchungen die Penetrationsroute der Anthrazykline Epirubicin und pegyliertem liposomalem Doxorubicin über die Schweißdrüsen dargestellt werden. Die Ergebnisse bestätigen die Beobachtung von Jacobi et al, die das Endstück eines Schweißdrüsenganges nach Infusion mit unverkapseltem Doxorubicin darstellten [65].

Bisher wurden einige systemisch verabreichte Substanzen im Schweiß gefunden; es gibt jedoch nur spärliche Informationen über die genauen Charakteristika der Exkretion. In der Vergangenheit wurde kein ausgeprägtes Augenmerk auf den Zusammenhang mit pathologischen Hautprozessen gelegt. In der Literatur finden sich jedoch einige Studien, die dem Schweiß als Penetrationsroute von systemisch gegebenen Substanzen eine nicht zu unterschätzende Rolle beimessen. So zeigte z. B. Cauwenbergh et al. zeigten die positive Korrelation zwischen einer therapeutischen Konzentration von Itraconazol, einem Antimykotikum, in der Haut und sehr hohen Excretionsraten durch Schweiß- und Sebumdrüsen. Er diskutierte zwei grundsätzliche Möglichkeiten für eine hohe Hautverfügbarkeit: Affinität und Sekretion durch Schweiß- bzw. Sebumdrüsen und eine passive Aufnahme der Keratinozyten [62]. Horn et al. wies Thiotepe, ein Chemotherapeutikum, im Schweiß in ähnlich hoher Konzentration wie im Serum nach. Auch er vermutete hier einen Zusammenhang mit der Exkretion und den sichtbaren Hautveränderungen wie Hyperpigmentation [63].

Bei der Fragestellung welchen Penetrationsweg Anthrazykline in die Haut nehmen, konnte eindeutig durch die vorliegende Studie gezeigt werden, dass sowohl Epirubicin als auch liposomales Doxorubicin aus Schweißdrüsen auf die Haut austreten. Mit der Methode des LSM konnte dies in-vivo beobachtet werden. Die Penetration von systemisch verabreichten Substanzen durch Anhangsorgane wie Schweiß- oder Sebumdrüsen auf die Haut und die retrograde Diffusion in tiefere Hautschichten zurück wird als inverse Penetration bezeichnet und ist als eine Penetrationsroute von Anthrazyklinen zu sehen. Es lässt sich vermuten, dass dieser Mechanismus mit der Hauttoxizität in Zusammenhang steht. Die zweite Penetrationsroute welche in der Literatur oft vermutet wird ist der Austritt aus erweiterten Kapillaren. Dieses kann möglich sein, und mit der Methode der Laser-Scan-Mikroskopie nicht widerlegt oder bewiesen werden.

4.1.5 Visuelle Darstellung der Haut nach Anthrazyklininfusion an unterschiedlichen Körperregionen

In den vorliegenden Untersuchungen wurden 5 verschiedene Körperregionen während der Chemotherapie mit Anthrazyklinen untersucht: Stirn, Achsel, Unterarm, Hand und Fuß.

Die Ergebnisse der Studie zeigen deutliche Unterschiede zwischen Hand und Fuß und den anderen Arealen. An Hand und Fuß, den Körperarealen an denen die PPE auftritt, zeigte sich eine andere Verteilung der Fluoreszenz als an den anderen Körperstellen. Die Abbildungen der Ergebnisse in Kap. 3.1.5 zeigen das klassische Fluoreszenzmuster an Hand und Fuß. Es fand sich eine ausgeprägte, intensive Fluoreszenz, welche über die gesamte Abbildung verteilt war. Bei den dargestellten Abbildungen handelt es sich um Bilder aus tieferen Zellschichten des Stratum Corneum, nahe den lebenden Zellen im Stratum granulosum. Das charakteristische Fluoreszenzmuster war an Hand- und Fußinnenflächen nach Infusion mit PLD und Epirubicin gleichermaßen zu sehen. Es entsteht durch intrazelluläre Fluoreszenz. Der Extrazellulärraum bleibt ohne Fluoreszenz und erscheint somit schwarz. So entsteht der in den Abbildungen dargestellte Kontrast. Bei einer extrazellulären Verteilung wäre das Schwarz-weiß-Verhältnis umgekehrt. In Bereichen die ohne erkennbare Abgrenzung fluoreszieren, ist von einer intra- und extrazellulären Verteilung auszugehen. An Achsel, Stirn und Unterarm ließ sich die Fluoreszenz oft im Bereich von Furchen detektieren. Am Rande der Furchen färbten sich einzelne Zellverbände an, es war jedoch zu keiner Zeit eine intensive Fluoreszenz über der gesamten Abbildung zu visualisieren.

Diese Ergebnisse sprechen für eine vermehrte Ausscheidung oder Anreicherung der Anthrazykline an den Hand- und Fußinnenflächen. Wahrscheinlich ist aufgrund des dicken Stratum corneums eine Reservoirbildung schon kurz nach der Infusion zu verzeichnen. Die vermehrte Intensität könnte sich auch durch die vermehrte Anzahl von Schweißdrüsen erklären, ist jedoch unwahrscheinlicher, da an der Stirn ebenfalls sehr viele Schweißdrüsen vorhanden sind. Es ist zu vermuten, dass sowohl ein besonders dickes Stratum corneum als auch vermehrt Schweißdrüsen vorhanden sein müssen, um eine Ablagerung zu begünstigen. Dies könnte der Grund sein, warum die PPE nur an diesen Regionen auftritt.

4.1.6 Mögliche Penetrationswege der Anthrazykline durch die Haut

Es bestehen verschiedene Möglichkeiten für die Penetrationsroute von systemisch gegebenen Substanzen in die Haut. Eine mögliche Route stellt der Transport über die Anhangsorgane wie Haarfollikel, Schweiß- und Sebumdrüsen dar. Ein anderer Weg ist die trans- oder interzelluläre Diffusion vom Plasma durch die Hautschichten. Die passive Aufnahme und Inkorporation über Keratinozyten und Wanderung in die oberen Hautschichten ist ebenfalls zu nennen.

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass nach 1 h bei den Patienten das Fluoreszenzsignal vor allem an der Oberfläche lokalisiert war. Nach 2-5 h waren die Anthrazykline auch in tieferen Schichten der Epidermis nachweisbar. An Hand und Fuß wurde Fluoreszenz bis in die tiefsten Lagen des Stratum corneum detektiert. Auch an Achsel, Stirn und Unterarm war nach 1h Fluoreszenz oberflächlich feststellbar, in den weiteren Stunden nach der Infusion konnte das Signal in tieferen Keratinozytenlagen festgestellt werden, in der Höhe der Epidermis/Dermis Grenze und den Papillen wurde ebenfalls Fluoreszenz nachgewiesen. Hier befinden sich die Kapillaren.

