

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

DISSERTATION

Studie zur Wirksamkeit von 0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure in
der topischen Behandlung aktinischer Keratosen Grad I und II -
Ergebnisse des Studienzentrums 1 im Vergleich mit den
Ergebnissen der Gesamtstudie unter besonderer
Berücksichtigung der pharmakokinetischen Untersuchungen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Imke Risius

aus Lippstadt

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. E. Stockfleth
 2. Prof. Dr. med. C. Termeer
 3. Prof. Dr. med. T. Dirschka

Datum der Promotion: 01.02.2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	3
1. Einleitung	5
1.1 Überblick über aktinische Keratosen	6
1.2 Entstehungsmechanismen und Pathophysiologie	8
1.3 Risikofaktoren	10
1.4 Therapieoptionen	11
1.4.1 Operative und physikalische Verfahren	12
1.4.2 Topische pharmakologische Therapien	13
1.4.3 Weitere Therapieoptionen	16
1.5 Hintergrund und Ziel der Arbeit	17
2. Material und Methoden	19
2.1 Ethikkommission	20
2.2 Einschlusskriterien	20
2.3 Ausschlusskriterien	20
2.4 Studienmedikation und Therapie	22
2.5 Ablauf der Studie	23
2.6 Laboruntersuchungen	24
2.6.1 Blutuntersuchungen	24
2.6.2 Urin	25
2.6.3 Histologie	25
2.6.4 Pharmakokinetik	25
2.7 Klinische Endpunkte	26
2.7.1 Primärer Endpunkt	26
2.7.2 Sekundäre Endpunkte	26

3. Ergebnisse	29
3.1 Demografische Daten	29
3.2 Ergebnisse der Effizienzbewertung	31
3.2.1 Basisdaten der aktinischen Keratosen	31
3.2.2 Primärer Endpunkt: Abheilungsrate - histologische Untersuchung .	34
3.2.3 Sekundäre Endpunkte	35
3.3 Pharmakokinetik	46
3.4 Ergebnisse der Sicherheitsbewertung	47
3.4.1 Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events)	47
3.4.2 Unerwünschte Ereignisse nach Organsystemen	48
3.4.3 Lokale unerwünschte Ereignisse	49
3.4.4 Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse	50
3.4.5 Laboruntersuchungen	51
3.4.6 Körperliche Untersuchung und Vitalparameter	51
4. Diskussion	52
5. Zusammenfassung	60
6. Quellenverzeichnis	62
6.1 Literaturverzeichnis	62
6.2 Weitere Quellen	71
Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.
Erklärung an Eides Statt	75

Abkürzungsverzeichnis

5-FU	5-Fluorouracil
6-4PP	Pyrimidin(6-4)Pyrimidonphotoprodukte
AE	Adverse Event
AK	Aktinische Keratose
ALA	Aminolävulinsäure
AMG	Arzneimittelgesetz
ASS	Acetylsalicylsäure
BCC	Basalzellkarzinom
BfArM	Bundesamt für Arzneimittel und Medizinprodukte
COX	Cyclooxygenase
CPD	Cyclobutylpyrimidindimere
CR	Complete Response
DPD	Dihydropyrimidindehydrogenase
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EOT	End Of Treatment
FU	Follow Up
GCP	Good Clinical Practice
HIPK2	Homeodomain-interacting protein kinase 2
HPLC-MS	Hochleistungsflüssigkeitschromatografie mit Massenspektrometrie
HPV	Humane Papillomaviren
ICH	International Conference on Harmonization
IL	Interleukin
INF	Interferon
MLA	Methylaminolävulinsäure
NMSC	Non Melanoma Skin Cancer
NYHA	New York Heart Association
PD	Progressive Disease
PDT	Photodynamische Therapie
PPaR	Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren
PR	Partial Response

PT	Post Treatment
PUVA	Psoralen plus UV-A
RCM	Reflectance Confocal Microscopy
ROS	Reaktive Oxidative Spezies
SA	Standardabweichung
SAE	Severe Adverse Event
SCC	Squamous Cell Carcinoma
SMPC	Summary of Product Characteristics
SOP	Standard Operating Procedure
TEAE	Treatment Emergent Adverse Event
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF	Tumornekrosefaktor
UV	Ultraviolett
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
ZLP	Zentralinstitut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie

1. Einleitung

Weltweit nimmt die Häufigkeit des Hellen Hautkrebses (Nonmelanoma Skin Cancer, NMSC) in der hellhäutigen Bevölkerung kontinuierlich zu (Trakatelli 2007, Holme 2000). Zum hellen Hautkrebs zählen die aktinische Keratose (AK), das Basalzellkarzinom (BCC) und das Plattenepithelkarzinom (SCC). Die AK stellt eine Frühform des invasiven Plattenepithelkarzinoms dar. Dabei ist die maligne Entartung der Keratinozyten auf die Epidermis beschränkt, so dass die Möglichkeit einer Metastasierung in diesem Stadium nicht besteht. Bis zu 10% der AKs können aber im Verlauf von etwa zehn Jahren in ein invasives Plattenepithelkarzinom übergehen (Fuchs 2007). Es ist daher notwendig, die AK frühzeitig zu diagnostizieren und mit einer wirksamen Therapie zu behandeln (Mittelbronn 1998, Schwartz 1997).

Es existieren bereits verschiedene effektive Behandlungsmöglichkeiten. Jedoch ist die Erschließung weiterer neuer und innovativer Therapieoptionen wichtig, um z. B. höhere Abheilungsraten zu erzielen, einen längerfristigen Behandlungserfolg zu erreichen oder die Nebenwirkungen zu reduzieren. Mit diesem Ziel wurde die bereits für die Indikationen vulgärer Warzen, planer juveniler Warzen und Dornwarzen eingesetzte Wirkstoffkombination von 0,5% 5-FU und 10% Salicylsäure für die Therapie der aktinischen Keratosen in einer pharmakologischen Studie der Phase III überprüft (Stockfleth 2011). Auf der Basis der Ergebnisse dieser Studie steht für die Behandlung der aktinischen Keratose mit 0,5% 5-FU/10% Salicylsäure ein weiteres hochwirksames topisches Medikament zu Verfügung. Die Zulassung dieses Medikaments erfolgte am 21.06.2011 mit der Zulassungsnummer 80136.00.00 unter dem Handelsnamen Actikerall® (Inhaber der Zulassung: Almirall Hermal, Reinbek, Deutschland) (Fachinformation 2011).

Die Verfasserin dieser Arbeit war maßgeblich an den im Studienzentrum 1 des Hauttumorcentrums der Charité Berlin durchgeführten Arbeiten beteiligt. Dies beinhaltete die Rekrutierung der Patienten sowie deren Betreuung und Untersuchung während der Studie. Die Aufgaben umfaßten insbesondere die Datenerhebung sowie die Probenentnahme und Probenvorbereitung für die Routinelaboruntersuchungen und die Pharmakokinetikstudie. Um die Ergebnisse des Studienzentrums 1 mit denen der Gesamtstudie vergleichen zu können stellte die Verfasserin im Rahmen dieser Arbeit weiterhin die Daten des eigenen Studienzentrums zusammen, da sie nicht in der

Gesamtstudie separat ausgewiesen und analysiert wurden. Auf dieser Basis führte sie den Vergleich durch und analysierte Besonderheiten und Abweichungen.

1.1 Überblick über aktinische Keratosen

Die aktinische Keratose ist ein Plattenepithelkarzinom in situ. Es handelt sich um eine chronische Lichtschädigung der Haut (Kütting 2010, Armstrong 2001). Daher findet man die Läsionen vor allem an sonnenexponierten Hautarealen, den so genannten „Sonnenterrassen“, wie z. B. auf der unbehaarten Kopfhaut, im Gesicht, im Nacken, am Hals und Dekolleté und auf den Handrücken (Stockfleth 2004a).

Klinisch zeigen sie sich als scharf und unregelmäßig begrenzte hyperkeratotische, schuppene Maculae, Papeln oder Plaques, die hautfarben, rötlich oder rotbraun imponieren (Stery 2005a). Meist sind hellhäutige Menschen betroffen, die auch noch weitere Zeichen chronischer Lichtschädigung aufweisen (Roewert-Huber 2007a). Die AKs sind teilweise so diskret, dass sie lediglich als Rauigkeit tastbar sind. Sie können sowohl als einzelne Läsionen auftreten als auch ein gesamtes Areal betreffen. In diesem Fall spricht man von Feldkanzerisierung (Braakhuis 2003, Braakhuis 2005).

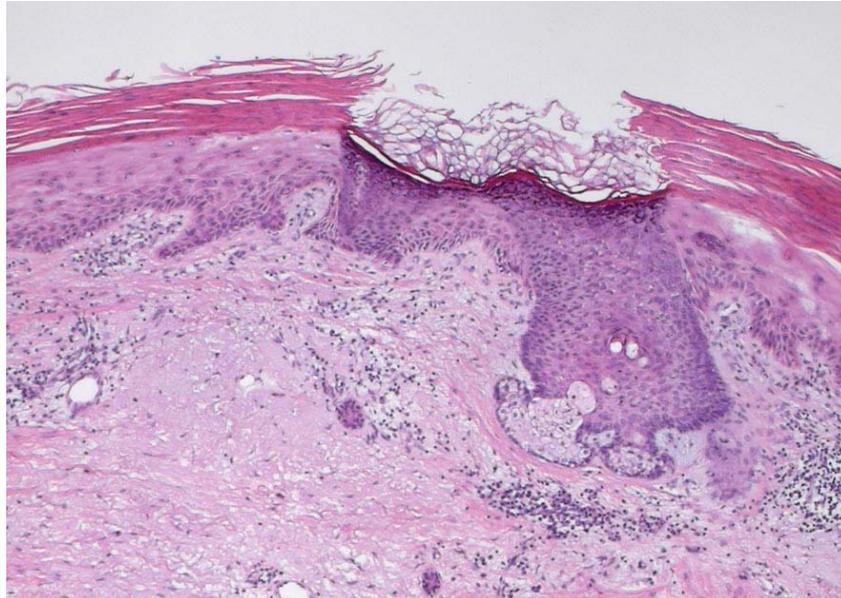
Abbildung 1: Aktinische Keratosen



Links: Multiple aktinische Keratosen des Kopfes, rechts: Aktinische Keratosen an der Schläfe

Histologisch betrachtet handelt es sich bei aktinischen Keratosen um auf die Epidermis beschränkte Plattenepithelkarzinome (Ackermann 2003). Man findet in der Frühphase der Entstehung in der basalen Schicht der Epidermis eine Vermehrung der Keratinozyten sowie einige atypische Keratinozyten. Schreitet die Erkrankung fort, proliferieren diese atypischen Keratinozyten in die gesamte Epidermis. Es sind ferner dyskeratotische Zellen und Mitosen gehäuft nachweisbar. Je nach histologischem Ausprägungsgrad der Atypien werden die aktinischen Keratosen in drei Grade eingeteilt: Grad I ist eine milde Ausprägung mit wenigen atypischen Keratinozyten in der basalen Schicht, Grad II beschreibt einen moderaten Zustand mit atypischen Zellen in der gesamten basalen Schicht und teilweise in der angrenzenden Schicht und Grad III einen schweren Verlauf mit Atypien in der gesamten Epidermis (Röwert-Huber, 2007b). Bei bis zu 10% aller Patienten entwickelt sich innerhalb von zehn Jahren aus der Läsion ein invasives Plattenepithelkarzinom (Glogau 2000, Fuchs 2007).

Abbildung 2: Histologie einer aktinischen Keratose



Entgegen früherer Ansicht, dass es sich bei aktinischen Keratosen um Präkanzerosen oder Vorläufer von Plattenepithelkarzinomen handelt, werden AKs heute als Plattenepithelkarzinome in situ gesehen (Ackerman 2003). In den Randbereichen von Plattenepithelkarzinomen finden sich die für aktinische Keratosen typischen

histologischen Veränderungen wie Proliferation und Atypien von Keratinozyten (Guenthner 1999, Mittelbronn 1998). Histopathologisch sind ein Plattenepithelkarzinom und eine aktinische Keratose in der Epidermis nicht unterscheidbar (Ackerman 2006, Lober 2000).

Typischerweise wird die Diagnose einer aktinischen Keratose nach dem klinischen Erscheinungsbild gestellt. Besteht eine Unsicherheit darüber, ob es sich bereits um ein invasives Plattenepithelkarzinom handelt, muss die Diagnose durch eine Biopsie und die histopathologische Untersuchung bestätigt werden. Dieses Verfahren gilt als Goldstandard für die Diagnose.

Ein relativ neues nicht invasives Verfahren zur Diagnostik ist die konfokale Lasermikroskopie (RCM = Reflectance Confocal Microscopy). Sie bietet eine Hilfe bei der Beobachtung größerer Areale im Sinne einer Feldkanzerisierung, bei der Überprüfung einer Therapie oder bei der Diagnostik subklinischer Läsionen (Ulrich 2007, Ulrich 2010). Ohne eine Biopsie durchführen zu müssen, können somit frühzeitig aktinische Keratosen erkannt und behandelt werden.

1.2 Entstehungsmechanismen und Pathophysiologie

Aktinische Keratosen entstehen überwiegend durch die schädigende Wirkung von UV-Strahlung, vor allem durch Sonnenlicht. Daher findet man sie vornehmlich in Hautregionen mit chronischer Sonnenexposition wie den bereits beschriebenen „Sonnenterrassen“.

Es gibt verschiedene Entstehungsmechanismen. UV-B-Strahlen (280 bis 320 nm) werden von der DNA absorbiert und führen dadurch direkt zu strukturellen Veränderungen und Schäden an der DNA. Es kommt zur Bildung von Pyrimidin-Dimeren. Vor allem Cyclobutylpyrimidindimere (CPD) und Pyrimidin(6-4)Pyrimidonphotoprodukte (6-4PP) spielen eine entscheidende Rolle (Douki 2003).

UV-A-Strahlen (320 bis 400 nm) dagegen verursachen indirekt DNA-Schäden, indem sie die endogene Photosensibilisierung aktivieren und zur Bildung reaktiver oxidativer Spezies (ROS) führen (Nishigori 2006). Nachfolgend kann es durch die Oxidation der Nukleinsäurebasen zu einer DNA-Schädigung kommen (Marrot 2008).

Fehlen die nötigen Reparaturmechanismen, z. B. durch exzessive Belastung durch UV-Strahlung, kann es zu Mutationen kommen (Brash 1996). Vor allem die Schädigung von Genen, die für die Regulation des Zellzyklus verantwortlich sind, ist für die Entstehung von Hautkrebs entscheidend. Ein solches Gen ist z. B. das p53-Gen (Benjamin 2007, Cockerell 2000). Es handelt sich um ein Tumorsuppressorgen, das bei Schädigungen der DNA phosphoryliert und zum Zellkern transloziert wird (Melnikova 2005). Dort leitet es die DNA-Reparatur ein oder veranlasst die Apoptose der Zelle. Durch eine Punktmutation wird die reguläre Funktion dieses Gens verhindert. Die Keratinozyten, die Träger des mutierten p53-Gens sind, haben gegenüber den Zellen mit funktionierendem Gen einen Wachstumsvorteil, da keine Apoptose induziert wird. Es kann zu einer klonalen Expansion der geschädigten Zellen und im weiteren Verlauf zur Entstehung einer aktinischen Keratose kommen (Melnikova 2005). Weitere Tumorgene wie z. B. das Telomerasegen (Babilas 2003) sind beschrieben, aber in ihrer Bedeutung und ihrem Mechanismus weniger untersucht.

Neben der Strahlung von Sonnenlicht stellen diagnostische und therapeutische Strahlungsquellen eine weitere häufige Schädigungsursache dar. Hier ist vor allem die UV-A-Bestrahlung mit Psoralen (PUVA) oder ohne Psoralen zu nennen, die z. B. in der Therapie der Psoriasis, der polymorphen Lichtdermatose, der Urticaria pigmentosa, der Vitiligo und bei schweren Hand- und Fußekzemen eingesetzt wird (Sterry 2005b). Auch Röntgenstrahlung und der Einsatz therapeutischer Radioisotope können die Entstehung von aktinischen Keratosen fördern (Karagas 2007a).

Als kokarzinogen werden kutane humane Papillomaviren (HPV) diskutiert (Stockfleth 2004b, Harwood 2002, Jackson 2000). Bei organtransplantierten Patienten sowie auch bei Immunkompetenten konnte HPV gehäuft in aktinischen Keratosen nachgewiesen werden. Dabei scheinen vor allem die onkogenen Typen HPV 5 und 8 eine Rolle zu spielen. Über die viralen Proteine E6 und E7 kommt es zu einer Hemmung des Tumorsuppressorgens p53 und damit des zelleigenen Apoptosemechanismus. Neuere Untersuchungen belegen die Rolle des kutanen HPV23 E6 Proteins für die Entstehung von Hautkrebs in UV-geschädigter Haut. Demnach greift HPV23 E6 Protein in die Funktion des wichtigen Apoptoseregulators Homeodomain-interacting protein kinase 2 (HIPK2) ein, der über eine Komplexbildung mit dem Tumorsuppressorgen p53 proapoptotisch wirksam ist (Muschik 2011). Dabei verstärken die HP Viren offensichtlich bereits vorhandene Risikofaktoren für die Entwicklung von aktinischen Keratosen (Nindl

2007, McBride 2007). Der genaue Mechanismus der Beteiligung von HPV an der Entstehung von NMSC ist allerdings noch nicht vollständig geklärt.

1.3 Risikofaktoren

Bekannte Risikofaktoren sind vor allem chronische Sonnenexposition, hohes Alter, männliches Geschlecht und ein heller Hauttyp. Ferner gelten auch Immunsuppression z. B. nach Transplantationen oder genetische Erkrankungen wie Xeroderma pigmentosum, Epidermodysplasia verruciformis oder Albinismus als erhöhtes Risiko (Diepgen 2002). Die kumulative Sonnenexposition scheint ein wesentlich wichtigerer Risikofaktor als singuläre Ereignisse mit extrem starker Exposition zu sein (Karagas 2007b, Salasche 2000). Dies ist auch der Grund dafür, dass vor allem ältere Menschen erkranken. Die im Laufe des Lebens aufgenommene UV-Strahlung verursacht DNA-Mutationen, die in höherem Alter die Entstehung vor allem von hellem Hautkrebs begünstigen. Als möglicher Grund für die Häufung der Erkrankung bei Männern wird deren stärkere Sonnenexposition in Beruf und Freizeit im Vergleich mit Frauen sowie deren unterschiedliche Kopfbehaarung betrachtet (Schwartz 2008, Kütting 2010).

Das Risiko, an einer aktinischen Keratose zu erkranken, ist in Gebieten der Erde mit einer hohen Belastung durch UV-Strahlung deutlich größer als in weniger belasteten Regionen. Dies kann durch geographische Gegebenheiten wie die Höhenlage oder den Breitengrad einer Region bedingt sein (Leiter 2008). So ist z. B. die Prävalenz der Erkrankung in Australien wesentlich höher als in europäischen Ländern (Frost 1994).

Bei 55% der hellhäutigen männlichen Bevölkerung Queenslands (Australien) zwischen 30 und 70 Jahren und bei 37% der Frauen konnten aktinische Keratosen nachgewiesen werden (Frost 2000). Es existieren auch Studien, die in den USA und Australien eine Prävalenz in der erwachsenen Bevölkerung zwischen 11% und 26% belegen (Salasche 2000). Die Prävalenz ist in jedem Fall höher als in europäischen Populationen. Einer britischen Studie aus demselben Jahr zufolge liegt sie bei 15% männlicher und 6% weiblicher Erkrankter (Memon 2000).

Insgesamt ist die Prävalenz in allen Ländern, die die Inzidenz von NMSC registrieren, deutlich gestiegen, und zwar um 3% bis 8% (Diepgen 2002). Aus den Niederlanden und

aus Großbritannien gibt es weitere Studien, die die Zunahme der Erkrankungen belegen (de Vries 2006, Memon 2000).

Bei Immunsupprimierten (z. B. Organtransplantierten) besteht ein stark erhöhtes Risiko für die Entstehung eines Plattenepithelkarzinoms aus einer aktinischen Keratose (Schmook 2003). Dieses Risiko liegt bei etwa 40% im Vergleich zu 10% bei immunkompetenten Patienten (Glogau 2000, Stockfleth 2002, Ulrich 2002). Im Vergleich zur gesunden Bevölkerung besteht speziell bei organtransplantierten Patienten ein bis zu 250-fach erhöhtes Risiko für die Entwicklung von aktinischen Keratosen und ein 100-fach erhöhtes Risiko, an einem Plattenepithelkarzinom zu erkranken (Stockfleth 2002, Ulrich 2002).

1.4 Therapieoptionen

Zur Behandlung der aktinischen Keratosen stehen sowohl operative als auch physikalische oder topische pharmakologische Therapieoptionen zur Verfügung. Die Wahl einer für den jeweiligen Patienten geeigneten Therapie ist von mehreren Faktoren abhängig. Entscheidend ist zunächst, ob es sich um eine einzelne Läsion handelt oder ob ein größeres Areal therapiert werden muss. Auch das Alter des Patienten, seine zu erwartende Compliance, mögliche vorangegangene Behandlungen oder besondere Risikofaktoren wie etwa eine Immunsuppression sind zu bedenken. Die Lokalisation der Läsionen spielt ebenso eine wichtige Rolle. Ferner muss die Entscheidung getroffen werden, ob eine histologische Sicherung der Läsionen notwendig ist. Mögliche weitere Erkrankungen können unter Umständen ein limitierender Faktor für eine Therapie sein (Stockfleth 2009a).

