

# Abstracts

## Wissenschaftliches Hauptprogramm (Teil 2)

Vortragsreihe „Dermatotherapie“



Gesellschaft für  
Dermopharmazie

Vorsitzende der Vortragsreihe „Dermatotherapie“:  
Prof. Dr. med. Ulrike Blume-Peytavi, Berlin  
Priv.-Doz. Dr. med. Petra Staubach, Mainz

Wissenschaftliches Hauptprogramm, Teil 2:  
Vortragsreihe „Dermatotherapie“

## Das „lipid-raft“-Molekül Miltefosin reduziert die örtliche Inflammation beim atopischen Ekzem

*Prof. Dr. med. Maritta Worm,  
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie,  
Charité Universitätsmedizin, Campus Mitte, Berlin*

Die atopische Dermatitis ist eine häufig vorkommende chronisch entzündliche Hauterkrankung. Pathophysiologisch findet sich neben einer gestörten Barrierefunktion T-Zell-abhängige Entzündung in der Haut. Die komplexe Pathogenese dieser Erkrankung erfordert in Bezug auf die Entwicklung neuer topischer antientzündlich wirksamer Moleküle, dass essentielle Signalwege der Entzündung beeinflusst werden. Insbesondere kleine Moleküle, die auf Grund ihres Molekulargewichtes leicht in die Haut eindringen können, sind hier von hohem wissenschaftlichen Interesse.

Miltefosin ist ein lipid-raft-Molekül, das über Veränderungen in der Zellmembran verschiedene Signaltransduktionswege beeinflussen kann. Miltefosin wurde initial als antiproliferative Substanz entwickelt und ist für die topische Behandlung von Hautmetastasen beim Mammakarzinom zugelassen. Die immunmodulatorischen Wirkungen von Miltefosin werden erfolgreich zur Behandlung der Leishmaniose eingesetzt, insbesondere die Wirkung auf T-Zellen, aber auch auf Mastzellen spielen hierbei eine wichtige Rolle.

Im Rahmen einer randomisierten prospektiven verblindeten Studie haben wir die Wirksamkeit von topisch eingesetztem Miltefosin im Vergleich zu Hydrocortison bei Patienten mit atopischer Dermatitis über einen Behandlungszeitraum von drei Wochen untersucht. Neben klinischen Outcome-Parametern wurde eine histologische beziehungsweise immunhistologische Analyse der Haut (vor und nach Behandlung) durchgeführt.

Die Daten zeigen, dass eine Behandlung mit topischem Miltefosin (6 %) zu einer signifikanten Reduktion der Entzündung in behandelter Haut führt. Neben der klinischen Verbesserung fand sich in der immunhistologischen Analyse ein Rückgang von CD4-positiven T-Zellen in der Dermis, jedoch interessanterweise eine Zunahme der Foxp3-positiven T-Zellen. Während nach Hydrocortison-Behandlung eine signifikante Reduktion der Epidermisdicke zu beobachten war, war dies in der mit Miltefosin behandelten Haut nicht nachweisbar. Die Verträglichkeit war bei allen behandelten Patienten sehr gut. Es traten keine schweren Nebenwirkungen auf.

Die Daten zeigen, dass die lokale Behandlung mit dem lipid-raft-Molekül Miltefosin zu einer Reduktion der Entzündung in der Haut führen kann und interessanterweise dieser Effekt auch nach Absetzen der Therapie fortbestehend war, was auf eine immunmodulatorische Wirkung von Miltefosin hinweist. In weiteren Studien muss die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Miltefosin



bestätigt werden. Eine wichtige Voraussetzung ist die Weiterentwicklung einer geeigneten Formulierung, da die bislang nur als Lösung erhältliche Präparation bei hautempfindlichen Patienten mit atopischer Dermatitis zu Austrocknungsphänomenen führen kann.



Wissenschaftliches Hauptprogramm, Teil 2:  
Vortragsreihe „Dermatotherapie“

## Methoden zur Lumineszenzbildgebung des pH-Wertes - Anwendung im Rahmen der Wundheilung

*Dr. med. Stephan Schreml,  
Klinik und Poliklinik für Dermatologie,  
Universität Regensburg, Regensburg*

Die Wundheilung ist ein zentrales Thema in der Dermatologie und verläuft physiologischerweise in drei zeitlich und räumlich überlappenden Phasen: Inflammation, Proliferation und Tissue Remodeling (Geweberestrukturierung) (1, 2). Etwa 30 % der Kosten in der Dermatologie werden durch chronische Wunden verursacht (3). Die Kenntnis biologischer Basisparameter wie pO<sub>2</sub> und pH ist entscheidend zum Verständnis der dabei ablaufenden komplexen Prozesse (4, 5). Insbesondere der pH-Wert im Wundexsudat nimmt entscheidenden Einfluss auf viele Heilungsprozesse. Zu nennen sind hier zum Beispiel der Einfluss von pH auf die Enzymaktivität (zum Beispiel MMPs) sowie auf die Proliferation und Migration von Zellen (zum Beispiel Fibroblasten und Keratinozyten). Auch therapeutisch eingesetzte Wundheilungsenzyme (zum Beispiel Streptokinase) zeigen eine pH-Abhängigkeit, die eine Kenntnis dieses Parameters in vivo am Menschen nötig macht. Insbesondere die Messung von pH im Wundexsudat ist entscheidend, da dieses in besonderer Weise die Heilung beeinflusst (6-8).