Aus den Ergebnissen lässt sich folgern, daß eine Penetrationsroute der Anthrazykline über Schweißdrüsen stattfindet. Denn auch in Untersuchungen anderer Autoren waren unterschiedliche Substanzen im Schweiß erstmalig ca. 1-2 h nach systemischer Verabreichung nachweisbar. So wiesen Cone et al. Kokain und Heroin nach 1-2 Stunden im Schweiß mit der Methode der Gas Spektrographie nach [78]. Auch Harris et al. detektierten Ketoconazol nach ca. 1 h im Schweiß und vermuteten diese Route als Hauptpenetrationsweg [79] Die passive Aufnahme und Durchwanderung aller Hautschichten nach 1 Stunde ist sehr unwahrscheinlich, da sie wesentlich länger dauert [79].

Nach 1-2 Stunden wurde die Substanz auch in tieferen Zellschichten detektiert. Hier gibt es zwei Möglichkeiten: Entweder verteilen sich die Substanzen auf der Oberfläche und penetrieren in tiefere Zellschichten oder es findet ein Austritt aus Kapillaren in Höhe der Epidermis/Dermis Grenze mit Diffusion in höher gelegene Schichten statt. Dieses kann mit der vorliegenden Methode nicht differenziert werden.

Sowohl Epirubicin als auch PLD konnten an der Oberfläche und in tieferen Hautschichten detektiert werden.

4.1.7 Zeitpunkt des ersten Fluoreszenznachweises durch Anthrazykline an verschiedenen Körperstellen

Durchschnittlich 1,4 \pm 0,9 Stunden nach Beginn der i.v. Infusion konnte bei allen Patienten das erste Fluoreszenzsignal nachgewiesen werden. Das Fluoreszenzsignal war dann während der weiteren Messvorgänge bis 5 Stunden nach Beginn der Infusion detektierbar. Weiterhin wurden die verschiedenen Körperstellen hinsichtlich des ersten Auftretens der Fluoreszenz untersucht. Nach Infusion mit pegyliertem Doxorubicin erfolgte der erste Nachweis einer Fluoreszenz an der Stirn im Durchschnitt nach 2,4 h, an der Achsel nach 2,1 h, am Unterarm nach 1,9 h, am Fuß nach 1,6 h und an der Hand nach 1,3 h. Nach Infusion mit Epirubicin: Stirn: nach 2 h; Achsel: nach 2,5 h; Unterarm: nach 1,5 h; Fuß: nach 2 h.

An Hand und Fuß war die erste Fluoreszenz also signifikant früher festzustellen als an den Körperregionen Stirn, Achsel, Unterarm. Eine Erklärung für das frühere Auftreten an Hand und Fuß könnte die erhöhte Schweißdrüsendichte in Kombination mit dem dicken Stratum corneum sein, in dem die Substanz sofort gebunden ist. In unseren Untersuchungen waren Anthrazykline auf einer Glasplatte *in vitro* nur ca. 2 h nachweisbar. In der Haut waren die Substanzen dagegen bis 5 h nachweisbar. Es ist daher wahrscheinlich, dass Substanzen abhängig von ihren physikochemischen Eigenschaften nach der Penetration in die Haut v. a. im Stratum corneum verweilen und langsam freigesetzt werden.

Bisher existieren in der Literatur keine Untersuchungen zum Vergleich des ersten Auftretens von Anthrazyklinen in der Haut nach Infusion.

4.1.8 Häufigkeit einer Fluoreszenz an unterschiedlichen Körperregionen

In den vorliegenden Ergebnissen zeigen sich Unterschiede in der Häufigkeit bei dem Auftreten des Fluoreszenzsignals, also dem messbaren Nachweis der Anthrazykline, an den unterschiedlichen Körperregionen. An der Hand betrug die Häufigkeit einer Fluoreszenz durch Anthrazykline im Durchschnitt 87%, am Fuß 77%, am Unterarm 59%, an der Achsel 53% und an der Stirn 53%.

Die Ergebnisse zeigen, dass Anthrazykline an Hand und Fuß signifikant öfter nachweisbar sind. Die Ursache könnte das dicke Stratum corneum in Kombination mit einer erhöhten Schweißdrüsendichte und eine erhöhte Substanzsekretion sein. (s. Kap. 4.1.6-7).

4.1.9 Unterschiede zwischen Epirubicin und pegyliertem Doxorubicin in den vorliegenden Untersuchungen

Nach Infusion mit PLD betrug die durchschnittliche Zeit bis zur Detektierung der Fluoreszenz $1,4 \pm 0,8$ h, nach Infusion mit Epirubicin $1,5 \pm 1,1$ Stunden. Zwischen den Substanzen Epirubicin und PLD ließ sich kein Unterschied feststellen. Ferner ließ sich kein statistisch relevanter Unterschied bei der Häufigkeit eines Nachweises an den verschiedenen Körperstellen feststellen.

Diese Beobachtung spricht dafür dass beide Substanzen in ähnlicher oder gleicher Weise über denselben Penetrationsweg in die Haut gelangen. Ein Zusammenhang der PPE mit pharmakokinetischen Parametern ist daher wahrscheinlich. Pegyliertes Doxorubicin besitzt eine wesentlich höhere Plasmahalbwertszeit, wird also wahrscheinlich kontinuierlich ausgeschieden. So sind mit der Dauer hohe Substanzdepots im Stratum corneum wahrscheinlich. Es kann zusätzlich vermutet werden, daß Epirubicin auch in der Haut schneller eliminiert wird.

4.2 Präventive Behandlungsmaßnahmen gegen die PPE

Bis heute existiert keine einheitliche Therapie oder Prävention der PPE, obwohl es unterschiedliche Ansätze gibt um diese Nebenwirkung zu behandeln.

Basierend auf der Hypothese des Schweißes als Transportmittel wurden im zweiten Teil dieser Arbeit unterschiedliche Präventionsmaßnahmen gegen die PPE entworfen. Als mögliche Präventionsmaßnahmen kommen Maßnahmen in Frage, die verhindern dass die Substanzen die Haut erreichen oder der zytotoxischen Wirkung in der Haut entgegenwirken.

In den folgenden Abschnitten werden Präventionsstrategien diskutiert, die mit der Methode Laser-Scan-Mikroskopie und Raman-Spektroskopie analysiert wurden.

4.2.1 Hemmung der Substanzsekretion mit dem Schweiß

Im ersten Teil der Arbeit zeigte sich in Untersuchungen mit der Laser-Scan-Mikroskopie, dass Anthrazykline über Schweißdrüsen auf die Haut gelangen, sich dort verteilen und von der Oberfläche in tiefere Zellagen des Stratum corneum penetrieren. Da Schweißdrüsen einen Exkretionsweg für Anthrazykline darstellen, ist ein therapeutischer Ansatzpunkt die Reduktion der Schweißdrüsenaktivität.

Es existieren verschiedene chirurgische Methoden zur Schweißdrüsenexzision, die zu einer effektiven Reduktion der Schweißproduktion führen [80]. Trotz Effektivität stellt eine Exzision keine mögliche Therapieoption bei der PPE dar, da sie einen invasiven, schmerzhaften Eingriff darstellt und die Schweißdrüsen für immer entfernt. Die lokale Injektion von Botulinumtoxin ist ebenfalls ein invasiver Eingriff, der mit erheblichen Schmerzen und Kosten verbunden ist [81]. Eine systemische Therapie mit Anticholinergika hat viele Nebenwirkungen [81]. Der Versuch, das Schwitzen und die damit verbundene Exkretion von Anthrazyklinen zu verhindern, wurde daher mit zwei Maßnahmen durchgeführt, die komplikationslos und ohne Nebenwirkungen angewendet werden können: Kühlung und Anwendung von Antiperspirantien [82].

