

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

DISSERTATION

**Vergleich der topischen Behandlung multipler aktinischer  
Keratosen mit 3 % Diclofenac, 5 % 5-Fluorouracil  
und Kryotherapie**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Johanna Lüdecke

aus Berlin

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. E. Stockfleth  
2. Prof. Dr. med. H. Schöfer  
3. Prof. Dr. med. U. Reinhold

Datum der Promotion: 14.02.2014

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>AKTINISCHE KERATOSEN</b>	<b>1</b>
1.1	Definition	1
1.2	Pathogenese	1
1.3	Epidemiologie und Prognose	2
1.4	Klinik	3
1.5	Histologie	3
1.6	Diagnostik	4
1.7	Therapie	4
1.7.1	Überblick	4
1.7.2	Physikalische und operative Therapie	5
1.7.3	Pharmakotherapie	6
1.8	Prävention	10
1.9	Fragestellung und Zielsetzung	11
<b>2</b>	<b>PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>12</b>
2.1	Patientenkollektiv	12
2.1.1	Patientenrekrutierung	12
2.1.2	Ein-/Ausschluss-/Abbruchkriterien	12
2.1.3	Beschreibung des Untersuchungskollektivs	14
2.2	Studienbeschreibung	15
2.2.1	Studienplanung	15
2.2.2	Diagnosekriterien von aktinischen Keratosen	16
2.2.3	Visiten	17
2.2.4	Hautgewebeproben	18
2.2.5	Routinehistologie	19
2.2.6	Medikamentöse Therapie	19
2.2.7	Kryotherapie	20

2.2.8 Fragebogen .....	20
2.3 Studienmedikamente und -geräte .....	22
2.4 Statistische Analyse .....	22
<b>3 ERGEBNISSE .....</b>	<b>23</b>
3.1 Klinische Evaluation .....	24
3.1.1 Abheilungsraten bei Behandlungsende .....	24
3.1.2 Abheilungsraten im Nachbeobachtungszeitraum.....	24
3.1.3 Abnahmeraten bei Behandlungsende.....	25
3.1.4 Abnahmeraten im Nachbeobachtungszeitraum .....	26
3.1.5 Rezidivraten im Nachbeobachtungszeitraum.....	26
3.1.6 Auftreten neuer Läsionen im Nachbeobachtungszeitraum .....	27
3.2 Histologische Evaluation .....	28
3.3 Endpunkt „kosmetisches Ergebnis“ .....	29
3.4 Endpunkt „Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes“ .....	31
3.5 Unerwünschte Ereignisse.....	33
<b>4 DISKUSSION .....</b>	<b>37</b>
4.1 Klinische Evaluation .....	37
4.1.1 Abheilungsraten.....	37
4.1.2 Abnahmeraten .....	39
4.1.3 Rezidivraten.....	41
4.1.4 Neue Läsionen.....	41
4.2 Histologische Evaluation .....	42
4.3 Kosmetisches Ergebnis.....	42
4.4 Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes .....	44
4.5 Limitationen der Arbeit .....	44
4.6 Ausblick.....	45
<b>5 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>48</b>
<b>6 LITERATUR .....</b>	<b>51</b>

<b>7</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>60</b>
	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>62</b>
	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>63</b>
	<b>SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG</b> .....	<b>64</b>

# 1 AKTINISCHE KERATOLEN

## 1.1 Definition

Die aktinische Keratose (AK) stellt ein Plattenepithelkarzinom (SCC) der Epidermis *in situ* dar <sup>1</sup>. Histologisch erfüllt die AK alle Kriterien eines Plattenepithelkarzinoms, bleibt jedoch auf die Epidermis beschränkt, ohne die Basalzellmembran zu durchbrechen. Es handelt sich um eine intraepidermale Proliferation zytologisch atypischer Keratinozyten mit charakteristischen chromosomalen Aberrationen. Die aktinische Keratose wurde erstmalig im Jahr 1896 als „keratosis senilis“ beschrieben <sup>2</sup> und gehört zu der Gruppe nichtmelanozytärer Hauttumoren.

## 1.2 Pathogenese

Aktinische Keratosen werden durch kumulative Exposition gegenüber ultravioletter (UV) Strahlung induziert <sup>3</sup>. Sie entstehen nach vielen Jahren intensiver Sonnenbelastung, was den synonym gebrauchten Begriff der „solaren Keratose“ erklärt. UV-B-Strahlung (Wellenlänge 290 - 320 nm) stellt die wichtigste Strahlenqualität für die Entstehung von aktinischen Keratosen dar <sup>4</sup>, aber auch länger wellige UV-A-Strahlung (Wellenlänge 320 - 400 nm) kann AK verursachen <sup>5</sup>. Ultraviolette Strahlung führt zu der Bildung von Pyrimidindimeren in Desoxyribonukleinsäure (DNA) <sup>6,7</sup>. Mutationen im p53-Tumorsuppressorgen scheinen dabei eine Schlüsselrolle einzunehmen <sup>8,9</sup>. Genetische Alterationen in Keratinozyten und eine neoplastische Transformation sind die Folgen. Invadieren dysplastisch veränderte Epithelzellen im Verlauf der Tumorprogression das Korium, ist ein invasives Wachstum eingeleitet. Neben den genannten Faktoren sind humane Papillomaviren (HPV) an der Entstehung von aktinischen Keratosen als Kofaktoren beteiligt <sup>10-12</sup>. Das virale E6-Protein kutaner HPV inhibiert UV-induzierte apoptotische Mechanismen und entfaltet somit tumorigene Eigenschaften <sup>13</sup>.

In aktinischen Keratosen und invasiven Plattenepithelkarzinomen können gleiche chromosomale Aberrationen <sup>14</sup> und dysregulierte Gene <sup>15,16</sup> nachgewiesen werden. Untersuchungen zeigten, dass 72 % <sup>17</sup> bis 97,2 % <sup>18</sup> der SCC histopathologische Veränderungen im Sinne einer aktinischen Keratose in den Läsionen selbst oder deren Peripherie aufweisen <sup>19</sup> und dass 44 % der metastasierten Plattenepithelkarzinome auf dem Boden einer AK entstehen <sup>20</sup>.

### 1.3 Epidemiologie und Prognose

Aktinische Keratosen werden am häufigsten bei hellhäutigen Menschen (Fitzpatrick-Lichttyp I - III <sup>21</sup>) in Regionen hoher UV-Einstrahlung beobachtet <sup>22,23</sup>. Sie manifestieren sich überwiegend nach dem 50. Lebensjahr <sup>24</sup>. Männliche Personen sind dabei häufiger betroffen <sup>23-25</sup>. Neben Alter und Geschlecht spielen geografische Faktoren (geografische Breite und Höhenlage) für die Entstehung von aktinischen Keratosen eine Rolle <sup>26</sup>. Individuen mit Sonnenbränden in der Kindheit <sup>22</sup>, vorbestehenden Tumoren der Haut <sup>27</sup>, bestimmten genetischen Prädispositionen (z. B. okulokutaner Albinismus) <sup>28</sup> sowie chronischer Immunsuppression (z. B. Organtransplantatempfänger) <sup>29,30</sup> haben ein erhöhtes Risiko, an aktinischen Keratosen zu erkranken.

In Großbritannien wird eine Prävalenz von 15,4 % bei Männern und 5,9 % bei Frauen in der erwachsenen Bevölkerung angenommen. Diese steigt bei über 70-Jährigen auf 34,1 % bei Männern und 18,2 % bei Frauen <sup>25</sup>. Eine Studie aus Australien deklarierte eine weitaus höhere Prävalenz in der kaukasischen Bevölkerung: Frost et al. gehen von 55 % der Männer und 37 % der Frauen im Alter von 30 bis 69 Jahren aus, die von AK betroffen sind. Die Untersuchung zeigte auch, dass Personen, die bereits an aktinischen Keratosen erkrankt sind, eine höhere Wahrscheinlichkeit aufweisen, innerhalb eines Jahres neue Läsionen zu entwickeln <sup>24</sup>. Eine Arbeit aus Italien ergab, dass nahezu die Hälfte der von AK Betroffenen sich ihrer Erkrankung nicht bewusst sind <sup>23</sup>. Verlässliche epidemiologische Zahlen zur Häufigkeit aktinischer Keratosen in der deutschen Bevölkerung fehlen.

Das Risiko der malignen Transformation einer aktinischen Keratose zu einem invasiven Plattenepithelkarzinom innerhalb eines Jahres wird mit 0,075 % angegeben <sup>31</sup>. Es wird jedoch geschätzt, dass bei 6,1 % bis 10,2 % der Patienten mit multiplen AK innerhalb eines Zehn-Jahres-Zeitraums mit dem Auftreten eines invasiven SCC zu rechnen ist <sup>32</sup>. Berhane et al. beschrieben eine der Progression zu invasiven Plattenepithelkarzinomen vorausgehende inflammatorische Phase der aktinischen Keratosen, in welcher die Läsionen klinisch durch erythematöse Veränderungen und Schmerzhaftigkeit in Erscheinung treten <sup>33</sup>. Ferner wird deklariert, dass klinisch hyperkeratotisch imponierende AK eine erhöhte Malignitätsrate aufweisen <sup>34</sup>. In einigen Fällen können Spontanremissionen von aktinischen Keratosen beobachtet werden <sup>24,35</sup>.

## 1.4 Klinik

Aktinische Keratosen manifestieren sich als hyperkeratotische, squamöse Makulae, Papulae oder Plaques. Sie imponieren als hautfarbene, rötliche und bräunliche Flecken sowie krustige Erhebungen der Haut, die häufig besser zu tasten als zu sehen sind<sup>36</sup> und deren Größe im Durchmesser von wenigen Millimetern bis etwa zwei Zentimeter variiert. Die Betroffenen sind meist beschwerdefrei. Gelegentlich werden Juckreiz, Brennen oder Schmerzen im Zusammenhang mit der Erkrankung beschrieben. Aktinische Keratosen werden nahezu ausschließlich an Körperstellen hoher chronischer UV-Exposition, den „Sonnterrassen“ der Haut, beobachtet. An Armen und Handrücken sowie an der Kopfhaut und der Stirn treten sie am häufigsten auf<sup>25</sup>. Hensen et al. berichteten von 86,1 % der aktinischen Keratosen, die im Kopfbereich gelegen sind<sup>27</sup>. Am Übergangsepithel des Lippenrotes manifestieren sich AK als Cheilitis actinica. Für die Therapie von Bedeutung ist eine Differenzierung zwischen einzeln stehenden Läsionen oder einem flächenhaften Auftreten. In den meisten Fällen treten aktinische Keratosen neben noch subklinischen Läsionen mit genetisch alterierten, präneoplastischen Keratinozyten multiple in größeren, UV-Licht exponierten Arealen auf. Man spricht in diesem Zusammenhang von der so genannten Feldkanzerisierung<sup>37,38</sup>. Selten manifestieren sie sich einzeln.

## 1.5 Histologie

Zu Beginn der Erkrankung finden sich eine Vermehrung basaler Keratinozyten und einzelne atypische Zellen in der basalen Zone der Epidermis. Im weiteren Verlauf können transformierte Keratinozyten mit großen, hyperchromatischen, pleomorphen Zellkernen in höheren Epidermislagen nachgewiesen werden. Das Epithel der Adnexstrukturen (Akrosyngium und Akrotrichium) bleibt von dem Erkrankungsprozess ausgespart. Dies bedingt das charakteristische Vorhandensein einer alternierenden Para- und Orthokeratose („pink and blue“). Dyskeratotische Zellen und Mitosen werden häufig beobachtet. Schließlich findet sich eine Beteiligung der gesamten Epidermis. In der oberen Dermis besteht zumeist begleitend eine ausgeprägte solare Elastose. Lymphoide Infiltrate kommen häufig vor. Es lassen sich hypertrophe, atrophe, bowenoide, akantholytische, lichenoide und pigmentierte Subtypen von aktinischen Keratosen unterscheiden<sup>36</sup>.



Histopathologische Klassifikationen der AK mit einer Einteilung in drei Schweregrade (AK I - III) in Anlehnung an die zervikale intraepitheliale Neoplasie (CIN) wurden von Yantsos et al.<sup>39</sup> sowie Röwert-Huber und Kollegen<sup>1</sup> vorgeschlagen.

## **1.6 Diagnostik**

Aktinische Keratosen lassen sich in den meisten Fällen durch ihr klinisches Erscheinungsbild diagnostizieren. In Zweifelsfällen kann die Dermatoskopie zur Abgrenzung gegenüber der Verruca seborrhoeica und anderen Hautveränderungen eingesetzt werden. Die neuere Technologie der Reflektanz-konfokalen Mikroskopie (RCM) erlaubt eine nichtinvasive Diagnostik von epithelialen Hauttumoren in vivo<sup>40,41</sup> oder ex vivo<sup>42</sup>. Bei dem Verdacht auf das Vorliegen eines invasiven Tumors, bei Vorliegen ulzerierter oder blutender Läsionen ist eine histologische Abklärung durch die Entnahme einer Stanzbiopsie oder eine Kürettage jedoch unabdingbar<sup>43</sup>.

## **1.7 Therapie**

### **1.7.1 Überblick**

Da zum jetzigen Zeitpunkt nicht voraus gesagt werden kann, welche AK sich in ein potentiell metastasierendes Plattenepithelkarzinom mit destruirendem Wachstum umwandelt, ist die Indikation zu einer frühzeitigen und konsequenten Behandlung von aktinischen Keratosen gegeben. Die Dauer der Erkrankung, die Lokalisation und Ausdehnung der aktinischen Schädigung, Alter, Komorbidität und der Immunstatus des Patienten als auch dessen Compliance sind in die Therapieentscheidung mit einzubeziehen. Bei den vielfältigen Behandlungsmöglichkeiten lassen sich physikalische und operative von pharmakologischen Therapieoptionen unterscheiden. Dabei handelt es sich bei den pharmakologischen Methoden um so genannte Flächentherapieverfahren, die sich für die Behandlung von Krebsfeldern eignen und subklinische (noch nicht sichtbare) Läsionen möglicherweise mitbehandeln, während sich lokal destruirende (physikalische und operative) Therapieformen durch eine kurze Applikationsdauer auszeichnen, sich aber größtenteils nur für die Behandlung einzelner aktinischer Keratosen einsetzen lassen („spot treatment“).

## 1.7.2 Physikalische und operative Therapie

### 1.7.2.1 Kryotherapie

Die Kryotherapie ist ein physikalisch destruierendes Verfahren, das weltweit häufig zur ablativen Behandlung von aktinischen Keratosen eingesetzt wird<sup>44</sup>. Als unspezifische Technik zerstört sie atypische, aber auch intakte epitheliale Zellen durch Separation der Epidermis von der Dermis<sup>45</sup>. Es wird angenommen, dass eine Spaltung von Phospholipiden in Zellmembranen für den Untergang von Zellen verantwortlich ist. Darüber hinaus soll die Kryotherapie zu einer vaskulären Stasis und Anoxie im Gewebe führen, die in ischämischer Nekrose der betreffenden Zellen mündet<sup>46</sup>. Die Kryotherapie wird als Kontakt- oder Sprayverfahren mit flüssigem Stickstoff als Gefriermittel zur Behandlung einzelner Läsionen und als „Kryo-Peeling“<sup>44</sup> bei disseminierten aktinischen Keratosen angewandt. Bezüglich der Häufigkeit der Anwendung, der Dauer der Applikation und der Temperatur im Behandlungsgebiet ist sie nicht endgültig standardisiert. Größere kontrollierte Studien hierzu fehlen. Eine Gefrierdauer von fünf bis 20 Sekunden mit einem Gefriersaum von einem bis drei Millimeter um die Läsionen ohne Wiederholung des Gefrierauftauzyklus werden für die Therapie aktinischer Keratosen empfohlen<sup>45,47</sup>.

In einer randomisierten Untersuchung mit 70 Patienten ergaben sich Abheilungsraten von 98,8 % nach Anwendung der Kryotherapie im Sprayverfahren<sup>48</sup>. Szeimies et al. beschrieben komplette Remissionen der aktinischen Keratosen von 75 % nach Applikation von zwei Zyklen Spray-Kryotherapie in einer randomisierten, prospektiven Studie, nachdem hyperkeratotische Läsionen zuvor mit oberflächlicher Kürettage behandelt worden waren<sup>49</sup>. Zur Therapie der Feldkanzerisierung eignet sich das so genannte Kryo-Peeling nur bedingt. Chiarello beschrieb Rezidivraten nach Anwendung dieses großflächigen Sprayverfahrens von 9 % in einem Nachbeobachtungszeitraum von sechs Monaten bis zu einem Jahr<sup>44</sup>.

Häufige Begleiterscheinungen der kryotherapeutischen Behandlung sind lokaler Schmerz, Erythem sowie postoperative Ödem- und Vesikelbildung. Pigmentstörungen (läsionale Hypo- und periphere Hyperpigmentierung) sowie Atrophie bedingte Narbenbildung stellen langfristige unerwünschte Wirkungen der Kryotherapie dar<sup>50</sup>.

Weitere etablierte physikalische und operative Behandlungsformen umfassen die Kürettage und Exzision<sup>51</sup>, den Einsatz von Lasertherapie<sup>52,53</sup> sowie die Anwendung chemischer Peelings<sup>54,55</sup> und der photodynamischen Therapie<sup>49,56-60</sup>.

Die photodynamische Therapie (PDT) basiert auf einer selektiven Destruktion epidermaler und dermaler neoplastischer Zellen unter Schonung des umgebenden Gewebes. Die topische Applikation photosensibilisierender Porphyrine sowie anschließende Bestrahlung des Hautareals mit hochenergetischem Licht führen zu der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, die Kohlenstoffdoppelbindungen zerstören und eine Apoptose von Tumorzellen einleiten. Auf Grund seines erhöhten Metabolismus akkumuliert dysplastisch verändertes Gewebe vermehrt photosensibilisierende Substanzen oder deren Vorläufersubstrate. Abheilungsraten von 71 bis 100 %<sup>61</sup> sowie exzellente und gute kosmetische Resultate in über 90 %<sup>58</sup> werden bei der Behandlung aktinischer Keratosen beschrieben.

### **1.7.3 Pharmakotherapie**

#### **1.7.3.1 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure**

Diclofenac ist ein Arylsäurederivat und gehört zu den nonsteroidalen Antiphlogistika (NSAID). Als nichtselektiver Inhibitor der Cyclooxygenasen (COX) 1 und 2 greift es hemmend in den Arachidonsäurestoffwechsel ein und unterdrückt die Prostaglandinsynthese. Durch Begünstigung von Proliferation und Neoangiogenese sowie Hemmung der Apoptose fördert eine Aktivierung von COX 2 den Prozess der Karzinogenese, während Diclofenac in Hyaluronsäure über eine Inhibition der größtenteils im Gefäßsystem exprimierten COX 2 Apoptosen zu stimulieren scheint und eine Angiogenese unterdrückt<sup>62</sup>. Darüber hinaus führt eine Aktivierung von COX 2 zu einer gesteigerten Biosynthese von vaskulärem endothelialeem Wachstumsfaktor (VEGF), welcher für Tumorwachstum und Metastasenbildung von Bedeutung ist<sup>63</sup>. Eine verstärkte Expression der durch proinflammatorische Stimuli induzierbaren COX 2 kann nach UV-B-Lichtexposition in muriner Epidermis<sup>64</sup> und gesunder humaner Haut als auch in aktinischen Keratosen und Plattenepithelkarzinomen nachgewiesen werden<sup>65</sup>.