Bislang werden Entscheidungen für eine Therapieform individuell auch nach Präferenzen des behandelnden Arztes und des Patienten getroffen. Erstmalig ist nun aber von der European Skin Academy, einem Zusammenschluß führender Dermatologen und Experten auf dem Gebiet des Hautkrebses, eine Richtlinie mit Behandlungsempfehlungen für aktinische Keratosen herausgegeben worden (Stockfleth 2008). Damit sollen den behandelnden Ärzten evidenzbasierte Entscheidungshilfen bei der Wahl der geeigneten Therapiemethoden für jeden Patienten gegeben werden, die auch kulturelle Unterschiede zwischen den verschiedenen europäischen Ländern berücksichtigen.

In jedem Fall jedoch sollten aktinische Keratosen frühzeitig behandelt werden, da es sich, wie oben angeführt, um Plattenepithelkarzinome in situ handelt und eine Entartung bzw. die Entwicklung eines invasiven Plattenepithelkarzinoms immer möglich ist.

Die wichtigste Verhaltensmaßnahme, die parallel zur Behandlung der Erkrankung durchgeführt werden muss, ist der konsequente Lichtschutz durch Vermeidung der direkten Sonneneinstrahlung, Abdeckung der Haut durch Kleidung und Applikation von UV-Schutzmitteln (Naylor 1995).

1.4.1 Operative und physikalische Verfahren

Kürettage und Exzision

Ein chirurgisches Standardverfahren ist die Kürettage. Sie ist einfach und schnell durchführbar und im Gegensatz zu Exzisionen auch bei ausgedehnten Läsionen oder großen Arealen anwendbar. Eine befriedigende histologische Beurteilung des Präparates ist jedoch dabei nicht möglich (Motley 2002). Zur genauen Diagnosesicherung einzelner aktinischer Keratosen oder zum Ausschluß eines invasiven SCC wird daher eine Exzision durchgeführt.

Kryotherapie

Eine weitere häufig durchgeführte Behandlung ist die Kryotherapie. Dabei werden unspezifisch sowohl gesunde als auch atypische Zellen mittels flüssigen Stickstoffs mit einer Temperatur von etwa minus 196 Grad Celsius zerstört, indem der Zellverband aufgelöst und die Epidermis von der Dermis getrennt wird. Die Therapie ist nicht standardisiert, so dass die Ergebnisse der Behandlung stark von der Erfahrung und Qualität des Therapeuten abhängen (Zouboulis 2005). Das Verfahren ist allerdings einfach durchzuführen und zeigt eine hohe Toleranzrate bei den Patienten. Als Nebenwirkungen können lokale Irritationen wie z. B. Rötungen, Ödeme, Blasen oder Schmerzen auftreten. Nach der Behandlung bleiben unter Umständen Hypo- oder Hyperpigmentierungen oder seltener Narben zurück. Dennoch sind die kosmetischen Ergebnisse sehr befriedigend (Thai 2004). Die beobachteten Abheilungsraten liegen zwischen 68% und 97% (Krawtchenko 2007, Zouboulis 2005). Für flächenhafte Läsionen im Sinne der Feldkanzerisierung ist die Kryotherapie allerdings nicht einsetzbar.

1.4.2 Topische pharmakologische Therapien

Als topische lokale Therapien der Wahl gelten die Behandlung mit Diclofenac 3%, Imiquimod 5%, die photodynamische Therapie (PDT) und 5-Fluorouracil 5% (5-FU) (Stockfleth 2011). Der Vorteil dieser Verfahren liegt darin, dass sie nicht invasiv sind und von den Patienten gut toleriert werden. Außerdem gibt es die Möglichkeit, auch größere Hautareale zu behandeln, wie es beim Vorliegen einer Feldkanzerisierung notwendig ist. Zudem ist mit Ausnahme der PDT die Selbstanwendung durch die Patienten unter regelmäßiger ärztlicher Kontrolle möglich, wodurch die Therapie vereinfacht und die Compliance vermutlich erhöht wird.

Diclofenac 3% mit 2,5% Hyaluronsäure

Diclofenac ist ein unspezifischer Hemmstoff der Cyclooxygenase (COX). Für die Behandlung aktinischer Keratosen ist eine Konzentration von 3% in einem Gel mit 2,5% Hyaluronsäure zugelassen. Das Gel wird zweimal täglich über einen Zeitraum von bis zu 90 Tagen appliziert.

Der Wirkmechanismus besteht vor allem in der Hemmung der Cyclooxygenase 2 (COX-2). Die COX-2 kann über die Hochregulierung des Vascular Endothelial Growth Factors (VEGF) die Neoangiogenese in Tumoren anregen und damit die Expansion von Karzinomen begünstigen (Fecker 2007). Außerdem fördert sie die Proliferation von Zellen, hemmt die Apoptose und wirkt auf diesem Wege prokarzinogen. Eine neuere Studie beschreibt mögliche Mechanismen der proapoptischen Wirkung von Diclofenac (Fecker 2010), das unabhängig vom p53-Signalweg über eine Sensitivierung neoplastischer Keratinozyten für eine durch Todesliganden induzierte Apoptose wirkt. Ein weiterer Mechanismus von COX-Hemmern liegt in der Hemmung der Tumorzellproliferation über die Aktivierung des Peroxisome Proliferator-activated-Receptor γ (PPaR- γ). Es liegen zahlreiche Studien vor, die die Wirksamkeit von Diclofenac-Gel in der Behandlung aktinischer Keratosen belegen. Die kompletten Abheilungsraten liegen in randomisierten, doppelt verblindeten, placebokontrollierten Studien übereinstimmend bei etwa 40% bis 50% gegenüber 12% bis 20% in den Placebogruppen (Rivers 2002, Wolf 2001, Pirard 2005).

Als mögliche Nebenwirkungen von Diclofenac werden Juckreiz, Rötungen, Trockenheit der Haut, Erytheme und Entzündungen beschrieben (Kowalzik 2006).

Imiquimod 5%

Imiquimod gehört zur Wirkstoffgruppe der topischen Immunmodulatoren. Es handelt sich dabei um einen TLR-7-Agonisten (TLR: toll-like receptor). Der Rezeptor befindet sich auf der Oberfläche von Zellen des Immunsystems, vor allem auf Makrophagen. Die Wirkweise besteht darin, dass es nach der Bindung an den Rezeptor zu einer Induktion von Zytokinen, vor allem von $\text{INF-}\alpha$, IL-1, IL-6, IL-12 und $\text{TNF-}\alpha$ kommt. Dadurch wird die zelluläre Immunität gesteigert und die Fähigkeit der Zellen zur Abwehr gefördert. Imiquimod zerstört also nicht direkt neoplastische Zellen, sondern aktiviert das lokale Immunsystem der Haut. Es wirkt damit antiviral und antitumoral (Miller 1999, Hemmi 2002).

Entsprechend dem Wirkmechanismus kommt es zu gewünschten, z. T. ausgeprägten Entzündungsreaktionen, die sich auch auf subklinische Läsionen erstrecken und ihre Abheilung befördern. Ohne die Entzündungsreaktionen ist eine Abheilung offensichtlich nicht möglich. Daraus ergeben sich als Nebenwirkungen vor allem schwere Rötungen, Juckreiz, Brennen, Schmerzen, Erosionen und Ulzerationen (Hadley 2006). Die Behandlung erfolgt dreimal wöchentlich über einen Zeitraum von 16 Wochen. In einigen neueren Studien ist allerdings die Behandlungszeit auf vier Wochen reduziert worden, ergänzt um eine Nachbeobachtungszeit von vier Wochen und im Falle noch bestehender Läsionen um eine Verlängerung der Therapie auf weitere vier Wochen (Stockfleth 2009b, Stockfleth 2007, Jorizzo 2007, Alomar 2007). Damit konnte die Exposition der Patienten mit der Substanz bei nahezu gleicher Abheilungsrate deutlich reduziert werden. Es liegen mehrere Studien vor, die die Wirksamkeit von Imiquimod belegen (Gupta 2005). Unter anderem belegt eine neuere Studie, dass die Therapieergebnisse nach der Behandlung mit Imiquimod im Vergleich mit 5-FU und Kryotherapie überlegen sind (Krawtchenko 2007).

Photodynamische Therapie (PDT)

Eine weitere Therapieoption ist die topische photodynamische Therapie (PDT). Die Wirkung der PDT beruht darauf, dass sich auf das Behandlungsareal aufgetragene photosensibilisierende Substanzen aufgrund des erhöhten Stoffwechsels in Tumorzellen anreichern. Unter der Einwirkung von Rotlicht mit einer Wellenlänge von ungefähr 632 nm und in Anwesenheit von Sauerstoff im Gewebe bilden sich zytotoxische Metaboliten, die selektiv Tumorzellen zerstören. Das gesunde Gewebe

bleibt weitgehend unbeschädigt. Die verwendeten photosensibilisierenden Substanzen sind vor allem 5-Aminolävulinsäure (ALA) oder Methylaminolävulinsäure (MLA). In Studien wurde nachgewiesen, dass Patienten die PDT im Vergleich mit der Kryotherapie vorzogen und dass diese auch die besseren kosmetischen Ergebnisse zeigte (Kaufmann 2008, Pariser 2003, Freeman 2003, Szeimies 2002). Die Abheilungsraten lagen jedoch niedriger als bei der Kryotherapie (52% bis 89% bei der PDT versus 68% bis 88% bei der Kryotherapie) (Krawtchenko 2007).

5-Fluorouracil (5-FU) 5% und 0,5%

5-FU ist ein Analogon der Nukleinbase Uracil, die für die Synthese der RNA benötigt wird. Durch seine Strukturähnlichkeit mit den Pyrimidinbasen Thymin, Cytosin und Uracil wird es statt dieser bei der Synthese der DNA und der RNA eingebaut und verhindert danach deren reguläre Funktion.

Ferner stört 5-FU über die Hemmung der Thymidylsynthetase die Synthese der Pyrimidinnukleotide und dadurch die reguläre DNA- und RNA-Synthese.

5-FU wird in verschiedenen Konzentrationen angewendet. Die Konzentration des Wirkstoffes für die topische Anwendung liegt in Deutschland bei 5%. In anderen Ländern, z. B. in den USA, ist ein Medikament mit einer Konzentration von 0,5% 5-FU erhältlich. Etabliert ist bei aktinischen Keratosen in Deutschland eine Behandlung mit 5%iger 5-FU-Salbe zweimal täglich über zwei bis vier Wochen. Es kommt unter der Therapie üblicherweise zu deutlichen Erosionen. Die dafür verantwortliche Entzündungsreaktion ist aber für die Abheilung der Läsionen vermutlich notwendig oder wirkt zumindest unterstützend (Robins 2002, Jury 2005). Allerdings können schwere Entzündungen therapielimitierend sein. Bis zur vollständigen Abheilung sind Schmerzen, Juckreiz, Rötungen, Ödeme und Ulzerationen durchaus übliche Nebenwirkungen. Einer Abheilungsrate nach Maßgabe der klinischen Bewertung von 96% und der histologischen Beurteilung von 67% steht in einer Studie eine hohe Rezidivrate von 18,8% gegenüber (Krawtchenko 2007). Allerdings handelt es sich um eine kleine Studie mit nur wenigen Patienten.

1.4.3 Weitere Therapieoptionen

Im Bereich der topischen medikamentösen Therapie bestehen mögliche neue Therapieoptionen in der Anwendung von Imiquimod 3,75%, Resiquimod (einem neueren topischen Immunmodulator), topischen selektiven COX-2-Hemmern und Ingenol Mebutat (Stockfleth 2011).

Weitere Therapieoptionen sind die Lasertherapie, die Dermabrasio, das chemische Peeling oder die Behandlung mit topischen oder systemischen Retinoiden. Diese Methoden haben aber nur eine untergeordnete Rolle und sind speziellen Indikationsstellungen vorbehalten. Daher werden sie an dieser Stelle nicht näher erläutert.

1.5 Hintergrund und Ziel der Arbeit

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Daten wurden im Rahmen einer pharmakologischen Studie der Phase III für das Studienzentrum 1 erhoben. Die Studie untersucht die Wirkung des bekannten Wirkstoffes 5-FU in einer Konzentration von 0,5% in der Behandlung aktinischer Keratosen. Zusätzlich enthält das Medikament den Wirkstoff Salicylsäure in einer Konzentration von 10%. Die Wirksamkeit der Konzentration von 0,5% 5-FU ist bei deutlich besserer Verträglichkeit gegenüber der 5%igen Salbe zur Behandlung der AKs ausreichend (Levy 2001). Einen zusätzlichen Effekt hat möglicherweise die Salicylsäure durch ihre keratolytische Wirkung. So könnte zunächst die Verhornung der aktinischen Keratosen gelöst werden, wodurch die Wirkung der geringeren Konzentration von 5-FU zur Eradikation der Läsionen ausreichte. Die teilweise schweren lokalen Nebenwirkungen des 5%igen Wirkstoffes könnten somit reduziert und die Therapie würde von den Patienten besser toleriert werden.

Bereits 1975 wurden in einer exploratorischen Studie 20 Patienten mit aktinischen Keratosen mit einer Lösung, die 5% 5-FU und zwischen 5% und 10% Salicylsäure enthielt, behandelt (Goncalves 1975). Nach höchstens fünf Behandlungen war bei allen Patienten klinisch eine komplette Abheilung erreicht. Das Ziel war es, die Nebenwirkungen der Therapie mit 5% 5-FU-Lösung zu reduzieren. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie wurde die oben beschriebene zehnfach höhere Konzentration an 5-FU verwendet.

In einer im Jahr 2007 an der Universitätsklinik Leipzig durchgeführten Proof-of-Concept-Studie mit 15 Patienten wurde eine hohe Effizienz der Wirkstoffkombination von 5-FU und Salicylsäure bei guter Verträglichkeit festgestellt (Schlaak 2010). Anhand einer großen Studienpopulation sollte systematisch die Wirksamkeit, die Nebenwirkungen und die Akzeptanz der Therapie bei den Patienten untersucht werden, um gegebenenfalls ein neues Therapeutikum zur Behandlung von AKs zu entwickeln (Stockfleth 2011).

In dieser Arbeit werden im speziellen die Ergebnisse der Patienten des Studienzentrums 1 der genannten Studie vorgestellt. In Ergänzung zur Gesamtstudie werden diese Daten den Gesamtdaten gegenübergestellt und mit den Gesamtergebnissen verglichen. Die Besonderheit des Studienzentrums 1 liegt darin,

dass stellvertretend für alle Studienzentren zusätzliche Sicherheitsuntersuchungen durchgeführt wurden. Der Anlass für die pharmakokinetischen Untersuchungen war das bekannte Nebenwirkungsprofil von 5-FU bei Patienten mit Dihydropyrimidin-Dehydrogenase- (DPD)-Mangel. Es treten bei diesen Patienten teilweise schwere Nebenwirkungen wie Diarrhoe, Stomatitis, Mukositis, Neurotoxizität und Veränderungen des Knochenmarks mit ausgeprägter Neutropenie auf (Johnson 1999, van Kuilenburg 2002). Es sind Fälle mit letalem Ausgang beschrieben (van Kuilenburg 2001, van Kuilenburg 2012). Auch bei topischer Applikation von 5% 5-FU traten lebensbedrohliche Komplikationen bei Patienten mit DPD-Mangel auf (Johnson 1999). DPD ist das Schlüsselenzym des Abbaus von 5-FU. Bei einem Mangel oder einem vollständigen Fehlen des Enzyms besteht die Gefahr einer erhöhten Toxizität durch die verzögerte Metabolisierung von 5-FU (van Kuilenburg 2012). Es sollte daher untersucht werden, ob bei teilweise großflächiger topischer Applikation der Prüfsubstanz 5-FU systemisch nachgewiesen werden kann.

Die Daten der Gesamtstudie sind dem Abschlussbericht der Studie entnommen (Integrated Report 2009, siehe Kap. 6.2).

2. Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit beschreibt und bewertet die Daten des Studienzentrums 1 einer randomisierten, doppelt verblindeten, dreiarmligen, parallelen, multizentrischen Studie der pharmakologischen Wirkstoffentwicklung der Phase III.

In 38 Zentren wurden deutschlandweit 470 Patienten in die Studie eingeschlossen, die an aktinischen Keratosen der Grade I oder II nach Olsen erkrankt waren (Olsen 1991). Jedes Studienzentrum durfte höchstens 30 Patienten in die Studie einschließen. In dieser Arbeit werden die von der Verfasserin unter Anleitung des koordinierenden Prüfers Prof. Dr. E. Stockfleth im Studienzentrum 1 erhobenen Daten mit den Gesamtstudienenergebnissen vergleichend beschrieben und diskutiert.

Die Patienten erhielten im Rahmen der Studie im Verhältnis 2:2:1 entweder das Verum (0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure), die Vergleichssubstanz (3% Diclofenac mit 2,5% Hyaluronsäure) oder ein Placebo. Diclofenac mit Hyaluronsäure wurde als Vergleichssubstanz ausgewählt, da es ein Standardtherapeutikum in der Behandlung aktinischer Keratosen ist, dessen Wirksamkeit in zahlreichen Studien belegt wurde. Der Behandlungszeitraum betrug maximal zwölf Wochen oder weniger, wenn die Läsionen vorher klinisch komplett abgeheilt waren. Während der Behandlungsdauer erschienen die Probanden zu regelmäßigen Visiten in ihren Studienzentren. An den Tagen 14, 28, 42, 70 und 84 nach Beginn der Behandlung fanden wiederholte Untersuchungen und Kontrollen statt. An Tag 84 war die Therapie beendet (end of treatment = EOT). Nach weiteren acht Wochen (Tag 140) wurden die Patienten noch einmal untersucht, um den Nachbehandlungszeitraum zu erfassen und die Ergebnisse abschließend zu evaluieren.

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden die Patienten während der Studie bei den Visiten betreut. Zusätzlich wurden bei der Screeningvisite und bei den Visiten an Tag 14 und 84 Blutentnahmen zur Routinelabordiagnostik und für die Pharmakokinetik durchgeführt und die Proben für die durch ein externes Labor durchgeführte pharmakokinetische Analytik vorbereitet.

Der Ablauf der Studie entsprach dem Studienprotokoll (Integrated Report 2009).

2.1 Ethikkommission

Die Studie wurde am 23. Mai 2008 unter der Studiennummer H 1005 6002 – 0702 und der EudraCT Nummer 2007-003889-18 von der für das Studienzentrum 1 zuständigen führenden Ethikkommission und am 08. Mai 2008 vom Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) zur Durchführung genehmigt. Alle Änderungen und Neufassungen wurden bei den Ethikkommissionen und der Behörde eingereicht und genehmigt.

Die Durchführung der Studie erfolgte gemäß Studienprotokoll und nach den Richtlinien der International Conference on Harmonization (ICH), Good Clinical Practice (GCP), der Deklaration von Helsinki in der Fassung von Oktober 1996, dem deutschen Arzneimittelgesetz (AMG) und den Standard Operating Procedures (SOPs) der FOCUS Clinical Drug Development GmbH, die die Studie im Auftrag des Sponsors Almirall Hermal GmbH, Scholtzstraße 3, 21465 Reinbek, Deutschland, koordiniert hat.

2.2 Einschlusskriterien

Das Alter der Patienten musste zwischen einschließlich 18 und 85 Jahren liegen. Ferner mussten sie mindestens vier und nicht mehr als zehn klinisch diagnostizierbare aktinische Keratosen der Grade I oder II nach Olsen (Olsen 1991) im Behandlungsareal auf der Stirn bzw. im Gesicht oder auf der unbehaarten Kopfhaut aufweisen. Die einzelnen Läsionen durften nicht kleiner als 0,5 cm und nicht größer als 1,5 cm im Durchmesser bzw. in der längsten Diagonalen sein. Ein Abstand von einem Zentimeter zwischen den einzelnen Läsionen musste gegeben sein. Die Gesamtgröße des behandelten Areals, also die Summe der einzelnen Läsionen durfte 25 cm² nicht überschreiten. In der Summe war ein Saum von 0,5 cm um jede Läsion enthalten.

2.3 Ausschlusskriterien

Patienten wurden von der Studie ausgeschlossen, wenn ihr Gesundheitszustand wegen akuter oder chronischer Erkrankungen als instabil oder kritisch anzusehen war. Dazu zählten unter anderem fortgeschrittene Tumorerkrankungen, kardiovaskuläre Erkrankungen (NYHA Stadium III und IV), Erkrankungen, die die Immunkompetenz des

Patienten einschränkten sowie hämatologische, hepatische, renale, endokrinologische oder neurologische Erkrankungen. Ferner durften sie sich innerhalb des Behandlungsareals in den vorangegangenen drei Monaten nicht einer Behandlung von aktinischen Keratosen unterzogen haben. Ausgeschlossen wurden auch Patienten unter immunsuppressiver Therapie oder solche mit einer bekannten Überempfindlichkeit oder Allergie gegen die aktiven Substanzen oder andere Inhaltsstoffe der Studienmedikation. Die Einnahme von Inhibitoren der Dihydropyrimidin-Dehydrogenase (DPD), z. B. Brivudin oder Sorivudin oder ein bekannter DPD-Mangel waren strenge Ausschlusskriterien für Patienten, da bei diesen Patienten lebensbedrohliche Komplikationen auftreten können (Johnson 1999, van Kuilenburg 2001, van Kuilenburg 2002). Maligne und benigne Tumoren der Haut (z. B. ein malignes Melanom, Basalzellkarzinom oder ein Plattenepithelkarzinom) innerhalb des Behandlungsfeldes führten zum Ausschluss aus der Studie. Ebenso wenig konnten Patienten mit Hauterkrankungen innerhalb des Testareals zugelassen werden, wenn eine Verschlechterung des Hautzustandes unter der Therapie mit den Studienmedikamenten zu erwarten war oder wenn die eindeutige Beurteilung der Läsionen durch die Effloreszenzen der Erkrankung nicht gegeben war (z. B. Psoriasis, Ekzeme, Dermatitis exfoliativa). Nicht zugelassen waren auch Patienten, die in den sechs Wochen vor Beginn der Studie mit topischen Retinoiden, Immunmodulatoren, Diclofenac oder 5-FU behandelt wurden bzw. bei denen eine chirurgische Exzision, Kryotherapie, PDT oder therapeutische UV-Bestrahlung vorgenommen wurde. Für den Zeitraum von vier Wochen vor Studienbeginn zählten die topische Behandlung mit Steroiden und eine Kürettage zu den Ausschlusskriterien. Systemisch appliziertes Interferon, Diclofenac, 5-FU oder Kortikosteroide waren sechs Wochen vor Studienbeginn, inhalative Kortikosteroide vier Wochen vorher nicht erlaubt. Medikamente in der klinischen Erprobung und solche, bei denen eine schwerwiegende Organtoxizität bekannt ist, mussten acht Wochen vor Beginn abgesetzt werden. Immunmodulatoren und immunsuppressive Therapien durften nicht weniger als zwölf Wochen zurückliegen, cytotoxische Therapien nicht weniger als sechs Monate.