Bislang stand als Methode vor allem die pH-Glaselektrode zur Verfügung, die jedoch nur punktuelle Einzelwerte liefern kann und damit der Heterogenität zweidimensionaler Wundstrukturen keine Rechnung tragen kann. Wir haben nun zwei Verfahren entwickelt, die sich der Lumineszenz bestimmter Indikatorfarbstoffe in Abhängigkeit vom vorliegenden pH bedienen (9, 10). Die erste Methode nutzt das so genannte time-domain dual lifetime referencing (tdDLR) von einem pH-abhängigen Farbstoff (Fluoresceinisothiocyanat) und einem pH-unabhängigen Referenzfarbstoff (Ruthenium(II)tris-(4,7-diphenyl-1,10-phenanthrolin)) (10). Die Farbstoffe sind dabei an und in inerten Mikropartikeln gebunden und dann innerhalb einer Polyurethan-Hydrogelmatrix auf transparenten Folien immobilisiert. Nach Anregung mittels LED emittieren die Farbstoffe Licht, das wiederum in Exzitations- und Emissionsphase mittels einer CCD-Kamera aufgenommen und dann ein Verhältnis der gewonnenen Lumineszenzintensitäten gebildet wird. Anhand von sigmoidalen Kalibrationskurven kann dann mittels eines fünf-parametrischen sigmoidalen Fits durch das Verhältnis der Lumineszenzintensitäten der pH für jeden einzelnen Pixel berechnet werden. Dabei entstehen pro Messung über 300.000 pH-Werte und der pH-Wert wird erstmals am Menschen sichtbar. Damit steht ein biokompatibler zweidimensionaler Sensor zur pH-Visualisierung am Menschen, aber auch im Labor zur Verfügung. Die zweite Methode nutzt die Emission von zwei Farbstoffen innerhalb der RGB-Kanäle einer handelsüblichen Kamera (grüner Kanal: pH-Indikator Fluoresceinisothiocyanat, blauer Kanal: Referenzfarbstoff Diphenylanthracen), um ein 2D-pH-Abbild zu generieren (9). Das Signal im blauen Kanal bleibt dabei vom pH unbeeinflusst und dient für jeden Pixel als Referenz zum pH-abhängigen Signal



im grünen Kanal. Eine Auftrennung des RGB-Bildes eines Sensors auf Gewebe in die drei Kanäle ermöglicht es, für jeden Punkt der Wunde den exakten pH aus einer Kalibrationskurve zu generieren. Zudem kann im roten Kanal gleichzeitig mittels eines Sauerstoff-abhängigen Indikators ein 2D-pO<sub>2</sub>-Abbild innerhalb von Wunden gewonnen und mit den pH-Werten korreliert werden. Auch hier konnte also ein biokompatibler 2D-Sensor für die Anwendung am Menschen etabliert werden. Entscheidend ist, dass bei beiden Methoden das pH-Signal nicht von pO<sub>2</sub>, Temperatur und Beleuchtungsunterschieden beeinflusst wird, wodurch erstmals auch Methoden für den klinischen Einsatz zur Verfügung stehen.

Mit beiden Methoden sind auch Reihenmessungen im Zeitverlauf möglich. Wir konnten am Modell der Spalthautentnahmestellen am Menschen zeigen, dass der pH als Surrogatparameter der akuten (physiologischen) Wundheilung fungiert und von Werten über 8 am ersten postoperativen Tag auf Werte um 6,5 am 14. postoperativen Tag abfällt. Auch ist es uns erstmals gelungen, die 2D-Verteilung von pH in chronischen Wunden am Menschen zu visualisieren. Aktuell werden die dabei gewonnenen einzigartigen Daten mittels komplexer IT-gestützter Makros ausgewertet.

## Literatur

1. Gurtner G C, Werner S, Barrandon Y, Longaker M T. Wound repair and regeneration. *Nature* 2008; 453: 314-321.
2. Singer A J, Clark R A. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med* 1999; 341: 738-746.
3. Bickers D R, Lim H W, Margolis D, et al. The burden of skin diseases: 2004 a joint project of the American Academy of Dermatology Association and the Society for Investigative Dermatology. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55: 490-500.
4. Schreml S, Szeimies R M, Karrer S, Heinlin J, Landthaler M, Babilas P. The impact of the pH value on skin integrity and cutaneous wound healing. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; 24: 373-378.
5. Schreml S, Szeimies R M, Prantl L, Karrer S, Landthaler M, Babilas P. Oxygen in acute and chronic wound healing. *Br J Dermatol* 2010; 163: 257-268.
6. Winter G D, Scales J T. Effect of air drying and dressings on the surface of a wound. *Nature* 1963; 197: 91-92.
7. Winter G D. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature* 1962; 193: 293-294.
8. Hinman C D, Maibach H. Effect of Air Exposure and Occlusion on Experimental Human Skin Wounds. *Nature* 1963; 200: 377-378.
9. Meier R J\*, Schreml S\*, Wang X D, Landthaler M, Babilas P, Wolfbeis O S. Simultaneous photographing of oxygen and pH in vivo using sensor films. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011; 50: 10893-10896. \*gleichberechtigte Erstautoren
10. Schreml S\*, Meier R J\*, Wolfbeis O S, Landthaler M, Szeimies R M, Babilas P. 2D luminescence imaging of pH in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 2432-2437. \*gleichberechtigte Erstautoren