Tripp et al. beschrieben eine im Mausmodell nach ultravioletter Bestrahlung verminderte epidermale Proliferation und Differenzierung von Keratinozyten sowie eine erhöhte Apoptoserate nach pharmakologischer COX-2-Hemmung<sup>66</sup>. Transgene Mäuse mit einer Überexpression von COX 2 in basalen Keratinozyten entwickeln einen präneoplastischen Phänotyp der Haut mit epidermaler Hyperplasie, Dysplasien und einer verstärkten Vaskularisierung<sup>67</sup>. Fecker et al. gelang der Nachweis einer nach der Behandlung mit 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure induzierten Apoptose in Plattenepithelkarzinomen<sup>68</sup>.

Die Funktion der Hyaluronsäure in diesem Präparat ist zum jetzigen Zeitpunkt nicht endgültig geklärt. Die Trägersubstanz ist ein in der extrazellulären Matrix des humanen Bindegewebes natürlich vorkommendes Polysaccharid und scheint zu einer adäquaten Bioverfügbarkeit von Diclofenac in der Epidermis zu führen und dessen pharmakologische Halbwertszeit zu verlängern<sup>69</sup>.

Einige kontrollierte klinische Studien evaluierten die Wirksamkeit von topisch appliziertem 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure bei Patienten mit aktinischen Keratosen. Eine randomisierte, doppelblinde, Placebo kontrollierte Untersuchung mit 150 Studienteilnehmern zeigte eine komplette Resolution der Läsionen von 38 % der Verum- versus 10 % der Placebogruppe vier Wochen nach Beendigung der Therapie nach zweimal täglicher Anwendung von Diclofenac über zwölf Wochen<sup>70</sup>. Rivers et al. demonstrierten eine vollständige Abheilung von 31 % der mit Diclofenac behandelten Probanden versus 8 % in der Kontrollgruppe in einer doppelblinden, Placebo kontrollierten Multizenterstudie mit 195 Patienten und zeigten, dass eine 60-tägige Behandlungsdauer von Diclofenac einer 30-tägigen Anwendung überlegen ist<sup>71</sup>. Ähnliche Resultate gingen aus einer weiteren doppelblinden, Placebo kontrollierten klinischen Prüfung hervor. Eine Resolution aller zu Beginn der Untersuchung vorhandenen Läsionen wurde in 50 % der mit Diclofenac über 90 Tage behandelten Probanden beschrieben<sup>72</sup>. In einer multizentrischen Studie mit 76 Teilnehmern zeigten sich vollständige Abheilungsraten von 32 % nach dem Applikationsende und von 45 % nach einem Nachbeobachtungszeitraum von vier Wochen<sup>73</sup>.

Diclofenac wird als dreiprozentiges Gel mit 2,5 % Hyaluronsäure zweimal täglich über 60 bis 90 Tage auf die betroffenen Hautstellen aufgetragen. Ein Zeitintervall von vier Wochen zwischen dem Ende der Therapie und der Einschätzung des Behandlungserfolges hat sich dabei als günstig erwiesen<sup>70,71,73</sup>.

Lokale Irritationen wie Erythem, Pruritus, trockene Haut, Hyper- und Parästhesien<sup>71,72</sup> sowie photoallergische Kontaktsensibilisierungen vom Spättyp<sup>74</sup> können bei der Behandlung mit 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure auftreten.

### **1.7.3.2 5 % 5-Fluorouracil**

5-Fluorouracil (5-FU) ist ein Zytostatikum, welches die Zellteilung als Pyrimidinanalogon beeinflusst. Als Antimetabolit führt das aktive Derivat von 5-FU über eine Inhibition der Thymidylatsynthetaseaktivität zu einer Blockierung der Methylierungsreaktion von Desoxyuridyl- zu Thymidylsäure. Die Synthese der Pyrimidinnukleotide wird gestört. Es kommt zu einer Interferenz mit dem Aufbau von DNA und Ribonukleinsäure (RNA)<sup>75</sup>. Im Jahr 1957 hergestellt<sup>76</sup>, wurde 5-Fluorouracil erstmalig 1962 in topischer Form für die Behandlung maligner Hauttumoren angewandt<sup>77</sup>.

Sander et al. behandelten 27 Studienteilnehmer mit einer Kombination aus topisch appliziertem 5 % 5-FU und paralleler oraler Einnahme eines Retinoids und demonstrierten eine komplette Resolution der disseminierten Läsionen bei 22 Patienten<sup>78</sup>. Eine klinische Prüfung im Halbseitenversuch ermittelte Abnahmeraten aktinischer Keratosen von 75 % sowohl bei der Behandlung mit 5 % 5-FU als auch mit einem chemischen Peeling. Dabei konnte eine äquivalente Reduktion der histologischen Parameter keratinozytäre Atypie, Hyperkeratose, Parakeratose und Entzündung beobachtet werden<sup>54</sup>. Eine monozentrische, Investigator verblindete Vergleichsstudie zeigte eine bessere Tolerabilität mit gering verminderter Wirksamkeit für 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure gegenüber 5 % 5-Fluorouracil, angewandt über 90 bzw. 28 Tage. Resolutionen 30 Tage nach dem Therapieende wurden in 89 % für Diclofenac und in 98 % für 5-FU berichtet<sup>79</sup>. Eine randomisierte Untersuchung zum Vergleich der Behandlungseffektivität von 5 % Imiquimod, 5 % 5-FU und Kryotherapie bei 75 Patienten beschrieb klinische Abheilungsraten von 68 % der Kryotherapie- und von 96 % der 5-FU-Gruppe vier Wochen nach dem Behandlungsende. Die Resultate konnten in 32 % bzw. 67 % anhand histologischer Untersuchungen verifiziert werden. Zwölf Monate nach dem Ende der Therapie wurden anhaltende Remissionen des gesamten Beobachtungsareals in 4 % der mit Kryotherapie behandelten und in 33 % der mit 5-FU therapierten Probanden beobachtet<sup>80</sup>.

Die topische Behandlung mit 5 % 5-Fluorouracil erfolgt als fünfprozentige Salbe über einen Zeitraum von zwei bis vier Wochen. Dabei können starke inflammatorische Irritationen mit Erythem und Trockenheit sowie Juckreiz, Brennen und Schmerzen an der Applikationsstelle auftreten <sup>81</sup>. Eine Entzündungsreaktion im Behandlungsgebiet scheint nötig zu sein, um den gewünschten therapeutischen Effekt zu erzielen <sup>82,83</sup>. Erosion und Ulzeration mit konsekutiver Narbenbildung repräsentieren gelegentliche Nebenwirkungen von 5 % 5-Fluorouracil. Um unerwünschte Reaktionen der Behandlung zu reduzieren, kann 5-FU im intermittierenden „pulse-Verfahren“ angewandt werden. Epstein konnte jedoch zeigen, dass dies dem traditionellen täglichen Applikationsschema unterlegen ist <sup>82</sup>. Verschiedene Therapieregimes <sup>82-84</sup> sowie Konzentrationen und galenische Verabreichungen <sup>81,85,86</sup> zur topischen Anwendung von 5-FU wurden klinisch getestet. Gegenwärtig ist jedoch lediglich die fünfprozentige Zubereitung für die Therapie aktinischer Keratosen in Deutschland zugelassen.

Eine verminderte Aktivität des 5-Fluorouracil abbauenden Enzyms Dihydropyrimidindehydrogenase kann in Einzelfällen zu lebensgefährlichen gastrointestinalen und hämatologischen Komplikationen bei großflächiger topischer Behandlung mit 5-FU führen <sup>87</sup>.

Andere pharmakologische Therapieoptionen beinhalten die topische Anwendung von Imiquimod <sup>80,88-92</sup> sowie die topische <sup>93</sup> oder perorale Applikation <sup>78,94</sup> von Retinoiden. Imiquimod gehört zu der neuen Klasse der immune response modifier. Als spezifischer toll-like-receptor-7-Agonist <sup>95</sup> induziert es die Freisetzung von Zytokinen aus Monozyten <sup>96</sup> und führt zu einer Steigerung der zellulären Immunität. Somit besitzt Imiquimod sowohl antivirale als auch antitumorogene Eigenschaften. Abheilungsraten zwischen 45,1 % <sup>92</sup> und 85 % <sup>80,91</sup> werden bei der Anwendung von Imiquimod bei Patienten mit aktinischen Keratosen in verschiedenen Behandlungsregimes klinischer Studien beschrieben. Im Rahmen der induzierten Immunreaktion kann es jedoch zu einem Auftreten schwerer lokaler und systemischer Nebenwirkungen kommen.

## 1.8 Prävention

Eine Aufklärung über den rationalen Umgang mit solarer und artifizieller ultravioletter Strahlung stellt eine wichtige Maßnahme der primären Prävention von aktinischen Keratosen dar. Daneben sind UV-Schutzprogramme (Auftragen UV-Filterhaltiger Lichtschutzmittel), Anweisungen zur Selbstuntersuchung und regelmäßige Arztbesuche von großer Bedeutung für die Verhütung von hellem Hautkrebs und dessen frühen Formen wie der AK. In einer randomisierten Untersuchung mit 588 Probanden konnte gezeigt werden, dass der regelmäßige Gebrauch von Sonnenschutzmittel zu einer Abnahme von aktinischen Keratosen führt und die Entstehung neuer Läsionen verhindert <sup>97</sup>. Eine Fall-Kontroll-Studie konnte den präventiven Effekt der täglichen Applikation des Lichtschutzmittels Daylong actinica <sup>®</sup> auf die Inzidenz und Prävalenz nichtmelanozytärer Hauttumoren auch bei chronisch immunkompromittierten Patienten bestätigen <sup>98</sup>.

## 1.9 Fragestellung und Zielsetzung

Der Vielfalt und Häufigkeit der Manifestation aktinischer Keratosen steht eine große Anzahl unterschiedlicher anerkannter Behandlungsverfahren gegenüber, jedoch gibt es bislang weder eine First-line-Therapie noch individuelle Behandlungsmöglichkeiten. Kontrollierte Vergleichsstudien zu den verschiedenen Therapieformen hierzu fehlen.

Die vorliegende Untersuchung stellt die Effektivität dreier etablierter Behandlungsoptionen gegenüber und soll dazu beitragen, dass Therapievergleiche und Behandlungsalgorithmen erstellt werden können. In Anbetracht der weltweit steigenden Inzidenz nichtmelanozytärer Hauttumoren<sup>99</sup> und dessen ökonomischer und sozialer Bedeutung soll die vorherrschende Rolle der Kryotherapie in der Behandlung aktinischer Keratosen evaluiert werden.

Primärziel der Studie ist, die klinische Wirksamkeit der drei Behandlungsverfahren zu vergleichen. Dies geschieht anhand der Feststellung von

- Abheilungsraten
- Abnahmeraten
- Rezidivraten
- Auftreten neuer Läsionen

nach der Therapie und in einem Nachbeobachtungszeitraum von einem Jahr.

Darüber hinaus wird die Evaluation der Behandlungseffektivität um histologische Untersuchungen erweitert. Sekundäres Ziel der Studie ist eine Bewertung der drei angewandten Therapieformen anhand des kosmetischen Ergebnisses im Beobachtungsareal und der Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes sowie unerwünschter Reaktionen während der Behandlung und in dem anschließenden Nachbeobachtungszeitraum von zwölf Monaten.



## 2 PATIENTEN UND METHODEN

### 2.1 Patientenkollektiv

#### 2.1.1 Patientenrekrutierung

In einem Zeitraum von August 2006 bis Oktober 2007 wurden 75 männliche und weibliche Studienteilnehmer über 18 Jahre mit aktinischen Keratosen in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin aus dem ambulanten Patientenkollektiv des Haut Tumor Centrum Charité (HTCC) rekrutiert. Per Randomisierung durch einen externen Monitor (Dr. Hubertus Bocklage, Monitoring Force GmbH, Gesellschaft für Klinische Prüfung von Arzneimitteln, Münster, Deutschland) erfolgte die zufällige Aufteilung der Probanden auf drei Behandlungsgruppen mit je 25 Patienten anhand einer Computer generierten Randomisationsliste.

#### 2.1.2 Ein-/Ausschluss-/Abbruchkriterien

Folgende *Einschlusskriterien* wurden definiert:

- Alter der Patienten über 18 Jahre
- Vorliegen von mindestens fünf klinisch typischen, sichtbaren und exemplarisch histologisch gesicherten aktinischen Keratosen in einem Beobachtungsareal von 50 cm<sup>2</sup> an Stirn, Gesicht oder Kopfhaut
- AK des histologischen Grades I oder II
- AK seit mindestens drei Monaten vorhanden
- Kompetenter Immunstatus der Patienten
- Effektive Form der Empfängnisverhütung und Durchführung eines Schwangerschaftstests bei Frauen im gebärfähigen Alter

Als *Ausschlusskriterien* galten:

- Aktinische Keratosen des histologischen Grades III im Beobachtungsareal
- Invasive Tumore im Behandlungsgebiet, z. B. Plattenepithelkarzinom (SCC), Basalzellkarzinom (BCC) oder malignes Melanom (MM)

- Dermatologische Erkrankungen im Untersuchungsareal, die bei der Therapie mit Diclofenac, 5-Fluorouracil oder Kryotherapie exazerbieren oder eine Beurteilung des Behandlungsgebietes erschweren könnten, z. B. Rosazea, Psoriasis oder atopisches Ekzem
- Behandlungen des Testareals in den letzten zwei Monaten
- Bekannte Allergien gegen Inhaltsstoffe der Prüfsubstanzen
- Teilnahme an einer klinischen Studie innerhalb der letzten vier Wochen
- Vorliegen von klinisch signifikanten, instabilen medizinischen Konditionen
- Chemo- oder Strahlentherapie in den letzten sechs Monaten
- Drogen- oder Alkoholabhängigkeit
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Zeugungswunsch von Männern während der Behandlung und bis sechs Monate nach dem Ende der Therapie angesichts einer möglichen Erbgut schädigenden Wirkung von 5-Fluorouracil
- Ausgedehnte Sonnenbäder und Benutzung künstlicher UV-Quellen
- Verwendung von Sonnenschutzmitteln, Feuchtigkeitscremes, Vitamin-A- oder Fruchtsäurehaltigen Präparaten im Beobachtungsareal in den letzten 24 Stunden vor jeder Studienvisite
- Behandlung mit Vitamin A oder dessen Derivaten in den letzten zwei Wochen
- Gebrauch topisch applizierbarer Kortikosteroide in den letzten vier Wochen
- Systemische Therapie mit Immunmodulatoren oder Immunsuppressiva, Kortikosteroiden, NSAID sowie Studienmedikamenten in den letzten vier Wochen vor Studienbeginn

Die klinische Prüfung war bei Patienten abubrechen, bei denen

- Die Einwilligung zur Studienteilnahme widerrufen wurde
- Der vorgegebene Prüfplan grob verletzt wurde
- Schwerwiegende unerwünschte Wirkungen oder Ereignisse (z. B. Begleiterkrankungen oder Unfall) auftraten
- Schwere lokale Hautirritationen bzw. Verdacht auf allergische Reaktionen im Untersuchungsgebiet festgestellt wurden
- Dermatologische Erkrankungen im Beobachtungsareal identifiziert wurden oder exazerbierten, die eine Beurteilung des Behandlungsgebietes erschwerten
- Ein invasiver Tumor im Testareal diagnostiziert wurde
- Mangelnde Compliance vorlag
- Ein Ausschlusskriterium eintrat.

Teilnehmer, die die Studie vorzeitig beendeten, wurden nicht ersetzt. Eine Beendigung der gesamten Untersuchung war vorgesehen, wenn das Studienziel während der Laufzeit der klinischen Prüfung durch andere wissenschaftliche Erkenntnisse erreicht worden wäre oder nach Art, Schwere und Dauer bislang unbekannte oder unerwartete unerwünschte Ereignisse aufgetreten wären.

### **2.1.3 Beschreibung des Untersuchungskollektivs**

Insgesamt wurden 75 Patienten in die vorliegende Untersuchung eingeschlossen. Davon waren 70 (93,3 %) männlichen und fünf (6,7 %) weiblichen Geschlechts. Alle Studienteilnehmer waren kaukasisch-ethnischen Ursprungs. Das durchschnittliche Alter des Untersuchungskollektivs bei Studieneinschluss lag bei 70,79 Jahren (Median: 71,00) mit einer Spannweite von 48 bis 83 Jahren. Die Klassifizierung des Lichttyps nach Fitzpatrick<sup>21</sup> ergab einen Hauttyp I bei 12 (16,0 %), II bei 43 (57,3 %), III bei 19 (25,3 %) und einen Hauttyp IV bei einem (1,3 %) Probanden. Die mittlere Anzahl aktinischer Keratosen im Behandlungsareal betrug 7,48 (Median: 7,00). Die Menge variierte dabei von fünf bis zehn AK. Insgesamt lagen 561 Läsionen in den Beobachtungsgebieten vor. 51 Studienteilnehmer (68,0 %) gaben an, bereits vor der Untersuchung Behandlungen der aktinischen Keratosen erhalten zu haben (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Charakterisierung des Untersuchungskollektivs. AK, aktinische Keratosen; 5-FU, 5-Fluorouracil.

	<b>Gruppe 3 % Diclofenac</b>	<b>Gruppe 5 % 5-FU</b>	<b>Gruppe Kryotherapie</b>
<b>Randomisiert</b>	25	25	25
<b>Alter (Jahre)</b>			
Mittelwert	68,28	71,24	72,84
<b>Männliches Geschlecht (%)</b>	22 (88)	25 (100)	23 (92)
<b>Fitzpatrick-Lichttyp <sup>21</sup></b>			
I (%)	5 (20)	4 (16)	3 (12)
II (%)	13 (52)	14 (56)	16 (64)
III (%)	7 (28)	7 (28)	5 (20)
IV (%)	0 (0)	0 (0)	1 (4)
<b>AK im Behandlungsareal</b>			
Mittelwert	7,52	7,40	7,52
Spannweite	5-10	5-10	5-10
<b>Vorbehandlung von AK (%)</b>	17 (68)	17 (68)	17 (68)

## 2.2 Studienbeschreibung

### 2.2.1 Studienplanung

Die vorliegende Untersuchung verglich die Wirksamkeit dreier etablierter Behandlungsoptionen bei aktinischen Keratosen in einem prospektiven, randomisierten, monozentrischen Studiendesign. Ein zustimmendes Votum der Ethikkommission der Charité zur Durchführung der klinischen Prüfung, Phase IV (Einsatz von zugelassenen Therapieformen in der zugelassenen Indikation), vor dem Beginn der Untersuchung lag vor (EudraCT-Studiennummer: 2006-000815-24). Jeder Patient wurde über Wesen und Bedeutung der klinischen Studie aufgeklärt und erhielt ein Informationsblatt. Die Probanden unterschrieben eine Einverständniserklärung. Es erfolgte eine entsprechende Versicherung für jeden Teilnehmer. Alle Patientendaten wurden verschlüsselt aufgezeichnet und alle involvierten Parteien verpflichteten sich zum Datenschutz. In Übereinstimmung mit dem Studienprotokoll und den Grundsätzen der Guten Klinischen Praxis wurde die Untersuchung durchgeführt.

## 2.2.2 Diagnosekriterien von aktinischen Keratosen

### 2.2.2.1 Klinische Kriterien

Die Studienteilnehmer mussten mindestens fünf klinisch typische, sichtbare und exemplarisch histologisch gesicherte aktinische Keratosen in einem Beobachtungsareal von 50 cm<sup>2</sup> an Stirn, Gesicht oder Kopfhaut aufweisen. Diese imponierten als hautfarbene bis rötlichbraun pigmentierte, zumeist raue, squamöse Maculae, Papulae oder Plaques, deren Größe im Durchmesser von wenigen Millimetern bis etwa zwei Zentimeter variierte.