Die Patienten konnten zu jedem Zeitpunkt der Studie ihr Einverständnis zur Teilnahme zurückziehen. In solchen Fällen sollte versucht werden, dennoch die Abschlußuntersuchung durchzuführen, sofern die Patienten schon das Studienmedikament verwendet hatten.

Objektive Kriterien zum Abbruch der Studie durch einen Probanden waren schwere behandlungsbedürftige Hautirritationen im Behandlungsfeld, Blasen und Erosionen an mehreren Stellen des Testareals sowie lokale oder generalisierte allergische Reaktionen auf die Testmedikamente. Fehlende Compliance des Patienten führte ebenso zum Ausschluss von der Studie wie der Hinweis auf die Verwendung während der Studie nicht erlaubter Medikamente.

2.4 Studienmedikation und Therapie

Für die Studie wurde eine Lösung mit 0,5% 5-FU und 10% Salicylsäure verwendet, als Placebo die Trägersubstanz der Studienmedikation und ein Gel mit 3% Diclofenac mit 2,5% Hyaluronsäure.

Das Verum und das Placebo wurden einmal täglich für maximal zwölf Wochen auf die zu behandelnden Behandlungsareale aufgetragen, Diclofenac mit Hyaluronsäure zweimal täglich für maximal zwölf Wochen. Wenn schwere Nebenwirkungen auftraten, konnte die Dosierung der Studienmedikamente nach Absprache mit den Prüfarzten reduziert werden. Bei 5-FU/Salicylsäure und der Placebolösung war eine Reduktion auf dreimalige Applikation pro Woche und bei Diclofenac mit Hyaluronsäure auf eine einmalige Anwendung pro Tag vorgesehen. Die empfohlene Behandlungszeit für das Vergleichsmedikament Diclofenac liegt der Entscheidung für eine Höchstdauer der Behandlung von zwölf Wochen zugrunde (Summary of product characteristics (SMPC) vom Dezember 2006). Die Gewährleistung der Verblindung erforderte die gleiche Therapiedauer für alle drei Studiengruppen.

Um einer möglichen Beeinflussung des Studienpersonals durch die verschiedenen Formulierungen der Medikamente und die unterschiedliche Auftragungshäufigkeit entgegenzuwirken, durften die Untersucher nicht mit den Personen identisch sein, die die Studienmedikamente an die Patienten aushändigten und bei den Visiten auftrugen.

2.5 Ablauf der Studie

Der Ablauf der Studie ist in der folgenden Tabelle schematisch dargestellt und erfolgte gemäß dem Studienprotokoll.

Tabelle 1: Studiendesign

	Tage								Monate	
							EOT	PT	FU	FU
Studientag	Screening	1	14	28	42	70	84	140	6	12
Behandlungswoche		0	2	4	6	10	12			
Visite	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

EOT = End Of Treatment, **PT** = Post Treatment, **FU** = Follow Up

Die Screeningvisite umfasste die Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien und die Erhebung demografischer und medizinischer Daten. Ferner unterzeichnete jeder Patient nach eingehender Information die schriftliche Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie. Neben einer allgemeinen körperlichen Untersuchung erfolgten eine Blutentnahme und die Abgabe einer Urinprobe (nur für das Studienzentrum 1) und die Biopsie einer repräsentativen AK, die zur histologischen Befundung an ein unabhängiges Labor gesendet wurde. Eine Schablone des Testareals auf dem unbehaarten Kapillitium oder im Gesicht bzw. auf der Stirn wurde angefertigt, um die Läsionen bei den folgenden Visiten überprüfen zu können. Zur Dokumentation wurde ein Foto einer festgelegten AK angefertigt.

Nach der histologischen Bestätigung der klinischen Verdachtsdiagnose AK und erneuter Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien wurden die Patienten in der zweiten Visite durch Randomisierung einem der drei Studienarme 5-FU/Salicylsäure, Diclofenac mit Hyaluronsäure oder Placebo zugeteilt. Die Studienmedikation wurde bei der zweiten Visite durch das Studienpersonal appliziert. Später wurde die Studienmedikation durch die Patienten selbst appliziert. Während der folgenden zwölf Wochen der Behandlung erschienen die Patienten zu weiteren Visiten an den Tagen 14, 28, 42 und 70 nach Beginn der Therapie. Neben der Überprüfung der Komedikation und der Erfassung von

unerwünschten Reaktionen und Nebenwirkungen wurde das Behandlungsareal untersucht. Die Anzahl und Größe der AKs wurden ebenso wie die Veränderungen und Reaktionen auf die Medikation dokumentiert. An Tag 14 wurde zusätzlich eine Blutprobe entnommen. An Tag 42 wurden zusätzlich die Einschätzung des Prüfarztes bezüglich des Hautzustandes des Probanden und der Verträglichkeit des Medikaments sowie eine subjektive Bewertung durch den Studienteilnehmer erhoben. Nach Beendigung der Behandlung zwölf Wochen nach Studienbeginn oder früher, wenn die Läsionen bereits komplett abgeheilt waren oder wenn der Patient die Studie vorzeitig beenden wollte oder musste, wurden neben den oben beschriebenen Prozeduren eine allgemeine körperliche Untersuchung und eine Überprüfung der Vitalparameter durchgeführt.

Acht Wochen nach Beendigung der Therapie wurden alle untersuchten Parameter erneut überprüft und dokumentiert. Des Weiteren wurde die zweite Biopsie einer bei der Screeningsvisite festgelegten AK vorgenommen, um die klinische Beurteilung einer Abheilung histologisch zu bestätigen.

2.6 Laboruntersuchungen

Die Routinelaboruntersuchungen bestehend aus hämatologischer Diagnostik, Serumchemie und Urinanalyse wurden als zusätzliche Sicherheitsuntersuchungen stellvertretend für alle Zentren ausschließlich im Studienzentrum 1 durchgeführt. Die Analytik erfolgte in dem Zentralinstitut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie (ZLP, Charité Campus Mitte, Charitéplatz 1, 10117 Berlin).

2.6.1 Blutuntersuchungen

Bei den Patienten des Studienzentrums 1 erfolgte bei der Screeningvisite und bei der Nachuntersuchungsvisite eine Blutentnahme für eine Routinelaboruntersuchung. Es wurden 2 ml EDTA-Blut und 5 ml Serum benötigt.

Hämatologie: Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten, Leukozyten mit Differentialblutbild, Thrombozyten

Serumchemie: Aspartataminotransferase (AST), Alaninaminotransferase (ALT), Gamma-Glutamyltranspeptidase (γ -GT), Laktatdehydrogenase (LDH), alkalische Phosphatase (AP), Gesamtprotein, Albumin, Glukose, Gesamtbilirubin, Kreatinin, Harnstoff, Kalium, Natrium, Calcium, Chlorid, Phosphat

2.6.2 Urin

30 ml Urin wurden für eine Routineuntersuchung mittels eines Urinsticks benötigt. Der Urin wurde auf folgende Parameter untersucht: Bilirubin, Erythrozyten, Glukose, Leukozyten, Nitrit, pH-Wert, Protein, Urobilinogen.

2.6.3 Histologie

Bei der Screeningvisite und bei der Visite acht Wochen nach Beendigung der Behandlung wurden jeweils 3 mm Stanzbiopsien von repräsentativen aktinischen Keratosen entnommen, die bei der Screeningvisite festgelegt und auf der Schablone markiert wurden. Sie wurden zur histologischen Beurteilung an das folgende unabhängige Labor gesendet: Prof. Dr. Helmut Kerl, Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie, Auenbruggerplatz 8, 8036 Graz, Österreich.

2.6.4 Pharmakokinetik

Um Informationen über die systemische Exposition mit 5-FU und Salicylsäure sowie gegebenenfalls pharmakokinetische Daten zu erhalten, wurden ausschließlich im Studienzentrum 1 den Patienten zusätzlich bei drei Visiten jeweils 10 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen entnommen. Die erste Blutentnahme erfolgte im Rahmen des Screenings als Baseline-Probe. Die beiden anderen Proben wurden bei fortgeschrittener Behandlung (steady state) an Tag 14 und am Ende der Behandlung an Tag 84 abgenommen. Dabei wurde die Uhrzeit der Entnahmen genau dokumentiert.

Das EDTA-Blut wurde bei 1500 g bis 1800 g für 10 min bis 15 min zentrifugiert, um Plasma zu gewinnen. Der Überstand wurde auf zwei 2 ml fassende Kryogefäße durch Pipettieren verteilt und bei -18°C gelagert. Sämtliche Plasmaproben wurden im Medizinischen Versorgungszentrum Dr. med. Eberhard & Partner GbR, Laboratoriumsmedizin Dortmund, Brauhausstraße 4, 44137 Dortmund analysiert. Die Proben wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Massenspektrometrie (HPLC-MS) auf die Konzentrationen von 5-FU und Salicylsäure untersucht. Die unteren Nachweisgrenzen der analytischen Methoden betragen 0,05 µg/ml für 5-FU und 1,0 µg/ml für Salicylsäure.

2.8 Klinische Endpunkte

2.8.1 Primärer Endpunkt

Die Studie sollte die Überlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber einem Placebo und die Nicht-Unterlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber der Vergleichssubstanz Diclofenac mit Hyaluronsäure beweisen.

Ausschlaggebend für die Beurteilung war die vollständige Abheilung einer in der Screeninguntersuchung bestimmten Läsion aus dem Behandlungsareal anhand der histologischen Bewertung acht Wochen nach Beendigung der Behandlung.

2.8.2 Sekundäre Endpunkte

Ein weiteres Ziel der Studie war, die Überlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber dem Komparator zu beweisen. Auch hier erfolgte die Bewertung anhand der histologisch befundeten Ausheilung der vorher bestimmten Läsion.

Wirksamkeit

Um die Wirksamkeit von 5-FU mit Salicylsäure zu beweisen, wurde die Entwicklung der Läsionen bei jeder Visite dokumentiert. Diese errechnete sich aus der Gesamtgröße der Läsionen und wurde folgendermaßen bewertet:

-1	PD	Fortschreitende Erkrankung, mehr als 20% Zunahme (progressive disease)
0	NC/SD	Keine Veränderung (no change/stable disease)
1	PR	Teilweise Abheilung, mehr als 30% Verringerung (partial response)
2	CR	Komplette Abheilung (complete response)

Außerdem wurde die Gesamtzahl aller Läsionen bei jeder Visite festgehalten.

Gesamtbewertung durch den Prüfarzt

Ein weiterer Zielparameter war die Gesamtbeurteilung der Therapie durch den Prüfarzt. Zum einen wurde die Entwicklung der Läsionen unter der Therapie bewertet, zum anderen die Verträglichkeit des Medikamentes beschrieben. Folgende Bewertungskriterien standen zur Verfügung:

- sehr gut
- gut
- moderat
- minimal
- keine Verbesserung (Fortschreiten der Erkrankung bzw. starke Einschränkungen des Patienten)

Bewertung durch den Patienten

Als zusätzlicher Parameter der Effizienz wurde die Bewertung der Wirksamkeit durch die Studienteilnehmer dokumentiert. Die Beurteilung erfolgte nach diesen Kriterien:

- sehr gut
- gut
- minimal
- keine Verbesserung
- Verschlechterung

Die Verträglichkeit wurde nach folgenden Nebenwirkungen bewertet:

- Entzündung
- Brennen
- Juckreiz
- Schmerzen

Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events)

Zur Beurteilung der Sicherheit wurden unerwünschte Ereignisse („adverse events“, AEs) bei jeder Visite dokumentiert. Außerdem wurden Veränderungen im Erscheinungsbild der Haut, Veränderungen von Laborwerten und Veränderungen der Vitalparameter bei der körperlichen Untersuchung festgehalten.

3. Ergebnisse

Im folgenden Teil werden die Daten der Patienten des Studienzentrums 1 dargestellt und mit denen der Gesamtstudie verglichen. Die Ergebnisse der Gesamtstudie sind dem Abschlussbericht der Studie entnommen (Integrated report 2009, siehe Kap. 6.2).

3.1 Demografische Daten

Für die Studie wurden 30 Patienten mit aktinischen Keratosen im Studienzentrum 1 randomisiert und mit einer Studienmedikation behandelt. Mit Ausnahme eines Patienten beendeten alle Studienteilnehmer die Studie (96,7%). Insgesamt beendeten 435 Patienten (92,5%) die Studie. Der Grund für die vorzeitige Beendigung der Therapie waren überwiegend unerwünschte Ereignisse (AEs).

Geringfügige Abweichungen vom Studienprotokoll, die vor allem Abweichungen von den Zeitplänen der Visiten waren, wurden dokumentiert, aber als nicht relevant für die Bewertung der Studienergebnisse angesehen.

Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 71,2 Jahren. Das Alter der Patienten lag zwischen 55 und 81 Jahren. Die Durchschnittsgröße lag bei 174,2 cm, das Durchschnittsgewicht bei 78,6 kg. Die Unterschiede dieser Parameter zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen waren nur geringfügig und ohne Relevanz für das Studienergebnis. Die Daten für das Studienzentrum 1 wichen nicht wesentlich von denen der Gesamtstudie ab (Tabelle 2). Die einzige Ausnahme war, dass im Studienzentrum 1 nur eine Frau (3,3%) an der Studie teilnahm, während in der Gesamtstudie die Zahl der Frauen mit 72 (15,3%) deutlich höher lag.

Keiner der Patienten des Studienzentrums 1 war Raucher. 17 Patienten hatten in der Vergangenheit geraucht, während 13 Patienten nie geraucht hatten. In der gesamten Studienpopulation lag der Anteil der Raucher bei 4,9%. Alle anderen Patienten hatten entweder nie geraucht oder in der Vergangenheit aufgehört zu rauchen. Zwei Patienten berichteten über Alkoholkonsum in der Vergangenheit, einer hatte nie Alkohol getrunken und bei 27 Studienteilnehmern lag zum Zeitpunkt der Studie regelmäßiger Alkoholkonsum vor (90%). In der Gesamtstudie lag der Anteil der Patienten, die regelmäßigen Alkoholkonsum angaben, mit 40% deutlich niedriger.

Tabelle 2: Nach Therapie aufgeschlüsselte Studiengruppen

		Behandlungsgruppe					
		Placebo n (%)		Diclofenac mit Hyaluronsäure n (%)		5-FU/Salicylsäure n (%)	
		Zentrum 1	Gesamtstudie	Zentrum 1	Gesamtstudie	Zentrum 1	Gesamtstudie
Zahl randomisierter Patienten		6	98	12	185	12	187
Zahl behandelter Patienten		6 (100%)	98 (100%)	12 (100%)	185 (100%)	12 (100%)	187 (100%)
Zahl der Studienabschlüsse		6 (100%)	93 (94,9%)	11 (91,7%)	169 (91,4%)	12 (100%)	173 (92,5%)
Zahl der Studienabbrüche		0 (0%)	5 (5,1%)	1 (8,3%)	16 (8,6%)	0 (0%)	14 (7,5%)
Gründe für Studienabbruch							
Unerwünschte Ereignisse		0	3 (3,1%)	1 (8,3%)	10 (5,4%)	0	7 (3,7%)
Unverträglichkeit		0	0	0	2 (1,1%)	0	1 (0,5%)
Keine Nachverfolgung		0	0	0	0	0	1 (0,5%)
Andere Ursachen		0	2 (2,0%)	0	4 (2,2%)	0	5 (2,7%)
Alter	Durchschnitt (SA)	67,3 (7,9)	72,3 (6,0)	71,3 (3,66)	71,6 (6,6)	75,0 (6,7)	71,8 (6,8)
	Bereich	52 - 74	59 - 85	66 - 78	46 - 86	55 - 81	45 - 94
	< 65 Jahre	1 (16,7%)	8 (8,3%)	0	24 (13,1%)	1 (8,3%)	19 (10,7%)
	≥ 65 Jahre	5 (83,3%)	88 (91,7%)	12 (100%)	159 (86,9%)	11 (91,7%)	158 (89,3%)
Größe (cm)	Durchschnitt (SA)	174,5 (4,2)	172,2 (8,1)	173,2 (6,5)	172,8 (7,6)	174,8 (7,0)	173,3 (7,5)
	Bereich	168 - 180	150 - 192	160 - 184	149 - 189	167 - 193	152 - 197
Gewicht (kg)	Durchschnitt (SA)	82,3 (5,6)	80,9 (13,4)	78,1 (9,7)	80,4 (12,1)	75,5 (10,6)	81,5 (12,3)
	Bereich	74 - 89	55 - 130	60 - 94	44 - 120	56 - 90	53 - 129
Geschl.	männlich n (%)	6 (100%)	81 (84,4%)	12 (100%)	155 (84,7%)	11 (91,7%)	152 (85,9%)
	weiblich n (%)	0 (0%)	15 (15,6%)	0 (0%)	28 (15,3%)	1 (8,3%)	25 (14,1%)

Die Tabelle und die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Alle Patienten waren weißhäutig. Die meisten Patienten fielen in die Kategorien des Hauttyps II und III nach Fitzpatrick (Fitzpatrick 1988).

Für das Studienzentrum 1 wurden bei der körperlichen Untersuchung und bei den Laborwerten bei keinem Patienten klinisch relevante Auffälligkeiten festgestellt. Die schon vor Studienbeginn eingenommenen Medikamente waren alle mit dem Studienprotokoll vereinbar und wurden auch weiterhin eingenommen.

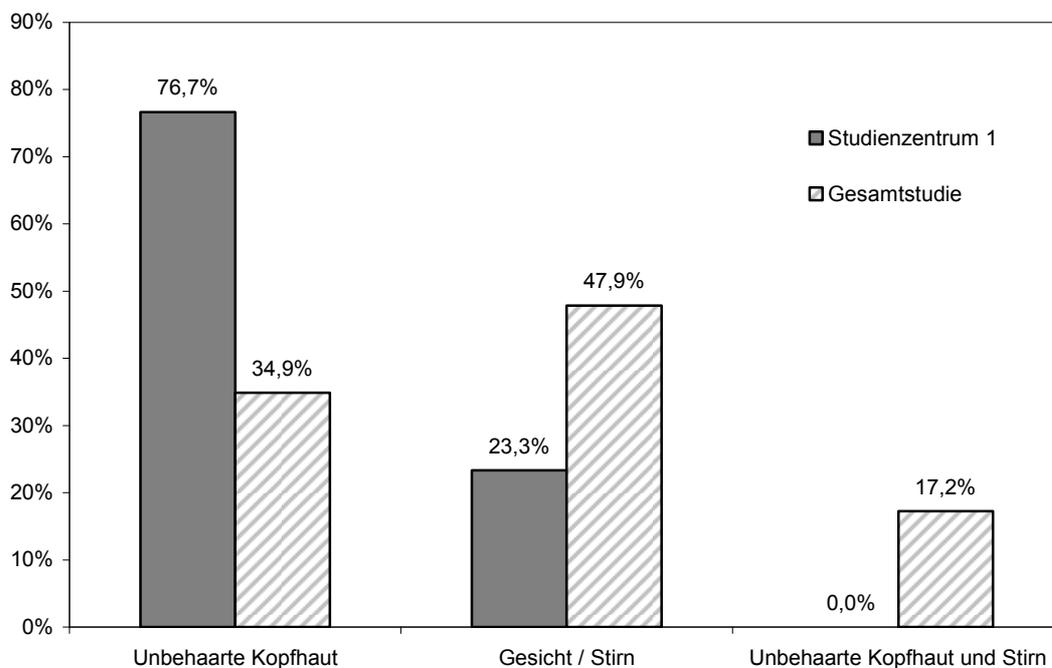
Bei allen 470 Patienten der Gesamtstudie lag der Anteil der festgestellten Auffälligkeiten der klinischen Untersuchung bei 19,8%. Es wurden vor allem dermatologische Erkrankungen diagnostiziert.

3.2 Ergebnisse der Effizienzbewertung

3.2.1 Basisdaten der aktinischen Keratosen

23 Patienten (76,7%) des Studienzentrums 1 hatten aktinische Keratosen auf der unbehaarten Kopfhaut. 7 Patienten (23,3%) wurden im Gesicht bzw. auf der Stirn behandelt. Insgesamt hatten 164 Studienteilnehmer (34,9%) AKs auf der unbehaarten Kopfhaut, 225 (47,9%) im Gesicht bzw. auf der Stirn und 81 (17,2%) wiesen in beiden Behandlungsarealen Läsionen auf.