4.2.2 Anwendung von Kühlelementen

Kühlung ist eine physiologische Möglichkeit, die Schweißproduktion zu drosseln. In den vorliegenden Untersuchungen erfolgte an der Achsel, Hand- und Fußinnenfläche der linken Körperseite 15 min vor der Chemotherapie mit PLD die Anwendung von Kühlelementen. Die Bilder der unbehandelten Körperseite wurden mit den Abbildungen der gekühlten Areale verglichen.

Das Ergebnis zeigt eine nachweisbare Fluoreszenz sowohl an der behandelten als auch der unbehandelten Körperseite. An der Achsel, Hand und Fuß beider Körperseiten zeigte sich ein ähnliches Fluoreszenzsignal. Die Fluoreszenz war an allen Regionen ab ca. 1 h bis 5 h nach Infusion nachweisbar. In unseren Untersuchungen war durch Anwendung von Kühlelementen keine sichtbare Reduktion der Fluoreszenz zu erreichen. Auch war keine zeitliche Verzögerung der Ausscheidung zu beobachten. Aufgrund der Ergebnisse kann vermutet

werden, dass diese Präventionsstrategie nicht ausreicht, die Schweißexkretion klinisch effizient zu unterbinden.

Diese Ergebnisse stehen in Gegensatz zu den Ergebnissen von Molpus et al., der einen geringeren Häufigkeitsgrad der PPE unter Kühlung beobachtete und diese Strategie als wirksam vermutete [46]. In einer klinischen Studie mit 17 Patienten erfolgte während und bis 24 h nach der Chemotherapie eine Kühlung mit Eisbeuteln. Die Patienten waren zusätzlich angewiesen, heiße Getränke und Speisen sowie warmes Wasser zu meiden. Auch Zimmerman et al. beschreiben bei einer Patientin unter Docetaxel Therapie einen positiven Effekt von Kühlung auf die Ausprägung der PPE [83]. Die Kühlung erfolgte während der Chemotherapie an einer Körperseite und brachte eine Symptommilderung und eine geringere Ausprägung der Erythrodysesthesie. Eine Hemmung der Substanzexkretion über den Schweiß wurde in den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit nicht festgestellt, wobei beachtet werden muss, dass die Kühlung wesentlich kürzer dauerte als in den Studien der anderen Autoren, und nur vor und nicht während der Infusion stattfand.

4.2.3 Anwendung von Antiperspirantien

Der zweite Versuch zur Unterbindung der Substanzexkretion über Schweißdrüsen erfolgte mit dem Antiperspirant Aluminiumchloridhexahydrat. Diese Substanz ist als Antiperspiranz weit verbreitet und zeigte in einigen Studien Effektivität [82], [84]. Der Mechanismus beruht auf einer mechanischen Blockade der Schweißdrüsen. Bei längerer Anwendung führen Aluminiumsalze zu struktureller und funktioneller Degeneration [84].

Bei dem untersuchten Patienten wurde das Antiperspirant in Form eines Rollapplikators eine Woche vor der Chemotherapie mit PLD angewandt. Das Auftragen fand 2 x tgl. an Achsel, Hand- und Fußflächen der rechten Körperseite statt. Die Untersuchung während der Infusion erfolgte mit dem LSM 1-5 h nach Infusion.

In den Untersuchungen mit dem LSM zeigte sich eine sichtbare Fluoreszenz beider Körperseiten. PLD wurde sowohl an den behandelten als auch an den unbehandelten Arealen detektiert. Die Substanz konnte an allen untersuchten Körperstellen nachgewiesen werden. Es gelang keine sichtbare Unterdrückung der Fluoreszenz. Diese Ergebnisse lassen vermuten

dass es durch die Anwendung des Antiperspirants Aluminiumchloridhexahydrat nicht zu einer kompletten Schweißexkretionshemmung kommt.

In der Literatur finden sich unterschiedliche Ergebnisse zur Anwendung von Aluminiumchloridhexahydrat. Scholes et al. therapierten die axilläre Hyperhidrosis an 64 Patienten und erreichten eine Reduktion der Schweißproduktion [82]. Es wurde jedoch auch erwähnt, dass diese Substanz bei vielen Patienten nicht effizient wirkt oder nur ein sehr kurz andauernder Effekt besteht [81], [85].

Als möglicher Therapieansatz zeigte die Schweiß-Blockade keinen Erfolg. Es ist zu vermuten, dass eine so große Anzahl Schweißdrüsen nicht komplett verschlossen werden kann. Zusammenfassend lässt sich feststellen dass eine komplette oder eine sichtbar deutliche Reduktion der Fluoreszenz weder mit Aluminiumhexachloridhydrat noch mit Kühlung zu erreichen war.

4.2.4 Indirekter Nachweis freier Radikale mit der Raman-Spektroskopie

In der Haut können Anthrazykline durch unterschiedliche Mechanismen eine Zellschädigung verursachen. Ein Mechanismus ist die Generierung freier Radikale. Ziel der Untersuchung war es zu zeigen, dass während der Infusion mit PLD freie Radikale vermehrt entstehen, welche nicht invasiv in der Haut detektiert werden können. Im Vergleich dazu wurde die Haut gesunder Probanden untersucht.

Mit der Raman-Spektroskopie wurde die Haut von zwei Patienten während zwei Zyklen Chemotherapie vor und nach der Infusion mit PLD untersucht. Eine 0,05% β -Karatoln Creme wurde auf der Handinnenfläche (Thenar) aufgetragen und die Konzentration von β -Karatoln vor und nach der Infusion bestimmt. Zum Vergleich wurde die Haut von zwei gesunden Probanden ohne Erkrankungen und medikamentöse Therapien untersucht. Auch ihnen wurde an der Handinnenfläche eine 0,05% β -Karatoln appliziert und die Konzentration gemessen.

Die Ergebnisse ergaben bei beiden Patienten in beiden untersuchten Zyklen einen Konzentrationsabfall von β -Karatoln in der Haut nach Infusion mit PLD. Im Verlauf von 170 min sanken die Konzentrationen bei beiden Patienten über 40%. Auch die gesunden

Probanden zeigten einen Abfall der Karotin Konzentration im Verlauf von 150 min. Im Gegensatz zu den Patienten mit Chemotherapie betrug der Abfall aber nur ca. 20%.

Es gibt unterschiedliche Einflüsse, die einen Karotinverbrauch in der Haut verursachen. Bei den gesunden Probanden entsteht der Verbrauch wahrscheinlich durch Umwelteinflüsse und physiologische Stoffwechselfvorgänge. Nach Infusion mit PLD zeigte sich jedoch ein wesentlich höherer Verbrauch an β -Karotin, was sich mit der Entstehung freier Radikale erklären lassen könnte. Bei diesem Ergebnis muss berücksichtigt werden, dass auch andere nicht gemessene Faktoren auf die Radikalproduktion einen Einfluss haben könnten, so z. B. der Tumor selbst, eine geänderte Immunabwehr oder vorausgegangene Therapien.

Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Autoren überein. Der Nachweis von freien Radikalen unter der Therapie mit Anthrazyklinen ist schon in vielen Studien eindeutig belegt worden [7], [6]. So zeigten einige Autoren, dass die Entstehung von reaktiven Sauerstoffradikalen bei der anthrazyklin-induzierten Kardiotoxizität mitverantwortlich sind [86], [87]. Diese Ergebnisse werden noch weiter unterstützt durch die Beobachtung, dass Epirubicin, welches weniger häufig eine Herzschädigung und Hauttoxizität hervorruft, auch weniger freie Radikale induziert [88]. In der Haut erfolgte der Nachweis von freien Radikalen nach Therapie mit Anthrazyklinen z. B. indirekt durch den Verbrauch von antioxidativen Enzymen. Korac et al. bestimmten die Auswirkung der intravenösen Infusion durch Bestimmung von antioxidativen Enzymen im Blut [89]. Bisher erfolgte noch kein Nachweis von freien Radikalen in der Haut während intravenöser Infusion von Anthrazyklinen.

4.3 Therapieoption durch topische Antioxidantien

In der Haut wurden freie Radikale bisher bei Extravasationen von Anthrazyklinen nachgewiesen. Es wird vermutet das die aggressive Schädigung des Gewebes durch Radikalwirkung verursacht wird [14], [15]. Als Therapieansatz gegen diese Schädigung wurden schon mehrfache Studien mit Antioxidantien durchgeführt.

So zeigten Vail et al. in einer präklinischen Studie an Hunden nach oraler Einnahme von Vitamin B6 eine geringere und weniger schwere Ausprägung der PPE [90]. Korac et al. zeigten den direkten Einfluss von Doxorubicin auf die antioxidative Abwehr in der Haut.

Durch Fütterung von Selen, Vitamin A, C und E erzielten sie an Ratten u. a. durch eine Erhöhung des Enzyms Gluthation Peroxidase eine verbesserte antioxidative Abwehr der Haut und vermuteten einen protektiven Effekt auf die Hauttoxizität [89]. In einer zweiarmigen Patientenstudie unter kontinuierlicher Infusion mit 5-FU mit je 13 Patienten zeigte sich durch eine Vitamin-B6 Therapie eine Verbesserung der PPE in 38% aller Fälle. In der Gruppe ohne Therapie erfolgte eine Besserung nur in 8% [91].

Im Rahmen der Ergebnisse dieser Arbeit und dem allgemeinen Stand der Literatur ist ein Zusammenhang der PPE mit freien Radikalen wahrscheinlich. Da die Substanzen u.a. über Schweißdrüsen die Hautoberfläche erreichen, könnte der Einsatz einer topischen Pflegecreme mit β -Karotin und anderen Substanzen klinisch eingesetzt werden um eine Reduktion dieser Nebenwirkung zu erreichen.

5 Zusammenfassung

Unter der Therapie mit Anthrazyklinen ist die Palmar-plantare Erythrodysesthesie (PPE) eine häufige Nebenwirkung. Diese Nebenwirkung an der Haut kann zu Therapieabbruch und weiteren konsekutiven, medizinischen Maßnahmen führen und ist maßgeblich an der Reduzierung der Lebensqualität bei einer palliativen Chemotherapie beteiligt. Die genauen pathophysiologischen Abläufe sind bisher nicht bekannt. Die Präventionsmöglichkeiten sind ungenügend und die Therapie besteht hauptsächlich in einer Modifikation von Dosis und Intervall der Chemotherapie, die jedoch die effiziente Behandlung des Tumors beeinflussen kann. Für den Entwurf von Behandlungsstrategien ist die Aufklärung der pathogenetischen Zusammenhänge grundlegend.

Daher wurde im ersten Teil der Arbeit eine prospektive Studie an einem Kollektiv von 12 Patientinnen mit gynäkologischen Malignomen durchgeführt. Mit einem dermatologischen Laser-Scan-Mikroskop wurde die Haut von Patienten unter der Therapie mit Anthrazyklinen untersucht um Aufschlüsse über pathogenetische Mechanismen zu erlangen. Grundlage war die Beobachtung des Anthryzyklin Doxorubicin nach Infusion in der Haut durch die Laser-Scan-Mikroskopie von Jacobi et al. [65]. In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden ob sich auch die Anthryzykline Epirubicin und liposomales Doxorubicin mit dem LSM in der Haut nachweisen lassen. Es sollte untersucht werden, auf welchem Weg und wann die Anthrazykline nach Infusion die Haut erreichen. Da die PPE nur an Hand- und Fußflächen auftritt wurden unterschiedliche Körperstellen untersucht, um Unterschiede festzustellen. Da Epirubicin im Vergleich zu pegyliertem Doxorubicin fast nie eine PPE auslöst wurden beide Substanzen miteinander verglichen.

Es konnten folgende Aussagen getroffen werden:

Die Fluoreszenz von Anthrazyklinen ist bekannt und wurde vielfach zum Nachweis der Substanzen z. B. im Plasma genutzt. Mit Hilfe der Technik der dermatologischen Laser-Scan-Mikroskopie war es bisher möglich Doxorubicin nach intravenöser Verabreichung *in-vivo* in der Haut zu detektieren. In der vorliegenden Studie konnten erstmals die Anthrazykline pegyliertes liposomales Doxorubicin und Epirubicin in der Haut nachgewiesen werden.

Es erfolgte nicht nur der Nachweis der Anthrazykline. Durch die Fluoreszenz konnten zelluläre Strukturen wie Zellen des Stratum corneum, Hautfurchen- und Falten sowie Schweißdrüsen visualisiert werden. An Hand und Fuß zeigte sich besonders deutlich das Stratum corneum. An den Körperstellen Stirn, Arm und Achsel zeigte sich die Fluoreszenz vor allem in Hautfurchen und Falten und weniger deutlich als an Hand und Fuß. Dies spricht für eine vermehrte Anreicherung im sehr dicken Stratum corneum von Hand und Fuß. Zwischen Epirubicin und pegyliertem Doxorubicin zeigten sich keine Unterschiede.

Bisher wurde Doxorubicin in der Studie von Jacobi et al. [65] in einer Schweißdrüse nachgewiesen. Bei der Analyse des Penetrationsweges konnte die vorliegende Studie mehrfach visuell zeigen, dass auch sowohl Epirubicin und pegyliertes Doxorubicin über die Schweißdrüsen auf die Hautoberfläche transportiert werden. Mit dem LSM konnten sowohl die Ausführungsgänge als auch die Endstücke der Schweißdrüsen auf der Hautoberfläche visualisiert werden.