Die aktinischen Keratosen wurden nach klinischen Gesichtspunkten in drei Schweregrade eingeteilt<sup>39,43</sup> :

- Grad I:* Flache, rosafarbene Maculae ohne Rauheit oder Hyperkeratose in fleckiger Umgebung auf sonnengeschädigter Haut
- Grad II:* Rosafarbene bis rötliche Papulae oder Plaques mit rauer, hyperkeratotischer Oberfläche und variabler Induration
- Grad III:* Rötliche, schuppene, indurierte Plaques auf stark sonnengeschädigter Haut mit irregulär pigmentierter Oberfläche

### 2.2.2.2 Histologische Kriterien

Die von den Patienten gewonnenen Hautgewebeproben wurden nach histopathologischen Aspekten ebenfalls in drei Grade differenziert<sup>1,36</sup> :

- Grad I:* Vereinzelte Atypien der basalen Keratinozyten im unteren Drittel der Epidermis
- Grad II:* Vereinzelte Atypien der Keratinozyten in den unteren zwei Dritteln der Epidermis
- Grad III:* Diffuse Proliferation von atypischen Keratinozyten und Schichtungsverlust in der gesamten Epidermis

### 2.2.3 Visiten

Während einer Screening-, Behandlungs- und Nachbeobachtungsphase stellten sich die Patienten zu insgesamt sieben Besuchen in der Klinik vor. Bei der Screeningvisite vor Studieneinschluss erfolgten die Überprüfung aller Ein- und Ausschlusskriterien sowie die Dokumentation der demografischen Daten und der AK-Vorgeschichte der Probanden. Anamnestisch wurden die medizinische Vergangenheit und Begleitmedikationen der Studienteilnehmer eruiert. Es erfolgte die Zuordnung des Fitzpatrick-Lichttyps <sup>21</sup> durch einen der Prüfarzte. Ein Beobachtungsareal im Bereich sonnenexponierter Haut an Stirn, Gesicht oder Kopfhaut mit mindestens fünf klinisch typischen und sichtbaren aktinischen Keratosen wurde für jeden Patienten festgelegt. Dazu wurden transparente Rasterfolien für jeden Studienteilnehmer angefertigt und ein Behandlungsgebiet von 50 cm<sup>2</sup> (5 cm x 10 cm) darauf eingezeichnet. Der Prüfarzt markierte die vorhandenen Läsionen und kennzeichnete Patienten charakteristische Merkmale wie Nävi, den Haaransatz oder den Sitz der Augenbrauen auf der Folie. So konnten bei jeder folgenden Studienvisite die Anzahl bestehender Läsionen, das Auftreten neuer aktinischer Keratosen und Rezidive behandelter Läsionen im Testareal ermittelt werden. Zusätzlich wurde das Untersuchungsgebiet bei jeder Patientenvorstellung anhand digitaler Fotografie (Sony Cybershot<sup>®</sup>, 7,2 Megapixel, Carl-Zeiss<sup>®</sup>) unter standardisierten Bedingungen dokumentiert. Nach dem Abschluss der Behandlung folgte ein therapiefreies Intervall von vier Wochen mit anschließender Evaluation des Therapieerfolges.

Die *Studienvisiten* (V) gliederten sich wie folgt:

Screeningvisite (SV):	Woche zwei bis vier vor Studieneinschluss
Einschlussvisite (V1):	Tag eins
Visiten unter der Behandlung (V2 und V3) - Gruppe 3 % Diclofenac:	Woche sechs und zwölf (+/- zwei Wochen)

Visiten unter der Behandlung (V2 und V3) - Gruppe 5 % 5-Fluorouracil:	Woche zwei und vier (+/- zwei Wochen)
Visiten unter der Behandlung (V2 und V3) - Gruppe Kryotherapie:	Woche zwei und vier (+/- zwei Wochen)
Visite nach der Behandlung (V4):	Woche vier nach dem Behandlungsende (+/- zwei Wochen)
Nachbeobachtungsvisiten (V5 und V6):	Monate sechs und zwölf (+/- vier Wochen)

#### **2.2.4 Hautgewebeproben**

Um die klinische Diagnose AK histologisch zu bestätigen, wurde jedem Patienten während der Screeningvisite eine Stanzbiopsie aus einer repräsentativen Läsion des Beobachtungsareals entnommen. Zur histologischen Evaluation des Heilungserfolges wurde eine Probeexzision einer klinisch abgeheilten aktinischen Keratose aus dem behandelten Gebiet nach der Therapie (vier Wochen nach dem Behandlungsende) bei jedem Studienteilnehmer durchgeführt. Darüber hinaus erfolgten Biopsieentnahmen jeder malignitätsverdächtigen Läsion des Untersuchungsareals, um zu jedem Zeitpunkt das Wachstum eines invasiven Tumors auszuschließen. Die Durchführung aller Probeexzisionen fand in Lokalanästhesie (1 % Lidocainlösung; 0,1 ml Xylocain<sup>®</sup>) als vier Millimeter dicke Punchbiopsie bis in die oberen Lagen der Dermis statt. Alle Patientenproben gelangten an das Histologische Labor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité zur histologischen Aufbereitung und Analyse. Dabei wurden alle Präparate durch denselben Dermatohistologen beurteilt.

### **2.2.5 Routinehistologie**

Es erfolgte eine konventionelle Aufbereitung aller Hautgewebeproben. Das gewonnene Material wurde in Formaldehyd (10 %, gepuffert) fixiert und in Paraffin eingebettet. Es folgten Serienschnitte sowie eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung nach Standardvorschrift und schlussendlich die mikroskopische Untersuchung der Präparate.

### **2.2.6 Medikamentöse Therapie**

Die Untersuchung sah eine topische Applikation der Studienmedikation im Beobachtungsareal zweimal täglich über vier Wochen (5 % 5-Fluorouracil) bzw. zwölf Wochen (3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure) an sieben Tagen der Woche vor. Die Behandlung fand stets zu gleichen Tageszeiten statt. Die Patienten wurden instruiert, die Prüfsubstanzen morgens und abends aufzutragen. Vor dem Gebrauch der Präparate sollten die Studienteilnehmer das zu behandelnde Gebiet mit milder Seife und Wasser reinigen und anschließend zehn Minuten trocknen lassen. Die Probanden wurden angeleitet, eine Menge von einem Gramm pro Anwendung mit einer Fingerspitze (Diclofenac) bzw. Fingerlingen aus Latex (5-FU) auf das Testareal aufzutragen und einzureiben, bis das Gel bzw. die Salbe eingezogen war. Für eine Dauer von acht Stunden sollte das Arzneimittel am Applikationsort verbleiben und ein Kontakt mit Wasser vermieden werden. Leere Tuben der Prüfsubstanzen händigten die Patienten der Klinik aus.

Eine Unterbrechung der Therapie oder eine Dosisreduktion über zwei Wochen (Diclofenac) bzw. eine Woche (5-FU) auf Grund starker lokaler Hautreaktionen im Untersuchungsgebiet oder anderer unerwünschter Wirkungen war nach dem Ermessen des Prüfarztes möglich. Behandlungen von aktinischen Keratosen des Kopfes außerhalb des Beobachtungsareals waren während der Studie nicht gestattet, während Läsionen an anderen Körperstellen lediglich mit lokal destruierenden Methoden (z. B. Exzision, Kürettage, Kryotherapie) behandelt werden durften. Mit Ausnahme der Medikationen und Präparate, welche in den Ausschlusskriterien angegeben sind, konnten die Studienteilnehmer nach dem Bemessen der Prüfarzte Therapien für lokale Hautreaktionen oder unerwünschte Ereignisse während einer Unterbrechung der Studienmedikation im Behandlungsgebiet erhalten.



### **2.2.7 Kryotherapie**

Es erfolgte eine Anwendung auf alle Läsionen des Untersuchungsareals im Kontaktverfahren mit flüssigem Stickstoff durch einen der Prüfarzte. Bei einmaliger Sitzung wurde die Behandlung der aktinischen Keratosen bei zehn bis 20 Sekunden mit einem bis zwei Millimeter um die Läsionen durchgeführt (Temperatur bei Düsenöffnungsausgang  $-196\text{ °C}$ ). Bestanden bei der nächsten Visite nach zwei Wochen noch Residuen, war eine Prozedurenwiederholung vorgesehen.

### **2.2.8 Fragebogen**

Ein Fragebogen diente der Patientendokumentation bei jeder Studienvsiste. Aufgeteilt in sieben Abschnitte gemäß den sieben Besuchen in der Klinik, erfasste er die Anzahl der vorhandenen Läsionen, Informationen über lokale Hautreaktionen, die Hautbeschaffenheit sowie das kosmetische Ergebnis im Beobachtungsareal und die Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes bei jeder Vorstellung in der Klinik. Die klinische Untersuchung (Inspektion und Palpation) der Studienteilnehmer fand durch einen der Prüfarzte (qualifizierter Dermatologe) statt. Die Dokumentation der vorhandenen Läsionen umfasste deren Gesamtanzahl, das Auftreten neuer aktinischer Keratosen und Rezidive von im Studienverlauf bereits abgeheilten Läsionen im Behandlungsgebiet. Bei jeder Visite wurden die Probanden nach dem Eintritt unerwünschter Ereignisse indirekt befragt und deren Dauer, Schweregrad und Ausgang, deren möglicher Zusammenhang mit der Studienmedikation bzw. der Anwendung der Kryotherapie sowie daraufhin ergriffene Maßnahmen dokumentiert.

Das *kosmetische Ergebnis* der Behandlung wurde nach Einschätzungen des Prüfarztes und der Patienten getrennt bestimmt und umfasste die Bewertungsmaßstäbe

*Exzellent:* Keine Narbenbildung, Atrophie oder Induration im Beobachtungsareal; keine oder leichte Rötung bzw. Änderung der Pigmentierung im Vergleich zu der umgebenden Haut

*Gut:* Keine Narbenbildung, Atrophie oder Induration im Beobachtungsareal; leichte oder moderate Rötung bzw. Änderung der Pigmentierung im Vergleich zu der umgebenden Haut

*Befriedigend:* Leichte oder moderate Narbenbildung, Atrophie oder Induration im Beobachtungsareal

*Mangelhaft:* Moderate oder schwere Narbenbildung, Atrophie oder Induration im Beobachtungsareal.

Die *Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes* erfolgte ebenfalls getrennt durch den Prüfarzt und die Patienten und wurde folgendermaßen klassifiziert:

*Exzellent:* Keine oder milde Nebenwirkungen; exzellente Resultate in Effektivität, Sicherheit und kosmetischem Ergebnis

*Gut:* Milde oder moderate Nebenwirkungen; gute Resultate in Effektivität, Sicherheit und kosmetischem Ergebnis

*Befriedigend:* Milde oder moderate Nebenwirkungen; befriedigende Resultate in Effektivität, Sicherheit und kosmetischem Ergebnis

*Mangelhaft:* Moderate oder schwere Nebenwirkungen; mangelhafte Resultate in Effektivität, Sicherheit und kosmetischem Ergebnis

### 2.3 Studienmedikamente und -geräte

3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure: *Solaraze<sup>®</sup>, Shire Chineham Basingstoke, Hampshire, Großbritannien*

5 % 5-Fluorouracil: *Efudix<sup>®</sup>, Valeant Pharmaceuticals Germany GmbH, Eschborn, Deutschland*

Kryoapparat: *Kryomed<sup>®</sup>, Medium-Tech GmbH, Deutschland*

### 2.4 Statistische Analyse

Die Analyse der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS, Version 9.1 (SAS Inc. <sup>®</sup>, Cary, NC, [www.sas.com](http://www.sas.com)). Sie umfasste eine deskriptive Auswertung der klinischen und histologischen Parameter in Form von Häufigkeitstabellen. Die Auswertung von nominalen und ordinalen (kategoriellen) Variablen der drei Behandlungsgruppen schloss zusätzlich die Anwendung des exakten Tests von Fisher ein. Für metrische (quantitative) Merkmale wurden ANOVAs (Varianzanalysen) durchgeführt. P-Werte < 0,05 wurden als signifikant betrachtet.

Die deskriptive Analyse der Daten wurde auf der Basis zusammenfassender Statistiken für quantitative und kategorielle Variablen durchgeführt. Quantitative Merkmale wurden anhand der Anzahl nichtfehlender Werte, des Mittelwertes, des Medians, der Standardabweichung, des Minimums und Maximums sowie der 25- und 75-Prozent-Quartile beschrieben, während kategorielle Daten in Häufigkeitstabellen dargestellt wurden. Patienten mit fehlenden Werten wurden als separate Kategorie beschrieben. Prozentsätze wurden als Proportion jeder Kategorie einschließlich der Kategorie fehlender Werte berechnet.

### 3 ERGEBNISSE

Den folgenden Ergebnissen liegen statistische Berechnungen zu Grunde, die alle gemäß dem Protokoll behandelten Patienten einschlossen (per-protocol-population). Analysen für den Zeitpunkt vier Wochen nach dem Behandlungsende beruhten auf einer Studienpopulation mit 71 Probanden. Sie erfolgten unter Ausschluss von vier Patienten der Diclofenac-Gruppe. Für Berechnungen des Nachbeobachtungszeitraums wurde eine Patientenpopulation mit 67 Studienteilnehmern herangezogen. Hier mussten fünf Probanden der Diclofenac-Gruppe und drei Patienten der Kryotherapie-Gruppe von der statistischen Analyse ausgeschlossen werden (Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Nicht gemäß dem Studienprotokoll behandelte Patienten, die von statistischen Berechnungen für den Zeitpunkt vier Wochen nach dem Behandlungsende bzw. des Nachbeobachtungszeitraums ausgeschlossen wurden.

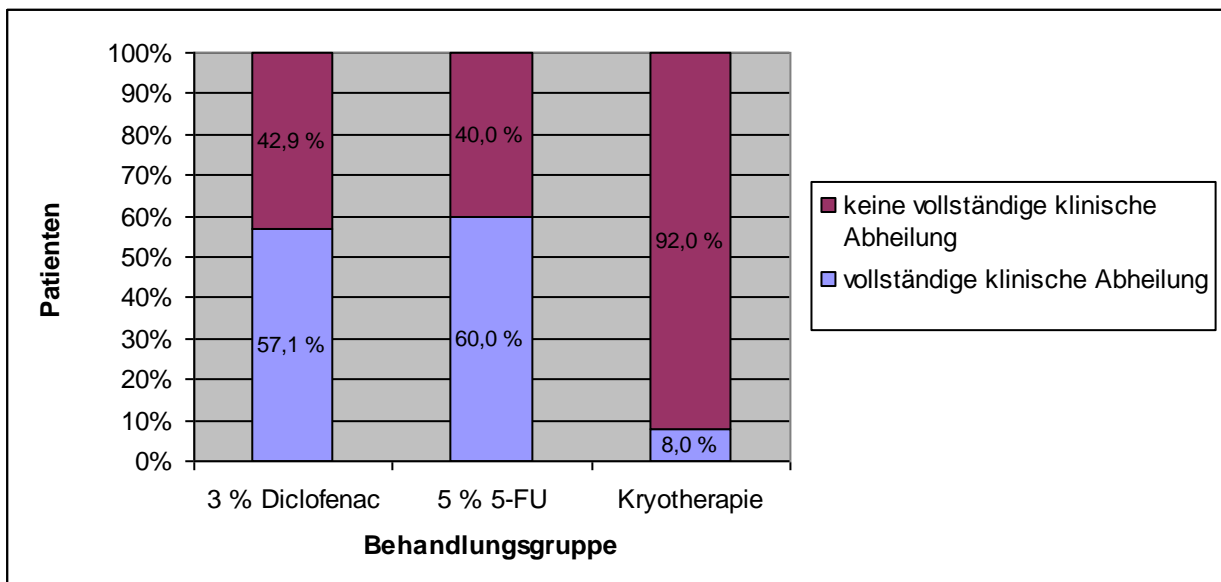
Rand.-nummer	Behandlungsgruppe	Ausschlusskriterium	Protokollabweichung	Studienpartizipation	Ausschluss
13	Kryotherapie	Pat. nicht mehr erschienen		bis V5	V5,6
17	3 % Diclofenac	Studienabbruch nach UE		bis V2	V4,5,6
24	3 % Diclofenac	Protokollabweichung	SCC im BA	bis V6	V5,6
26	3 % Diclofenac	Protokollabweichung	ASS-Allergie	bis V6	V4,5,6
36	Kryotherapie	Pat. nicht mehr erschienen		bis V5	V5,6
52	3 % Diclofenac	Pat. nicht mehr erschienen		bis V2	V4,5,6
57	Kryotherapie	Pat. nicht mehr erschienen		bis V5	V5,6
74	3 % Diclofenac	Studienabbruch nach UE		bis V2	V4,5,6

Rand.nummer, Randomisierungsnummer; Pat., Patient; UE, unerwünschtes Ereignis; SCC, Plattenepithelkarzinom; BA, Beobachtungsareal; ASS, Acetylsalicylsäure; V2, erste Studienvsiste unter der Behandlung; V4, vier Wochen nach dem Behandlungsende; V5, sechs Monate nach dem Abschluss der Therapie; V6, zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung.

### 3.1 Klinische Evaluation

#### 3.1.1 Abheilungsraten bei Behandlungsende

Eine vollständige klinische Abheilung des gesamten Beobachtungsareals (aller vor Studienbeginn vorhandener Läsionen im Untersuchungsgebiet und evtl. im Verlauf neu aufgetretener aktinischer Keratosen) konnte vier Wochen nach dem Behandlungsende bei 57,1 % (12/21) der Diclofenac-Gruppe, bei 60,0 % (15/25) der 5-FU-Gruppe und bei 8,0 % (2/25) der Kryotherapie-Gruppe verzeichnet werden. Die Unterschiede erreichten eine statistische Signifikanz zwischen den Behandlungsgruppen ( $p: 0,0001$ , Abb. 1a).

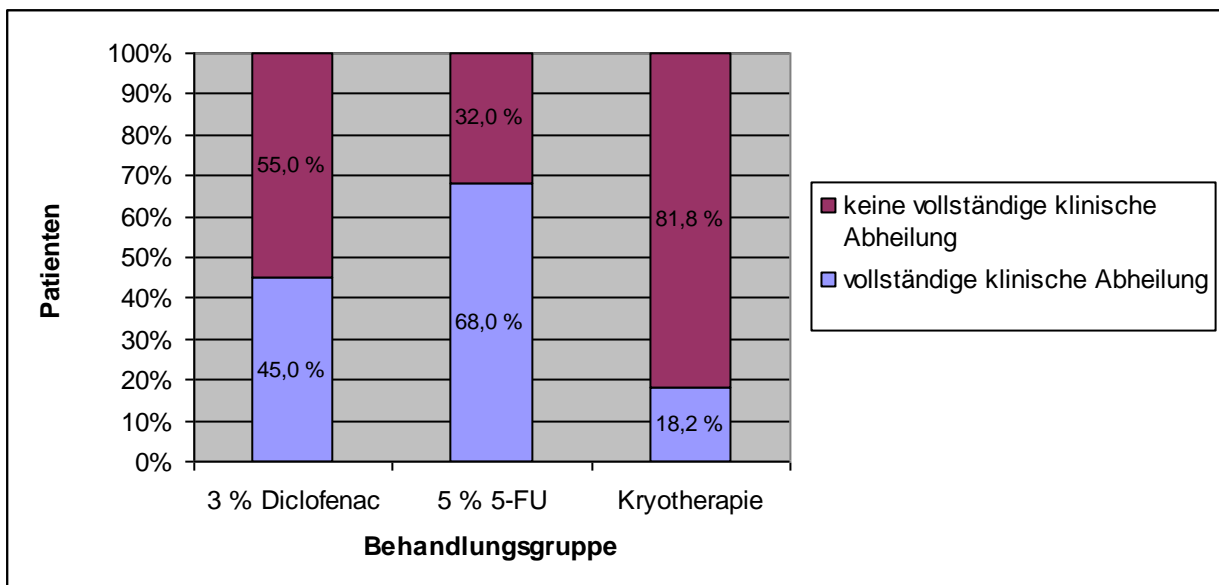


**Abb. 1a:** Klinische Abheilungsraten vier Wochen nach dem Behandlungsende.  $N = 21, 25$  und  $25$  für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie.  $p: 0,0001$ .