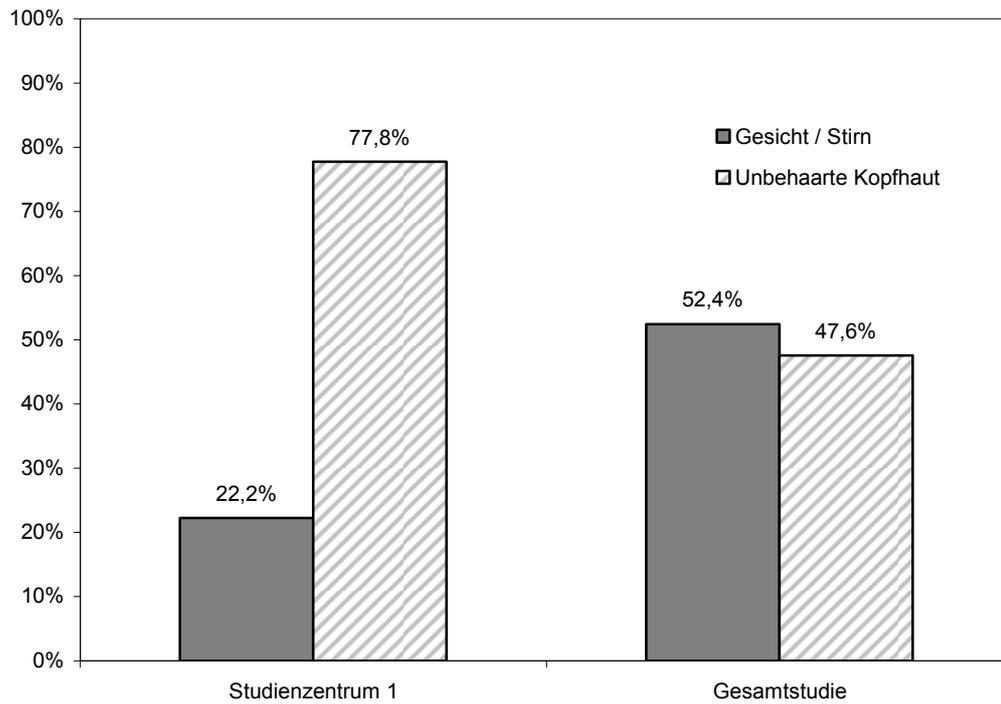
Abbildung 3: Anteil der Patienten mit Läsionen nach Lokalisation



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

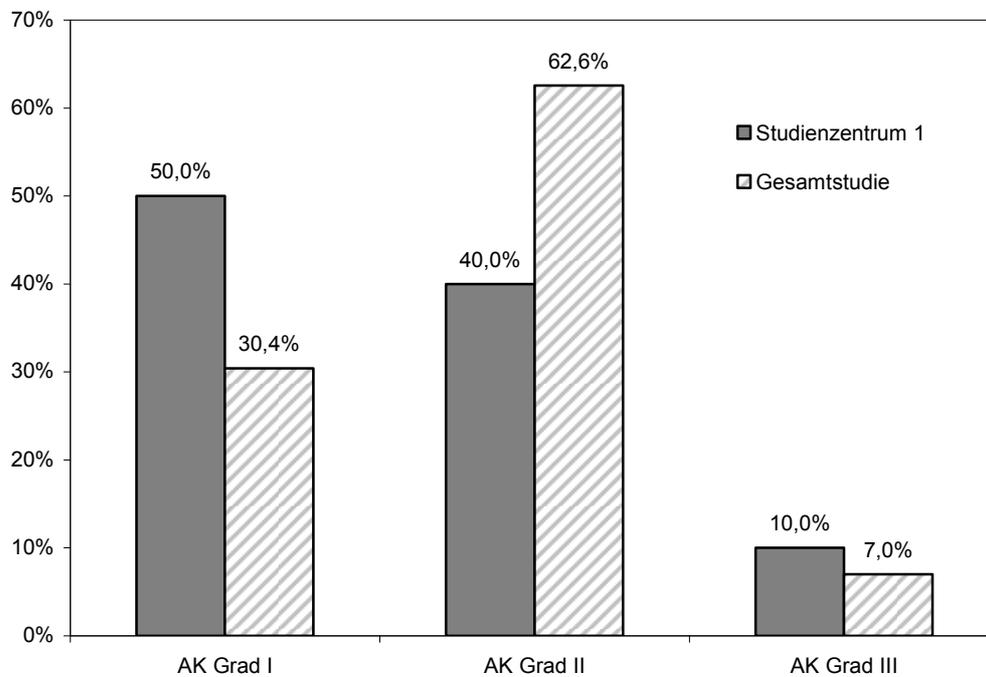
Im Studienzentrum 1 wurden 229 aktinische Keratosen behandelt. Davon waren 178 (77,7%) auf der unbehaarten Kopfhaut und 51 (22,3%) im Gesicht bzw. auf der Stirn. In der gesamten Studie wurden 2736 AKs behandelt. Davon waren 1435 (52,4%) im Gesicht bzw. auf der Stirn und 1301 (47,6%) auf der unbehaarten Kopfhaut.

Abbildung 4: Gesamtanzahl der Läsionen in % nach Lokalisation



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Abbildung 5: Histologische Bewertung der Biopsien des Screenings



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Die histologischen Befunde der im Rahmen des Screenings durchgeführten Biopsie ergaben bei 15 Patienten (50%) AKs des Grades I (nach Röwert-Huber 2007b), bei 12 Patienten (40%) AKs des Grades II und bei 3 Patienten (10%) AKs des Grades III. Die zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen festgestellten Unterschiede waren lediglich gering und ohne klinische Relevanz.

Tabelle 3: AK-Status zu Beginn der Behandlung

	Behandlungsgruppe						Summe		
	Placebo		Diclofenac mit Hyaluronsäure		5-FU/Salicylsäure				
	Zentrum 1	Gesamtst.	Zentrum 1	Gesamtst.	Zentrum 1	Gesamtst.	Zentrum 1	Gesamtst.	
Klinische Bewertung									
Patienten m. Läsionen n (%)									
Unbehaarte Kopfhaut		4 (13,3%)	33 (33,7%)	10 (33,3%)	66 (35,7%)	9 (30%)	65 (34,8%)	23 (76,7%)	164 (34,9%)
Gesicht/Stirn		2 (6,7%)	47 (48,0%)	2 (6,7%)	86 (46,5%)	3 (10%)	92 (49,2%)	7 (23,3%)	225 (47,9%)
Unbehaarte Kopfhaut u. Stirn		0	18 (18,4%)	0	33 (17,8%)	0	30 (16,0%)	0	81 (17,2%)
Zahl der Läsionen n (%)		44	551	94	1095	87	1091	225	2736
Gesicht und Stirn	AK I*	11 (25%)	127 (23,0%)	13 (13,8%)	237 (21,6%)	19 (21,8%)	266 (24,4%)	43 (19,1%)	630 (23,0%)
	AK II*	4 (9,1%)	164 (29,8%)	1 (1,1%)	326 (29,8%)	2 (2,3%)	315 (28,9%)	7 (3,1%)	805 (29,4%)
Unbehaarte Kopfhaut	AK I*	20 (45,5%)	102 (18,5%)	44 (46,8%)	166 (15,2%)	38 (43,7%)	185 (17,0%)	102 (45,3%)	453 (16,6%)
	AK II*	9 (20,5%)	158 (28,7%)	36 (38,3%)	365 (33,3%)	28 (32,2%)	325 (29,8%)	73 (32,4%)	848 (31,0%)
Zahl der Läsionen pro Patient, Mittel (SA)		7	5,6 (1,5)	7,83	5,9 (1,7)	7,25	5,8 (1,6)	7,6	5,8 (1,6)
Gesamtfläche der Läsionen [mm ²] pro Patient, Mittel (SA)		344	341,4 (132,9)	341	345,7 (118,7)	334	355,9 (128,9)	338,4	347,7 (125,7)
Histologische Bewertung									
Biopsie Befund n (%)**									
AK I		4 (66,7%)	29 (29,6%)	5 (41,7%)	54 (29,2%)	6 (50,0%)	60 (32,1%)	15 (50%)	143 (30,4%)
AK II		2 (33,3%)	64 (65,3%)	5 (41,7%)	118 (63,8%)	5 (41,7%)	112 (59,9%)	12 (40%)	294 (62,6%)
AK III		0	5 (5,1%)	2 (33,3%)	13 (7,0%)	1 (8,3%)	15 (8,0%)	3 (10%)	33 (7,0%)

* nach Olsen; ** nach Röwert-Huber; (Die Tabelle und die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.)

Diesen Ergebnissen stehen in der Gesamtstudie 143 Patienten (30,4%) mit AKs des Grades I, 294 Patienten (62,6%) mit AKs des Grades II und 33 Patienten (7%) mit AKs des Grades III gegenüber.

Mit Ausnahme von zwei Studienteilnehmern waren alle Probanden des Studienzentrums 1 wegen aktinischer Keratosen vorbehandelt. 28 Patienten (93,3%) hatten eine nicht-chirurgische Therapie (z. B. topische pharmakologische Therapien, Kryotherapie, PDT oder Lasertherapie) erhalten. Acht Patienten (26,7%) waren zusätzlich mit einer Exzision der Läsionen behandelt worden. In keinem Fall war ausschließlich chirurgisch interveniert worden. Von allen Studienteilnehmern waren 316 (67,2%) nicht-chirurgisch vorbehandelt (vor allem mit Kryotherapie, PDT und topischer Applikation von Diclofenac/Hyaluronsäure-Gel). 83 Patienten (17,7%) waren chirurgisch vorbehandelt.

3.2.2 Primärer Endpunkt: Abheilungsrate - histologische Untersuchung

Der primäre Endpunkt der Studie war, die Überlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber einem Placebo und die Nicht-Unterlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber dem Komparator Diclofenac mit Hyaluronsäure zu beweisen.

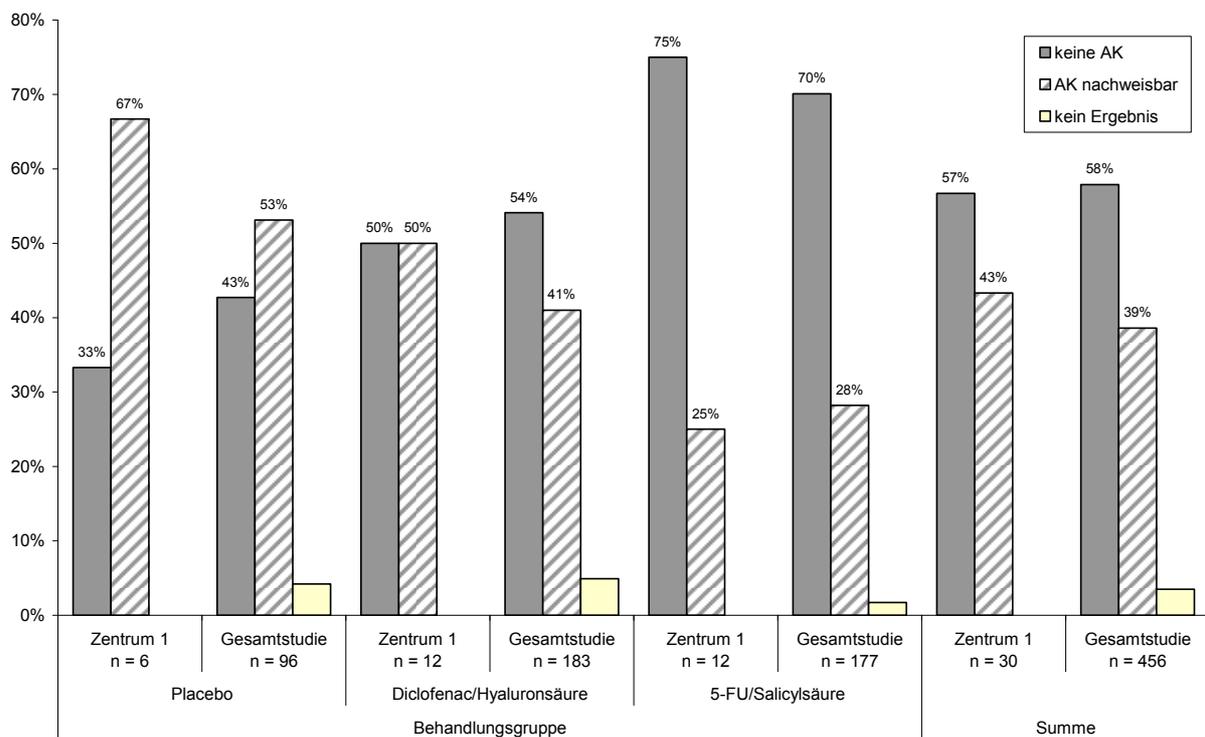
Als Vergleichsparameter, der für die Analyse festgelegt wurde, galt die vollständige Abheilung einer im Rahmen des Screenings festgelegten Läsion in der histologischen Beurteilung an Tag 140 der Studie (acht Wochen nach Beendigung der Therapie).

Im Studienzentrum 1 waren die Läsionen bei 17 Patienten (56,7%) komplett abgeheilt. Davon waren neun Patienten mit 5-FU/Salicylsäure behandelt worden (75%), sechs Patienten waren in der Diclofenac/ Hyaluronsäure-Gruppe (50%) und zwei Patienten in der Placebo-Gruppe (33,3%). In der Gesamtstudie waren bei 264 Patienten (57,9%) keine AKs mehr nachzuweisen. Eine vollständige Abheilung lag bei 124 Patienten (70,1%) der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe vor, bei 99 Patienten (54,1%) der Diclofenac/Hyaluronsäure -Gruppe und bei 41 Patienten (42,7%) der Placebo-Gruppe.

Die Abheilungsrate war in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe höher als in der Diclofenac/ Hyaluronsäure- und in der Placebo-Gruppe. Es konnte damit eine Überlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber Placebo nachgewiesen werden. Darüber hinaus

zeigte sich eine deutliche Überlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber Diclofenac mit Hyaluronsäure.

Abbildung 6: Histologische Bewertung der zweiten Biopsie



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

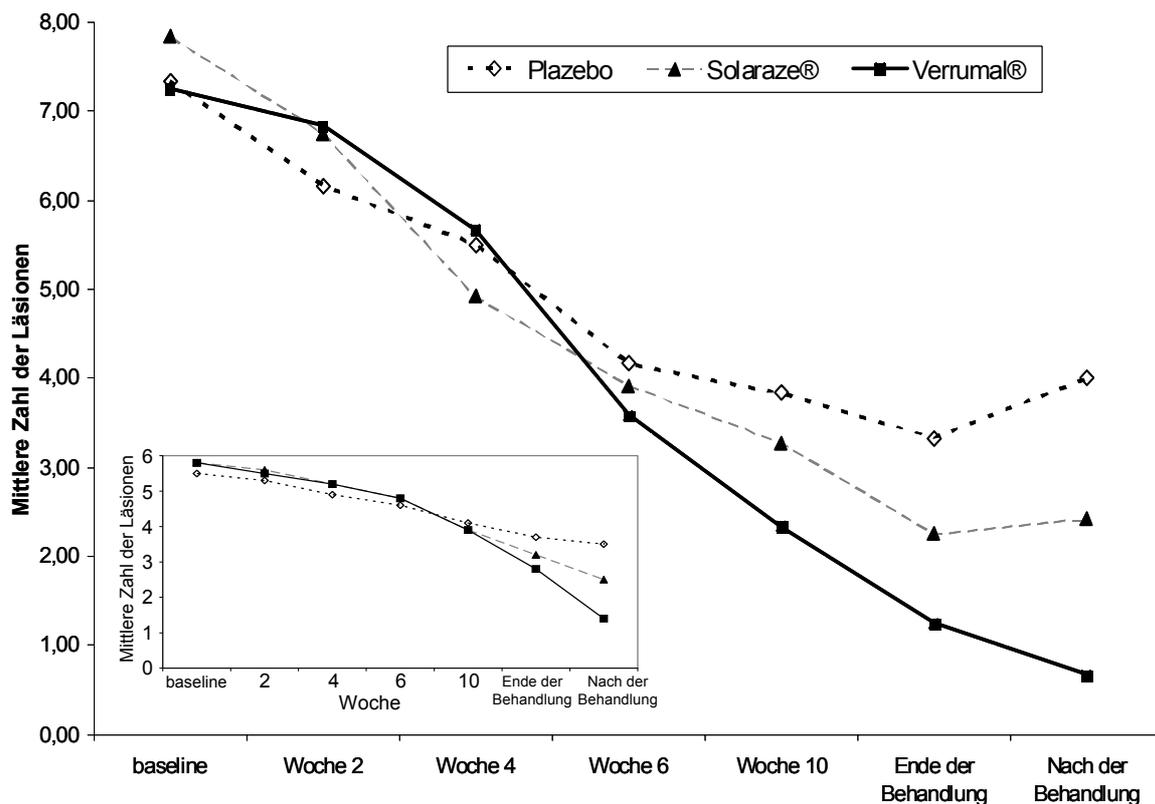
3.2.3 Sekundäre Endpunkte

Gesamtanzahl der Läsionen

In allen drei Behandlungsgruppen war zu Beginn der Therapie die durchschnittliche Anzahl der Läsionen, die jeder Patient aufwies, ungefähr gleich. Im Studienzentrum 1 hatten die Patienten der Placebo-Gruppe durchschnittlich 7,00 Läsionen, die Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe 7,25 Läsionen und die Patienten der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe 7,83 Läsionen. Im Verlauf der Behandlung verringerte sich die Anzahl der aktinischen Keratosen bis zum Therapieende auf 3,33 für Placebo, 1,25 für 5-FU mit Salicylsäure und 2,25 für Diclofenac mit Hyaluronsäure. In den acht Wochen bis zur Nachbehandlungsvisite reduzierte sich die Anzahl in der

5-FU/Salicylsäure-Gruppe noch einmal um 0,58 auf durchschnittlich 0,67 Läsionen, während in den beiden anderen Behandlungsgruppen die Anzahl wieder anstieg (auf 4,00 für Placebo und 2,42 für Diclofenac mit Hyaluronsäure).

Abbildung 7: Mittlere Anzahl der Läsionen pro Patient vor, während und nach der Behandlung



Daten des Studienzentrums 1: große Abbildung; Daten der Gesamtstudie: eingefügte Abbildung (nach: Integrated Report 2009, Abbildung 1)

Auch in der Gesamtstudie war die durchschnittliche Anzahl der Läsionen pro Studiengruppe ungefähr gleich (5,5 Läsionen in der Placebo-Gruppe und jeweils 5,8 Läsionen in der Diclofenac/Hyaluronsäure- und der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe). Bis zum Ende der Behandlung nach zwölf Wochen nahm die Anzahl der Läsionen in allen Therapiegruppen kontinuierlich ab. In der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe verringerte sich die Anzahl der aktinischen Keratosen auf 2,8, in der Placebo-Gruppe auf 3,7 und in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe auf 3,2. In den acht Wochen bis zur Nachbehandlungsvisite reduzierte sich die Anzahl der Läsionen weiterhin auf

durchschnittlich 1,4 in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe, auf 3,5 in der Placebo-Gruppe und auf 2,5 in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe. Die Analyse der Veränderung der Anzahl der Läsionen am Ende der Behandlung im Vergleich mit der Anzahl zu Beginn der Behandlung zeigte eine Überlegenheit beider aktiver Substanzen im Vergleich mit Placebo.