1,4 ± 0,9 Stunden nach Beginn der Behandlung mit Anthrazyklinen konnte bei allen Patientinnen ein Fluoreszenzsignal nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse stimmen mit Studien überein, in denen die Exkretion von Substanzen mit dem Schweiß ca. 1-2 h nach systemischer Verabreichung beobachtet wurden. So wiesen Cauwenbergh et al. [62] die Exkretion von Itraconazol mit dem Schweiß 1-2 h nach systemischer Verabreichung nach. Das zeitliche Auftreten der ersten Fluoreszenz bestätigt damit den Transport über Schweißdrüsen, denn Diffusion von basal würde mehr Zeit beanspruchen. In den Untersuchungen wurde das Fluoreszenzsignal nach 2-5 h auch in tieferen Hautschichten nachgewiesen. Dieses kann durch eine Penetration von der Oberfläche erfolgen, oder durch Austritt der Anthrazykline durch erweiterte Kapillaren mit folgender passiver Diffusion von basal. Dieses konnte mit der Methode LSM weder bestätigt noch widerlegt werden.

Die vorliegenden Untersuchungen könnten die Prädisposition der chemotherapieinduzierten PPE an Hand- und Fußflächen erklären, da diese Hautareale im Vergleich zu anderen Regionen eine besonders hohe Anzahl an Schweißdrüsen und eine dickere Stratum corneum [52] aufweisen. In den Ergebnissen zeigte sich der häufigste Nachweis der Fluoreszenz an Hand und Fuß. An der Stirn, die ebenfalls eine hohe Schweißdrüsendichte besitzt jedoch ein dünneres Stratum corneum, erfolgte der Nachweis seltener. Auch von anderen Autoren wurden eine hohe Schweißdrüsendichte und ein dickes Stratum corneum als mögliche

Ursache für eine erhöhte Konzentration von liposomalem Doxorubicin in der Haut vermutet [40]. Die Ursache hierfür könnte in dem wesentlich größeren Reservoir für Arzneistoffe des Stratum corneum an Hand- und Fußflächen im Vergleich zum Stratum corneum von anderen Körperregionen mit hoher Schweißdrüsendichte liegen.

Die unterschiedliche Ausprägung der Nebenwirkungen in Form der PPE im Falle von Doxorubicin im Vergleich zu Epirubicin kann durch die vorliegenden Untersuchungen nicht erklärt werden. In der vorliegenden Studie zeigten sich keine Unterschiede zwischen beiden Substanzen. Beide waren in der Haut und an den verschiedenen Körperstellen gleich häufig nachweisbar. Beide wurden in Schweißdrüsen visualisiert. Es kann vermutet werden, dass PLD aufgrund seiner liposomalen Verkapselung und damit verlängerten Halbwertszeit kontinuierlich in die Haut gelangt und dort einen kumulativ toxischen Schaden verursacht.

Die Therapie der PPE stellt bisher die Therapieunterbrechung oder eine Dosisreduktion dar. Generelle Verhaltensmaßnahmen werden als supportive Therapie empfohlen. Dazu gehören Vermeidung von Druckschäden, Temperaturschwankungen und heißem Wasser an Hand- und Fußflächen sowie die regelmäßige Anwendung einer Pflegecreme [43]. Es existieren verschiedene Therapieansätze zur topischen und systemischen Behandlung, wie z. B. DMSO, Pflegecremes, Steroide oder Vit B6 [43]. Der Exkretionsmechanismus von Anthrazyklinen mit dem Schweiß ist ein Baustein des Pathomechanismus. Auf dieser Erkenntnis wurden im zweiten Teil der Arbeit therapeutische Ansätze entworfen und an einem Kollektiv von 4 Patienten unter der Therapie mit Anthrazyklinen und 2 gesunden Probanden analysiert.

Dabei konnten folgende Aussagen getroffen werden:

Ein möglicher Ansatz ist die präventive Unterbindung der Schweißexkretion. In der Studie wurde versucht eine sichtbare Reduzierung der Fluoreszenz durch Kühlung und durch Einsatz von Antiperpirantien zu erzielen. Bei beiden Maßnahmen war keine Reduktion der Fluoreszenz zu beobachten.

In der Haut können Anthrazykline durch unterschiedliche Mechanismen eine Zellschädigung verursachen. Ein Mechanismus ist die Generierung freier Radikale. Ziel der Untersuchung war es zu zeigen, dass während der Infusion mit PLD freie Radikale vermehrt entstehen, welche nicht invasiv in der Haut detektiert werden können. Im Vergleich dazu wurde die Haut gesunder Probanden untersucht. Mit der Raman-Spektroskopie wurde die Haut von zwei

Patienten während zwei Zyklen Chemotherapie vor und nach der Infusion mit PLD untersucht. Eine 0,05% β -Karotin Creme wurde auf der Handinnenfläche (Thenar) aufgetragen und die Konzentration von β -Karotin vor und nach der Infusion bestimmt. Zum Vergleich wurde die Haut von zwei gesunden Probanden ohne Erkrankungen und medikamentöse Therapien untersucht. Auch ihnen wurde an der Handinnenfläche eine 0,05% β -Karotin appliziert und die Konzentration gemessen.

Die Ergebnisse ergaben bei beiden Patienten in beiden untersuchten Zyklen einen Konzentrationsabfall von β -Karotin in der Haut nach Infusion mit PLD. Im Verlauf von 170 min sanken die Konzentrationen bei beiden Patienten über 40%. Auch die gesunden Probanden zeigten einen Abfall der Karotin Konzentration im Verlauf von 150 min. Im Gegensatz zu den Patienten mit Chemotherapie betrug der Abfall aber nur ca. 20%.

Es lässt sich feststellen, dass sich sowohl in unseren Untersuchungen als auch in den Untersuchungen anderer Autoren freie Radikale nachweisen ließen, die durch Anthrazykline induziert wurden. Freie Radikale und ihre Schädigungsmechanismen werden in vielen Theorien für die Toxizität verantwortlich gemacht. So zeigten einige Autoren, dass die Entstehung von reaktiven Sauerstoffradikalen bei der anthrazyklin-induzierten Kardiotoxizität mitverantwortlich sind [86], [87]. Diese Ergebnisse werden noch weiter unterstützt durch die Beobachtung, dass Epirubicin, welches weniger häufig eine Herzschädigung und Hauttoxizität hervorruft, auch weniger freie Radikale induziert [88].

Es kann vermutet werden, dass auch die Nebenwirkung PPE mit diesem Mechanismus in Zusammenhang steht. Eine Präventionsmaßnahme könnte eine antioxidantienhaltige topische Pflegecreme sein.