#### 3.1.2 Abheilungsraten im Nachbeobachtungszeitraum

Zwölf Monate nach Beendigung der Therapie wiesen 45,0 % (9/20) der Diclofenac-Gruppe, 68,0 % (17/25) der 5-FU-Gruppe sowie 18,2 % (4/22) der Kryotherapie-Gruppe eine komplette Erscheinungsfreiheit des gesamten Beobachtungsareals (aller vor Studienbeginn im Untersuchungsgebiet vorhandener aktinischer Keratosen und evtl. neu aufgetretener Läsionen) auf ( $p: 0,0021$ , Abb. 1b).

Wurden lediglich die Patienten betrachtet, die bereits vier Wochen nach dem Behandlungsende keine Läsionen mehr aufwiesen, konnten bei 41,7 % (5/12) der Diclofenac-Gruppe, bei 93,3 % (14/15) der 5-FU-Gruppe und bei 50,0 % (1/2) der Kryotherapie-Gruppe anhaltende vollständige klinische Abheilungsraten zwölf Monate nach dem Abschluss der Therapie beobachtet werden ( $p: 0,0071$ ).



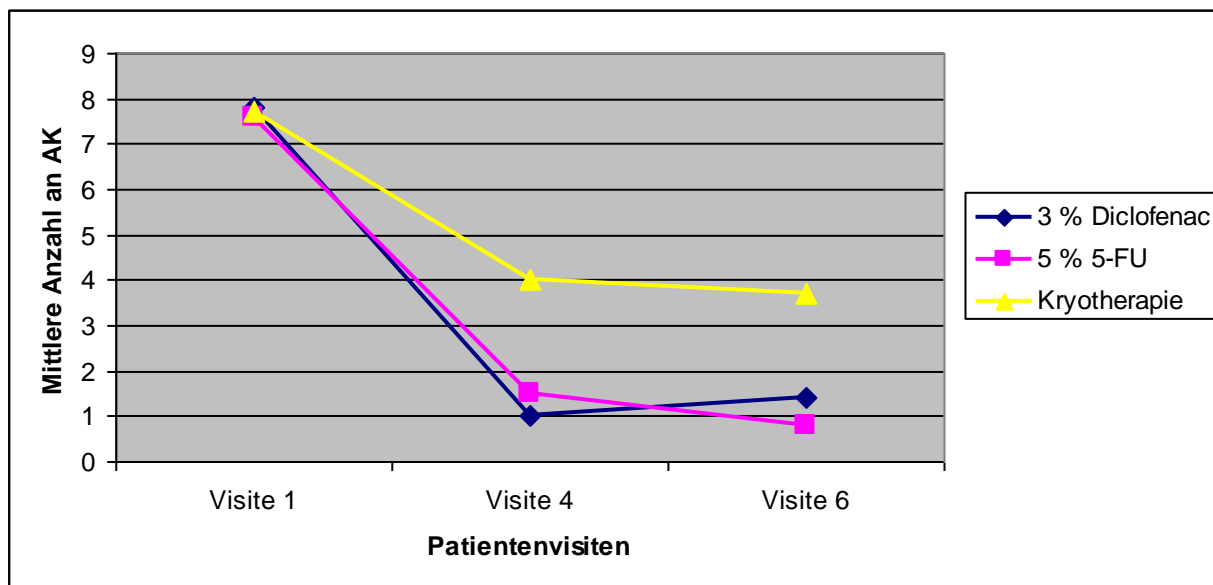
**Abb. 1b:** Klinische Abheilungsraten zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung.  $N = 20, 25$  und  $22$  für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie.  $p: 0,0021$ .

### 3.1.3 Abnahmeraten bei Behandlungsende

Eine Reduktion der mittleren Anzahl aktinischer Keratosen (absolute Reduktion) über den Behandlungszeitraum (von der Einschlussvisite bis vier Wochen nach dem Ende der Therapie) konnte mit  $-6,8$  (von  $7,8$  zu  $1,0$ ;  $SD = 1,8$ ;  $p < 0,0001$ ) in der Diclofenac-Gruppe, mit  $-6,1$  (von  $7,6$  zu  $1,5$ ;  $SD = 3,8$ ;  $p < 0,0001$ ) in der 5-FU-Gruppe und mit  $-3,7$  (von  $7,7$  zu  $4,0$ ;  $SD = 2,4$ ;  $p < 0,0001$ ) in der Kryotherapie-Gruppe verzeichnet werden ( $p: 0,0009$ , Abb. 2). Die prozentuale Reduktion der mittleren Anzahl der Läsionen über den Zeitraum betrug  $-87,9\%$  ( $SD = 16,2$ ) in der Diclofenac-Gruppe,  $-81,5\%$  ( $SD = 43,7$ ) in der 5-FU-Gruppe und  $-50,5\%$  ( $SD = 31,9$ ) in der Kryotherapie-Gruppe ( $p: 0,0005$ ).

### 3.1.4 Abnahmeraten im Nachbeobachtungszeitraum

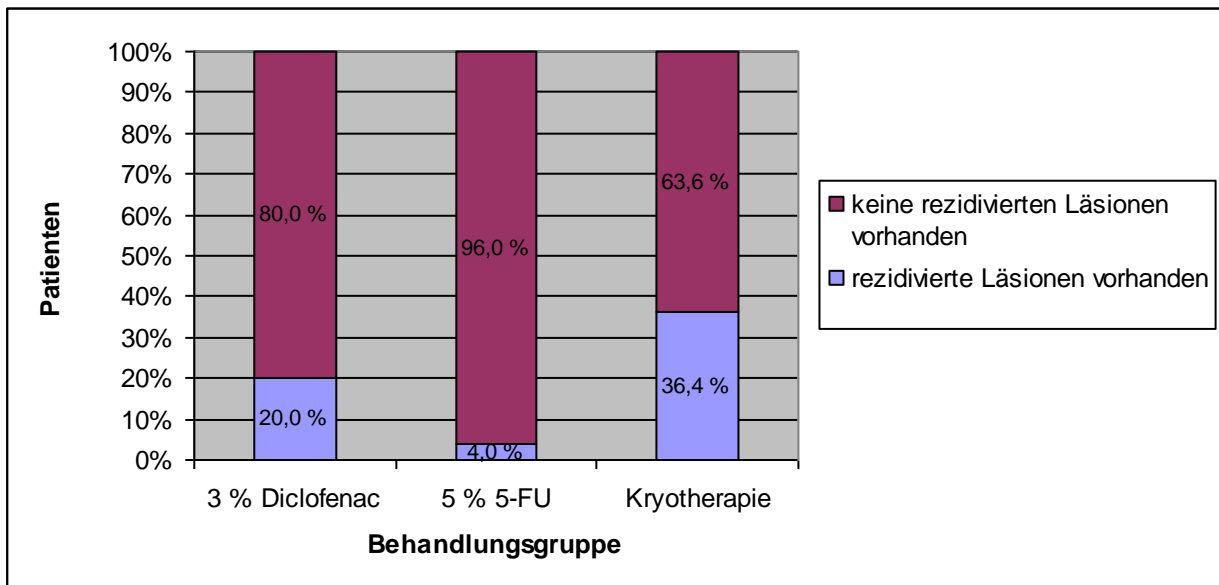
Die Abnahme der mittleren Anzahl aktinischer Keratosen im Nachbeobachtungszeitraum (vier Wochen bis zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung) belief sich auf +0,6 (von 0,9 zu 1,4; SD = 1,7) in der Diclofenac-Gruppe, auf -0,7 (von 1,5 zu 0,8; SA = 3,5) in der 5-FU-Gruppe und auf -0,3 (von 4,0 zu 3,7; SD = 3,6) in der Kryotherapie-Gruppe (p: 0,4226, Abb. 2).



**Abb. 2:** Zeitlicher Verlauf der mittleren Anzahl aktinischer Keratosen (AK). 5-FU, 5-Fluorouracil; Visite 1, Einschlussvisite; Visite 4, vier Wochen nach dem Behandlungsende; Visite 6, zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung.

### 3.1.5 Rezidivraten im Nachbeobachtungszeitraum

Ein Jahr nach dem Abschluss der Therapie wiesen 20,0 % (4/20) der Diclofenac-Gruppe, 4,0 % (1/25) der 5-FU-Gruppe sowie 36,4 % (8/22) der Kryotherapie-Gruppe rezidierte Läsionen in den Beobachtungsarealen auf (p: 0,0185, Abb. 3). Der Unterschied in der mittleren Anzahl rezidivierter aktinischer Keratosen zeigte keine statistische Signifikanz zwischen den Behandlungsgruppen. Die mittlere Anzahl rezidivierter Läsionen betrug 1,5 in der Diclofenac-Gruppe, 1,0 in der 5-FU-Gruppe und 1,4 in der Kryotherapie-Gruppe (p: 0,8163).

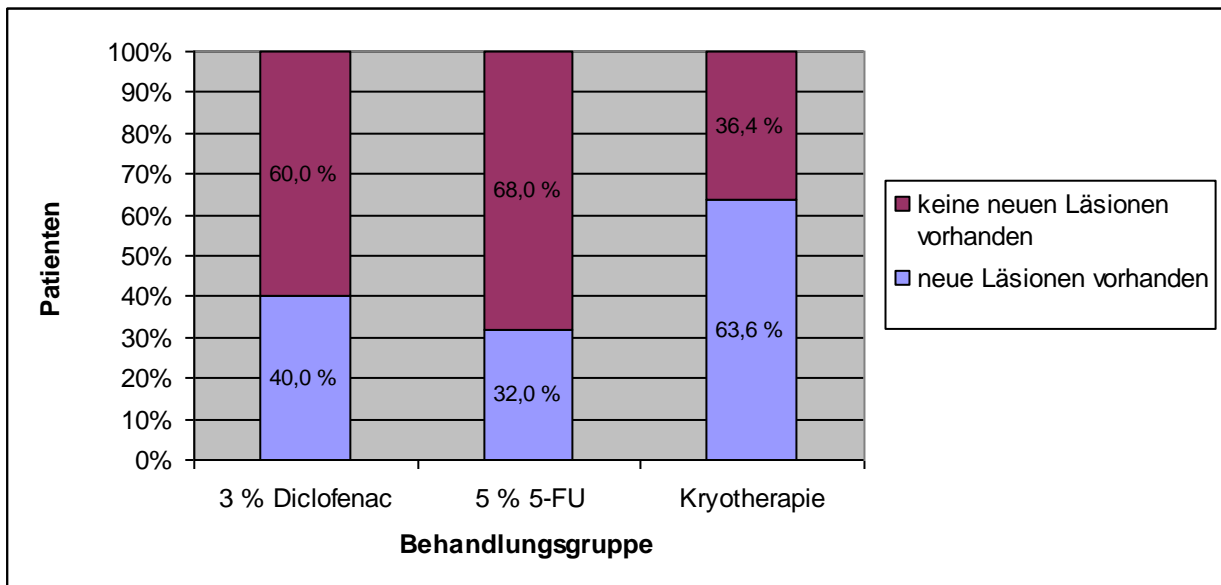


**Abb. 3:** Rezidivraten zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung. N = 20, 25 und 22 für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie. p: 0,0185.

### 3.1.6 Auftreten neuer Läsionen im Nachbeobachtungszeitraum

Neue aktinische Keratosen fanden sich bei 40,0 % (8/20) der Diclofenac-Gruppe und bei 32,0 % (8/25) der 5-FU-Gruppe. In der Kryotherapie-Gruppe waren bei 63,6 % (14/22) neue Läsionen zwölf Monate nach dem Behandlungsende aufgetreten (p: 0,0899, Abb. 4). Der Unterschied in der mittleren Anzahl neu aufgetretener AK war statistisch ebenfalls nicht signifikant zwischen den Behandlungsgruppen. Die mittlere Anzahl neu aufgetretener AK belief sich auf 2,4 in der Diclofenac-Gruppe, auf 2,0 in der 5-FU-Gruppe und auf 2,6 in der Kryotherapie-Gruppe (p: 0,7837).



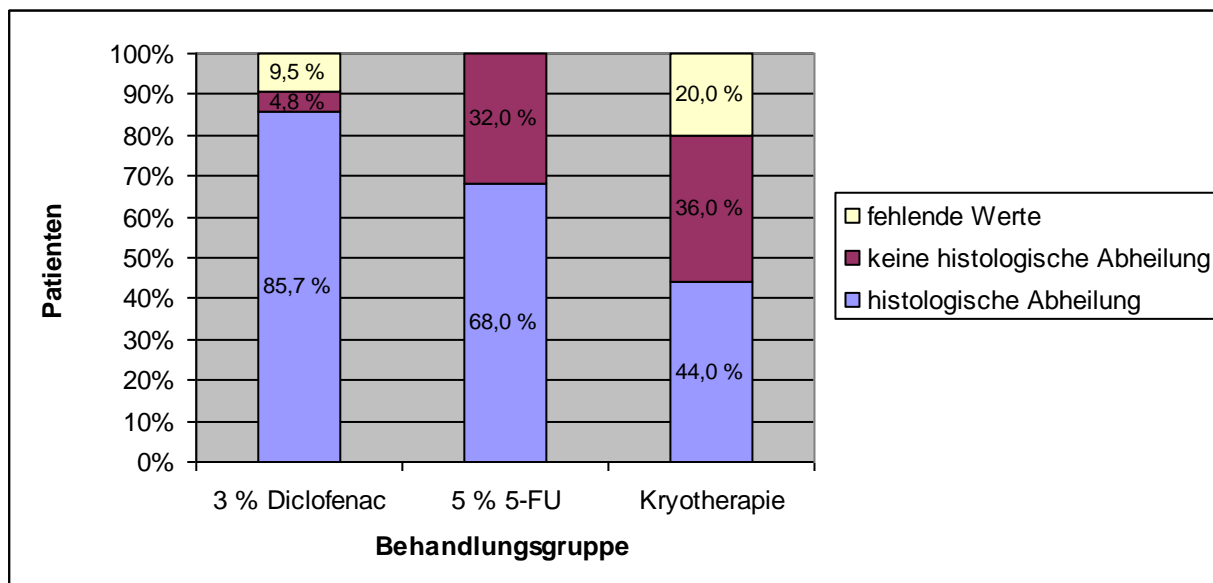


**Abb. 4:** Auftreten neuer Läsionen zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung. N = 20, 25 und 22 für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie. p: 0,0899.

### 3.2 Histologische Evaluation

Die Abheilung von Läsionen vier Wochen nach Beendigung der Therapie konnte bei 85,7 % (18/21) der Diclofenac-Gruppe, bei 68,0 % (17/25) der 5-FU-Gruppe sowie bei 44,0 % (11/25) der Kryotherapie-Gruppe durch exemplarische Probeexzision einer klinisch abgeheilten aktinischen Keratose aus dem behandelten Areal bestätigt werden (p: 0,0041, Abb. 5).

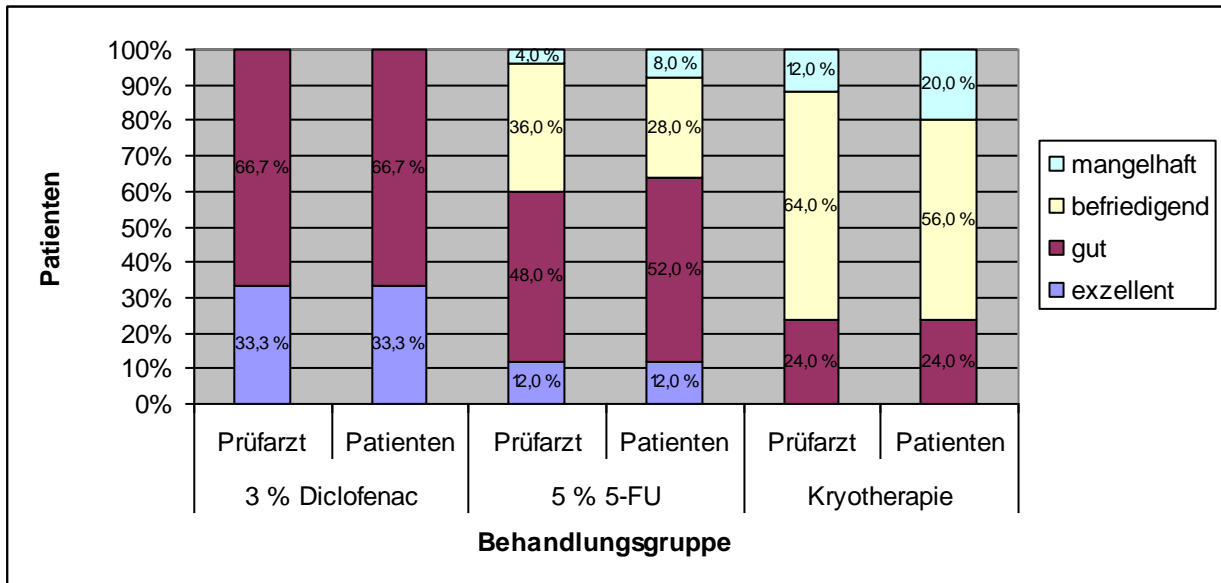
Zwei Studienteilnehmer der Kryotherapie-Gruppe und ein Patient der Diclofenac-Gruppe lehnten eine Biopsieentnahme ab. Die Hautgewebeproben von zwei weiteren Probanden der Kryotherapie-Gruppe und einem Patienten der Diclofenac-Gruppe waren einer histologischen Untersuchung auf Grund ungenügenden Materials nicht zuführbar. Bei einem Studienteilnehmer der Kryotherapie-Gruppe lag keine klinisch abgeheilte Läsion zur histologischen Evaluation im Beobachtungsareal vor.



**Abb. 5:** Histologische Abheilungsraten vier Wochen nach dem Behandlungsende. N = 21, 25 und 25 für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie. p: 0,0041.