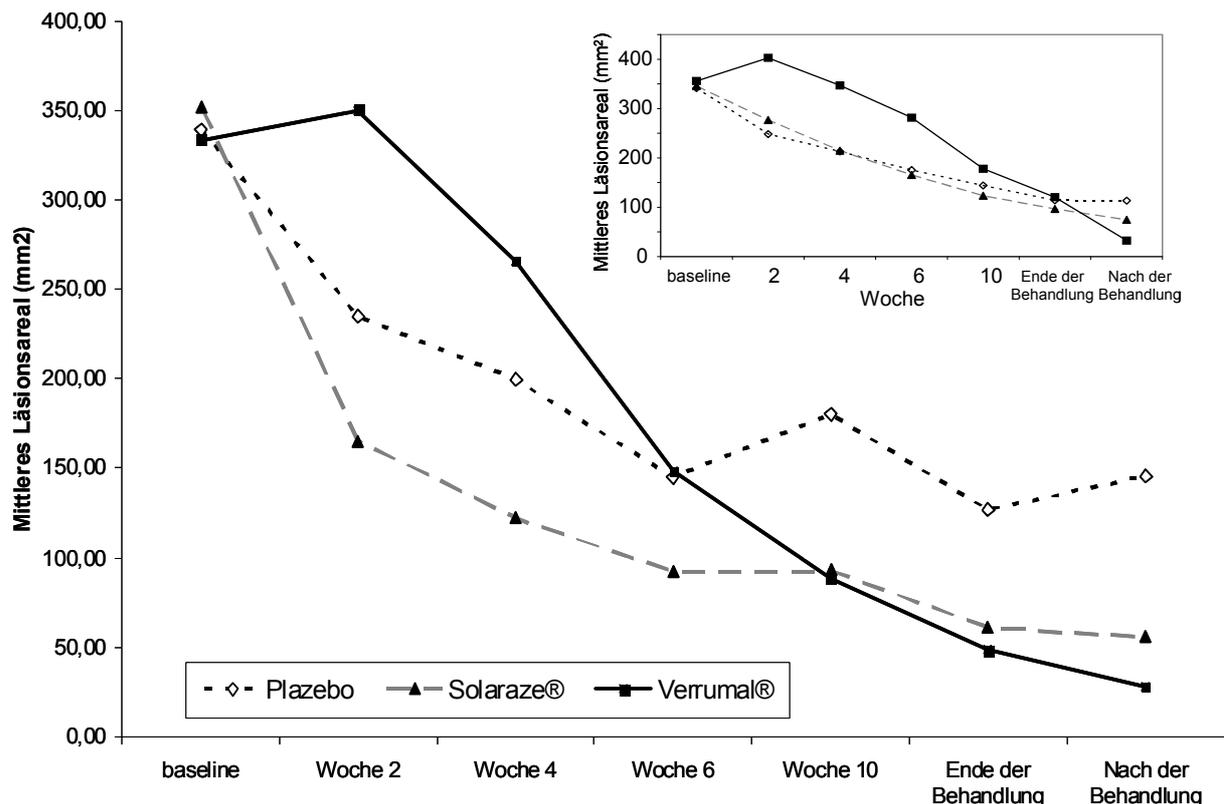
Gesamtfläche der Läsionen

Im Studienzentrum 1 war die Gesamtfläche der Läsionen pro Patient zu Beginn der Studie ungefähr gleich (334 mm² für 5-FU mit Salicylsäure, 344 mm² für Placebo und 341 mm² für Diclofenac mit Hyaluronsäure). Auch hier nahm die durchschnittliche Fläche bei den Patienten, die 5-FU mit Salicylsäure erhielten, zunächst zu (350 mm² in Woche 2), um dann kontinuierlich abzunehmen (auf 48,5 mm² am Ende der Behandlung). In der Placebo- und der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe war abgesehen von einer jeweils geringfügigen Zunahme der Fläche in Woche 10 eine stetige Verringerung auf 127 mm² für Placebo und 61 mm² für Diclofenac mit Hyaluronsäure zu erkennen. In der Nachbehandlungsvisite zeigte sich ähnlich wie oben für die Gesamtstudie beschrieben eine nochmals deutlich reduzierte Fläche in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe (28,3 mm²), eine leichte Zunahme der Fläche in der Placebo-Gruppe (146 mm²) und eine geringfügige Abnahme in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe (55,9 mm²).

Auch in der Gesamtstudie war die durchschnittliche Gesamtfläche der behandelten Läsionen pro Patient zu Beginn der Studie in allen drei Behandlungsgruppen nahezu gleich (355,9 mm² für 5-FU/Salicylsäure, 341,4 mm² Placebo und 345,7 mm² für Diclofenac/Hyaluronsäure). Während die Gesamtfläche in der Placebo- und der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe im Verlauf der Studie kontinuierlich abnahm, kam es in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe zunächst zu einer Zunahme der Fläche auf 402,9 mm² in Woche 2. Das Niveau der Ausgangswerte wurde in Woche 4 wieder erreicht (347,1 mm²). Danach verringerte sich die Läsionsfläche kontinuierlich. Am Ende der Behandlung war die Gesamtfläche der Läsionen in allen drei Behandlungsgruppen annähernd gleich groß (120,4 mm² 5-FU mit Salicylsäure, 114,2 mm² Placebo und 96,6 mm² für Diclofenac/Hyaluronsäure). In den folgenden acht Wochen bis zur Nachbehandlungsvisite verringerte sich in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe die Fläche

deutlich auf 32,7 mm², während sie in der Placebo-Gruppe stabil blieb (113,5 mm²) und in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe nur geringfügig abnahm (74,4 mm²).

Abbildung 8: Mittlere Gesamtfläche der Läsionen pro Patient vor, während und nach der Behandlung



Daten des Studienzentrums 1: große Abbildung; Daten der Gesamtstudie: eingefügte Abbildung (nach: Integrated Report 2009, Abbildung 2)

Ansprechrate der Läsionen

Die Grundlage für die Bewertung der Ansprechrate der aktinischen Keratosen auf die Behandlung mit der Studienmedikation bildete die Gesamtfläche der Läsionen. Dementsprechend war im Studienzentrum 1 zunächst ein Fortschreiten der Erkrankung bei 41,7% der Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe zu verzeichnen, während dies bei keinem der mit Diclofenac/Hyaluronsäure behandelten Patienten und bei 33,3% der Patienten in der Placebo-Gruppe der Fall war. Im weiteren Verlauf war der Anteil der Patienten mit einer partiellen Abheilung der Läsionen in allen drei Gruppen annähernd

gleich. Deutliche Unterschiede ergaben sich in der Nachbehandlungsvisite. Dort waren bei 83,3% der Patienten aus der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe die Läsionen komplett abgeheilt, während aus der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe 41,7% und aus der Placebo-Gruppe 33,3% der Patienten keine Läsionen mehr aufwiesen.

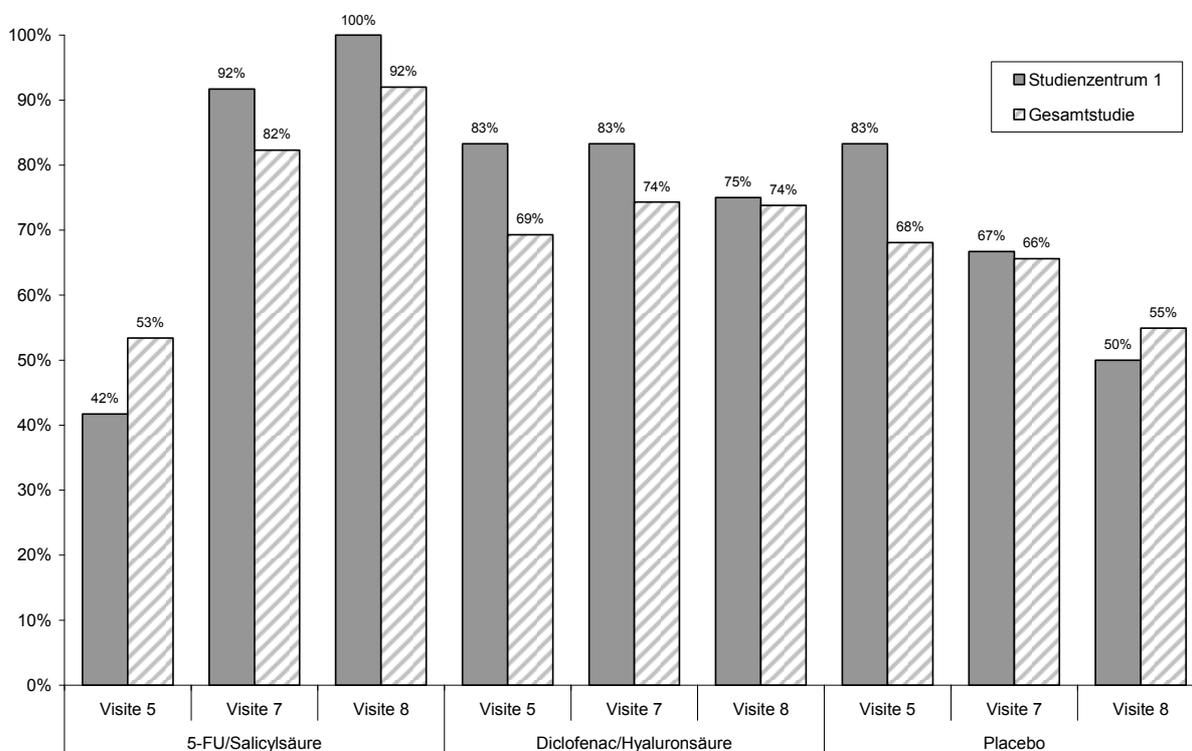
Die Daten der Gesamtstudie zeigten ein ähnliches Ergebnis. Eine Progression der Erkrankung konnte bei 21,5% der Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe in den ersten vier Wochen der Behandlung beobachtet werden, bei 3,8% der mit Diclofenac mit Hyaluronsäure behandelten Patienten und bei 3,2% der mit Placebo behandelten Patienten. Bis zum Ende der Behandlung waren keine relevanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen in den Raten der partiellen Abheilung zu erkennen. Die Rate der kompletten Abheilung war bei der Nachbehandlungsvisite in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe am höchsten (55,4%). Der Anteil der Patienten, die eine komplette Abheilung der Läsionen zeigten, betrug für Diclofenac mit Hyaluronsäure 32% und für Placebo 15,1%. In der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe waren insgesamt 74,5% aller Läsionen abgeheilt, in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe 54,6% und in der Placebo-Gruppe 36,5%.

Gesamtbewertung durch die Prüfer

Das Gesamtergebnis der Therapie wurde bei Visite 5 nach sechs Wochen, am Ende der Behandlung bei Visite 7 und bei der Nachbehandlungsvisite 8 von den Prüfern für jeden Patienten bewertet. Die Anzahl der sehr guten oder guten Bewertungen waren für das Therapieergebnis der Placebo- und Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe in der Gesamtstudie bei Visite 5 höher als für das der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe (68,1% und 69,3% versus 53,4%). Am Ende der Behandlung bei Visite 7 blieb die Beurteilung für die Placebo-Gruppe konstant (65,6%), während die sehr guten bis guten Beurteilungen der Ergebnisse für die Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und noch deutlicher für die 5-FU/Salicylsäure-Gruppe zunahm (74,3% und 82,3%). Bei der Nachbehandlungsvisite verbesserte sich die Beurteilung für das 5-FU/Salicylsäure-Gesamtergebnis noch weiter (92,0%), während die Bewertung für die Diclofenac/ Hyaluronsäure-Gruppe gleich blieb (73,8%) und sich für die Placebo-Gruppe verschlechterte (54,9%).

Die Ergebnisse des Studienzentrums 1 stellen sich ähnlich dar, sind aber in ihrer Tendenz noch deutlicher. Vor allem in der 5-FU/ Salicylsäure-Gruppe nahmen die guten bis sehr guten Bewertungen der klinischen Verbesserung klar zu (41,7% bei Visite 5, 91,7% bei Visite 7 und 100% bei Visite 8). Die guten bis sehr guten Bewertungen nahmen dagegen in der Placebo-Gruppe kontinuierlich ab (83,3% bei Visite 5, 66,7% bei Visite 7 und 50% bei Visite 8). In der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe blieben die Beurteilungen mit jeweils 83,3% bei Visite 5 und 7 und 75% bei Visite 8 relativ konstant.

Abbildung 9: Bewertung der klinischen Verbesserung durch die Prüferärzte



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

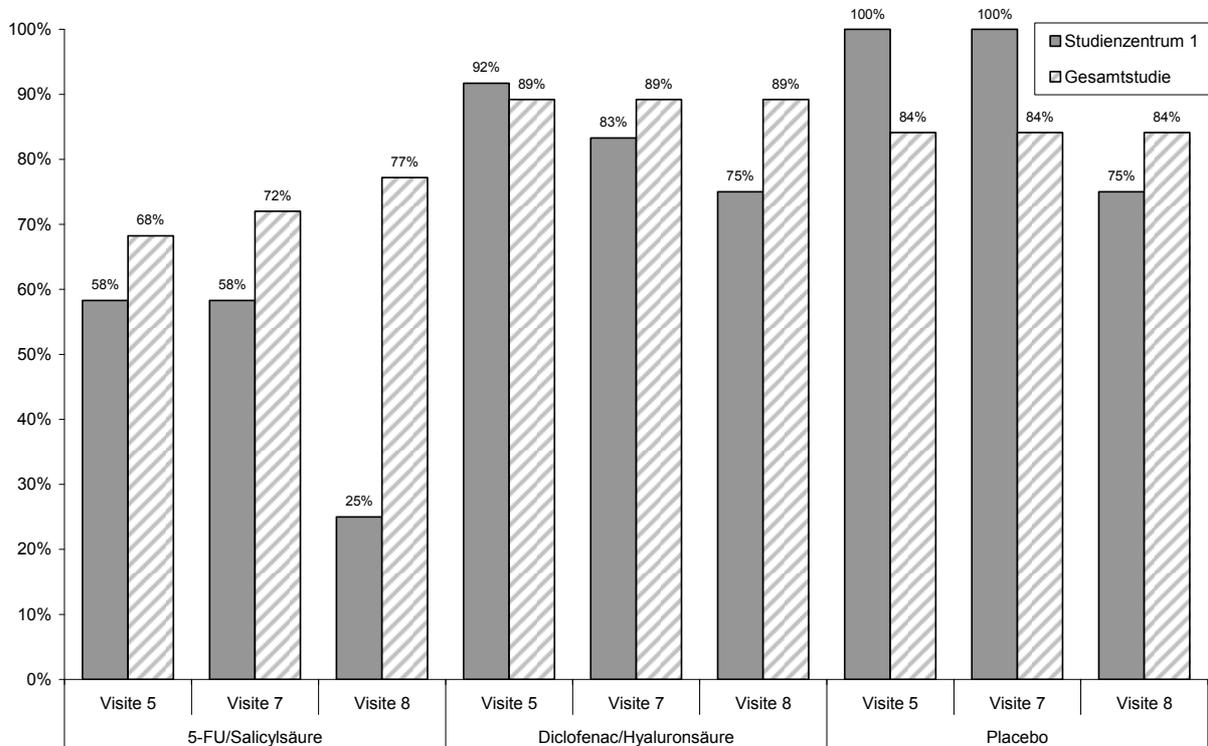
Bewertung der Verträglichkeit durch die Prüferärzte

Die Verträglichkeit von Diclofenac mit Hyaluronsäure und Placebo wurde durchgehend besser bewertet als die von 5-FU mit Salicylsäure. Während die Beurteilungen für Diclofenac mit Hyaluronsäure und Placebo bei den Visiten 5, 7 und bei der Nachbehandlungsvisite etwa gleich blieben (89,2% bzw. 84,1%), verbesserte sich die

Bewertung der Verträglichkeit von 5-FU mit Salicylsäure (72% am Ende der Behandlung und 77,2% in der Nachbehandlungsvisite). Der Anteil der Patienten, die eine schlechte oder keine Verträglichkeit der Studienmedikation zeigten, war in allen drei Behandlungsgruppen etwa gleich.

Die Ergebnisse des Studienzentrums 1 unterscheiden sich von den oben dargestellten Ergebnissen der Gesamtstudie deutlich. Der Anteil der guten bis sehr guten Bewertungen der Verträglichkeit von 5-FU/Salicylsäure verschlechterte sich im Gegensatz zur Gesamtstudie deutlich (58,3% bei den Visiten 5 und 7, 25% bei Visite 8). Auch in der Placebo- und der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe nahm der Anteil der guten bis sehr guten Bewertungen im Verlauf der Behandlung und in der Nachbehandlungsvisite ab, jedoch nicht so stark ausgeprägt wie in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe (100% bei den Visiten 5 und 7, 75% bei Visite 8 bzw. 91,7%, 83,3% und 75%).

Abbildung 10: Bewertung der Verträglichkeit durch die Prüfer

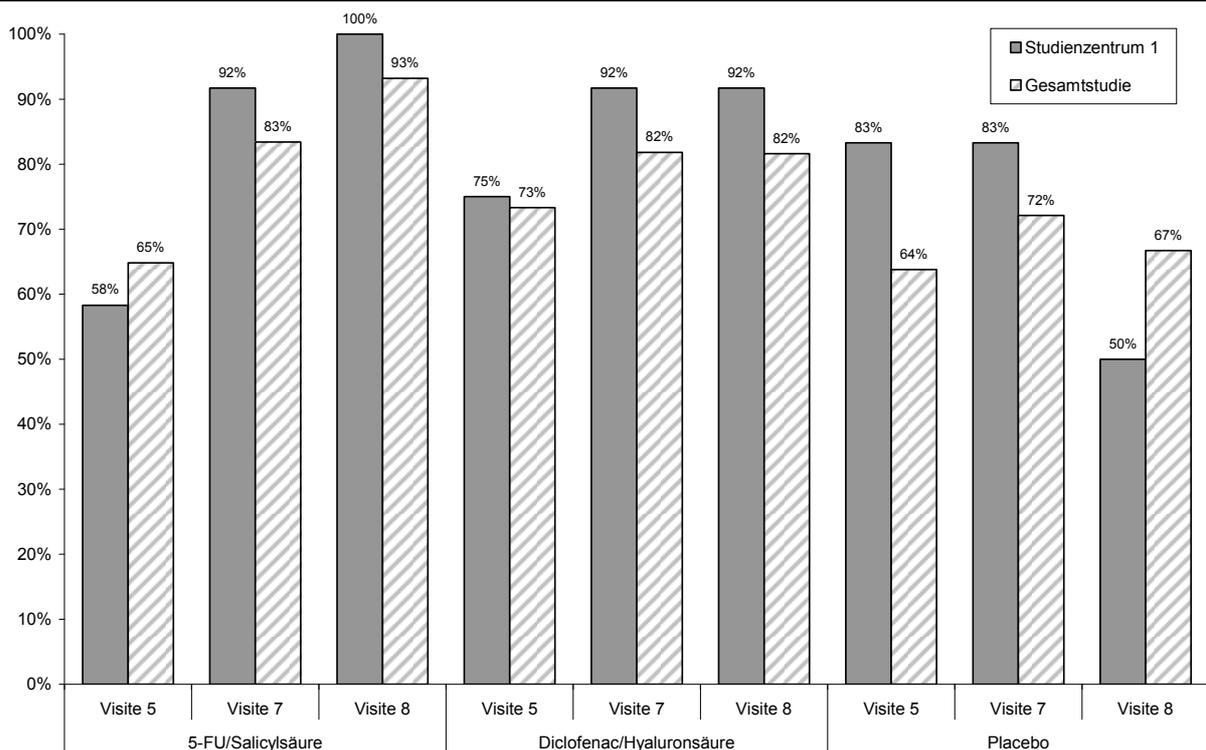


Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Gesamtbewertung durch die Patienten

Sechs Wochen nach Beginn der Behandlung bei Visite 5, am Ende der Behandlung bei Visite 7 und acht Wochen nach Therapieende bei Visite 8 wurde das Therapieergebnis von den Patienten bewertet. Der Anteil der Patienten, die das Ergebnis nach sechs Wochen als sehr gut oder gut beurteilten, war in allen drei Behandlungsgruppen ungefähr gleich (64,8% für 5-FU mit Salicylsäure, 73,3% für Diclofenac mit Hyaluronsäure und 63,8% für Placebo). Bis zum Ende der Behandlung nahm dieser Anteil zu (83,4%, 81,8% und 72,1%). In der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe nahm der Anteil der sehr guten und guten Bewertungen bis zur Nachbehandlungsvisite weiter zu (93,2%), während der Anteil in den beiden anderen Behandlungsgruppen etwa gleich blieb (81,6% und 66,7%).

Abbildung 11: Bewertung der klinischen Verbesserung durch die Patienten



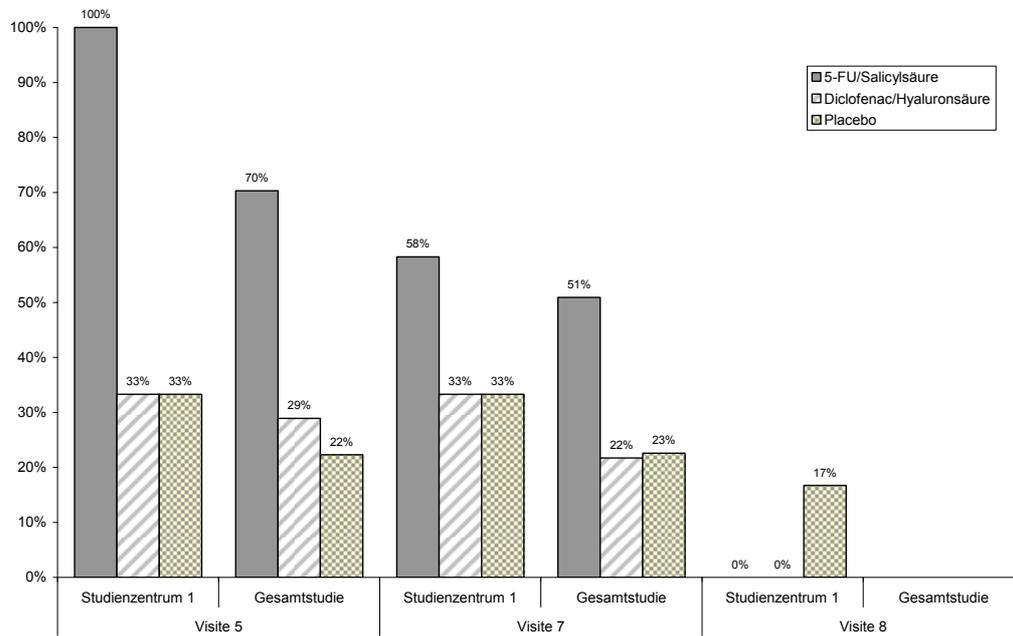
Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Auch bei der Gesamtbewertung der klinischen Verbesserung durch die Patienten ähneln sich die Daten des Studienzentrums 1 und der Gesamtstudie. Die Ergebnisse des Studienzentrums 1 zeigen jedoch auch hier eine deutlichere Entwicklung und Tendenz. In der 5-FU/Salicylsäuregruppe beurteilten bei Visite 5 58,3% der Patienten das Ergebnis der Therapie als gut bis sehr gut, bei Visite 7 91,7% und bei Visite 8 100%. In der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe bzw. der Placebo-Gruppe lag der Anteil bei 75% bei Visite 5 und 91,7% bei den Visiten 7 und 8 bzw. 83,3% bei den Visiten 5 und 7 und 50% bei Visite 8.