6 Literatur

1. Oki, T., *New anthracycline antibiotics*. Jpn J Antibiot, 1977. **30 Suppl**: p. 70-84.
2. Helwig H, O.H.-H., *Arzneimittel, 10. Aufl, Wiss. Verl. Ges., Stuttgart, 2005, S. 26-31*. 2005, Stuttgart: Wiss. Verl. Ges. S. 26-31.
3. Patel, D.J. and L.L. Canuel, *Anthracycline antitumor antibiotic nucleic-acid interactions. Structural aspects of the daunomycin poly(dA-dT) complex in solution*. Eur J Biochem, 1978. **90**(2): p. 247-54.
4. Pigram, W.J., W. Fuller, and L.D. Hamilton, *Stereochemistry of intercalation: interaction of daunomycin with DNA*. Nat New Biol, 1972. **235**(53): p. 17-9.
5. Wassermann, K., et al., *Effects of morpholinyl doxorubicins, doxorubicin, and actinomycin D on mammalian DNA topoisomerases I and II*. Mol Pharmacol, 1990. **38**(1): p. 38-45.
6. Lown, J.W., et al., *Strand scission of DNA by bound adriamycin and daunorubicin in the presence of reducing agents*. Biochem Biophys Res Commun, 1977. **76**(3): p. 705-10.
7. Bachur, N.R., S.L. Gordon, and M.V. Gee, *Anthracycline antibiotic augmentation of microsomal electron transport and free radical formation*. Mol Pharmacol, 1977. **13**(5): p. 901-10.
8. Myers, C., *Anthracyclines*. Cancer Chemother Biol Response Modif, 1988. **10**: p. 33-9.
9. Hertzberg, R.P., et al., *DNA sequence specificity of the pyrrolo[1,4]benzodiazepine antitumor antibiotics. Methidiumpropyl-EDTA-iron(II) footprinting analysis of DNA binding sites for anthramycin and related drugs*. Biochemistry, 1986. **25**(6): p. 1249-58.
10. Tewey, K.M., et al., *Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II*. Science, 1984. **226**(4673): p. 466-8.
11. Monti, E., et al., *Free radical-dependent DNA lesions are involved in the delayed cardiotoxicity induced by adriamycin in the rat*. Anticancer Res, 1995. **15**(1): p. 193-7.
12. Horenstein, M.S., R.S. Vander Heide, and T.J. L'Ecuyer, *Molecular basis of anthracycline-induced cardiotoxicity and its prevention*. Mol Genet Metab, 2000. **71**(1-2): p. 436-44.
13. Petit, T., *[Anthracycline-induced cardiotoxicity]*. Bull Cancer, 2004. **91 Suppl 3**: p. 159-65.
14. Cox, R.F., *Managing skin damage induced by doxorubicin hydrochloride and daunorubicin hydrochloride*. Am J Hosp Pharm, 1984. **41**(11): p. 2410-4.
15. Averbuch, S.D., et al., *Experimental chemotherapy-induced skin necrosis in swine. Mechanistic studies of anthracycline antibiotic toxicity and protection with a radical dimer compound*. J Clin Invest, 1988. **81**(1): p. 142-8.
16. Bekerecioglu, M., et al., *Prevention of adriamycin-induced skin necrosis with various free radical scavengers*. J Surg Res, 1998. **75**(1): p. 61-5.
17. Svingen, B.A., et al., *Protection by alpha-tocopherol and dimethylsulfoxide (DMSO) against adriamycin induced skin ulcers in the rat*. Res Commun Chem Pathol Pharmacol, 1981. **32**(1): p. 189-92.
18. Olver, I.N., et al., *A prospective study of topical dimethyl sulfoxide for treating anthracycline extravasation*. J Clin Oncol, 1988. **6**(11): p. 1732-5.
19. Lasic, D.D., et al., *Sterically stabilized liposomes: a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation times*. Biochim Biophys Acta, 1991. **1070**(1): p. 187-92.

20. Fachinformation, C.m.m., *SP Europe/Essex Pharma*, 2000.
21. Dvorak, H.F., et al., *Identification and characterization of the blood vessels of solid tumors that are leaky to circulating macromolecules*. *Am J Pathol*, 1988. **133**(1): p. 95-109.
22. Schüller, J., *Wirkprinzip sowie Serum- und Gewebepharmakokinetik von Caelyx bei Patientinnen mit fortgeschrittenem Mammakarzinom*. *Onkologie*, 2000. **23**(suppl 2): p. 3-6.
23. Lyass, O., et al., *Correlation of toxicity with pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin (Doxil) in metastatic breast carcinoma*. *Cancer*, 2000. **89**(5): p. 1037-47.
24. Amantea, M., et al., *Relationship of dose intensity to the induction of palmar-plantar erythrodysesthesia by pegylated liposomal doxorubicin in dogs*. *Hum Exp Toxicol*, 1999. **18**(1): p. 17-26.
25. Muggia, F.M., *Clinical efficacy and prospects for use of pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of ovarian and breast cancers*. *Drugs*, 1997. **54 Suppl 4**: p. 22-9.
26. Ganzina, F., N. Di Pietro, and O. Magni, *Clinical toxicity of 4'-epi-doxorubicin (epirubicin)*. *Tumori*, 1985. **71**(3): p. 233-40.
27. Martini, A., et al., *Cross-over study of pharmacokinetics and haematological toxicity of 4'-epi-doxorubicin and doxorubicin in cancer patients*. *Int J Clin Pharmacol Res*, 1984. **4**(3): p. 231-8.
28. Plosker, G.L. and D. Faulds, *Epirubicin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in cancer chemotherapy*. *Drugs*, 1993. **45**(5): p. 788-856.
29. Fitzpatrick, J.E. and A.F. Hood, *Histopathologic reactions to chemotherapeutic agents*. *Adv Dermatol*, 1988. **3**: p. 161-83.
30. Zuehlke, R.L., *Erythematous eruption of the palms and soles associated with mitotane therapy*. *Dermatologica*, 1974. **148**(2): p. 90-2.
31. Lotem, M., et al., *Skin toxic effects of polyethylene glycol-coated liposomal doxorubicin*. *Arch Dermatol*, 2000. **136**(12): p. 1475-80.
32. Alley, E., R. Green, and L. Schuchter, *Cutaneous toxicities of cancer therapy*. *Curr Opin Oncol*, 2002. **14**(2): p. 212-6.
33. Nagore, E., A. Insa, and O. Sanmartin, *Antineoplastic therapy-induced palmar plantar erythrodysesthesia ('hand-foot') syndrome. Incidence, recognition and management*. *Am J Clin Dermatol*, 2000. **1**(4): p. 225-34.
34. Blum, J.L., et al., *Phase II trial of capecitabine and weekly paclitaxel as first-line therapy for metastatic breast cancer*. *J Clin Oncol*, 2006. **24**(27): p. 4384-90.
35. Tebbutt, N.C., et al., *Analysis of the time course and prognostic factors determining toxicity due to infused fluorouracil*. *Br J Cancer*, 2003. **88**(10): p. 1510-5.
36. Sehouli, J., et al., *Biweekly pegylated liposomal doxorubicin in patients with relapsed ovarian cancer: results of a multicenter phase-II trial*. *Ann Oncol*, 2006. **17**(6): p. 957-61.
37. Rose, P.G., *Pegylated liposomal doxorubicin: optimizing the dosing schedule in ovarian cancer*. *Oncologist*, 2005. **10**(3): p. 205-14.
38. <http://ctep.cancer.gov/forms/CTCAEv3.pdf>
39. Baack, B.R. and W.H. Burgdorf, *Chemotherapy-induced acral erythema*. *J Am Acad Dermatol*, 1991. **24**(3): p. 457-61.
40. Cox, G.J. and D.B. Robertson, *Toxic erythema of palms and soles associated with high-dose mercaptopurine chemotherapy*. *Arch Dermatol*, 1986. **122**(12): p. 1413-4.
41. Mrozek-Orlowski, M.E., D.K. Frye, and H.M. Sanborn, *Capecitabine: nursing implications of a new oral chemotherapeutic agent*. *Oncol Nurs Forum*, 1999. **26**(4): p. 753-62.