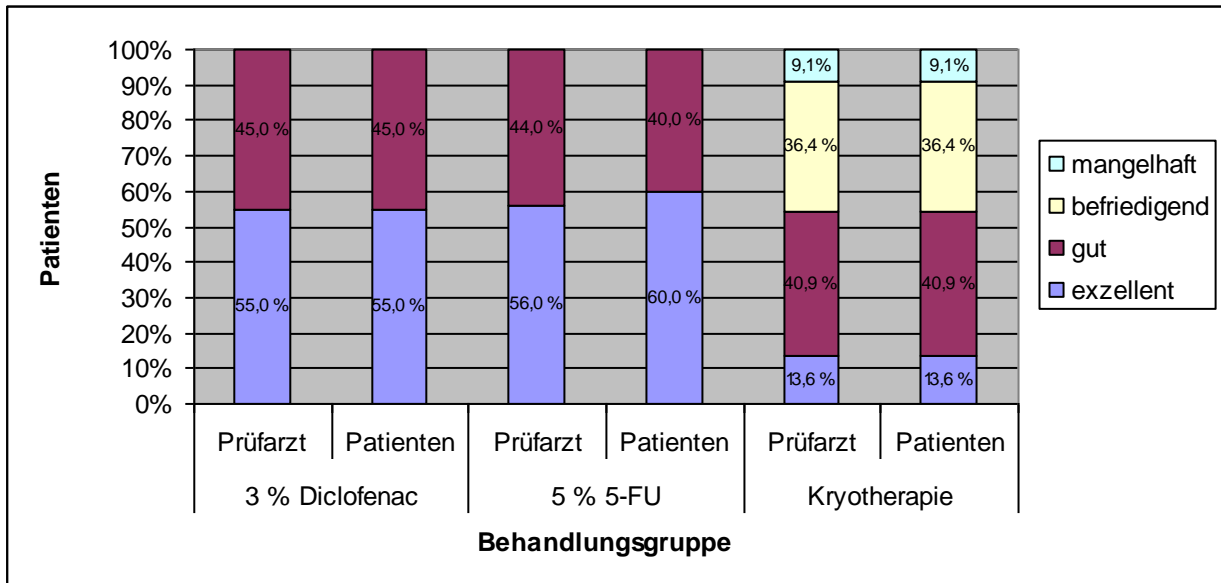
### 3.3 Endpunkt „kosmetisches Ergebnis“

Nach der Bewertung des Prüfarztes erzielten 33,3 % (7/21) der Diclofenac-Gruppe und 12,0 % (3/25) der 5-FU-Gruppe vier Wochen nach dem Ende der Behandlung ein exzellentes kosmetisches Ergebnis im Beobachtungsareal. Für keinen Patienten der Kryotherapie-Gruppe ließ sich zu diesem Zeitpunkt ein exzellentes kosmetisches Resultat verzeichnen. Ein gutes kosmetisches Ergebnis zeigte sich bei 66,7 % (14/21) der Diclofenac-Gruppe, bei 48,0 % (12/25) der 5-FU-Gruppe und bei 24,0 % (6/25) der Kryotherapie-Gruppe. Zusammenfassend erlangten 100,0 % (21/21) der Diclofenac-Gruppe, 60,0 % (15/25) der 5-FU-Gruppe und 24,0 % (6/25) der Kryotherapie-Gruppe ein gutes oder exzellentes kosmetisches Resultat im Behandlungsgebiet. Dieser Unterschied erlangte statistische Signifikanz zwischen den Behandlungsgruppen ( $p < 0,0001$ , Abb. 6a). Ähnliche Ergebnisse gingen aus der Evaluation der Studienteilnehmer hervor ( $p < 0,0001$ , Abb. 6a).



**Abb. 6a:** Kosmetisches Ergebnis nach der Bewertung des Prüfarztes ( $p < 0,0001$ ) und der Patienten ( $p < 0,0001$ ) vier Wochen nach dem Behandlungsende.  $N = 21, 25$  und  $25$  für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie.

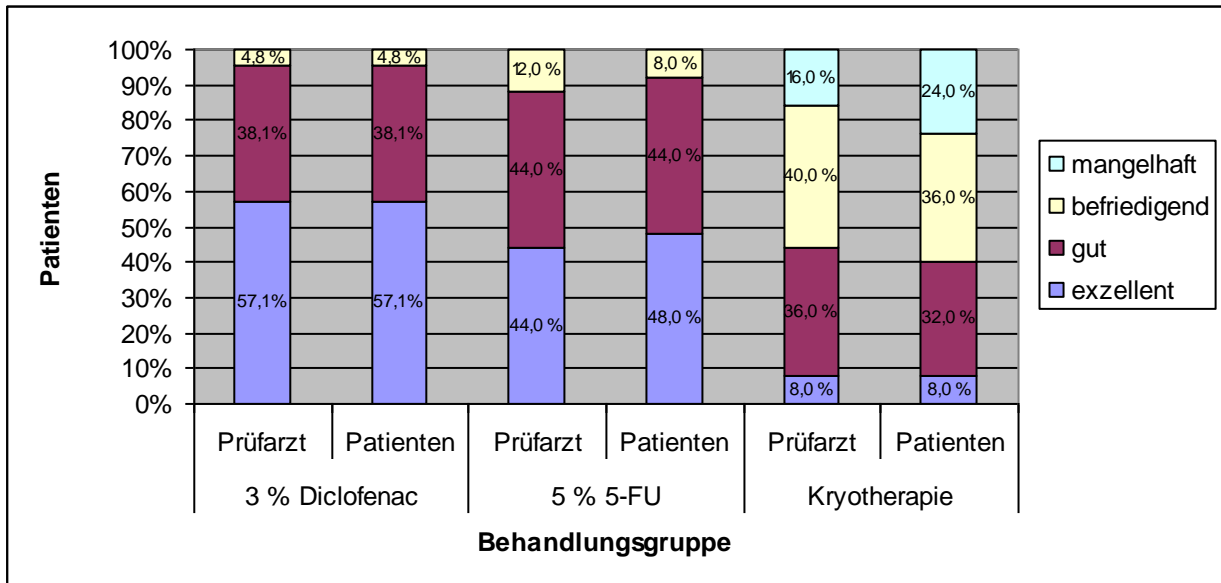
Ein Jahr nach dem Abschluss der Therapie wiesen sowohl 100,0 % (20/20 bzw. 25/25) der Diclofenac- als auch der 5-FU-Gruppe und 54,5 % (12/22) der Kryotherapie-Gruppe ein gutes oder exzellentes kosmetisches Resultat im Untersuchungsareal sowohl nach Einschätzungen des Prüfarztes ( $p: 0,0001$ ) als auch nach dem Bemessen der Patienten ( $p < 0,0001$ ) auf (Abb. 6b).



**Abb. 6b:** Kosmetisches Ergebnis nach der Bewertung des Prüfarztes ( $p: 0,0001$ ) und der Patienten ( $p < 0,0001$ ) zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung.  $N = 20, 25$  und  $22$  für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie.

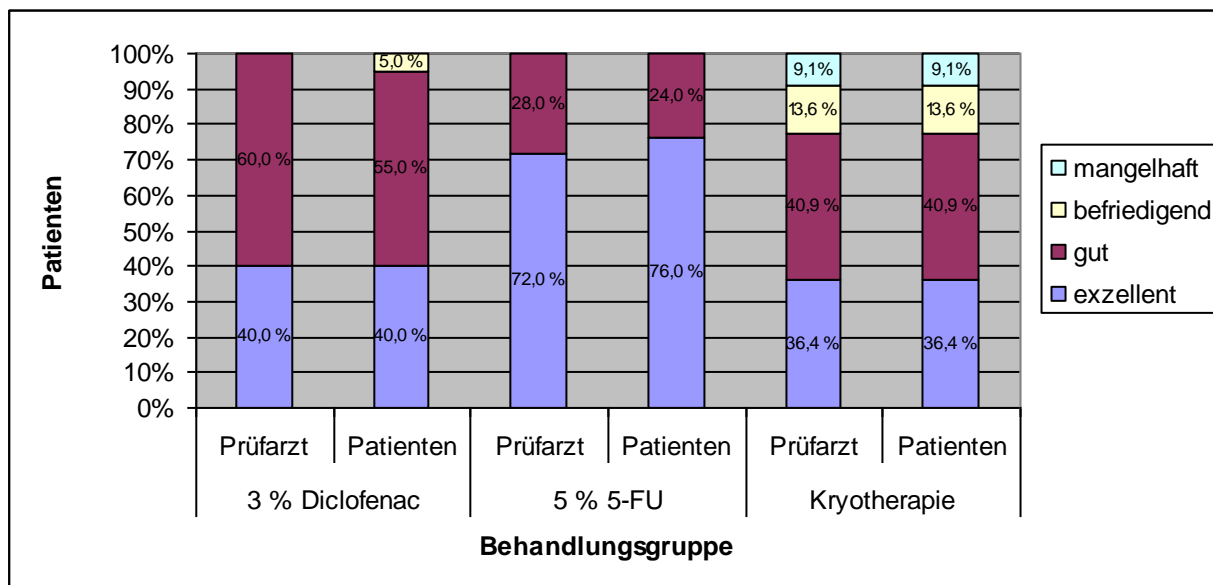
### 3.4 Endpunkt „Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes“

Nach der Beurteilung des Prüfarztes erzielten 57,1 % (12/21) der Diclofenac-Gruppe, 44,0 % (11/25) der 5-FU-Gruppe sowie 8,0 % (2/25) der Kryotherapie-Gruppe ein exzellentes Ergebnis in der Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes vier Wochen nach dem Behandlungsende. 38,1 % (8/21) der Diclofenac-Gruppe, 44,0 % (11/25) der 5-FU-Gruppe und 36,0 % (9/25) der Kryotherapie-Gruppe erhielten eine gute Bewertung durch einen der Prüfarzte. Insgesamt zeigten sich gute oder exzellente Resultate in der Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes bei 95,2 % (20/21) der Diclofenac-Gruppe, bei 88,0 % (22/25) der 5-FU-Gruppe und bei 44,0 % (11/25) der Kryotherapie-Gruppe ( $p: 0,0003$ , Abb. 7a). Die Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes durch die Patienten zeigte entsprechende Ergebnisse ( $p < 0,0001$ , Abb. 7a).



**Abb. 7a:** Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes nach der Bewertung des Prüfarztes ( $p: 0,0003$ ) und der Patienten ( $p < 0,0001$ ) vier Wochen nach dem Behandlungsende.  $N = 21$ ,  $25$  und  $25$  für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie.

Im Nachbeobachtungszeitraum (zwölf Monate nach Beendigung der Therapie) konnten gute oder exzellente Resultate in der Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes bei  $100,0\%$  ( $20/20$  bzw.  $25/25$ ) sowohl der Diclofenac- als auch der 5-FU-Gruppe nach Einschätzungen durch einen der Prüfarzte beobachtet werden.  $77,3\%$  ( $17/22$ ) der Kryotherapie-Gruppe erzielten einen guten oder exzellenten therapeutischen Effekt ( $p: 0,0124$ , Abb. 7b). Die Evaluation durch die Studienteilnehmer zeigte ähnliche Ergebnisse ( $p: 0,0146$ , Abb. 7b).



**Abb. 7b:** Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes nach der Bewertung des Prüfarztes ( $p: 0,0124$ ) und der Patienten ( $p: 0,0146$ ) zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung.  $N = 20, 25$  und  $22$  für Diclofenac, 5-FU (5-Fluorouracil) und Kryotherapie.

### 3.5 Unerwünschte Ereignisse

Insgesamt berichteten zwölf Patienten der drei Behandlungsgruppen 14 unerwünschte Ereignisse (UE) während der Untersuchung (Tabelle 3). In der Diclofenac-Gruppe erlitt ein Studienteilnehmer einen Apoplex. Ein Proband musste einer stationären Behandlung aus kardialer Indikation (kardiale Insuffizienz) zugeführt werden, bei einem weiteren Patienten wurde eine Epididymitis diagnostiziert. Zwei Studienteilnehmer gaben Hautentzündungen im Beobachtungsareal an. Bei einem Probanden kam es zum Auftreten eines invasiven Plattenepithelkarzinoms im Behandlungsgebiet. Innerhalb der 5-FU-Gruppe wurden vier lokale UE berichtet. Zwei Studienteilnehmer gaben Schmerzen im Untersuchungsareal an, bei zwei weiteren war es zu inflammatorischen Reaktionen im behandelten Gebiet gekommen. Einer dieser Patienten litt unter zusätzlichem Fieber und Schüttelfrost. Bei zwei Probanden der Kryotherapie-Gruppe kam es zum Auftreten eines M. Bowen im Beobachtungsareal.

Unerwünschte Ereignisse führten zu einem Abbruch der Studie von zwei Teilnehmern der Diclofenac-Gruppe. Die Patienten, die einen Apoplex bzw. kardiale Insuffizienz erlitten hatten, beendeten die Untersuchung nach der ersten Studienvsiste unter der Behandlung.

Während die lokalen UE dabei als wahrscheinlich zusammenhängend mit der Anwendung der Studienmedikation eingestuft werden, wird kein Zusammenhang zwischen den anderen berichteten unerwünschten Ereignissen und der Applikation der Prüfsubstanzen bzw. der Anwendung der Kryotherapie angenommen (Tabelle 4).

**Tabelle 3:** Unerwünschte Ereignisse. 5-FU, 5-Fluorouracil; BA, Beobachtungsareal; inflammat., inflammatorische; SCC, Plattenepithelkarzinom.

Randomisierungsnummer	Behandlungsgruppe	Unerwünschtes Ereignis
2	5 % 5-FU	Schmerzen im BA
17	3 % Diclofenac	Apoplex
19	5 % 5-FU	Inflammat. Reaktion im BA
20	3 % Diclofenac	Inflammat. Reaktion im BA
24	3 % Diclofenac	SCC im BA
25	3 % Diclofenac	Epididymitis
33	5 % 5-FU	Schmerzen im BA
41	3 % Diclofenac	Inflammat. Reaktion im BA
42	Kryotherapie	M. Bowen
59	5 % 5-FU	1. Inflammat. Reaktion im BA 2. Fieber mit Schüttelfrost
70	Kryotherapie	M. Bowen
74	3 % Diclofenac	1. Kardiale Insuffizienz 2. Hospitalisation

**Tabelle 4:** Zusammenhang unerwünschter Ereignisse mit der Studienmedikation bzw. der Anwendung der Kryotherapie. 5-FU, 5-Fluorouracil; Rand.nummer, Randomisierungsnummer; inflammat., inflammatorische; BA, Beobachtungsareal; SCC, Plattenepithelkarzinom.

Rand.nummer	Behandlungs- gruppe	Unerwünschtes Ereignis	Zusammenhang mit der Studienmedikation
2	5 % 5-FU	Schmerzen im BA	Wahrscheinlich
17	3 % Diclofenac	Apoplex	Unwahrscheinlich
19	5 % 5-FU	Inflammat. Reaktion im BA	Höchstwahrscheinlich
20	3 % Diclofenac	Inflammat. Reaktion im BA	Höchstwahrscheinlich
24	3 % Diclofenac	SCC im BA	Unwahrscheinlich
25	3 % Diclofenac	Epididymitis	Kein Zusammenhang
33	5 % 5-FU	Schmerzen im BA	Wahrscheinlich
41	3 % Diclofenac	Inflammat. Reaktion im BA	Höchstwahrscheinlich
42	Kryotherapie	M. Bowen	Unwahrscheinlich
59	5 % 5-FU	1. Inflammat. Reaktion im BA 2. Fieber mit Schüttelfrost	Unwahrscheinlich
70	Kryotherapie	M. Bowen	Unwahrscheinlich
74	3 % Diclofenac	1. Kardiale Insuffizienz 2. Hospitalisation	Unwahrscheinlich



**Tabelle 5:** Zusammenschau signifikanter Resultate zu dem Zeitpunkt vier Wochen nach dem Behandlungsende (V4). 5-FU, 5-Fluorouracil.

---

<b>Klinische Abheilungsraten</b>	<b>V4</b>
3 % Diclofenac	57,1 %
5 % 5-FU	60,0 %
Kryotherapie	8,0 %
	p: 0,0001
<b>Histologische Abheilungsraten</b>	
3 % Diclofenac	85,7 %
5 % 5-FU	68,0 %
Kryotherapie	44,0 %
	p: 0,0041
<b>Prozentuale Abnahme von Läsionen</b>	
3 % Diclofenac	87,9 %
5 % 5-FU	81,5 %
Kryotherapie	50,5 %
	p: 0,0005
<b>Exzellentes oder gutes kosmetisches Ergebnis nach der Bewertung des Prüfarztes</b>	
3 % Diclofenac	100,0 %
5 % 5-FU	60,0 %
Kryotherapie	24,0 %
	p<0,0001

---

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Klinische Evaluation

#### 4.1.1 Abheilungsraten

Eine vollständige Abheilung des gesamten Beobachtungsareals kann in der vorliegenden Arbeit vier Wochen nach dem Behandlungsende bei 57,1 % (12/21) der Diclofenac-Gruppe verzeichnet werden (Abb. 1a). Die Effektivität und Sicherheit einer Therapie aktinischer Keratosen mit 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure konnte bereits in einigen Placebo kontrollierten Untersuchungen belegt werden<sup>70-72</sup>. Gebauer et al. berichteten über komplette Resolutionen der aktinischen Keratosen vier Wochen nach dem Abschluss der Behandlung von 38 % der Patienten nach zwölfwöchiger Applikation von Diclofenac<sup>70</sup>. Aus einer multizentrischen Studie von Nelson et al. mit 76 Teilnehmern, die Diclofenac über 90 Tage anwandten, ging eine Abheilungsrate von 45 % nach einem therapiefreien Intervall von 30 Tagen hervor<sup>73</sup>. Eine weitere multizentrische, doppelblinde, Placebo kontrollierte Untersuchung mit 120 Probanden verzeichnete eine komplette Resolutionsrate der Läsionen von 47 % der über 90 Tage mit Diclofenac behandelten Patienten 30 Tage nach dem Applikationsende<sup>72</sup>. Mastrolonardo fand vollständige Abheilungen aller Läsionen bei 21 von 29 (71 %) mit Diclofenac über zwölf Wochen behandelten Studienteilnehmern in einer retrospektiven Analyse<sup>100</sup>. Eine doppelblinde, Placebo kontrollierte klinische Prüfung von Rivers et al. mit 195 Patienten fand 31 % der mit Diclofenac behandelten Probanden 30 Tage nach Beendigung der Therapie von allen Läsionen geheilt<sup>71</sup>.

Der Behandlungserfolg von Diclofenac stellt sich in den oben genannten Untersuchungen als sehr unterschiedlich dar, die berichteten Abheilungsraten schwanken von 31 bis 71 %. Wird die Resolutionsrate der vorgelegten Arbeit von 57,1 % mit denen der aufgeführten Autoren verglichen, sind auf Unterschiede im Studiendesign und den Methoden hinzuweisen. Während in der vorliegenden Studie ein Gramm von Diclofenac pro Anwendung auf ein Beobachtungsareal von 50 cm<sup>2</sup> aufgetragen wird, belief sich die Behandlungsdosis in den oben genannten Untersuchungen auf 0,25<sup>70</sup> bis 0,5 Gramm<sup>71,72</sup>. Die Testfelder variierten dabei von einem<sup>70</sup> bis drei<sup>71-73</sup> 5 cm<sup>2</sup> großen Untersuchungsgebieten.

Die im Vergleich zu der vorgelegten Arbeit wesentlich niedrigere Abheilungsrate von Rivers et al.<sup>71</sup> könnte durch eine um 30 Tage kürzere Behandlungsdauer mit Diclofenac zu erklären sein. Unterschiede sind auch in den Einschlusskriterien zu finden. In mehreren Studien wurden aktinische Keratosen auch der Hände und Arme in die Untersuchung eingeschlossen<sup>70-72,100</sup>. Mastrolonardo wählte Patienten, deren aktinische Keratosen anamnestisch bereits häufiger erfolglos mit Kryotherapie behandelt worden waren<sup>100</sup>. Die aus der vorliegenden Arbeit hervorgehende Resolutionsrate von 57,1 % ist höher als die der vier von fünf aufgeführten Studien, liegt aber in der Spannweite aller zu vergleichenden Resultate.