Bewertung der Verträglichkeit durch die Patienten

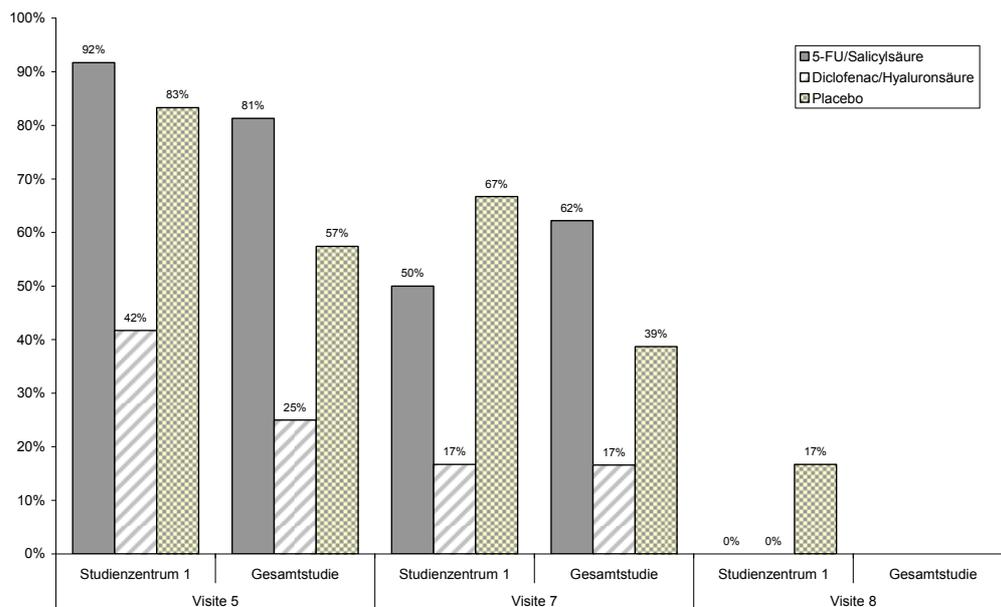
Die Verträglichkeit der Studienmedikation wurde in Woche 6, am Ende der Behandlung und acht Wochen nach Beendigung der Therapie von den Patienten bewertet. Die Parameter der Bewertung waren Entzündung, Juckreiz, Brennen und Schmerzen. Die häufigsten Symptome, die sechs Wochen nach Beginn der Behandlung auftraten, waren Entzündungen und Brennen im Therapieareal. Im Studienzentrum 1 gaben alle Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe (100%) Entzündungen von milder bis moderater Intensität an. In den anderen Behandlungsgruppen war der Anteil mit jeweils 33,3% deutlich niedriger. Über Brennen berichteten 91,7% der mit 5-FU mit Salicylsäure behandelten Patienten, 41,7% der mit Diclofenac mit Hyaluronsäure behandelten Patienten und 83,3% der mit Placebo behandelten Patienten. In der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe nahm die Anzahl der Patienten mit Entzündungen am Ende der Behandlung ab (58,3%), während die Anzahl in den anderen Behandlungsgruppen konstant blieb. Über Brennen am Ende der Behandlung berichteten noch 50% der Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe, 16,7% der Patienten der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und 66,7% der Patienten der Placebo-Gruppe. In der Nachbehandlungsvisite 8 wurden lediglich von Patienten der Placebo-Gruppe Entzündungen und Brennen angegeben (jeweils 16,7%).

Abbildung 12: Bewertung der Verträglichkeit durch die Patienten - Entzündung



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

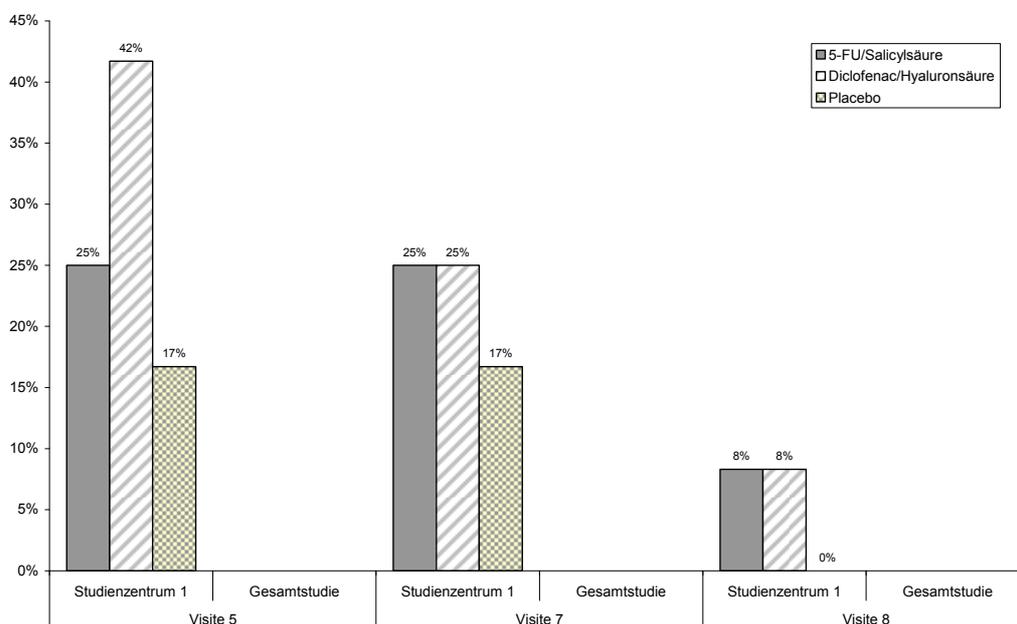
Abbildung 13: Bewertung der Verträglichkeit durch die Patienten - Brennen



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Eine ähnlich große Anzahl von Patienten gab in allen Behandlungsgruppen Juckreiz an. Eine Ausnahme bildete die Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe bei Visite 5. Fast die Hälfte der Patienten dieser Gruppe gab nach sechs Wochen Juckreiz an. Bei den Visiten 7 und 8 konnten keine klinisch relevanten Unterschiede der Gruppen während der Befragungen festgestellt werden.

Abbildung 14: Bewertung der Verträglichkeit durch die Patienten - Juckreiz

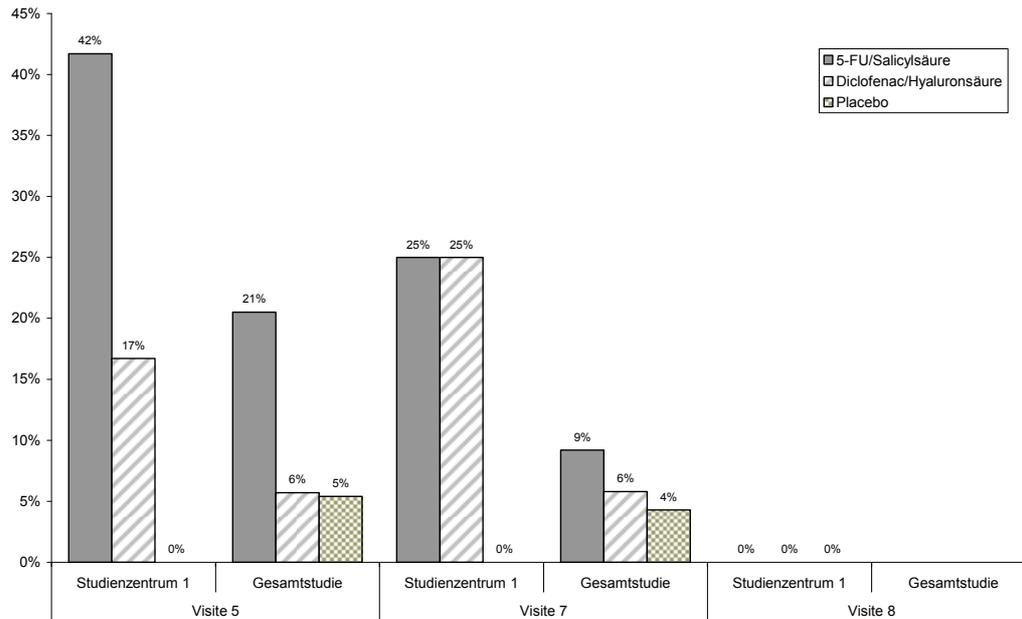


Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

Über Schmerzen wurde vor allem von Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe in Woche 6 berichtet (41,7% im Vergleich zu 16,7% in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe). Am Ende der Behandlung hatte sich der Anteil auf 25% bei 5-FU mit Salicylsäure reduziert. Dagegen hatte sich mit 25% der Anteil der mit Diclofenac mit Hyaluronsäure behandelten Patienten, die Schmerzen angaben, im Vergleich zur vorangehenden Befragung erhöht. Acht Wochen nach Beendigung der Behandlung gab kein Patient mehr Schmerzen an. In der Placebo-Gruppe wurde zu keinem Zeitpunkt von Schmerzen berichtet.

Die Daten der Gesamtstudie sind mit den oben genannten Ergebnissen vergleichbar. Detaillierte Angaben zu den Nachbehandlungsvisiten sowie zum Parameter Juckreiz lagen nicht vor.

Abbildung 15: Bewertung der Verträglichkeit durch die Patienten - Schmerzen



Die Daten für die Gesamtstudie sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

3.3 Pharmakokinetik

Bei allen Patienten des Studienzentrums 1 wurden Blutentnahmen zum Nachweis von 5-FU und Salicylsäure im Rahmen des Screenings (als Baseline-Probe), bei der 3. Visite an Tag 14 der Behandlung und bei Therapieende (Visite 7) durchgeführt. Diese Analytik diente der zusätzlichen Sicherheitsuntersuchung über die systemische Exposition mit 5-FU und Salicylsäure und wurde ausschließlich im Studienzentrum 1 durchgeführt.

In keiner der 90 untersuchten Proben konnte eine Konzentration von 5-FU über der unteren Nachweisgrenze von 0,5 µg/ml festgestellt werden.

Erhöhte Werte wurden dagegen für Salicylsäure nachgewiesen. Bei sechs Patienten wurden sowohl bei der Screeningvisite als auch bei den Visiten 3 und 7 über der unteren Nachweisgrenze von 1,0 µg/ml liegende Werte für Salicylsäure gemessen. Zur Klärung der Ursachen für die erhöhten Werte wurde zunächst die Dauermedikation der Patienten betrachtet. Fünf dieser sechs Patienten nahmen regelmäßig Acetylsalicylsäure (ASS) in einer Dosierung von 100 mg täglich ein. Weitere zwei Patienten nahmen regelmäßig ASS 100 ein, ohne dass erhöhte Werte nachgewiesen wurden. Mögliche Gründe dafür werden ausführlich im Diskussionsteil erörtert. Die übrigen 22 Patienten gaben keine Einnahme von ASS an, so dass ein Nachweis von Salicylsäure nicht zu erwarten war und tatsächlich auch nicht nachgewiesen werden konnte.

Tabelle 6: Patienten mit Salicylsäurekonzentrationen über der Nachweisgrenze

	Patient #	Konzentration an Salicylsäure (µg/ml)		
		Screening	Visit 3	Visit 7
5-FU/Salicylsäure	161	5,8	4,2	< LLQ
	357	< LLQ	< LLQ	1,9
	361	1,6	< LLQ	5,1
Diclofenac m. Hyaluronsäure	160	< LLQ	< LLQ	13,0
Placebo	080	2,3	6,5	< LLQ
	196	< LLQ	16,4	9,9

LLQ: lower limit of quantification (untere Nachweisgrenze) 1,0 µg/ml

Die Tabelle und die Daten sind dem Integrated Report 2009 entnommen.

3.4 Ergebnisse der Sicherheitsbewertung

3.4.1 Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events)

Bei 28 Patienten der Studienpopulation traten insgesamt 112 unerwünschte Ereignisse (AEs) auf. In 99 Fällen galten die Ereignisse als sicher oder wahrscheinlich mit der Studienmedikation in Zusammenhang stehend (treatment emergent adverse events = TEAEs).

Die meisten TEAEs waren von geringer bis mäßiger Intensität. Mit Ausnahme von 30 AEs wurden alle Ereignisse als allgemeine Erkrankungen und Erkrankungen des

Behandlungsareals beurteilt. Bei 5 Patienten (83,3%) der Placebo-Gruppe traten 20 AEs auf, 34 AEs bei 10 Patienten (83,3%) der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und 58 AEs bei 12 Patienten (100%) der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe. 13 Patienten hatten schwere TEAEs. Davon waren zwei Patienten der Placebo-Gruppe betroffen, vier Patienten der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und sieben Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe. Ein Patient der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe brach die Studie wegen eines TEAEs ab.

In der Gesamtstudie wurden bei 403 Patienten unerwünschte Ereignisse registriert, die mit der Studienmedikation in Zusammenhang gebracht wurden (TEAEs). Auch hier wurden die meisten AEs als mild bis moderat eingestuft. Es handelte sich mehrheitlich um allgemeine Erkrankungen und Irritationen im Behandlungsareal. 74 Patienten (75,5%) der Placebo-Gruppe waren betroffen, 118 Patienten (63,8%) der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und 174 Patienten (93%) der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe. Schwere AEs wurden bei 87 Patienten festgestellt (sechs Patienten der Placebo-Gruppe, 27 Patienten der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und 54 Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe). Mit Ausnahme der Auffälligkeiten bei zwei Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe wurden alle AEs als mit der Studienmedikation zusammenhängende Erscheinungen bewertet. Für 27 Patienten führten die Ereignisse zum Abbruch der Studie.

3.4.2 Unerwünschte Ereignisse nach Organsystemen

Die Mehrzahl der unerwünschten Ereignisse waren generelle Erkrankungen bzw. Befindlichkeitsstörungen oder Reizungen im Bereich des Behandlungsareals. Im Studienzentrum 1 bildeten die allgemeinen Erkrankungen und Irritationen des Behandlungsareals mit 85 AEs (75,9%) die weitaus größte Gruppe. Davon entfielen 14 AEs (16,5%) auf die Placebo-Gruppe, 25 AEs (29,4%) auf die Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und 46 AEs (54,1%) auf die 5-FU/Salicylsäure-Gruppe. Zehn Meldungen betrafen die Haut und das subkutane Gewebe. Alle anderen AEs waren vereinzelte Vorkommnisse, die auf alle Behandlungsgruppen verteilt waren.

Insgesamt wurden 1356 unerwünschte Ereignisse gemeldet. Davon waren 1069 Ereignisse den generellen Erkrankungen oder den Irritationen des Therapieareals zuzuordnen, 77 Ereignisse betrafen die Haut und das subkutane Gewebe, 53 Fälle

waren Infektionen und 38 waren benigne oder maligne Neoplasmen. Alle anderen Ereignisse, die in unterschiedlichen Organsystemen kategorisiert wurden, traten nur bei einzelnen Studienteilnehmern auf. Abgesehen von den Ereignissen in der Kategorie der generellen Erkrankungen und Irritationen des Behandlungsareals, wurden die meisten unerwünschten Ereignisse nicht mit der Studienmedikation in Zusammenhang gebracht.

3.4.3 Lokale unerwünschte Ereignisse

In allen drei Behandlungsgruppen waren lokale unerwünschte Ereignisse im Behandlungsareal die häufigsten dokumentierten TEAEs.

Im Studienzentrum 1 wurden insgesamt 93 lokale behandlungsassoziierte AEs gemeldet. Davon entfielen 50 TEAEs (53,8%) auf die 5-FU/Salicylsäure-Gruppe, 27 TEAEs (29%) auf die Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und 16 TEAEs (17,2%) auf die Placebo-Gruppe. Die Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe waren zu 100% betroffen und die Patienten der beiden anderen Behandlungsgruppen zu jeweils 83,3%. Die häufigsten dokumentierten TEAEs waren lokale Reizungen und Brennen im Therapieareal (91,7% der mit 5-FU/Salicylsäure behandelten Patienten, 83,3% der Patienten aus der Placebo-Gruppe und 50% der Patienten, die mit Diclofenac/Hyaluronsäure behandelt wurden). Weitere häufige TEAEs waren Entzündungen (100% bei 5-FU/Salicylsäure, 50% bei Placebo und 41,7% bei Diclofenac/Hyaluronsäure), Erytheme (75% bei 5-FU/Salicylsäure und jeweils 16,7% bei Placebo und bei Diclofenac/Hyaluronsäure), Pruritus (25% bei 5-FU/Salicylsäure, 33,3% bei Placebo und 50% bei Diclofenac/Hyaluronsäure) und Schmerzen (58,3% bei 5-FU/Salicylsäure, 16,7% bei Placebo und 25% bei Diclofenac/Hyaluronsäure). Krusten, Blutungen, Ödeme und Erosionen kamen nur vereinzelt und gleichmäßig auf alle Gruppen verteilt vor.

In der Gesamtstudie war die Anzahl der lokalen TEAEs in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe mit 92% der Patienten am höchsten, während in der Placebo-Gruppe 75,5% der Patienten lokale Reaktionen zeigten. In der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe lag die Anzahl der Patienten mit lokalen TEAEs mit 62,7% am niedrigsten. Reizungen und Brennen im Bereich des Therapieareals waren die häufigsten Vorkommnisse. Von den mit 5-FU mit Salicylsäure behandelten Patienten hatten 86,1% lokale Reizungen der Haut, von den mit Placebo behandelten gaben 61,2% Irritationen im Behandlungsfeld

an und von den mit Diclofenac mit Hyaluronsäure behandelten Patienten waren 38,4% betroffen. Weitere häufige lokale Reaktionen waren Entzündungen (73,3% bei 5-FU/Salicylsäure, 35,7% bei Placebo und 38,4% bei Diclofenac/Hyaluronsäure) und Pruritus (44,9% bei 5-FU/Salicylsäure, 40,8% bei Placebo und 38,9% bei Diclofenac/Hyaluronsäure). Schmerzen, Erytheme und Erosionen kamen wesentlich seltener vor. Auch bei diesen Reaktionen stammten die meisten Patienten aus der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe. Es wurden wenige Fälle von Blutungen, Dermatitis, Ekzemen, Abschälen der Haut, Ödemen, Krusten, Narben, Ulcera und Bläschen berichtet. Die meisten Reaktionen der Haut auf die Therapie mit der Studienmedikation waren mild bis moderat.

Obwohl die lokalen TEAEs zu verschiedenen Zeitpunkten der Studie begannen, kann doch festgestellt werden, dass der Anteil der Patienten, die in den ersten vier Wochen über Reizungen in der Behandlungsregion wie Brennen, Entzündungen, Schmerzen und Erytheme berichteten, in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe am höchsten war.

3.4.4 Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse

Im Studienzentrum 1 traten im Gegensatz zur Gesamtstudie keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse auf.

Insgesamt wurden 16 schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (serious adverse events = SAE) bei 15 Patienten dokumentiert. Davon ereigneten sich zwei SAEs in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe, zehn in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe und vier in der Placebo-Gruppe. Die häufigsten Gründe für SAEs waren Neoplasmen sowie kardiale, gastrointestinale und neurologische Erkrankungen. Drei Patienten verstarben während der Studie. Ein Patient starb an einem Herzinfarkt, ein Patient an einem hepatozellulären Karzinom und ein Patient an einem Ösophaguskarzinom.

Keines der schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse wurde mit der Behandlung während der Studie in Verbindung gebracht.

3.4.5 Laboruntersuchungen

Die Routinelaboruntersuchungen bestehend aus hämatologischer Diagnostik, Serumchemie und Urinanalyse wurden ausschließlich im Studienzentrum 1 durchgeführt. Die Proben wurden im Rahmen des Screenings als Baseline-Probe und am Ende der Behandlung bei Visite 7 entnommen. Es wurden keine auffälligen Werte gemessen, die mit der Studienmedikation in Verbindung gebracht werden konnten.

3.4.6 Körperliche Untersuchung und Vitalparameter

Eine körperliche Untersuchung und die Messung der Vitalparameter fanden im Rahmen des Screenings zur Erhebung von Baseline-Werten, bei Visite 7 am Ende der Behandlung und bei der Nachuntersuchung acht Wochen nach Therapieende statt. Es konnten bei den Patienten des Studienzentrums 1 keine klinisch relevanten Veränderungen der Vitalparameter und bei der körperlichen Untersuchung im Verlauf der Therapie beobachtet werden.

Die körperliche Untersuchung war auch in der Gesamtstudie bei den meisten Patienten unauffällig. Bei 5% bis 10% der Patienten pro Studiengruppe hatten sich im Verlauf der Therapie Auffälligkeiten ergeben. Diese wurden als mit der Behandlung in Zusammenhang stehend (TEAE) betrachtet und dokumentiert.

4. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Daten eines einzelnen Studienzentrums den Daten der Gesamtstudie gegenüberzustellen und zu vergleichen. In der Gesamtstudie sollte die Überlegenheit von 0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure im Vergleich mit einem Placebo und die Nicht-Unterlegenheit gegenüber Diclofenac mit Hyaluronsäure in der topischen Therapie von aktinischen Keratosen im Rahmen einer pharmakologischen Studie der Phase III bewiesen werden. Der herangezogene Parameter war die histologisch bestätigte Abheilung einer vorbestimmten Läsion, die acht Wochen nach Beendigung der Therapie biopsiert wurde.

Im Rahmen der Studie wurden die Patienten des Studienzentrums 1 für die Studie rekrutiert und während der Durchführung der Studie beobachtet und betreut. Ferner wurden die im Verlauf erhobenen Daten ausgewertet und evaluiert. Einen Schwerpunkt dieser Dissertation bilden die ausschließlich im Studienzentrum 1 durchgeführten Routinelaboruntersuchungen und pharmakokinetischen Untersuchungen zur zusätzlichen Bewertung der Sicherheit.