42. Skelton, H., J. Linstrum, and K. Smith, *Host-vs.-altered-host eruptions in patients on liposomal doxorubicin*. J Cutan Pathol, 2002. **29**(3): p. 148-53.
43. Lassere, Y. and P. Hoff, *Management of hand-foot syndrome in patients treated with capecitabine (Xeloda)*. Eur J Oncol Nurs, 2004. **8 Suppl 1**: p. S31-40.
44. Gressett, S.M., B.L. Stanford, and F. Hardwicke, *Management of hand-foot syndrome induced by capecitabine*. J Oncol Pharm Pract, 2006. **12**(3): p. 131-41.
45. Fabian, C.J., et al., *Pyridoxine therapy for palmar-plantar erythrodysesthesia associated with continuous 5-fluorouracil infusion*. Invest New Drugs, 1990. **8**(1): p. 57-63.
46. Molpus, K.L., et al., *The effect of regional cooling on toxicity associated with intravenous infusion of pegylated liposomal doxorubicin in recurrent ovarian carcinoma*. Gynecol Oncol, 2004. **93**(2): p. 513-6.
47. Schaefer H, R.T., *Skin barrier: Principles of Percutaneous Absorption*. . 1996, Basel: Verlag Karger. S. 43-59.
48. Ulfig, N:Kurzlehrbuch Histologie. Verlag Thieme 2003; S. 217-223.
49. Ulfig, N:Kurzlehrbuch Histologie. Verlag Thieme 2003; S. 217-223.
50. Ulfig, N:Kurzlehrbuch Histologie. Verlag Thieme 2003; S. 217-223.
51. Hwang, K. and S.H. Baik, *Distribution of hairs and sweat glands on the bodies of Korean adults: a morphometric study*. Acta Anat (Basel), 1997. **158**(2): p. 112-20.
52. Ya-Xian, Z., T. Suetake, and H. Tagami, *Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin - relationship to the anatomical location on the body, age, sex and physical parameters*. Arch Dermatol Res, 1999. **291**(10): p. 555-9.
53. Lee, Y. and K. Hwang, *Skin thickness of Korean adults*. Surg Radiol Anat, 2002. **24**(3-4): p. 183-9.
54. Ermakov, I.V., et al., *Noninvasive selective detection of lycopene and beta-carotene in human skin using Raman spectroscopy*. J Biomed Opt, 2004. **9**(2): p. 332-8.
55. Hata, T.R., et al., *Non-invasive raman spectroscopic detection of carotenoids in human skin*. J Invest Dermatol, 2000. **115**(3): p. 441-8.
56. Bohm, F., J.H. Tinkler, and T.G. Truscott, *Carotenoids protect against cell membrane damage by the nitrogen dioxide radical*. Nat Med, 1995. **1**(2): p. 98-9.
57. Conn, P.F., W. Schalch, and T.G. Truscott, *The singlet oxygen and carotenoid interaction*. J Photochem Photobiol B, 1991. **11**(1): p. 41-7.
58. Stahl, W., et al., *Carotenoids in human skin: noninvasive measurement and identification of dermal carotenoids and carotenol esters*. Methods Enzymol, 2000. **319**: p. 494-502.
59. Lee, J., et al., *Carotenoid supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure*. Proc Soc Exp Biol Med, 2000. **223**(2): p. 170-4.
60. Bouwstra, J.A., et al., *Cholesterol sulfate and calcium affect stratum corneum lipid organization over a wide temperature range*. J Lipid Res, 1999. **40**(12): p. 2303-12.
61. Lademann, J., et al., *Investigation of follicular penetration of topically applied substances*. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol, 2001. **14 Suppl 1**: p. 17-22.
62. Cauwenbergh, G., et al., *Pharmacokinetic profile of orally administered itraconazole in human skin*. J Am Acad Dermatol, 1988. **18**(2 Pt 1): p. 263-8.
63. Horn, T.D., *Antineoplastic chemotherapy, sweat, and the skin*. Arch Dermatol, 1997. **133**(7): p. 905-6.
64. Schmook, T., et al., *Detection of doxorubicin in the horny layer in a patient suffering from palmar-plantar erythrodysesthesia*. Dermatology, 2005. **210**(3): p. 237-8.
65. Jacobi, U., et al., *Release of doxorubicin in sweat: first step to induce the palmar-plantar erythrodysesthesia syndrome? Ann Oncol, 2005. 16(7): p. 1210-1.*
66. R. B. Silverman, Medizinische Chemie, VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, 1994

67. de Bruijn, P., et al., *Determination of doxorubicin and doxorubicinol in plasma of cancer patients by high-performance liquid chromatography*. Anal Biochem, 1999. **266**(2): p. 216-21.
68. Fachinformation Caelyx, SP Europe/Essex Pharma 2000
69. R. B. Silverman, Medizinische Chemie, VCH, Weinheim, New York, Basel Cambridge, Tokyo, 1994
70. Swindle, L.D., et al., *View of normal human skin in vivo as observed using fluorescent fiber-optic confocal microscopic imaging*. J Invest Dermatol, 2003. **121**(4): p. 706-12.
71. Meyer, L.E., et al., *In vivo confocal scanning laser microscopy: comparison of the reflectance and fluorescence mode by imaging human skin*. J Biomed Opt, 2006. **11**(4): p. 044012.
72. Lademann, J., et al., *Application of optical non-invasive methods in skin physiology: a comparison of laser scanning microscopy and optical coherent tomography with histological analysis*. Skin Res Technol, 2007. **13**(2): p. 119-32.
73. Pierce, R.N. and P.I. Jatlow, *Measurement of adriamycin (doxorubicin) and its metabolites in human plasma using reversed-phase high-performance liquid chromatography and fluorescence detection*. J Chromatogr, 1979. **164**(4): p. 471-8.
74. Moro, E., et al., *Determination of 4'-epidoxorubicin and its 13-dihydro derivative in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection*. J Chromatogr, 1982. **230**(1): p. 207-11.
75. Camaggi, C.M., et al., *HPLC analysis of doxorubicin, epirubicin and fluorescent metabolites in biological fluids*. Cancer Chemother Pharmacol, 1988. **21**(3): p. 216-20.
76. Meschini, S., et al., *Intracellular localization of the antitumour drug adriamycin in living cultured cells: a confocal microscopy study*. J Microsc, 1994. **176**(Pt 3): p. 204-10.
77. Dahlstrom, K.K., H.L. Chenoufi, and S. Daugaard, *Fluorescence microscopic demonstration and demarcation of doxorubicin extravasation. Experimental and clinical studies*. Cancer, 1990. **65**(8): p. 1722-6.
78. Cone, E.J., et al., *Sweat testing for heroin, cocaine, and metabolites*. J Anal Toxicol, 1994. **18**(6): p. 298-305.
79. Harris, R., H.E. Jones, and W.M. Artis, *Orally administered ketoconazole: route of delivery to the human stratum corneum*. Antimicrob Agents Chemother, 1983. **24**(6): p. 876-82.
80. Cilliers, P.H., *Surgical management of patients with hyperhidrosis*. S Afr Med J, 1987. **72**(8): p. 538-9.
81. Thomas, I., et al., *Palmoplantar hyperhidrosis: a therapeutic challenge*. Am Fam Physician, 2004. **69**(5): p. 1117-20.
82. Scholes, K.T., et al., *Axillary hyperhidrosis treated with alcoholic solution of aluminium chloride hexahydrate*. Br Med J, 1978. **2**(6130): p. 84-5.
83. Zimmerman, G.C., et al., *Prevention of docetaxel-induced erythrodysesthesia with local hypothermia*. J Natl Cancer Inst, 1994. **86**(7): p. 557-8.
84. Holzle, E. and O. Braun-Falco, *Structural changes in axillary eccrine glands following long-term treatment with aluminium chloride hexahydrate solution*. Br J Dermatol, 1984. **110**(4): p. 399-403.
85. Stenquist, B., *Axillary hyperhidrosis: A simple surgical procedure*. J Dermatol Surg Oncol, 1985. **11**(4): p. 388-91.
86. Lown, J.W., et al., *Further studies on the generation of reactive oxygen species from activated anthracyclines and the relationship to cytotoxic action and cardiotoxic effects*. Biochem Pharmacol, 1982. **31**(4): p. 575-81.