Die Abheilungsraten der 5-FU-Gruppe und der Kryotherapie-Gruppe der vorgelegten Arbeit belaufen sich auf 60,0 % (15/25) bzw. 8,0 % (2/25) (Abb. 1a). Krawtchenko et al. verglichen Behandlungen aktinischer Keratosen bei 75 Patienten mit Imiquimod, 5-Fluorouracil und Kryotherapie und demonstrierten klinische Abheilungsraten von 96 % für 5-FU und von 68 % für Kryotherapie<sup>80</sup>. Aus einer multizentrischen Untersuchung von Thai et al. mit 90 Studienteilnehmern ging eine Resolutionsrate von 57 % der mit Kryotherapie im Sprayverfahren behandelten Probanden drei Monate nach dem Ende der Therapie hervor. Im Vergleich der unterschiedlich langen Applikationszeiten der verschiedenen Studienzentren berichteten sie weiterhin, dass ein Gefrierauftauzyklus zwischen zehn und 15 Sekunden die Wirksamkeit der Behandlung maximiere, während unerwünschte Effekte minimiert würden<sup>101</sup>. Diskrepanzen in der Bewertung des Therapieerfolges von 5-FU im Vergleich mit der Untersuchung von Krawtchenko et al.<sup>80</sup> lassen sich nicht durch verschiedene Studiendesigns oder unterschiedliche Methoden erklären.

Darüber hinaus ist zu erwähnen, dass die Kryotherapie weder, was die Häufigkeit der Anwendung noch die Applikationsdauer oder die Intensität der Behandlung betrifft, standardisiert ist. Hierzu können lediglich Meinungen verschiedener Autoren herangezogen werden<sup>45,47</sup>. So unterscheiden sich die Anzahl der Applikationen und die Dauer der Gefrierauftauzyklen in den genannten Untersuchungen. Ein Vergleich des Erfolges einer Kryotherapie-Behandlung mit der multizentrischen Studie von Thai et al.<sup>101</sup> ist daher nur bedingt möglich.

Während deren Probanden einmalig mit der Kryotherapie im Sprayverfahren mit unterschiedlich langen Applikationszeiten behandelt wurden, kommt in der vorliegenden Arbeit die ein- oder zweimalige Prozedur des Kontaktverfahrens für zehn bis 20 Sekunden pro Läsion zur Anwendung. Thai et al. berücksichtigten weiterhin lediglich unbehandelte aktinische Keratosen mit einem Durchmesser von mindestens fünf Millimeter. Die Untersuchung von Krawtchenko et al. erzielte eine im Vergleich zu den vorgelegten Ergebnissen um 60 % höhere klinische Abheilungsrate<sup>80</sup>. Diesem Ergebnis könnten ebenfalls der Einsatz des Sprayverfahrens und die Tatsache zu Grunde liegen, dass die Patienten mit doppelter Applikationszeit behandelt wurden. Die Wahl des Kryotherapieverfahrens und die Behandlungsdauer scheinen die Resultate zu beeinflussen. Schließlich ist der Therapieerfolg der Kryotherapie von der Erfahrung des anwendenden Arztes abhängig.

Zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung weisen 45,0 % (9/20) der Diclofenac-Gruppe, 68,0 % (17/25) der 5-FU-Gruppe sowie 18,2 % (4/22) der Kryotherapie-Gruppe eine komplette Erscheinungsfreiheit des gesamten Beobachtungsareals auf ( $p$ : 0,0021, Abb. 1b). Krawtchenko et al. berichteten über anhaltende Remissionen des gesamten Untersuchungsgebietes von 33 % der 5-FU-Gruppe und von 4 % der Kryotherapie-Gruppe ein Jahr nach dem Abschluss der Therapie<sup>80</sup>. Während die in der zitierten Arbeit aufgeführten Resolutionsraten nach Anwendung der Kryotherapie über den Zeitraum von zwölf Monaten abgenommen haben, kann in der vorliegenden Untersuchung eine Zunahme der klinischen Abheilung beobachtet werden. Dies wirft die Hypothese auf, ob das Kontaktverfahren möglicherweise eine nachhaltigere Behandlungsoption darstellt als das Sprayverfahren.

#### **4.1.2 Abnahmeraten**

Eine Reduktion der mittleren Anzahl aktinischer Keratosen (absolute Reduktion) über den Behandlungszeitraum (von der Einschlussvisite bis vier Wochen nach Beendigung der Therapie) kann in der vorgelegten Arbeit mit -6,8 (von 7,8 zu 1,0; eine Reduktion um 87,9 %) in der Diclofenac-Gruppe beobachtet werden ( $p$  < 0,0001, Abb. 2). In der Placebo kontrollierten, multizentrischen Studie von Gebauer et al. mit 150 Patienten, von denen 73 Diclofenac über zwölf Wochen anwandten, konnte eine Reduktion in der mittleren Anzahl von Läsionen vier Wochen nach dem Behandlungsende um 6,2 (56,1 %) verzeichnet werden<sup>70</sup>.

Eine Untersuchung mit kleinerem Stichprobenumfang ( $n = 29$ ) fand einen Rückgang der mittleren Anzahl aktinischer Keratosen von 8,2 zu 1,5 (82 %) am Ende der zwölfwöchigen Behandlungsdauer<sup>100</sup>. Aus der multizentrischen Studie von Nelson et al. ging eine prozentuale Reduktion der zu Beginn vorhandenen Läsionen von 83 % 30 Tage nach Applikation von Diclofenac hervor<sup>73</sup>. Rivers et al. fanden einen Rückgang in der Anzahl der vor der Therapie vorhandenen aktinischen Keratosen von 7,0 zu 2,1<sup>71</sup>. Die von den aufgeführten Autoren berichteten Abnahmeraten für Diclofenac liegen niedriger als der aus der vorliegenden Untersuchung hervorgehende Rückgang der mittleren Anzahl an Läsionen. Die von Gebauer et al. berichtete Reduktion von 56,1 % lässt sich durch eine im Vergleich mit der vorliegenden Arbeit reduzierte Applikationsdosis um 0,75 Gramm pro Anwendung begründen<sup>70</sup>. Teilnehmer der Studie von Mastrolonardo, die eine prozentuale Reduktion um 82 % aufwiesen, waren bereits vor der Therapie mit Diclofenac wiederholt erfolglos mit Kryotherapie behandelt worden<sup>100</sup>. Die ebenfalls schwächere Abnahmerate von Rivers et al. könnte auf einen Applikationszeitraum von lediglich 60 Tagen zurückzuführen sein<sup>71</sup>.

Eine Reduktion der mittleren Anzahl aktinischer Keratosen kann in der vorliegenden Arbeit mit -6,1 (von 7,6 zu 1,5; -81,5 %;  $p < 0,0001$ ) in der 5-FU-Gruppe und mit -3,7 (von 7,7 zu 4,0; -50,5 %;  $p < 0,0001$ ) in der Kryotherapie-Gruppe verzeichnet werden (Abb. 2). Eine Vergleichsstudie von Ostertag et al. mit 55 Patienten fand einen mittleren Rückgang in der Anzahl aktinischer Läsionen pro Person von 13,2 nach einer Behandlung mit 5-Fluorouracil<sup>53</sup>. Lawrence et al. verglichen die Effektivität einer dreiwöchigen Applikation von 5-FU mit der Anwendung eines chemischen Peelings bei 15 Probanden in einem bilateralen Studiendesign und fanden eine Reduktion der Anzahl sichtbarer aktinischer Keratosen von 75 % in beiden Behandlungsgruppen. Dabei wurden jedoch lediglich Personen mit schwerem, großflächigen aktinischen Schaden des Gesichtes in die Untersuchung eingeschlossen<sup>54</sup>. Die von Lawrence et al. im Vergleich mit den vorgelegten Ergebnissen geringfügig niedrigere Abnahmerate von 75 % nach der Therapie mit 5-FU lässt sich durch eine kürzere Behandlungsdauer von drei Wochen erklären. Morton et al. berichteten über Reduktionen in der Anzahl aktinischer Keratosen von 76,2 % nach Anwendung der Kryotherapie<sup>59</sup>. Sie behandelten Patienten mit der Kryotherapie im Sprayverfahren. Hier bestätigt sich der sich schon in den Abheilungsraten gezeigte höhere Behandlungserfolg des Sprayverfahrens gegenüber dem Kontaktverfahren. Darüber hinaus wurden hyperkeratotische Läsionen von der zitierten Studie ausgeschlossen.

### 4.1.3 Rezidivraten

Ein Jahr nach dem Ende der Therapie weisen 20,0 % (4/20) der Diclofenac-Gruppe, 4,0 % (1/25) der 5-FU-Gruppe sowie 36,4 % (8/22) der Kryotherapie-Gruppe in der vorliegenden Untersuchung rezidierte aktinische Keratosen in den Behandlungsgebieten auf (p: 0,0185, Abb. 3). Mastrolonardo beschrieb eine mittlere Latenzzeit von zehn Monaten vor dem Auftreten rezidivierter Läsionen nach Anwendung von Diclofenac<sup>100</sup>. Die Studie von Ostertag et al. fand bei 80,8 % von 27 mit 5-Fluorouracil behandelten Probanden rezidierte aktinische Keratosen innerhalb eines Ein-Jahres-Nachbeobachtungszeitraums<sup>53</sup>. Dabei wurde jedoch nicht zwischen dem Wiederauftreten von Läsionen (rezidierte AK) und dem Erscheinen neuer aktinischer Keratosen unterschieden. Chiarello ließ ein so genanntes Kryo-Peeling anwenden, bei dem sowohl jede Läsion als auch das gesamte, sie umgebende Areal besprüht wurde. Er berichtete von einer ein- bis anderthalbjährigen Inzidenz- bzw. Rezidivrate von 12 % der 124 untersuchten Studienteilnehmer. In dem Zeitraum sechs bis zwölf Monate nach der Behandlung wiesen 9 % der Patienten neue oder rezidierte Läsionen in den Beobachtungsgebieten auf<sup>44</sup>. Abermals wurde hier auf eine Unterscheidung rezidivierter und neu aufgetretener aktinischer Keratosen verzichtet. Möglicherweise spiegelt die im Vergleich mit der vorliegenden Arbeit niedrigere Rezidivrate dennoch eine erneute Überlegenheit des Sprayverfahrens in diesem Endpunkt wider.

### 4.1.4 Neue Läsionen

Neue aktinische Keratosen finden sich bei 40,0 % (8/20) der Diclofenac-Gruppe und bei 32,0 % (8/25) der 5-FU-Gruppe. In der Kryotherapie-Gruppe sind bei 63,6 % (14/22) neue Läsionen zwölf Monate nach dem Behandlungsende in der vorgelegten Studie aufgetreten (p: 0,0899, Abb. 4). Ein Vergleich der Rezidivrate und des Auftretens neuer aktinischer Keratosen der drei Therapieoptionen mit anderen Autoren erweist sich als schwierig, denn keine der genannten Arbeiten berücksichtigte einen Unterschied der beiden Entitäten. In Anbetracht der Tatsache, dass die Kryotherapie eine lokal destruierende Behandlungsmethode darstellt und Diclofenac und 5-Fluorouracil Flächentherapieverfahren sind, ist es besonders wichtig, bei der Behandlungsevaluation zwischen rezidivierten Läsionen und dem Erscheinen neuer aktinischer Keratosen zu differenzieren.

## 4.2 Histologische Evaluation

Die Abheilung von Läsionen kann bei 85,7 % (18/21) der Diclofenac-Gruppe, bei 68,0 % (17/25) der 5-FU-Gruppe sowie bei 44,0 % (11/25) der Kryotherapie-Gruppe durch exemplarische Probeexzision einer klinisch abgeheilten AK aus dem behandelten Areal in der vorgelegten Arbeit bestätigt werden ( $p$ : 0,0041, Abb. 5). Die Durchführung der Untersuchung erfolgte hierbei Beobachter verblindet. Die Person, die die histologische Bewertung vornahm, war in den klinischen Teil der Studie nicht mit eingebunden. Krawtchenko et al. berichteten von anhand histologischer Untersuchungen bestätigten Abheilungsraten von 67 % der Patienten der 5-FU-Gruppe und von 32 % der Studienteilnehmer aus der Kryotherapie-Gruppe<sup>80</sup>. Diese Resultate decken sich weitestgehend mit den in der vorliegenden Untersuchung erhobenen Beobachtungen.

Die klinische Beurteilung des Behandlungserfolges von Diclofenac könnte nicht ausreichend sein, wenn man betrachtet, dass die histologische Evaluation der Hautgewebeproben nach der Therapie mit Diclofenac weit besser ausfällt als die klinische Einschätzung zu erwarten ließ. Ähnlich sind die Ergebnisse der Behandlung mit Kryotherapie zu werten. So scheint die klinische Beurteilung der Behandlungseffektivität oft nicht akkurat genug zu sein, da ein zum Zeitpunkt der Bewertung noch bestehendes Erythem oder eine vorliegende Schuppung missführend sein könnten. In der klinischen Praxis ist die histologische Evaluation des Therapieerfolges oft nicht realisierbar. Biopsieentnahmen jeder individuellen Läsion wären mit obligatorischer Narbenbildung verbunden. Neuere nichtinvasive diagnostische Modalitäten wie die Reflektanz-konfokale Mikroskopie (RCM)<sup>40,41</sup> könnten von Nutzen sein, um die diagnostische Sicherheit von klinischen Abheilungsraten zu erhöhen.

## 4.3 Kosmetisches Ergebnis

Vier Wochen nach dem Ende der Behandlung erlangen in der vorgelegten Untersuchung 100,0 % (21/21) der Diclofenac-Gruppe, 60,0 % (15/25) der 5-FU-Gruppe und 24,0 % (6/25) der Kryotherapie-Gruppe nach der Bewertung des Prüfarztes ein gutes oder exzellentes kosmetisches Ergebnis im Beobachtungsareal ( $p$  < 0,0001, Abb. 6a).

Ein Jahr nach dem Abschluss der Therapie weisen sowohl 100,0 % (20/20 bzw. 25/25) der Diclofenac- als auch der 5-FU-Gruppe und 54,5 % (12/22) der Kryotherapie-Gruppe ein gutes oder exzellentes kosmetisches Ergebnis im Untersuchungsgebiet sowohl nach der Beurteilung des Prüfarztes ( $p$ : 0,0001) als auch nach dem Bemessen der Probanden ( $p < 0,0001$ ) auf (Abb. 6b). Diclofenac zeigt das beste kosmetische Resultat, was die Akzeptanz und Compliance von Patienten erhöhen könnte. In Krawtchenkos Studie zum Vergleich der Behandlungseffektivität von Imiquimod, 5-FU und Kryotherapie ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Bewertung des kosmetischen Ergebnisses zwischen den Behandlungsgruppen nach Beendigung der Therapie. Zwölf Monate nach dem Applikationsende erreichten lediglich 4 % sowohl der 5-FU- als auch der Kryotherapie-Gruppe nach der Evaluation des Prüfarztes ein exzellentes Resultat im Beobachtungsareal <sup>80</sup>, während in der vorliegenden Arbeit exzellente kosmetische Ergebnisse bei 56,0 % der mit 5-FU therapierten und 13,6 % der mit Kryotherapie behandelten Studienteilnehmer verzeichnet werden können. Auch die Patienten aus Krawtchenkos Untersuchung schätzten das kosmetische Resultat entsprechend niedrig ein. Dabei ist zu erwähnen, dass der Arbeit ebenfalls ein unverblindetes Studiendesign zu Grunde lag. Der Vergleich zeigt, dass die Beobachtung trotz gleich gewählter Kriterien zur Beurteilung des untersuchten Parameters in beiden klinischen Prüfungen starker Subjektivität unterliegt und darüber hinaus möglicherweise durch die Wahl der dritten untersuchten Behandlungsmodalität beeinflusst wird.

Freeman und Thai berichteten beide über vom Prüfarzt bewertete exzellente kosmetische Ergebnisse von 51 % der mit Kryotherapie behandelten Fälle <sup>57,101</sup>. Aus einer Studie von Szeimies et al. zum Vergleich der Behandlungseffektivität von Kryotherapie und photodynamischer Therapie (PDT) bei 202 Probanden ging ein exzellentes oder gutes kosmetisches Resultat bei 81 % der mit zwei Zyklen Spray-Kryotherapie behandelten Studienteilnehmer hervor <sup>49</sup>. Morton et al. bewerteten 57,4 % der mit Kryotherapie behandelten Patienten mit einem exzellenten kosmetischem Ergebnis im Beobachtungsareal <sup>59</sup>.

In allen genannten Untersuchungen wurden dabei die gleichen, mit der vorgelegten Arbeit konformen Maßstäbe für die Beurteilung des kosmetischen Resultats herangezogen. Jedoch wurden z. T. lediglich Probanden in die Analyse einbezogen, die eine vollständige klinische Abheilung der aktinischen Keratosen nach der Behandlung <sup>57,101</sup> bzw. eine Resolution von 75 % der Läsionen <sup>49</sup> aufwiesen.



Dieser Umstand könnte die im Vergleich mit der vorliegenden Studie besseren kosmetischen Ergebnisse erklären. Darüber hinaus lassen die berichteten Resultate mutmaßen, dass die Anwendung der Kryotherapie im Sprayverfahren dem Kontaktverfahren im Endpunkt „kosmetisches Ergebnis“ überlegen ist.

#### **4.4 Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes**

Vier Wochen nach dem Behandlungsende zeigt sich in der vorgelegten Arbeit ein guter oder exzellenter therapeutischer Effekt bei 95,2 % (20/21) der Diclofenac-Gruppe, bei 88,0 % (22/25) der 5-FU-Gruppe sowie bei 44,0 % (11/25) der Kryotherapie-Gruppe ( $p$ : 0,0003, Abb. 7a). Im Nachbeobachtungszeitraum (zwölf Monate nach dem Abschluss der Therapie) kann ein guter oder exzellenter therapeutischer Effekt bei 100,0 % (20/20 bzw. 25/25) sowohl der Diclofenac- als auch der 5-FU-Gruppe nach Einschätzungen durch einen der Prüfähzte beobachtet werden. 77,3 % (17/22) der Kryotherapie-Gruppe erzielen einen guten oder exzellenten therapeutischen Effekt ( $p$ : 0,0124, Abb. 7b).

Der Bewertung des therapeutischen Effektes in der vorgelegten Untersuchung liegen die Kriterien der Effektivität, der Sicherheit und des kosmetischen Resultates der entsprechenden Behandlung zu Grunde. Die aufgeführten Autoren bedienten sich anderer Parameter wie dem „global improvement index/score“<sup>71-73,79</sup> oder dem „photoaging score“<sup>53</sup> für die globale Einschätzung des Behandlungserfolges ihrer untersuchten Therapieoptionen. Auch wenn ein solcher Endpunkt der Subjektivität von Untersuchern und Probanden unterliegt, bedürfen Studien zur Behandlung aktinischer Keratosen einheitlicher Parameter und Kriterien zur abschließenden Bewertung einer spezifischen Therapie, um einen Vergleich zwischen verschiedenen Behandlungsformen zu ermöglichen.

#### **4.5 Limitationen der Arbeit**

Die Durchführung des klinischen Teils der Untersuchung erfolgte unverblindet. Dieser Aspekt könnte zu einer Verzerrung von Betrachtungen geführt haben.

Darüber hinaus wurde das Projekt von einem der Hersteller der zu vergleichenden Prüfpräparate, 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure (Solaraze<sup>®</sup>, Shire Chineham Basingstoke), finanziell unterstützt. Dies könnte ebenfalls zu einem Beobachterbias beigetragen haben.