Die demografischen Daten der Gesamtstudie und die des Studienzentrums 1 ähnelten sich weitgehend. Geringe Abweichungen beim Durchschnittsalter der Patienten, der Durchschnittsgröße und dem Durchschnittsgewicht waren klinisch nicht relevant.

Eine Auffälligkeit bestand in der Tatsache, dass in der Gesamtstudie der Anteil der Frauen bei 14,9% lag, im Studienzentrum 1 jedoch nur bei 3,3%. Vermutlich handelt es sich dabei lediglich um ein zufälliges Ergebnis und ist ohne klinische Relevanz.

Bewertung des primären Endpunkts

In der Auswertung der Daten sowohl der Gesamtstudie als auch des Studienzentrums 1 wurde gezeigt, dass 5-FU mit Salicylsäure in der Behandlung aktinischer Keratosen sowohl der Behandlung mit Placebo als auch der Behandlung mit Diclofenac mit Hyaluronsäure überlegen war.

Betrachtet man die Resultate in der Placebo-Gruppe, fällt neben der hohen Abheilungsrate auch die Anzahl unerwünschter Ereignisse auf. Lokale Reizungen und Brennen im Bereich des Therapieareals wurden am häufigsten von den Patienten angegeben. Weitere häufige lokale Reaktionen waren Entzündungen und Pruritus.

Auch wenn die Rate der Nebenwirkungen im Therapieareal in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe am höchsten war, so ist doch die Häufigkeit der unerwünschten Reaktionen im Behandlungsareal bei der Applikation von Placebo bemerkenswert. Die Vermutung liegt nahe, dass einer oder mehrere der Hilfsstoffe der Placebo-Studienmedikation diese Reaktionen ausgelöst haben könnte. Die 5-FU/Salicylsäure-Lösung und die Placebo-Lösung waren in Aussehen, Farbe, Konsistenz und Geruch identisch. Abgesehen von den aktiven Substanzen 5-FU (0,5%) und Salicylsäure (10,0%), die lediglich in der 5-FU/Salicylsäure-Lösung vorhanden waren, enthielten die Lösungen als Inhaltsstoffe Dimethylsulfoxid, Ethanol, Ethylacetat, Pyroxylin, Polybutylmethacrylat und Polymethylmethacrylat (Integrated Report 2009). Es ist möglich, dass eine oder mehrere dieser Substanzen eine lokale Hautirritation hervorgerufen und damit unter Umständen eine offenbar für die Abheilung von AKs notwendige Entzündungsreaktion initiiert haben (Jury 2005, Robins 2002). Es ist demnach auch zu überlegen, ob die unerwartet hohe Abheilungsrate bei den mit 5-FU/Salicylsäure behandelten Patienten teilweise mit diesem Effekt zusammenhängt und nicht ausschließlich mit der Wirkung der beiden aktiven Substanzen. Additiv kann die mechanische Reizung bei Applikation der Studienmedikation möglicherweise in Kombination mit psychologischen Placebo-Wirkungen eine Rolle gespielt haben.

Die gute Wirksamkeit von 5-FU in der Therapie von aktinischen Keratosen ist in mehreren Studien beschrieben (Gupta 2005, Krawtchenko 2007, Levy 2001). Eine bereits im Jahr 1975 durchgeführte exploratorische Studie zeigte klinisch eine komplette Abheilung von aktinischen Keratosen nach der Behandlung mit einer Wirkstoffkombination von 5% 5-FU und 5% bzw. 10% Salicylsäure. Allerdings waren die Nebenwirkungen dieser topischen Therapie mit einer hohen Konzentration von 5-FU beträchtlich (Goncalves 1975). Neu ist in der vorliegenden Studie daher die Kombination einer Konzentration von 0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure.

Das positive Studienergebnis bei der Kombination von 0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure kann auf mehreren Mechanismen beruhen. Topisch angewendet bewirkt Salicylsäure eine Auflockerung des Stratum corneum, was als Nebeneffekt eine erhöhte Durchlässigkeit und damit verbesserte Wirksamkeit für andere Wirkstoffe (in diesem Fall 5-FU) nach sich zieht. Außerdem führt sie zu einer Keratolyse (Karow 2006), wodurch die Hyperkeratose der Läsionen abgetragen wird. Genutzt wird dieser Effekt bereits seit langem mit hoher Wirksamkeit in der topischen Behandlung

hyperkeratotischer Hauterkrankungen wie z.B. in der Therapie der Psoriasis vulgaris (Fritsch 2004, Lebwohl 1999).

In einer Studie mit UV-B-bestrahlten haarlosen Mäusen wurde festgestellt, dass chemische Peelings mit Salicylsäure die Entwicklung von Hauttumoren unterdrückten und die Differenzierung der Keratinozyten normalisierten (Dainichi 2006). Möglicherweise hat auch dieser Wirkmechanismus einen Anteil an der hohen Abheilungsrate der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe.

Bewertung der sekundären Endpunkte

Der sekundäre Endpunkt der Studie war, die Überlegenheit von 5-FU mit Salicylsäure gegenüber Diclofenac mit Hyaluronsäure zu beweisen. Die Parameter zur Beurteilung waren die Bewertung der Abheilungstendenz der behandelten Läsionen, die Bewertung der Verträglichkeit und Sicherheit der Medikamente durch die Prüfarzte und schließlich die Beurteilung der Verträglichkeit und Wirksamkeit der Studienmedikation durch die Studienteilnehmer.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse einen deutlichen Unterschied der Abheilungsraten im Vergleich des Studienzentrums 1 mit der Gesamtstudie. Aus den vorliegenden Daten lassen sich keine offenkundigen Ursachen für diese Diskrepanz ableiten. Möglicherweise ist die Abweichung zufällig und beruht auf der geringen Anzahl von Patienten eines Studienzentrums im Vergleich zur Gesamtstudie. Abweichungen könnten möglicherweise auch auf Unterschieden in der Handhabung der Studienmedikation und der Bewertung der Ergebnisse beruhen. Solche Unterschiede sind trotz der exakten Einhaltung des Studienprotokolls grundsätzlich immer möglich. Das Auftreten solcher systematischer Unterschiede ist natürlicherweise nicht aus den Studienunterlagen abzuleiten und ein bewusst eingeplanter Aspekt einer multizentrischen Zulassungsstudie.

Bezüglich der Gesamtfläche der Läsionen fällt eine vorübergehende Zunahme während der Behandlung in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe auf, bevor sich die Fläche nach Beendigung der Therapie deutlich reduzierte. Möglicherweise ist die zeitweise Zunahme der Gesamtfläche einerseits durch die bei einem großen Teil der mit 5-FU/Salicylsäure behandelten Patienten aufgetretenen Entzündungen und der damit verbundenen Unterstützung der Abheilung der AKs zu erklären (Sachs 2009). Andererseits könnte

der Effekt aber auch auf rein praktischen Aspekten der Studiendurchführung beruhen, da aufgrund der Entzündungsreaktionen und Erytheme die genaue Beurteilung der Ausdehnung erschwert war.

Im Studienzentrum 1 gaben 100% aller Patienten der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe Entzündungen im Verlauf der Therapie an. Auch hier kam es zeitweise zu einer Vergrößerung der Gesamtfläche. Die möglichen Erklärungen sind identisch mit den oben beschriebenen für die Gesamtstudie.

Die Ergebnisse stehen im Einklang mit den Resultaten anderer Studien, die einerseits die gute Wirksamkeit der Therapie aktinischer Keratosen mit topischem 0,5% 5-FU und andererseits das häufige Auftreten von Nebenwirkungen im Sinne milder bis moderater lokaler Irritationen und Entzündungsreaktionen beschreiben (Stough 2010, Weiss 2002).

Bewertung unerwünschter Ereignisse

Die Verträglichkeit von 5-FU mit Salicylsäure galt bei Prüfern und Patienten sowohl in der Gesamtstudie als auch im Studienzentrum 1 allgemein als gut. Diclofenac mit Hyaluronsäure und Placebo schnitten in der Bewertung allerdings deutlich besser ab. Der Grund ist vermutlich, dass die Rate der gemeldeten Nebenwirkungen in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe vergleichsweise hoch war. Am häufigsten wurden lokale Irritationen und Reizungen sowie Entzündungen im Bereich der behandelten Haut gemeldet. Die Bewertungen bezüglich der Patientenzufriedenheit mit den unterschiedlichen Behandlungsmodalitäten entsprechen den bekannten Ergebnissen früherer Studien (Smith 2006). Auch hier wurde die Therapie mit Diclofenac/Hyaluronsäure trotz längerer Anwendungsdauer im Vergleich mit 5-FU häufiger als zufrieden stellend bewertet.

Dass die lokalen Reizungen und Entzündungen im Behandlungsareal in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe am häufigsten auftraten, ist mit dem bekannten Nebenwirkungsprofil von 5-FU konsistent. Lokale Irritationen, Erytheme, Entzündungen und teilweise Erosionen und Ulzerationen treten häufig während der etablierten Behandlung mit 5% 5-FU auf (Krawtchenko 2007, Levy 2001). Ob unter der Therapie mit 5-FU/Salicylsäure weniger ausgeprägte lokale Nebenwirkungen auftreten, lässt sich anhand der vorliegenden Studie nicht beurteilen. Es müsste dafür eine direkte

Vergleichsstudie von 0,5% 5-FU/10% Salicylsäure und 5% 5-FU durchgeführt werden. Untersucht und verglichen wurden bisher lediglich unterschiedliche Konzentrationen von 5-FU allein (0,5% und 5%) hinsichtlich ihrer Wirksamkeit, ihres Nebenwirkungsprofils und ihrer systemischen Aufnahme (Kaur 2010, Loven 2002, Levy 2001). Dabei zeigte sich eine vergleichbare Wirksamkeit beider Konzentrationen bei deutlich ausgeprägterem Nebenwirkungsprofil und höherer systemischer Absorption von 5% 5-FU. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass auch die Kombination von 0,5% 5-FU mit Salicylsäure besser verträglich als 5-FU in einer 5%igen Konzentration ist. Aufgrund des keratolytischen Effektes von Salicylsäure und durch die erhöhte Durchlässigkeit des Stratum corneum für den Wirkstoff hat die geringere Konzentration von 5-FU vermutlich eine stärkere Wirkung als 0,5% 5-FU allein. Allerdings kann aus demselben Grund auch von vermehrten Nebenwirkungen im Sinne lokaler Irritationen und Entzündungen ausgegangen werden.

Eine weitere Erklärung für die ausgeprägten lokalen Entzündungen könnte die hautirritierende Wirkung von Salicylsäure sein. Da angenommen wird, dass für die Abheilung aktinischer Keratosen eine Entzündungsreaktion notwendig ist (Jury 2005, Robins 2002), erklärt sich aus dieser Tatsache eventuell auch die hohe Effizienz der Therapie mit 5-FU/Salicylsäure. Die besonders hohe Abheilungsrate in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe des Studienzentrums 1 kann möglicherweise mit der ebenfalls besonders hohen Rate an lokalen Entzündungen korreliert werden.

Obwohl die Anzahl der meist milden bis moderaten lokalen Nebenwirkungen und auch die Rate der schweren Nebenwirkungen in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe am höchsten war, haben etwa gleich viele Patienten der 5-FU/Salicylsäure- und der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe die Behandlung aufgrund der unerwünschten Ereignisse im Behandlungsareal vorzeitig abgebrochen (sieben in der 5-FU/Salicylsäure-Gruppe und neun in der Diclofenac/Hyaluronsäure-Gruppe). Die Akzeptanz der Therapie ist also offensichtlich für beide Medikamente vergleichbar.

Einordnung der schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse

Im Gegensatz zur Gesamtstudie, während der bei 15 Patienten 16 unerwünschte Ereignisse auftraten, traten im Studienzentrum 1 keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse auf. Keines der Ereignisse der Gesamtstudie wurde mit der Studienmedikation in Zusammenhang gebracht. Die häufigsten SAEs waren Neoplasmen und kardiale Erkrankungen. Drei Probanden starben während der Studie (Integrated Report 2009).

An aktinischen Keratosen erkranken überwiegend ältere Menschen (Memon 2000, Diepgen 2002). Das belegt auch die Altersstruktur der vorliegenden Studie mit einem Altersdurchschnitt, der deutlich über 70 Jahren liegt. In diesem Alter sind Neoplasmen oder kardiale Erkrankungen nicht ungewöhnlich. Es handelt sich vorwiegend um Erkrankungen der älteren Menschen, die nicht ursächlich mit der Studienmedikation in Zusammenhang gebracht werden können. Ein Unterschied des Studienzentrums 1 zur Gesamtstudie ist das etwas niedrigere Durchschnittsalter der Probanden mit deutlich weniger sehr alten Studienteilnehmern. Eventuell ist dies eine mögliche Erklärung für das Fehlen von SAEs.

Pharmakokinetik

Stellvertretend für die gesamte Studienpopulation wurden allen Patienten des Studienzentrums 1 Blutproben zum Nachweis der aktiven Substanzen 5-FU und Salicylsäure entnommen. In keiner Probe konnte 5-FU über der unteren Nachweisgrenze gemessen werden. Dieser Befund lässt zwei mögliche Schlussfolgerungen zu. Einerseits könnte daraus gefolgert werden, dass 5-FU bei der topischen Applikation von 5-FU mit Salicylsäure nicht in nachweisbaren Mengen systemisch aufgenommen wird. Andererseits könnte aufgenommenes 5-FU so schnell metabolisiert und/oder ausgeschieden werden, dass es zum Zeitpunkt der Probenentnahme nicht mehr nachweisbar ist. Da 5-FU eine sehr kurze terminale Halbwertszeit von 8 min bis 20 min hat (Diasio 1989), wäre bereits eine bis zwei Stunden nach der letzten Applikation kein 5-FU mehr in der Zirkulation nachweisbar. Unabhängig von beiden Erklärungsmöglichkeiten kann aber die Aussage getroffen werden, dass die Patienten durch 5-FU/Salicylsäure allenfalls nur eine marginale

Exposition an 5-FU erfahren, die offenbar keine nachweisbaren Nebenwirkungen auslöst.

Diesen Ergebnissen stehen Untersuchungen einer anderen Studie (Levy 2001) entgegen, welche die Pharmakokinetik und die Verträglichkeit von topisch angewendetem 5-FU in verschiedenen Konzentrationen (0,5% versus 5%) analysiert. Bei 3 von 10 mit 0,5% 5-FU behandelten Patienten und 9 von 10 mit 5% 5-FU behandelten Patienten konnte Fluorouracil im Plasma nachgewiesen werden. Allerdings handelte es sich in der 0,5% 5-FU-Gruppe um eine minimale systemische Aufnahme. Eventuell sind die widersprüchlichen Ergebnisse beider Studien durch unterschiedliche Zeitpunkte der Probenentnahme nach Auftragen der Substanzen oder durch unterschiedliche Nachweismethoden bzw. verschiedene untere Nachweisgrenzen von 5-FU zu erklären. Gemeinsam ist den Untersuchungen jedoch, dass von einer nur geringen systemischen Belastung mit und einer guten Verträglichkeit bei der Behandlung mit 0,5% 5-FU ausgegangen werden kann.

Bei sechs Patienten wurden über der unteren Nachweisgrenze liegende Werte für Salicylsäure gemessen. Fünf dieser sechs Patienten nahmen regelmäßig Acetylsalicylsäure (ASS) in einer Dosierung von 100 mg ein. Salicylsäure ist der Hauptmetabolit der ASS der innerhalb von ca. 15 min entsteht, so dass diese Komedikation die Analyse der Proben auf Salicylsäure beeinflussen kann. Möglicherweise hatte der sechste Patient Acetylsalicylsäure eingenommen, z. B. als Schmerzmedikament, ohne diese Einnahme im Studienprotokoll anzugeben. Eine solche Einnahme würde die erhöhten Werte erklären. Weitere zwei Patienten des Studienzentrums 1 nahmen regelmäßig 100 mg ASS ein, ohne dass erhöhte Werte gemessen wurden. Die weiteren 22 Patienten gaben keine regelmäßige Einnahme von ASS an. Bei regelmäßiger Einnahme von ASS ist es wahrscheinlicher, dass die über der unteren Nachweisgrenze gemessenen Werte für Salicylsäure auf diese orale Aufnahme von ASS zurückzuführen sind als auf eine systemische Aufnahme des topisch applizierten Medikaments 5-FU mit Salicylsäure. Diese Aussage beruht auf einem überschlägigen Vergleich der oralen ASS Dosis mit der topischen Salicylsäuredosis durch Applikation von 5-FU/Salicylsäure. Typischerweise wurden von den Patienten maximal 0,5 ml 5-FU/Salicylsäure täglich aufgetragen, wobei dieser Wert nur den Durchschnitt darstellt und individuell sehr unterschiedlich war. Somit betrug die topisch aufgetragene Dosis ungefähr 50 mg pro Tag. Daten zur Bioverfügbarkeit von

Salicylsäure im Rahmen der 5-FU/Salicylsäure-Applikation sind nicht bekannt. Man kann jedoch davon ausgehen, dass sie deutlich niedriger als die Bioverfügbarkeit von oral verabreichtem ASS mit 40% bis 50% (Pedersen 1984, Schröder 1992) ist, so dass ein Nachweis von Salicylsäure aufgrund von ASS-Einnahme deutlich wahrscheinlicher ist.

Auch für die Analyse von Salicylsäure aus den im Rahmen der Studie gewonnenen Plasmaproben gilt, dass sie stark vom Zeitpunkt der Probenentnahme nach der letzten Applikation von ASS und/oder 5-FU/Salicylsäure abhängt. Die Halbwertszeit von Salicylsäure mit zwei bis drei Stunden (Fachinformation 1996, siehe Kap 6.2) ist im Vergleich zu 5-FU jedoch deutlich länger, so dass dieser Einfluss des Zeitpunktes der Blutentnahme deutlich geringer als bei 5-FU ausfällt. Bei den oben beschriebenen zwei Patienten, bei denen trotz regelmäßiger Gabe von 100 mg ASS keine erhöhten Werte von Salicylsäure festgestellt wurden, kann der Befund möglicherweise darauf beruhen, dass sie erst sehr spät nach der letzten Einnahme zur Visite, bei der die Blutentnahme erfolgte, erschienen.

5. Zusammenfassung

Weltweit nimmt die Häufigkeit des hellen Hautkrebses kontinuierlich zu. Die aktinische Keratose ist ein Krankheitsbild, das eine Frühform des invasiven Plattenepithelkarzinoms (Carcinoma in situ) darstellt. Neben bereits bestehenden Therapien gibt es weiterhin Bedarf an neuartigen Therapieansätzen mit verbesserter Wirksamkeit, weniger Nebenwirkungen und besseren kosmetischen Ergebnissen.

In der beschriebenen Studie sollte die Wirksamkeit von topisch appliziertem 0,5% 5-FU und 10% Salicylsäure bei der Behandlung von aktinischen Keratosen im Vergleich mit dem etablierten Therapeutikum Diclofenac mit Hyaluronsäure und einem Placebo untersucht werden. 5-FU ist in einer Konzentration von 5% ein gut bekanntes Medikament bei der Behandlung von AKs. Der zusätzliche Effekt von Salicylsäure wurde aufgrund ihrer keratolytischen Eigenschaften postuliert. In einer vorab durchgeführten Proof-of-Concept-Studie an 15 Patienten, die am Universitätsklinikum Leipzig durchgeführt wurde, konnte bereits eine gute Wirksamkeit von 0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure festgestellt werden. Daraufhin sollte die Effektivität des Medikaments im Rahmen einer randomisierten, doppelt verblindeten, dreiarmligen, parallelen, multizentrischen Studie der pharmakologischen Entwicklung der Phase III systematisch untersucht werden.

In 38 Studienzentren wurden insgesamt 470 Patienten mit mindestens vier und nicht mehr als zehn AKs der Grade I und II nach Olsen durch Randomisierung einem der drei Studienarme 5-FU mit Salicylsäure, Diclofenac mit Hyaluronsäure oder Placebo in einem Verhältnis von 2:2:1 zugeführt. Anhand der Biopsie einer bereits bei der Screeningvisite festgelegten Läsion wurde die Abheilung beurteilt.

Die Daten des Studienzentrums 1 wurden in dieser Arbeit denen der Gesamtstudie gegenübergestellt und mit diesen verglichen. Die Ergebnisse waren ähnlich, wenngleich die Differenzierung der Therapieresultate im Studienzentrum 1 deutlicher ausfiel. Es zeigte sich jeweils eine hohe Effizienz der Behandlung mit 5-FU/Salicylsäure und eine Überlegenheit gegenüber der Therapie mit Placebo sowie Diclofenac mit Hyaluronsäure.

In der Bewertung der Verträglichkeit war 5-FU mit Salicylsäure den beiden anderen Therapien jedoch im Studienzentrum 1 deutlicher unterlegen als in der Gesamtstudie. Sowohl die Anzahl der Patienten mit Nebenwirkungen als auch die durchschnittliche

Zahl der Unverträglichkeitsereignisse pro Patient waren höher als in der Gesamtstudie. Die vorwiegend lokalen Reizungen und Irritationen waren allerdings nur von milder bis moderater Ausprägung und wurden von den Patienten gut toleriert. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang zwischen den lokalen Entzündungsreaktionen als Nebenwirkung und der Wirksamkeit der Substanz.

Im Studienzentrum 1 wurden stellvertretend für die Gesamtstudienpopulation Routinelaboruntersuchungen bestehend aus Hämatologie, Serumchemie und Urinanalyse durchgeführt. Diese Untersuchungen dienten einer zusätzlichen Sicherheitsbewertung. Es wurden keine Auffälligkeiten gefunden, die mit der Studienmedikation in Zusammenhang gebracht werden konnten.