Wissenschaftliches Hauptprogramm, Teil 2:  
Vortragsreihe „Dermatotherapie“

## Aktuelle Strategien in der medikamentösen Therapie des malignen Melanoms

*Prof. Dr. med. Albert Rübben,  
Hautklinik der Medizinischen Fakultät der RWTH, Aachen*

1975 wurde Dacarbazin als Chemotherapeutikum zur Behandlung des fern-metastasierten malignen Melanoms eingeführt und schon im gleichen Jahr zeigten Studien, dass die Kombination von Dacarbazin mit anderen Chemotherapeutika die Ansprechrate der Chemotherapie nicht wesentlich verbessern konnte. Auch wenn sich in der Folge doch mit einigen Kombinationstherapien eine erhöhte Ansprechrate erzielen ließ, so konnte das Gesamtüberleben beim Melanom im Stadium IV weder durch Polichemotherapien noch durch Polichemoimmuntherapien signifikant verlängert werden.

Erst drei Jahrzehnte später eröffneten Erkenntnisgewinne in der Immunologie und der molekularen Medizin neue Strategien zur erfolgreichen medikamentösen Therapie des malignen Melanoms.

Im Juli 2011 erhielt der monoklonale Antikörper Ipilimumab die europäische Zulassung für die Zweitlinientherapie des metastasierten, inoperablen, malignen Melanoms. Ipilimumab blockiert das Molekül CTLA4 auf Lymphozyten. Diese Blockade führt zu einer Verstärkung der T-Zell-Rezeptor vermittelten Immunaktivierung. Erstmals nach drei Jahrzehnten lässt sich mit diesem Medikament als Monotherapie das Gesamtüberleben beim fernmetastasierten malignen Melanoms im Vergleich zur Standardtherapie mit Dacarbazin um ungefähr 6 Monate verlängern. In der Kombinationstherapie Ipilimumab mit Dacarbazin bei allerdings erhöhter Ipilimumab-Dosierung und stärkeren unerwünschten Nebenwirkungen konnte sogar ein Überlebensvorteil von ungefähr 9 Monaten dargestellt werden. In aktuellen Studien wird die Blockierung des Moleküls PD-1 untersucht, die ebenfalls eine T-Zell-Aktivierung induziert und erste positive Ergebnisse beim Melanom zeigt. Die zweite erfolgreiche Therapiestrategie beim fernmetastasierten malignen Melanom ist die pharmakologische Blockierung aktivierender Onkogenmutationen. Ungefähr 50 % aller kutanen Melanome tragen eine aktivierende BRAF-Mutation, bei ungefähr 20 % findet sich eine aktivierende NRAS-Mutation. In Schleimhautmelanomen lassen sich in ca. 20 % CKIT-Mutationen und in okulären Melanomen in ca. 50 % GNAQ-Mutationen finden. Folge all dieser Mutationen ist eine Aktivierung von MAP-Kinasen. Signifikante klinische Wirksamkeit beim fernmetastasierten malignen Melanom zeigte die BRAF-Blockierung mit Vemurafenib. Das progressionsfreie Überleben konnte im Vergleich zu Dacarbazin um ungefähr 5 Monate verlängert werden. In den USA ist Vemurafenib bereits zur Erstlinientherapie zugelassen, die Zulassung in Deutschland wird für Ende Februar erwartet. Weitere BRAF-blockierende Medikamente werden in Studien evaluiert. Erfolgreich in klinischen Studien scheint auch die Blockierung von MEK(1,2) zu sein, welche im MAP-Kinase-Signaltransduktionsweg durch BRAF aktiviert werden. Neben dem MAP-Kinase-Signaltransduktionsweg konzentriert sich die Forschung auch auf die PI3K-AKT/mTOR-Kaskade sowie auf Kombinationstherapien. Trotz der aktuellen Fortschritte



mit Immunmodulatoren und zielgerichteten Therapien wird die klassische Chemotherapie nicht überflüssig. Mögliche neue Anwendungen klassischer Chemotherapeutika liegen in der Kombinationstherapie zur Verzögerung von Resistenzentwicklung, wie sie bei der BRAF-Blockierung beobachtet wird. Zudem setzen immunmodulatorische Therapiestrategien auf Grund ihres verspäteten Wirkungseintrittes eine Stabilisierung des Krankheitsverlaufes voraus, der auch durch eine Chemotherapie erreicht werden kann.