Schließlich ist darauf hinzuweisen, dass in der vorliegenden Arbeit auf eine direkte Messung der Patientencompliance, etwa durch Abwiegen der Medikationen wie bei Gebauer et al.<sup>70</sup> und Rivers und Kollegen<sup>71</sup>, verzichtet wurde. Instruktionen des Studienpersonals zum Gebrauch der Arzneimittel und die Aushändigung leerer Tuben der Testsubstanzen durch die Probanden sollten die Zuverlässigkeit in der Befolgung therapeutischer Anweisungen der Studienteilnehmer sicherstellen.

#### **4.6 Ausblick**

Die Behandlung aktinischer Keratosen zielt auf die nachhaltige Heilung des ganzen aktinisch geschädigten Feldes ab, soll das Risiko für rezidivierende Läsionen senken, die Progression zu einem invasiven Plattenepithelkarzinom aufhalten, eine potentiell metastasierende Krankheit verhindern und auf diese Weise die Morbidität und Mortalität der Betroffenen sowie die für das Gesundheitssystem anfallenden Kosten senken. Eine Therapie, die hohe Abheilungsraten erzielt und eine gute Tolerabilität der Nebenwirkungen mit einem guten kosmetischen Outcome verbindet, erhöht die Akzeptanz und Compliance der anwendenden Personen. Eine große Anzahl von Optionen zur Behandlung der aktinischen Keratose ist verfügbar. Jedoch sind die meisten mit Unbequemlichkeiten bei der Anwendung und einem unerwünschten kosmetischen Erscheinungsbild für die Patienten verbunden.

Aus einer Untersuchung im Halbseitenversuch zum Vergleich der Behandlungseffektivität von Diclofenac und 5-Fluorouracil ging hervor, dass die Studienteilnehmer eine Behandlung mit Diclofenac auf Grund seines nebenwirkungsärmeren Profils bevorzugten<sup>79</sup>. Dabei muss jedoch die im Vergleich zu Diclofenac wesentlich kürzere Applikationsdauer von 5-FU betrachtet werden. Jüngere, aktiv am beruflichen und sozialen Leben teilhabende Patienten könnten einen längeren Behandlungszeitraum in Kauf nehmen wollen, wenn die Therapie nebenwirkungsärmer und ihr kosmetisches Erscheinungsbild während und nach der Behandlung tolerabler sind, wohingegen Personen, die wenigen öffentlichen Verpflichtungen nachgehen, eine kürzere Applikationsdauer einer weniger tolerablen Behandlung bevorzugen könnten. Die Anwender sollten in jedem Fall über die Nebenwirkungen einer spezifischen Therapie von aktinischen Keratosen informiert werden, um eine über den Behandlungszeitraum anhaltende Compliance zu erreichen.

Es ist nachvollziehbar, dass ein lokal destruierendes Verfahren, ein „spot treatment“ wie die Kryotherapie, welches lediglich klinisch sichtbare Läsionen behandeln kann, schwächere Abheilungsraten des gesamten Beobachtungsareals erzielt als die in der Untersuchung verwendeten Flächentherapieverfahren Diclofenac und 5-Fluorouracil. Üblicherweise wird die Kryotherapie für die Behandlung einzelner aktinischer Läsionen angewandt. Dabei kommt es in vielen Fällen nach der Therapie zu dem Auftreten neuer bzw. rezidivierender aktinischer Keratosen, die ihren Ausgang von dem Rand behandelter Läsionen oder dem umgebenden subklinisch geschädigten Feld nehmen und eine Wiederholung der Prozedur erfordern. Der Behandlungserfolg hängt darüber hinaus von der Erfahrung des anwendenden Arztes ab. In der vorliegenden Arbeit zeigt die Behandlung mit Kryotherapie die niedrigsten klinischen und histologischen Abheilungsraten. Betrachtet man also die limitierte Applikationsfläche, schwache klinische und histologische Resolutionsraten, das häufige Auftreten neuer Läsionen und eine hohe Rezidivrate sowie das mäßige kosmetische Ergebnis, so kann die Kryotherapie im Kontaktverfahren nicht als First-line-Therapie in der Behandlung aktinischer Feldkanzerisierung angesehen werden. Doch da sie sich durch eine relativ leichte Handhabung auszeichnet und in fast jeder dermatologischen Einrichtung verfügbar ist sowie darüber hinaus eine kostengünstige Therapieoption darstellt, könnte die Kryotherapie in der Behandlung einzelner aktinischer Keratosen, bei Personen mit begrenzter Compliance als auch sequentiell mit anderen Behandlungsformen wie Diclofenac<sup>100</sup> weiterhin sinnvoll eingesetzt werden.

Aktinische Keratosen präsentieren sich klinisch im Kontext der Feldkanzerisierung, dem gleichzeitigen Vorhandensein von multiplen sichtbaren Läsionen und subklinischer keratinozytärer Dysplasie. Topisch applizierbare Therapieoptionen wie 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure und 5 % 5-Fluorouracil bieten die Möglichkeit, ein ganzes lichtgeschädigtes Areal zu behandeln und so eine nachhaltige Abheilung von Läsionen sowie eine niedrige Rezidivrate zu erreichen. Das Auftreten klinisch identifizierbarer neuer aktinischer Keratosen könnte möglicherweise verhindert werden, wenn die Behandlung subklinischer Läsionen in einem frühen Stadium erfolgt. Diclofenac und 5-Fluorouracil präsentieren beide hohe klinische und histologische Abheilungsraten und gute bis exzellente kosmetische Resultate. Am Ende eines Nachbeobachtungszeitraums von einem Jahr zeigen sich Diclofenac und 5-FU hinsichtlich der Rate an neu aufgetretenen und rezidierten Läsionen vorteilhaft gegenüber der Behandlung mit Kryotherapie.

Die Studienergebnisse deuten darauf hin, dass der Gebrauch von Diclofenac und 5-FU mit einem anhaltenden klinischen Benefit für die Mehrheit von Patienten assoziiert ist. Dieses Resultat gilt es jedoch in folgenden Untersuchungen zu bestätigen, da die Anzahl der untersuchten Studienteilnehmer auf Grund von Drop-outs und fehlenden Daten zum Untersuchungszeitpunkt niedrig war. Den exakten Wirkungsmechanismus einer topischen Anwendung von 5-Fluorouracil gilt es weiterhin zu explorieren, da dessen Sicherheit angesichts einer möglichen Gen schädigenden Wirkung zum jetzigen Zeitpunkt noch in Frage gestellt werden muss. Lokale unerwünschte Ereignisse traten häufiger in der 5-FU-Gruppe als in der Diclofenac- oder der Kryotherapie-Gruppe auf.

Diclofenac ist den beiden anderen Behandlungsmodalitäten dieser Untersuchung in der Abnahmerate von aktinischen Keratosen und dem kosmetischen Outcome überlegen. Da sich die meisten aktinischen Keratosen in kosmetisch empfindlichen Bereichen wie dem Gesicht manifestieren, ist das kosmetische Resultat einer Behandlung von entsprechend großer Bedeutung. Die Tatsache, dass die Auswertung der Hautgewebeprobe nach der Applikation von Diclofenac weit besser ausfällt als die klinische Einschätzung zu erwarten lässt, könnte darauf hindeuten, dass die klinische Bewertung der Therapie den wahren Behandlungserfolg von Diclofenac unterschätzt, wenn die klinische Diagnose nicht durch die Evaluation einer Hautbiopsie oder neuere diagnostische Modalitäten <sup>40,41</sup> ergänzt wird.

Die Behandlung mit Diclofenac bietet mit der Anwendung von 5-FU vergleichbar gute klinische Abheilungsraten und exzellente histologische Resolutionsraten, kombiniert mit guter Tolerabilität der Nebenwirkungen und gutem bis exzellentem kosmetischen Ergebnis. Vorteile einer Behandlung mit 5-Fluorouracil, aber mit deutlich mehr Nebenwirkungen, sind exzellente klinische Abheilungsraten bei wesentlich kürzerer Therapiedauer sowie weniger rezidivierende als auch neu auftretende aktinische Läsionen in einem Nachbeobachtungszeitraum von einem Jahr. Festzustellen ist eine Überlegenheit der beiden Flächentherapieverfahren gegenüber der punktuellen Kryotherapie in der Behandlung multipler aktinischer Keratosen in kosmetisch sensitiven Arealen.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

**Hintergrund und Zielsetzung:** Aktinische Keratosen (AK) stellen Plattenepithelkarzinome (SCC) der Epidermis in situ dar. Es wird geschätzt, dass bei etwa 5 % der Patienten mit multiplen AK im Krankheitsverlauf mit dem Auftreten eines invasiven SCC zu rechnen ist. Somit ist die Indikation für ihre frühzeitige und konsequente Behandlung gegeben. Eine große Anzahl anerkannter Optionen zur Behandlung der aktinischen Keratose ist verfügbar, jedoch gibt es bislang weder eine First-line-Therapie noch individuelle Behandlungsmöglichkeiten. Die vorliegende Untersuchung stellte die Effektivität von drei etablierten Behandlungsoptionen gegenüber und sollte dazu beitragen, dass Therapievergleiche und Behandlungsalgorithmen erstellt werden können. Die Kryotherapie ist ein physikalisch destruierendes Verfahren, das weltweit häufig zur ablativen Therapie von AK eingesetzt wird. Die topisch applizierbaren Wirkstoffe 3 % Diclofenac und 5 % 5-Fluorouracil (5-FU) stellen Flächentherapieverfahren in der Behandlung der aktinischen Keratose dar.

**Methodik:** In einem Zeitraum von August 2006 bis Oktober 2007 wurden 75 männliche und weibliche Studienteilnehmer mit multiplen aktinischen Keratosen in einem Behandlungsareal von 50 cm<sup>2</sup> an Stirn, Gesicht oder Kopfhaut aus dem Haut Tumor Centrum Charité der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin rekrutiert und per Randomisierung auf drei Behandlungsgruppen mit je 25 Patienten aufgeteilt. Die Untersuchung sah eine topische Applikation der Studienmedikation im Beobachtungsareal zweimal täglich über vier Wochen (5 % 5-FU) bzw. zwölf Wochen (3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure) an sieben Tagen der Woche vor. Bei Patienten der Kryotherapie-Gruppe erfolgte eine Anwendung auf alle Läsionen des Untersuchungsareals im Kontaktverfahren mit flüssigem Stickstoff. Bestanden bei der nächsten Visite nach zwei Wochen noch Residuen, war eine Prozedurenwiederholung vorgesehen. Um die klinische Diagnose AK histologisch zu bestätigen, wurde jedem Patienten eine Stanzbiopsie aus einer repräsentativen Läsion des Beobachtungsareals entnommen. Zur histologischen Evaluation des Heilungserfolges wurde eine Probeexzision einer klinisch abgeheilten aktinischen Keratose aus dem behandelten Gebiet nach der Therapie bei jedem Studienteilnehmer durchgeführt.

**Ergebnisse:** Eine vollständige klinische Abheilung des gesamten Beobachtungsareals konnte vier Wochen nach dem Behandlungsende bei 57,1 % der Diclofenac-Gruppe, bei 60,0 % der 5-FU-Gruppe und bei 8,0 % der Kryotherapie-Gruppe verzeichnet werden ( $p: 0,0001$ ). Die Abheilung von Läsionen konnte bei 85,7 % der Diclofenac-Gruppe, bei 68,0 % der 5-FU-Gruppe sowie bei 44,0 % der Kryotherapie-Gruppe durch exemplarische Probeexzision einer klinisch abgeheilten AK aus dem behandelten Areal bestätigt werden ( $p: 0,0041$ ). Die prozentuale Abnahme der mittleren Anzahl an Läsionen über den Behandlungszeitraum betrug -87,9 % in der Diclofenac-Gruppe, -81,5 % in der 5-FU-Gruppe sowie -50,5 % in der Kryotherapie-Gruppe ( $p: 0,0005$ ). Ein Jahr nach dem Abschluss der Therapie wiesen 20,0 % der Diclofenac-Gruppe, 4,0 % der 5-FU-Gruppe sowie 36,4 % der Kryotherapie-Gruppe rezidierte Läsionen in den Beobachtungsarealen auf ( $p: 0,0185$ ). Neue aktinische Keratosen fanden sich bei 40,0 % der Diclofenac-Gruppe und bei 32,0 % der 5-FU-Gruppe. In der Kryotherapie-Gruppe waren bei 63,6 % neue Läsionen zwölf Monate nach dem Behandlungsende aufgetreten ( $p: 0,0899$ ). Insgesamt erlangten 100,0 % der Diclofenac-Gruppe, 60,0 % der 5-FU-Gruppe und 24,0 % der Kryotherapie-Gruppe ein gutes oder exzellentes kosmetisches Ergebnis im Behandlungsgebiet ( $p < 0,0001$ ). Gute oder exzellente Resultate in der Gesamtbeurteilung des therapeutischen Effektes zeigten sich bei 95,2 % der Diclofenac-Gruppe, bei 88,0 % der 5-FU-Gruppe und bei 44,0 % der Kryotherapie-Gruppe ( $p: 0,0003$ ).

**Diskussion:** Aktinische Keratosen präsentieren sich klinisch im Kontext der Feldkanzerisierung, dem gleichzeitigen Vorhandensein von multiplen sichtbaren Läsionen und subklinischer keratinozytärer Dysplasie. Topisch applizierbare Therapieoptionen wie 3 % Diclofenac in 2,5 % Hyaluronsäure und 5 % 5-Fluorouracil bieten die Möglichkeit, ein ganzes lichtgeschädigtes Areal zu behandeln und so eine nachhaltige Abheilung von Läsionen zu erreichen. Betrachtet man die limitierte Applikationsfläche der Kryotherapie, schwache klinische und histologische Abheilungsraten, das häufige Auftreten neuer Läsionen und eine hohe Rezidivrate sowie das mäßige kosmetische Ergebnis, so kann die Kryotherapie im Kontaktverfahren nicht als First-line-Therapie in der Behandlung aktinischer Feldkanzerisierung angesehen werden.

Die Behandlung mit Diclofenac bietet mit der Anwendung von 5-FU vergleichbar gute klinische Abheilungsraten und exzellente histologische Resolutionsraten, kombiniert mit guter Tolerabilität der Nebenwirkungen und gutem bis exzellentem kosmetischen Ergebnis. Vorteile einer Behandlung mit 5-Fluorouracil, aber mit deutlich mehr Nebenwirkungen, sind exzellente klinische Abheilungsraten bei wesentlich kürzerer Therapiedauer sowie weniger rezidivierende als auch neu auftretende aktinische Läsionen in einem Nachbeobachtungszeitraum von einem Jahr. Festzustellen ist eine Überlegenheit der beiden Flächentherapieverfahren gegenüber der punktuellen Kryotherapie in der Behandlung multipler aktinischer Keratosen in kosmetisch sensitiven Arealen.

## 6 Literatur

- 1 Rowert-Huber J, Patel MJ, Forschner T, Ulrich C, Eberle J, Kerl H, Sterry W, and Stockfleth E. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol* 2007;156 Suppl 3:8-12.:8-12.
- 2 Dubreuilh WA. Des hyperkeratoses circonscrites (1). *Ann Dermatol Venereol* 1896;27:1158-204.
- 3 Karagas MR, Zens MS, Nelson HH, Mabuchi K, Perry AE, Stukel TA, Mott LA, Andrew AS, Applebaum KM, and Linet M. Measures of cumulative exposure from a standardized sun exposure history questionnaire: a comparison with histologic assessment of solar skin damage. *Am J Epidemiol* 2007;165:719-26.
- 4 Nomura T, Nakajima H, Hongyo T, Taniguchi E, Fukuda K, Li LY, Kurooka M, Sutoh K, Hande PM, Kawaguchi T, Ueda M, and Takatera H. Induction of cancer, actinic keratosis, and specific p53 mutations by UVB light in human skin maintained in severe combined immunodeficient mice. *Cancer Res* 1997;57:2081-4.
- 5 Agar NS, Halliday GM, Barnetson RS, Ananthaswamy HN, Wheeler M, and Jones AM. The basal layer in human squamous tumors harbors more UVA than UVB fingerprint mutations: a role for UVA in human skin carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:4954-9.
- 6 Hutchinson F. Induction of tandem-base change mutations. *Mutat Res* 1994;309:11-5.
- 7 Nakazawa H, English D, Randell PL, Nakazawa K, Martel N, Armstrong BK, and Yamasaki H. UV and skin cancer: specific p53 gene mutation in normal skin as a biologically relevant exposure measurement. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:360-4.
- 8 Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, Simon JA, Sharma HW, Kimmelman J, Remington L, Jacks T, And Brash DE. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature* 1994;372:773-6.
- 9 Einspahr JG, Alberts DS, Warneke JA, Bozzo P, Basye J, Grogan TM, Nelson MA, and Bowden GT. Relationship of p53 mutations to epidermal cell proliferation and apoptosis in human UV-induced skin carcinogenesis. *Neoplasia* 1999;1:468-75.
- 10 Mitsuishi T, Kawana S, Kato T, and Kawashima M. Human papillomavirus infection in actinic keratosis and bowen's disease: comparative study with expression of cell-cycle regulatory proteins p21(Waf1/Cip1), p53, PCNA, Ki-67, and Bcl-2 in positive and negative lesions. *Hum Pathol* 2003;34:886-92.



- 11 Pfister H, Fuchs PG, Majewski S, Jablonska S, Pniewska I, and Malejczyk M. High prevalence of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus DNA in actinic keratoses of the immunocompetent population. *Arch Dermatol Res* 2003;295:273-9.
- 12 McBride P, Neale R, Pandeya N, and Green A. Sun-related factors, betapapillomavirus, and actinic keratoses: a prospective study. *Arch Dermatol* 2007;143:862-8.
- 13 Jackson S and Storey A. E6 proteins from diverse cutaneous HPV types inhibit apoptosis in response to UV damage. *Oncogene* 2000;19:592-8.
- 14 Ashton KJ, Weinstein SR, Maguire DJ, and Griffiths LR. Chromosomal aberrations in squamous cell carcinoma and solar keratoses revealed by comparative genomic hybridization. *Arch Dermatol* 2003;139:876-82.
- 15 Dang C, Gottschling M, Manning K, O'Curraín E, Schneider S, Sterry W, Stockfleth E, and Nindl I. Identification of dysregulated genes in cutaneous squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 2006;16:513-9.
- 16 Nindl I, Dang C, Forschner T, Kuban RJ, Meyer T, Sterry W, and Stockfleth E. Identification of differentially expressed genes in cutaneous squamous cell carcinoma by microarray expression profiling. *Mol Cancer* 2006;5:30.:30.
- 17 Czarnecki D, Meehan CJ, Bruce F, and Culjak G. The majority of cutaneous squamous cell carcinomas arise in actinic keratoses. *J Cutan Med Surg* 2002;6:207-9.
- 18 Guenther ST, Hurwitz RM, Buckel LJ, and Gray HR. Cutaneous squamous cell carcinomas consistently show histologic evidence of in situ changes: a clinicopathologic correlation. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:443-8.
- 19 Mittelbronn MA, Mullins DL, Ramos-Caro FA, and Flowers FP. Frequency of pre-existing actinic keratosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol* 1998;37:677-81.
- 20 Dinehart SM, Nelson-Adesokan P, Cockerell C, Russell S, and Brown R. Metastatic cutaneous squamous cell carcinoma derived from actinic keratosis. *Cancer* 1997;79:920-3.
- 21 Fitzpatrick TB and Mosher DB. Pigmentation of the skin and disorders of melanin metabolism. *Harrison's Principles of Internal Medicine* 1980;9th edn, Vol. 1:257.
- 22 Frost CA, Green AC, and Williams GM. The prevalence and determinants of solar keratoses at a subtropical latitude (Queensland, Australia). *Br J Dermatol* 1998;139:1033-9.
- 23 Naldi L, Chatenoud L, Piccitto R, Colombo P, Placchesi EB, and La VC. Prevalence of actinic keratoses and associated factors in a representative sample of the Italian adult population: Results from the Prevalence of Actinic Keratoses Italian Study, 2003-2004. *Arch Dermatol* 2006;142:722-6.