Zur Untersuchung der systemischen Exposition mit 5-FU und Salicylsäure wurden allen Patienten des Studienzentrums 1 Blutproben entnommen und analysiert. Der Anlass für die zusätzlichen pharmakokinetischen Untersuchungen waren die teilweise schweren bis lebensbedrohlichen Komplikationen, die auch bei der topischen Applikation von 5-FU bei Patienten mit Dihydropyrimidin-Dehydrogenase-Mangel auftreten können. Die erhobenen Daten belegen eine allenfalls marginale Exposition der Patienten mit 5-FU und Salicylsäure aufgrund topischer Applikation von 5-FU mit Salicylsäure.

Die angenommene Nachhaltigkeit der mit 5-FU/Salicylsäure erzielten Therapieerfolge muss im Rahmen von Follow-up Untersuchungen in den nächsten Jahren belegt werden.

6. Quellenverzeichnis

6.1 Literaturverzeichnis

Ackerman AB. Solar keratosis is squamous cell carcinoma. Arch Dermatol 2003;139:1216-17.

Ackerman AB, Mones JM. Solar (actinic) keratosis is squamous cell carcinoma. Br J Dermatol 2006;155:9-22.

Alomar A, Bichel J, McRae S. Vehicle-controlled, randomized, double-blind study to assess safety and efficacy of imiquimod 5% cream applied once daily 3 days per week in one or two courses of treatment of actinic keratoses on the head. Br J Dermatol 2007;157(1):133-41.

Armstrong BK, Kricger A. The epidemiology of UV induced skin cancer. J Photochem Photobiol B 2001;63(1-3):8-18.

Babilas P, Landthaler M, Szeimies RM. Die aktinische Keratose. Hautarzt 2003;54(6):551-60.

Benjamin CL, Ananthaswamy HN. P53 and the pathogenesis of skin cancer. Toxicol Appl Pharmacol 2007;224(3):241-8.

Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. Cancer Res 2003;63(8):1727-30.

Braakhuis BJ, Brakenhoff RH, Leemans CR. Second field tumors: a new opportunity for cancer prevention? Oncologist 2005;10(7):493-500.

Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. J Investig Dermatol Symp Proc 1996;1(2):136-42.

Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma ("actinic keratosis"). J Am Acad Dermatol 2000;42(1 Pt 2):11-7.

Dainichi T, Amano S, Matsunaga Y et al. Chemical peeling by SA-PEG remodels photodamaged skin: suppressing p53 and normalizing keratinocyte differentiation. *J Invest Dermatol* 2006;126(2):416-21.

de Vries E, Coebergh JW, van der Rhee H. Trends, causes, approach and consequences related to the skin-cancer epidemic in the Netherlands and Europe. *Ned Tijdschr Geneesk* 2006;150(20):1108-15.

Diasio RB, Harris BE. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet* 1989;16(4):215-37.

Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol* 2002;146 Suppl 61:1-6.

Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E. Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation. *Biochemistry* 2003;42(30):9221-6.

Fecker LF, Stockfleth E, Nindl I, Ulrich C, Forschner T, Eberle J. The role of apoptosis in therapy and prophylaxis of epithelial tumours by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Br J Dermatol* 2007;156 Suppl 3:25-33.

Fecker LF, Stockfleth E, Braun FK et al. Enhanced death ligand-induced apoptosis in cutaneous SCC cells by treatment with diclofenac/hyaluronic acid correlates with downregulation of c-FLIP. *J Invest Dermatol* 2010;130(8):2098-109.

Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988;124(6):869-71.

Freeman M, Vinciullo C, Francis D et al. A comparison of photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate (Metvix) with single cycle cryotherapy in patients with actinic keratosis: a prospective, randomized study. *J Dermatolog Treat* 2003;14(2):99-106.

Fritsch P. Erythematosquamöse Dermatosen. In: *Dermatologie Venerologie*. 2. Auflage. Berlin Heidelberg, 2004:367.

Frost CA, Green AC. Epidemiology of solar keratoses. *Br J Dermatol* 1994;131(4):455-64.

Frost C, Williams G, Green A. High incidence and regression rates of solar keratoses in a queensland community. *J Invest Dermatol* 2000;115(2):273-7.

Fuchs A, Marmur E. The kinetics of skin cancer: progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma. *Dermatol Surg* 2007;33(9):1099-101.

Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol* 2000;42(1 Pt 2):23-4.

Goncalves JC. Treatment of solar keratoses with a 5-fluorouracil and salicylic acid varnish. *Br J Dermatol* 1975;92(1):85-8.

Guenther ST, Hurwitz RM, Buckel LJ, Gray HR. Cutaneous squamous cell carcinomas consistently show histologic evidence of in situ changes: a clinicopathologic correlation. *J Am Acad Dermatol* 1999;41(3 Pt 1):443-8.

Gupta AK, Davey V, Mcphail H. Evaluation of the effectiveness of imiquimod and 5-fluorouracil for the treatment of actinic keratosis: Critical review and meta-analysis of efficacy-studies. *J Cutan Med Surg* 2005;9(5):209-14.

Hadley G, Derry S, Moore RA. Imiquimod for actinic keratosis: systematic review and meta-analysis. *J Invest Dermatol* 2006;126(6):1251-5.

Harwood CA, Proby CM. Human papillomaviruses and non-melanoma skin cancer. *Curr Opin Infect Dis* 2002;15(2):101-14.

Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O et al. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signalling pathway. *Nat Immunol* 2002;3(2):196-200.

Holme SA, Malinowszky K, Roberts DL. Changing trends in non-melanoma skin cancer in South Wales, 1988-98. *Br J Dermatol* 2000;143(6):1224-9.

Jackson S, Storey A. E6 proteins from diverse cutaneous HPV types inhibit apoptosis in response to UV damage. *Oncogene* 2000;19(4):592-8.

Johnson MR, Hageboutros A, Wang K, High L, Smith JB, Diasio RB. Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase-deficient patient after treatment with topical 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999;5(8):2006-11.

Jorizzo J, Dinehart S, Matheson R et al. Vehicle-controlled, double-blind, randomized study of imiquimod 5% cream applied 3 days per week in one or two courses of treatment for actinic keratoses on the head. *J Am Acad Dermatol* 2007;57(2):265-8.

Jury CS, Ramraka-Jones VS, Gudi V, Herd RM. A randomized trial of topical 5% 5-fluorouracil (Efudix cream) in the treatment of actinic keratoses comparing daily with weekly treatment. *Br J Dermatol* 2005;153(4):808-10.

Karagas MR, Nelson HH, Zens MS et al. Squamous cell and basal cell carcinoma of the skin in relation to radiation therapy and potential modification of risk by sun exposure. *Epidemiology* 2007a;18(6):776-84.

Karagas MR, Zens MS, Nelson HH et al. Measures of cumulative exposure from a standardized sun exposure history questionnaire: a comparison with histologic assessment of solar skin damage. *Am J Epidemiol* 2007b;165(6):719-26.

Karow T, Lang-Roth R. Arzneitherapie in der Dermatologie. In: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Vol. 14. Köln: Selbstverlag 2006:953-974.

Kaufmann R, Spelman L, Weightman W et al. Multicentre intraindividual randomized trial of topical methyl aminolevulinate-photodynamic therapy vs. cryotherapy for multiple actinic keratoses on the extremities. *Br J Dermatol* 2008;158(5):994-9.

Kaur RR, Alikhan A, Maibach HI. Comparison of topical 5-fluorouracil formulations in actinic keratosis treatment. *J Dermatol Treat* 2010;21(5):267-71.

Kowalzik L, Ziegler H. Photoallergic contact dermatitis from topical diclofenac in Solaraze gel. *Contact Dermatitis* 2006;54(6):348-9.

Krawtchenko N, Roewert-Huber J, Ulrich M, Mann I, Sterry W, Stockfleth E. A randomised study of topical 5% imiquimod vs. topical 5-fluorouracil vs. cryosurgery in immunocompetent patients with actinic keratoses: a comparison of clinical and

histological outcomes including 1-year follow-up. *Br J Dermatol* 2007;157 Suppl 2: 34-40.

Kütting B, Drexler H. UV-induced skin cancer at workplace and evidence-based prevention. *Int Arch Occup Environ Health* 2010;83(8):843-54.

Lebwohl M. The role of salicylic acid in the treatment of psoriasis. *Int J Dermatol* 1999; 38:16-24.

Leiter U, Garbe C. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer-the role of sunlight. *Adv Exp Med Biol* 2008;624:89-103.

Levy S, Furst K, Chern W. A pharmacokinetic evaluation of 0,5% and 5% fluorouracil topical cream in patients with actinic keratosis. *Clin Ther* 2001;23(6):908-20.

Lober BA, Lober CW. Actinic keratosis is squamous cell carcinoma. *South Med J* 2000;93(7):650-5.

Loven K, Stein L, Furst K, Levy S. Evaluation of the efficacy and tolerability of 0,5% fluorouracil cream and 5% fluorouracil cream applied to each side of the face in patients with actinic keratosis. *Clin Ther* 2002;24(6):990-1000.

Marrot L, Meunier JR. Skin DNA photodamage and its biological consequences. *J Am Acad Dermatol* 2008;58(5 Suppl 2):139-48.

McBride P, Neale R, Pandeya N, Green A. Sun-related factors, betapapillomavirus, and actinic keratoses: a prospective study. *Arch Dermatol* 2007;143(7):862-8.

Melnikova VO, Ananthaswamy HN. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutat Res* 2005;571(1-2):91-106.

Memon AA, Tomenson JA, Bothwell J, Friedmann PS. Prevalence of solar damage and actinic keratosis in a Merseyside population. *Br J Dermatol* 2000;142(6):1154-9.

Miller RL, Gerster JF, Owens ML, Slade HB, Tomai MA. Imiquimod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. *Int J Immunopharmacol* 1999;21(1):1-14.

Mittelbronn MA, Mullins DL, Ramos-Caro FA, Flowers FP. Frequency of pre-existing actinic keratosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol* 1998;37(9):677-81.

Motley R, Kersey P, Lawrence C; British Association of Dermatologists; British Association of Plastic Surgeons; Royal College of Radiologists, Faculty of Clinical Oncology. Multiprofessional guidelines for the management of the patient with primary cutaneous squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2002;146(1):18-25.

Muschig D, Braspenning-Wesch I, Stockfleth E, Rösl F, Hofmann TG, Nindl I. Cutaneous HPV23 E6 Prevents p53 Phosphorylation through Interaction with HIPK2. *PLoS One* 2011;6(11):e27655.

Naylor MF, Boyd A, Smith DW, Cameron GS, Hubbard D, Neldner KH. High sun protection factor sunscreens in the suppression of actinic neoplasia. *Arch Dermatol* 1995;131(2):170-5.

Nindl I, Gottschling M, Stockfleth E. Human papillomaviruses and non-melanoma skin cancer: basic virology and clinical manifestations. *Dis Markers* 2007;23(4):247-59.

Nishigori C. Cellular aspects of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol Sci* 2006;5(2):208-14.

Olsen EA, Abernethy ML, Kulp-Shorten C et al. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating masoprocol cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J Am Acad Dermatol* 1991;24(5 Pt 1):738-43.

Pariser DM, Lowe NJ, Stewart DM et al. Photodynamic therapy with topical methyl aminolevulinate for actinic keratosis: results of a prospective randomized multicenter trial. *J Am Acad Dermatol* 2003;48(2):227-32.

Pedersen AK, FitzGerald GA. Dose-related kinetics of aspirin. Presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *N Engl J Med* 1984;311(19):1206-11.

Pirard D, Vereecken P, Mélot C, Heenen M. Three percent diclofenac in 2.5% hyaluronan gel in the treatment of actinic keratoses: a meta-analysis of the recent studies. *Arch Dermatol Res* 2005;297(5):185-9.

Rivers JK, Arlette J, Shear N, Guenther L, Carey W, Poulin Y. Topical treatment of actinic keratoses with 3.0% diclofenac in 2.5% hyaluronan gel. *Br J Dermatol* 2002;146(1):94-100.

Robins P, Gupta AK. The use of topical fluorouracil to treat actinic keratosis. *Cutis* 2002;70(2 Suppl):4-7.

Röwert-Huber J, Stockfleth E, Kerl H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis – an update. *Br J Dermatol* 2007a;157 Suppl 2:18-20.

Röwert-Huber J, Patel MJ, Forschner T et al. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol* 2007b;156 Suppl 3:8-12.

Sachs DL, Kang S, Hammerberg C et al. Topical Fluorouracil for Actinic Keratoses and Photoaging. *Arch Dermatol* 2009;145(6):659-666.

Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 2000;42(1 Pt 2):4-7.

Schlaak M, Simon JC. Topical treatment of actinic keratoses with low-dose 5-fluorouracil in combination with salicylic acid – a pilot study. *J Dtsch Dermatol Ges* 2010;8(3):174-8.

Schmook T, Stockfleth E. Current treatment patterns in non-melanoma skin cancer across Europe. *J Dermatol Treat* 2003;14 Suppl 3:3-10.

Schröder H, Schrör K. Clinical Pharmacology of acetylsalicylic acid. *Z Kardiol* 1992;81 Suppl 4:171-5.

Schwartz RA. The actinic keratosis. A perspective and update. *Dermatol Surg* 1997;23(11):1009-19.

Schwartz RA, Bridges TM, Butani AK, Ehrlich A. Actinic keratosis: an occupational and environmental disorder. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22(5):606-15.

Smith SR, Morhenn VB, Piacquadio DJ. Bilateral comparison of the efficacy and tolerability of 3% diclofenac sodium gel and 5% 5-fluorouracil cream in the treatment of actinic keratoses of the face and scalp. *J Drugs Dermatol* 2006;5(2):156-9.

Sterry W, Paus R. In situ-Karzinome. In: *Checkliste Dermatologie*. Vol. 5. Stuttgart: Thieme, 2005a:412-13.

Sterry W, Paus R. Phototherapie. In: *Checkliste Dermatologie*. Vol. 5. Stuttgart: Thieme, 2005b:622-25.

Stockfleth E, Ulrich C, Meyer T, Christophers E. Epithelial malignancies in organ transplant patients: clinical presentation and new methods of treatment. *Recent Results Cancer Res* 2002;160:251-8.

Stockfleth E, Schmook T, Diepgen Th et al. Aktinische Keratose. Gemeinsame Leitlinie der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft und des Berufsverbandes der Deutschen Dermatologen in Zusammenarbeit mit der GD Gesellschaft für Dermopharmazie – Task Force Licht. *Hautkrebs. Prävention*. 08.09.2004.

Stockfleth E, Nindl I, Sterry W, Ulrich C, Schmook T, Meyer T. Human Papillomaviruses in transplant-associated skin cancers. *Dermatol Surg* 2004b;30(Pt 2):604-9.

Stockfleth E, Sterry W, Carey-Yard M, Bichel J. Multicentre, open-label study using imiquimod 5% cream in one or two 4-week courses of treatment for multiple actinic keratoses on the head. *Br J Dermatol* 2007;157 Suppl 2:41-6.

Stockfleth E, Ferrandiz C, Grob JJ, Leigh I, Pehamberger H, Kerl H. Development of a treatment algorithm for actinic keratoses: a European consensus. *Eur J Dermatol* 2008;18(6):651-9.

Stockfleth E. Topical management of actinic keratosis and field cancerisation. *G Ital Dermatol Venereol* 2009a;144(4):459-62.

Stockfleth E, Ulrich C, Lange-Asschenfeldt B. Treatment of multiple, multiform actinic keratoses on the head with imiquimod 5% cream. *Eur J Dermatol* 2009b;19(4):355-9.

Stockfleth E, Terhorst D, Braathen L et al. Guidelines for the management of Actinic Keratoses. European Dermatology Forum. Aktualisierung 2011 in der Fassung vom 20.10.2010.

Stockfleth E, Kerl H, Zwingers T, Willers C. Low-dose 5-fluorouracil in combination with salicylic acid as a new lesion-directed option to treat topically actinic keratoses: histological and clinical study results. *Br J Dermatol* 2011;165(5):1101-8.

Stough D, Bucko AD, Vamvakis G, Rafal ES, Davis SA. Fluorouracil cream 0,5% for actinic keratoses on multiple body sites: an 18-month open-label study. *Cutis* 2010;85(5):267-73.

Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S et al. Photodynamic therapy using topical methyl 5-aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: A prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol* 2002;47(2):258-62.

Thai KE, Fergin P, Freeman M et al. A prospective study of the use of cryosurgery for the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol* 2004;43(9):687-92.

Trakatelli M, Ulrich C, del Marmol V, Euvrard S, Stockfleth E, Abeni D. Epidemiology of nonmelanoma skin cancer (NMSC) in Europe: accurate and comparable data are needed for effective public health monitoring and interventions. *Br J Dermatol* 2007;156 Suppl 3:1-7.

Ulrich C, Christophers E, Sterry W, Meyer T, Stockfleth E. Hauterkrankungen bei organtransplantierten Patienten. *Hautarzt* 2002;53(8):524-33.

Ulrich M, Maltusch A, Röwert-Huber J et al. Actinic keratoses: non-invasive diagnosis for field cancerisation. *Br J Dermatol* 2007;156 Suppl 3:13-7.

Ulrich M, Krueger-Corcoran D, Roewert-Huber J, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Reflectance confocal microscopy for noninvasive monitoring of therapy and detection of subclinical actinic keratoses. *Dermatology* 2010;220(1):15-24.

van Kuilenburg AB, Muller EW, Haasjes J et al. Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidin dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-

fluorouracil: frequency of the common IVS14+1g>A mutation causing DPD deficiency. Clin Cancer Res 2001;7(5):1149-53.

van Kuilenburg AB, Meisma R, Zoetekouw L, van Gennip AH. Increased risk of grade IV neutropenia after administration of 5-fluorouracil due to a dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: high prevalence of the IVS14+1g>a mutation. Int J Cancer 2002;101(3):253-8.

van Kuilenburg AB, Häusler P, Schalhorn A et al. Evaluation of 5-Fluorouracil pharmacokinetics in cancer patients with a c.1905+1G>A mutation in DPYD by means of a Bayesian limited sampling strategy. Clin Pharmacokinet 2012;51(3):163-74.

Weiss J, Menter A, Hevia O et al. Effective treatment of actinic keratosis with 0,5% fluorouracil cream for 1, 2, or 4 weeks. Cutis 2002;70(2 Suppl):22-9.

Wolf JE Jr, Taylor JR, Tschien E, Kang S. Topical 3.0% diclofenac in 2.5% hyaluronan gel in the treatment of actinic keratoses. Int J Dermatol 2001;40(11):709-13.

Zouboulis CC, Röhrs H. Kryochirurgische Behandlung aktinischer Keratosen mit evidenzbasierter Übersicht. Hautarzt 2005;56(4):353-8.

6.2 Weitere Quellen

Fachinformation Aspirin® 100mg – Tabletten, Wirkstoff: Acetylsalicylsäure, Z.Nr.: 14.252, Zulassungsinhaber: Bayer Austria, Wien, Hersteller: Bayer AG, Leverkusen, Deutschland. 5403/A3 – 20.03.1996. (accessed August 14, 2010, at http://www.consumercare.bayer.at/fileadmin/aspirin/pdf/aspirin_100.pdf).

Fachinformation Actikerall® 5mg/g + 100mg/g – Lösung zur Anwendung auf der Haut, Wirkstoffe: Fluorouracil und Salicylsäure, Z.Nr.: 80136.00.00, Zulassungsinhaber: Almirall Hermal, Reinbek, Deutschland. (accessed February 22, 2012, at <http://www.fachinfo.de>).

Integrated Report. Study on the efficacy of Verrumal® compared to placebo and Solaraze® in the treatment of actinic keratosis grade I to II. Study number: H 1005 6002 – 0702. Sponsor: Almirall Hermal GmbH. Coordinating Investigator Prof. E. Stockfleth.

Date of Report: Final, October 02, 2009. (Der Integrated Report wurde von Almirall Hermal GmbH dem Studienzentrum 1 und der Autorin dieser Dissertation freundlicherweise zur Verfügung gestellt.)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Eggert Stockfleth danke ich für die Überlassung des Themas und für seine Betreuung, Beratung und Anregungen. Außerdem möchte ich ihm für sein großes Verständnis und seine Geduld sowie für sein Engagement für die in dieser Arbeit beschriebene Studie danken.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern, Frau Wiebke Grotrian, meinen Freunden und meinen Schwiegereltern, die mich immer unterstützt und an mich geglaubt haben. Ohne ihre umfassende Hilfe und Motivation wäre ich nicht an diesem Punkt in meinem Leben angekommen.

Meinem Mann Ulrich Reineke gebührt ein großer Dank für seine Unterstützung, für seine Anregungen und für seine besondere Begeisterungsfähigkeit und seinen Optimismus, die mich immer wieder motiviert haben, diese Arbeit fertig zu stellen.

Der größte Dank aber gilt meinen Kindern Finn und Lennart, die, ohne es zu ahnen, mit ihrer Lebendigkeit und Lebensfreude so viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Sie haben es geschafft, mir bei den Anstrengungen während der Anfertigung der Dissertation die nötige Gelassenheit zu geben.

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

Erklärung an Eides Statt

„Ich, Imke Risius, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Studie zur Wirksamkeit von 0,5% 5-FU mit 10% Salicylsäure in der topischen Behandlung aktinischer Keratosen Grad I und II – Ergebnisse des Studienzentrums 1 im Vergleich mit den Ergebnissen der Gesamtstudie unter besonderer Berücksichtigung der pharmakokinetischen Untersuchungen* selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den

Imke Risius