-
87. Wang, S., et al., *Doxorubicin induces apoptosis in normal and tumor cells via distinctly different mechanisms. intermediacy of H(2)O(2)- and p53-dependent pathways.* J Biol Chem, 2004. **279**(24): p. 25535-43.
 88. Dickinson, A.C., et al., *Absence of generation of oxygen-containing free radicals with 4'-deoxydoxorubicin, a non-cardiotoxic anthracycline drug.* Biochem Biophys Res Commun, 1984. **125**(2): p. 584-91.
 89. Korac, B. and B. Buzadzic, *Doxorubicin toxicity to the skin: possibility of protection with antioxidants enriched yeast.* J Dermatol Sci, 2001. **25**(1): p. 45-52.
 90. Vail, D.M., et al., *Efficacy of pyridoxine to ameliorate the cutaneous toxicity associated with doxorubicin containing pegylated (Stealth) liposomes: a randomized, double-blind clinical trial using a canine model.* Clin Cancer Res, 1998. **4**(6): p. 1567-71.
 91. Beveridge RA, Kales AN, Binder RA, Miller JA, et al. Pyridoxine (B6) and amelioration of hand/foot syndrome. Proc Am Soc Clin Oncol 1990: 9, 26 Meet., 102.

Danksagung

Mein allergrößter Dank gilt Prof. Dr. Dr. Lademann, der mir das interessante Thema überließ und mich zusammen mit seinem Team außergewöhnlich unterstützt hat. Ich danke ihm sehr für Unterstützung, Geduld, Vertrauen und die Motivation, die es in dieser Form sonst selten gibt.

Herrn Prof. Dr. Sterry danke ich für die Möglichkeit an der dermatologischen Klinik der Charité zu promovieren.

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Fr. Heike Richter bedanken, die mich engagiert und mit Rat und Tat durch den experimentellen und alle anderen Teile dieser Arbeit begleitet hat. Durch den sehr persönlichen Einsatz hat die Arbeit an dieser Dissertation sehr viel Spaß gemacht. Auch allen anderen Mitarbeitern des Bereiches für Experimentelle und Angewandte Physiologie der Haut danke ich für die große Unterstützung, so auch Fr. Dr. Jacobi, Fr. Schanzer, Fr. Dr. Teichmann und Fr. Werner.

Diese Arbeit wäre ohne Zusammenarbeit mit der Klinik für Frauenheilkunde der Charité nicht möglich gewesen. Ich danke Prof. Dr. Sehoulí und Fr. Dr. Oskay-Oezcelik für die Unterstützung des Projektes.

Meinen Eltern und meiner Familie, deren langjährige Unterstützung mir mein Studium und diese Promotion ermöglichte, möchte ich danken. Insbesondere danke ich meinem Vater, Dr. Rüdiger Martschick für seine Förderung und liebevolle Unterstützung.

Meinen lieben Freunden Kathrin und Lisa Gahleitner sowie Hans Piper ein großer Dank für die liebe Freundschaft und den bis heute anhaltenden Beistand.

Ich danke Wilhelm Kage für die liebe Hilfe bei allen technischen Fragestellungen. Im Besonderen gilt der Dank meinen Schwestern Sinja und Janina Martschick für ihre offenen Arme und Support in allen Lebenslagen.

Mein Dank gilt besonders allen Frauen, die trotz Ihrer Erkrankung in dieser Studie mitgewirkt haben.

Ich danke Dr. Robert Ellrich für seine Liebe und sein Lachen.

Publikationsliste

1. Veröffentlichungen

A. Martschick, U. Jakobi, H. Richter, J. Sehouli, G. Oskay-Özcelik, W. Sterry, J. Lademann:
In Vivo – Nachweis von Doxorubicin auf der Hautoberfläche mit Laser-Scanning-
Mikroskopie, TSBmedici, 18. Treffpunkt Medizintechnik 27.05.2004, Berlin

J. Lademann, A. Martschick, U. Jacobi, H. Richter, M. Darvin, J. Sehouli, G. Oskay- Özcelik,
J.-U. Blohmer, W. Lichtenegger, W. Sterry, Charite, Berlin, Germany
Investigation of doxorubicin on the skin: A spectroscopic study to understand the
pathogenesis of PPE
Poster presentation on the ASCO, May 13-17, 2005
Suppl. Journal of Clinical Oncology, S. 477 s, June 1, 2005, Orlando, Florida, USA

A. Martschick, J. Sehouli, A. Patzelt, H. Richter, U. Jacobi, G. Oskay-Özcelik, W. Sterry and
J. Lademann, Berlin, Germany
The Pathogenetic Mechanism of Anthracycline-induced Palmar-plantar Erythrodysesthesia
International Journal of Cancer Research and Treatment, accepted to press for the Issue 29-
2009

2. Vortrag

J. Lademann, A. Martschick, U. Jakobi, H. Richter, M. Darvin, J. Sehouli, G. Oskay-Özcelik,
W. Sterry: Nachweis von Doxorubicin auf der Hautoberfläche: Pathogenese und
Behandlungsmöglichkeiten der PPE
Proc. 1. Symposium: Lebensqualität in der Gynäkologischen Onkologie-Anspruch und
Wirklichkeit, 30.04.2005, Berlin, 3. Preis

Lebenslauf

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

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, Anja Rebecca Martschick, dass die vorliegende Dissertationsarbeit von mir selbst ohne die unzulässige Hilfe Dritter verfasst wurde und auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt. Die benutzten Hilfsmittel sowie Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin, den 04.03.2010

Anja Martschick