- 24 Frost C, Williams G, and Green A. High incidence and regression rates of solar keratoses in a queensland community. *J Invest Dermatol* 2000;115:273-7.
- 25 Memon AA, Tomenson JA, Bothwell J, and Friedmann PS. Prevalence of solar damage and actinic keratosis in a Merseyside population. *Br J Dermatol* 2000;142:1154-9.
- 26 Marks R and Selwood TS. Solar keratoses. The association with erythematultraviolet radiation in Australia. *Cancer* 1985;56:2332-6.
- 27 Hensen P, Muller ML, Haschemi R, Stander H, Luger TA, Sunderkotter C, and Schiller M. Predisposing factors of actinic keratosis in a North-West German population. *Eur J Dermatol* 2009;19:345-54.
- 28 Lookingbill DP, Lookingbill GL, and Leppard B. Actinic damage and skin cancer in albinos in northern Tanzania: findings in 164 patients enrolled in an outreach skin care program. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:653-8.
- 29 Stockfleth E, Ulrich C, Meyer T, and Christophers E. Epithelial malignancies in organ transplant patients: clinical presentation and new methods of treatment. *Recent Results Cancer Res* 2002;160:251-8.:251-8.
- 30 Ulrich C, Christophers E, Sterry W, Meyer T, and Stockfleth E. Skin diseases in organ transplant patients. *Hautarzt* 2002;53:524-33.
- 31 Marks R, Rennie G, and Selwood TS. Malignant transformation of solar keratoses to squamous cell carcinoma. *Lancet* 1988;1:795-7.
- 32 Dodson JM, DeSpain J, Hewett JE, and Clark DP. Malignant potential of actinic keratoses and the controversy over treatment. A patient-oriented perspective. *Arch Dermatol* 1991;127:1029-31.
- 33 Berhane T, Halliday GM, Cooke B, and Barnetson RS. Inflammation is associated with progression of actinic keratoses to squamous cell carcinomas in humans. *Br J Dermatol* 2002;146:810-5.
- 34 Suchniak JM, Baer S, and Goldberg LH. High rate of malignant transformation in hyperkeratotic actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol* 1997;37:392-4.
- 35 Marks R, Foley P, Goodman G, Hage BH, and Selwood TS. Spontaneous remission of solar keratoses: the case for conservative management. *Br J Dermatol* 1986;115:649-55.
- 36 Roewert-Huber J, Stockfleth E, and Kerl H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis - an update. *Br J Dermatol* 2007;157 Suppl 2:18-20.:18-20.
- 37 Slaughter DP, Southwick HW, and Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953;6:963-8.

- 38 Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, and Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003;63:1727-30.
- 39 Yantsos VA, Conrad N, Zabawski E, and Cockerell CJ. Incipient intraepidermal cutaneous squamous cell carcinoma: a proposal for reclassifying and grading solar (actinic) keratoses. *Semin Cutan Med Surg* 1999;18:3-14.
- 40 Ulrich M, Maltusch A, Rowert-Huber J, Gonzalez S, Sterry W, Stockfleth E, and Astner S. Actinic keratoses: non-invasive diagnosis for field cancerisation. *Br J Dermatol* 2007;156 Suppl 3:13-7.:13-7.
- 41 Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz F, Rowert-Huber J, Gonzalez S, Sterry W, Stockfleth E, and Astner S. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg* 2008;34:610-9.
- 42 Chung VQ, Dwyer PJ, Nehal KS, Rajadhyaksha M, Menaker GM, Charles C, and Jiang SB. Use of ex vivo confocal scanning laser microscopy during Mohs surgery for nonmelanoma skin cancers. *Dermatol Surg* 2004;30:1470-8.
- 43 Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma ("actinic keratosis"). *J Am Acad Dermatol* 2000;42:11-7.
- 44 Chiarello SE. Cryopeeling (extensive cryosurgery) for treatment of actinic keratoses: an update and comparison. *Dermatol Surg* 2000;26:728-32.
- 45 Andrews MD. Cryosurgery for common skin conditions. *Am Fam Physician* 2004;69:2365-72.
- 46 Zouboulis CC. Principles of cutaneous cryosurgery: an update. *Dermatology* 1999;198:111-7.
- 47 Wetmore SJ. Cryosurgery for common skin lesions. Treatment in family physicians' offices. *Can Fam Physician* 1999;45:964-74.:964-74.
- 48 Lubritz RR and Smolewski SA. Cryosurgery cure rate of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol* 1982;7:631-2.
- 49 Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S, Tanew A, Calzavara-Pinton PG, Zane C, Sidoroff A, Hempel M, Ulrich J, Proebstle T, Meffert H, Mulder M, Salomon D, Dittmar HC, Bauer JW, Kernland K, and Braathen L. Photodynamic therapy using topical methyl 5-aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: A prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:258-62.
- 50 Zouboulis CC. Cryosurgery in dermatology. *Eur J Dermatol* 1998;8:466-74.
- 51 Emmett AJ and Broadbent GD. Shave excision of superficial solar skin lesions. *Plast Reconstr Surg* 1987;80:47-54.

- 52 Iyer S, Friedli A, Bowes L, Kricorian G, and Fitzpatrick RE. Full face laser resurfacing: therapy and prophylaxis for actinic keratoses and non-melanoma skin cancer. *Lasers Surg Med* 2004;34:114-9.
- 53 Ostertag JU, Quaedvlieg PJ, van der Geer S, Nelemans P, Christianen ME, Neumann MH, and Krekels GA. A clinical comparison and long-term follow-up of topical 5-fluorouracil versus laser resurfacing in the treatment of widespread actinic keratoses. *Lasers Surg Med* 2006;38:731-9.
- 54 Lawrence N, Cox SE, Cockerell CJ, Freeman RG, and Cruz PD, Jr. A comparison of the efficacy and safety of Jessner's solution and 35% trichloroacetic acid vs 5% fluorouracil in the treatment of widespread facial actinic keratoses. *Arch Dermatol* 1995;131:176-81.
- 55 Humphreys TR, Werth V, Dzubow L, and Kligman A. Treatment of photodamaged skin with trichloroacetic acid and topical tretinoin. *J Am Acad Dermatol* 1996;34:638-44.
- 56 Kurwa HA, Yong-Gee SA, Seed PT, Markey AC, and Barlow RJ. A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:414-8.
- 57 Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, Nguyen R, Fergin P, Thai KE, Murrell D, Weightman W, Anderson C, Reid C, Watson A, and Foley P. 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;14:99-106.
- 58 Pariser DM, Lowe NJ, Stewart DM, Jarratt MT, Lucky AW, Pariser RJ, and Yamauchi PS. Photodynamic therapy with topical methyl aminolevulinate for actinic keratosis: results of a prospective randomized multicenter trial. *J Am Acad Dermatol* 2003;48:227-32.
- 59 Morton C, Campbell S, Gupta G, Keohane S, Lear J, Zaki I, Walton S, Kerrouche N, Thomas G, and Soto P. Intraindividual, right-left comparison of topical methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy and cryotherapy in subjects with actinic keratoses: a multicentre, randomized controlled study. *Br J Dermatol* 2006;155:1029-36.
- 60 Kaufmann R, Spelman L, Weightman W, Reifenberger J, Szeimies RM, Verhaeghe E, Kerrouche N, Sorba V, Villemagne H, and Rhodes LE. Multicentre intraindividual randomized trial of topical methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy vs. cryotherapy for multiple actinic keratoses on the extremities. *Br J Dermatol* 2008;158:994-9.
- 61 Morton CA, Brown SB, Collins S, Ibbotson S, Jenkinson H, Kurwa H, Langmack K, McKenna K, Moseley H, Pearse AD, Stringer M, Taylor DK, Wong G, and Rhodes LE. Guidelines for topical photodynamic therapy: report of a workshop of the British Photodermatology Group. *Br J Dermatol* 2002;146:552-67.

- 62 Alam CA, Seed MP, and Willoughby DA. Angiostasis and vascular regression in chronic granulomatous inflammation induced by diclofenac in combination with hyaluronan in mice. *J Pharm Pharmacol* 1995;47:407-11.
- 63 Jung YJ, Isaacs JS, Lee S, Trepel J, and Neckers L. IL-1beta-mediated up-regulation of HIF-1alpha via an NFkappaB/COX-2 pathway identifies HIF-1 as a critical link between inflammation and oncogenesis. *FASEB J* 2003;17:2115-7.
- 64 Athar M, An KP, Morel KD, Kim AL, Aszterbaum M, Longley J, Epstein EH, Jr, and Bickers DR. Ultraviolet B(UVB)-induced cox-2 expression in murine skin: an immunohistochemical study. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;280:1042-7.
- 65 An KP, Athar M, Tang X, Katiyar SK, Russo J, Beech J, Aszterbaum M, Kopelovich L, Epstein EH, Jr, Mukhtar H, and Bickers DR. Cyclooxygenase-2 expression in murine and human nonmelanoma skin cancers: implications for therapeutic approaches. *Photochem Photobiol* 2002;76:73-80.
- 66 Tripp CS, Blomme EA, Chinn KS, Hardy MM, LaCelle P, and Pentland AP. Epidermal COX-2 induction following ultraviolet irradiation: suggested mechanism for the role of COX-2 inhibition in photoprotection. *J Invest Dermatol* 2003;121:853-61.
- 67 Neufang G, Furstenberger G, Heidt M, Marks F, and Muller-Decker K. Abnormal differentiation of epidermis in transgenic mice constitutively expressing cyclooxygenase-2 in skin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:7629-34.
- 68 Fecker LF, Stockfleth E, Nindl I, Ulrich C, Forschner T, and 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.:25-33.
- 69 Moore AR and Willoughby DA. Hyaluronan as a drug delivery system for diclofenac: a hypothesis for mode of action. *Int J Tissue React* 1995;17:153-6.
- 70 Gebauer K, Brown P, and Varigos G. Topical diclofenac in hyaluronan gel for the treatment of solar keratoses. *Australas J Dermatol* 2003;44:40-3.
- 71 Rivers JK, Arlette J, Shear N, Guenther L, Carey W, and Poulin Y. Topical treatment of actinic keratoses with 3.0% diclofenac in 2.5% hyaluronan gel. *Br J Dermatol* 2002;146:94-100.
- 72 Wolf JE, Jr., Taylor JR, Tschen E, and Kang S. Topical 3.0% diclofenac in 2.5% hyaluronan gel in the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol* 2001;40:709-13.
- 73 Nelson C, Rigel D, Smith S, Swanson N, and Wolf J. Phase IV, open-label assessment of the treatment of actinic keratosis with 3.0% diclofenac sodium topical gel (Solaraze). *J Drugs Dermatol* 2004;3:401-7.
- 74 Kowalzick L and Ziegler H. Photoallergic contact dermatitis from topical diclofenac in Solaraze gel. *Contact Dermatitis* 2006;54:348-9.

- 75 Eaglstein WH, Weinstein GD, and Frost P. Fluorouracil: mechanism of action in human skin and actinic keratoses. I. Effect on DNA synthesis in vivo. *Arch Dermatol* 1970;101:132-9.
- 76 Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danneberg P, Mooren D, Griesbach L, Duschinsky R, Schnitzer RJ, Plevin E, and Scheiner J. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Nature* 1957;179:663-6.
- 77 Klein E, Helm F, Milgrom H, Stoll HL, Jr., and Traenkle HL. Tumors of the skin. II. Keratoacanthoma; local effect of 5-fluorouracil. *Skin (Los Angeles)* 1962;1:153-6.:153-6.
- 78 Sander CA, Pfeiffer C, Kligman AM, and Plewig G. Chemotherapy for disseminated actinic keratoses with 5-fluorouracil and isotretinoin. *J Am Acad Dermatol* 1997;36:236-8.
- 79 Smith SR, Morhenn VB, and 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;5:156-9.
- 80 Krawtchenko N, Roewert-Huber J, Ulrich M, Mann I, Sterry W, and 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.
- 81 Loven K, Stein L, Furst K, and 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;24:990-1000.
- 82 Epstein E. Does intermittent "pulse" topical 5-fluorouracil therapy allow destruction of actinic keratoses without significant inflammation? *J Am Acad Dermatol* 1998;38:77-80.
- 83 Jury CS, Ramraka-Jones VS, Gudi V, and 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;153:808-10.
- 84 Epstein E. Twice daily vs. four times daily 5-fluorouracil therapy for actinic keratoses: a split face study. *Br J Dermatol* 2006;154:794-5.
- 85 Levy S, Furst K, and Chern W. A pharmacokinetic evaluation of 0.5% and 5% fluorouracil topical cream in patients with actinic keratosis. *Clin Ther* 2001;23:908-20.
- 86 Jorizzo J, Weiss J, Furst K, VandePol C, and Levy SF. Effect of a 1-week treatment with 0.5% topical fluorouracil on occurrence of actinic keratosis after cryosurgery: a randomized, vehicle-controlled clinical trial. *Arch Dermatol* 2004;140:813-6.

- 87 Johnson MR, Hageboutros A, Wang K, High L, Smith JB, and Diasio RB. Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase-deficient patient after treatment with topical 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999;5:2006-11.
- 88 Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B, and Christophers E. Successful treatment of actinic keratosis with imiquimod cream 5%: a report of six cases. *Br J Dermatol* 2001;144:1050-3.
- 89 Persaud AN, Shamelova E, Sherer D, Lou W, Singer G, Cervera C, Lamba S, and Lebwohl MG. Clinical effect of imiquimod 5% cream in the treatment of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:553-6.
- 90 Salasche SJ, Levine N, and Morrison L. Cycle therapy of actinic keratoses of the face and scalp with 5% topical imiquimod cream: An open-label trial. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:571-7.
- 91 Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B, Salasche S, Papadopoulos L, Ulrich C, and Christophers E. A randomized, double-blind, vehicle-controlled study to assess 5% imiquimod cream for the treatment of multiple actinic keratoses. *Arch Dermatol* 2002;138:1498-502.
- 92 Lebwohl M, Dinehart S, Whiting D, Lee PK, Tawfik N, Jorizzo J, Lee JH, and Fox TL. Imiquimod 5% cream for the treatment of actinic keratosis: results from two phase III, randomized, double-blind, parallel group, vehicle-controlled trials. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:714-21.
- 93 Kang S, Goldfarb MT, Weiss JS, Metz RD, Hamilton TA, Voorhees JJ, and Griffiths CE. Assessment of adapalene gel for the treatment of actinic keratoses and lentigines: a randomized trial. *J Am Acad Dermatol* 2003;49:83-90.
- 94 Moriarty M, Dunn J, Darragh A, Lambe R, and Brick I. Etretinate in treatment of actinic keratosis. A double-blind crossover study. *Lancet* 1982;1:364-5.
- 95 Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, Sato S, Sanjo H, Hoshino K, Horiuchi T, Tomizawa H, Takeda K, and Akira S. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat Immunol* 2002;3:196-200.
- 96 Testerman TL, Gerster JF, Imbertson LM, Reiter MJ, Miller RL, Gibson SJ, Wagner TL, and Tomai MA. Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. *J Leukoc Biol* 1995;58:365-72.
- 97 Thompson SC, Jolley D, and Marks R. Reduction of solar keratoses by regular sunscreen use. *N Engl J Med* 1993;329:1147-51.
- 98 Ulrich C, Jurgensen JS, Degen A, Hackethal M, Ulrich M, Patel MJ, Eberle J, Terhorst D, Sterry W, and Stockfleth E. Prevention of non-melanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: a 24 months, prospective, case-control study. *Br J Dermatol* 2009;161 Suppl 3:78-84.:78-84.

- 99 Trakatelli M, Ulrich C, del M, V, Euvrard S, Stockfleth E, and 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.:1-7.
- 100 Mastrolonardo M. Topical diclofenac 3% gel plus cryotherapy for treatment of multiple and recurrent actinic keratoses. *Clin Exp Dermatol* 2008;
- 101 Thai KE, Fergin P, Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, Murrell D, Anderson C, Weightman W, Reid C, Watson A, and Foley P. A prospective study of the use of cryosurgery for the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol* 2004;43:687-92.



## 7 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
5-FU	5-Fluorouracil
Abb.	Abbildung
AK	Aktinische Keratose(n)
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> / Varianzanalyse
ASS	Acetylsalicylsäure
BA	Beobachtungsareal
BCC	<i>Basal cell carcinoma</i> / Basalzellkarzinom
bzw.	Beziehungsweise
CIN	<i>Cervical intraepithelial Neoplasia</i> / Zervikale intraepitheliale Neoplasie
cm	Zentimeter
cm <sup>2</sup>	Quadratzentimeter
COX	Cyclooxygenase
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> / Desoxyribonukleinsäure
et al.	<i>Et alii</i> / und andere
evtl.	Eventuell
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HPV	Humane Papillomaviren
HTCC	Haut Tumor Centrum Charité
inflamm.	Inflammatorisch
MM	Malignes Melanom

n	Anzahl
NSAID	<i>Nonsteroidal antiinflammatory drug</i> / Nonsteroidales Antiphlogistikum
Pat.	Patient
PDT	Photodynamische Therapie
Rand.nummer	Randomisierungsnummer
RCM	<i>Reflectance confocal microscopy</i> / Reflektanz-konfokale Mikroskopie
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> / Ribonukleinsäure
SAS	<i>Statistical analysis systems</i>
SCC	<i>Squamous cell carcinoma</i> / Plattenepithelkarzinom
SD	<i>Standard deviation</i> / Standardabweichung
SV	Screeningvisite
UE	Unerwünschtes Ereignis
UV	Ultraviolett
V	Studienvisite
V1	Einschlussvisite
V2	Erste Studienvisite unter der Behandlung
V3	Zweite Studienvisite unter der Behandlung
V4	Studienvisite vier Wochen nach dem Behandlungsende
V5	Studienvisite sechs Monate nach dem Abschluss der Therapie
V6	Studienvisite zwölf Monate nach dem Ende der Behandlung
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i> / Vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
z. B.	Zum Beispiel
z. T.	Zum Teil

## **Lebenslauf**

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

## **Danksagung**

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Eggert Stockfleth für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie die geduldige Unterstützung und intensive Diskussion während der Erstellung dieser Arbeit.

Ganz besonderer Dank geht an Frau Daniela Krüger-Corcoran und Frau Dr. med. Martina Ulrich für die freundliche Betreuung und Beratung während des Projektes.

Ein großer Dank gilt Herrn Oberarzt Dr. med. Joachim Röwert-Huber für die histologische Auswertung der Hautgewebeproben.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Annett Pinta für die kompetente Betreuung der Studie.

Für seine unersetzbare Hilfe in statistischen Fragen bedanke ich mich bei Herrn Dipl. Stat. Dr. Klaus Hechenbichler.

Zum Schluss möchte ich mich ganz herzlich bei meinen Eltern und meinem Großvater bedanken, die mich während meiner beruflichen Ausbildung zu jeder Zeit unterstützten.

## **Selbständigkeitserklärung**

„Ich, Johanna Lüdecke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

**„Vergleich der topischen Behandlung multipler aktinischer Keratosen mit  
3 % Diclofenac, 5 % 5-Fluorouracil und Kryotherapie“**

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 27.09.2013