

**Gefäß- und Hautzentrum Blaustein (MVZ)
Ärztlicher Direktor Prof. Dr. R. U. Peter**

**Prospektive Studie zum Vergleich der Wirksamkeit
einer UVA-Photochemotherapie nach
Photosensibilisierung mit 8-Methoxypsoralen
(PUVA-Gel) versus mit 8-Methoxypsoralenbad
(PUVA-Bad)**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Ulm

vorgelegt von
Boris Müller
geb. in Kirchheim unter Teck

2008

Amtierender Dekan: Prof. Dr. med. Klaus-Michael Debatin

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ralf U. Peter

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Andrik J. Aschoff

Tag der Promotion: 18.06.2009

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1 PUVA-Therapie.....	1
1.1.1 Psoralene.....	2
1.1.2 UVA-Bestrahlung.....	3
1.1.3 Minimale phototoxische UVA-Dosis (MPD).....	4
1.1.4 Wirkungsmechanismus der PUVA-Therapie.....	5
1.1.5 Nebenwirkungen, Risiken und Kontraindikationen der PUVA Therapie.....	7
1.2 Unterschiedliche Formen der PUVA-Therapie.....	10
1.2.1 Systemische PUVA-Therapie.....	10
1.2.2 Topische PUVA-Therapie.....	12
1.2.2.1 PUVA-Bad-Therapie.....	13
1.2.2.2 Lokale PUVA-Therapien.....	15
1.3 Eindringtiefe des applizierten 8-Methoxypsoralen.....	18
1.3.1 Fluoreszenz der Psoralene.....	18
1.3.2 Die Chorioallantoismembran des Hühnerembryos als Testsystem.....	19
1.4 Fragestellung.....	21
2. Patienten und Methodik.....	22
2.1 Patienten.....	22
2.2 Studientherapie.....	22
2.2.1 Bestimmung der minimalen phototoxischen Dosis (MPD).....	23
2.2.2 Applikation der Studienmedikation.....	24
2.2.3 Durchführung der Lichttherapie.....	25
2.2.4 Therapieverlauf.....	25
2.2.5 Beurteilung der Hautveränderungen und Datenerhebung.....	27
2.3 Experimentelle Bestimmung der Eindringtiefe des applizierten 8-MOP.....	29
2.3.1 Gewinnung der Vollhauttransplantate.....	29
2.3.2 Hauttransplantation auf das Chorioallantoissystem des Hühnerembryos.....	29

2.3.3 Aufbringen der Testsubstanzen.....	30
2.3.4 Beurteilung der Eindringtiefe mittels Fluoreszenzmikroskopie.....	31
2.4 Statistik.....	33
2.4.1 Zeitraum bis zum Erreichen einer Remission.....	33
2.4.2 Anzahl der Bestrahlungen bis zum Erreichen einer Remission.....	33
2.4.3 Kumulative Bestrahlungsdosis.....	33
2.4.4 Therapieerfolg.....	34
2.4.5 Absolute Befundänderung unter Therapie.....	35
3. Ergebnisse.....	36
3.1 Patientenkollektiv.....	36
3.2 Minimale phototoxische Dosis (MPD).....	38
3.3 Zeitraum bis zur Remission.....	40
3.4 Anzahl der Bestrahlungen bis zum Erreichen einer Remission.....	44
3.5 Kumulative Bestrahlungsdosis.....	45
3.6 Therapieerfolg.....	47
3.7 Absolute Befundänderung unter Therapie.....	51
3.8 Fluoreszenzmikroskopie.....	53
4. Diskussion.....	56
4.1 Photosensibilisierung durch 8-Methoxypsoralen-Gel.....	58
4.2 Therapieeffizienz.....	59
4.3 Fluoreszenz und Eindringtiefe von 8-MOP in die Haut.....	63
4.4 Schlussfolgerung.....	63
5. Zusammenfassung.....	68
6. Literaturverzeichnis.....	69
7. Anhang.....	79
Danksagung.....	79

Abkürzungsverzeichnis

8-MOP	8-Methoxypsoralen
Abb.	Abbildung
CCD	Charge Coupled Device - Sensor, welcher ein zur einstrahlenden Lichtmenge proportionales Signal ausgibt
CD (3, etc.)	Cluster of Differentation - immunphänotypische Oberflächenmerkmale von Zellen
cm ²	Quadratzentimeter
et al.	et alteri, und andere
F	Füße
H	Hände
H0	Nullhypothese
H1	Alternativhypothese
Hg	Hydragyrum - chemisches Symbol für Quecksilber
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
HT	Lichthauttyp nach Fitzpatrick
J/cm ²	Joule pro Quadratzentimeter
m	männlich
mg	Milligramm
MPD	Minimale phototoxische UV-Dosis
n	Anzahl
nm	Nanometer
NRF	Neues Rezeptur-Formularium
PASI	Psoriasis area and severity Index
PUVA	Photochemotherapie mit Psoralen und UVA Licht
Tab.	Tabelle
US	Unterschenkel
UVA	Ultraviolettstrahlung A (320 – 400 nm)
V.a.	Verdacht auf
w	weiblich

1. Einleitung

1.1 PUVA-Therapie

PUVA-Therapie ist ein Akronym für Psoralen-Ultraviolet A-Therapie. Bei dieser Art der Photochemotherapie wird in der Dermatologie das Zusammenwirken von Ultraviolettstrahlung der Wellenlänge 320-400 nm mit einer photosensibilisierenden chemischen Substanz (8-Methoxypsoralen) genutzt um eine Vielzahl unterschiedlicher Hautkrankheiten zu behandeln.

Photochemotherapie wurde schon vor über 3000 Jahren in Ägypten und Indien zur Behandlung der Vitiligo eingesetzt. Dabei wurden die erkrankten Hautareale mit photosensibilisierenden Pflanzenextrakten eingerieben und danach dem Sonnenlicht exponiert. Diese Form der Photochemotherapie führte allerdings nicht nur zur Repigmentierung, sondern häufig auch zu starken phototoxischen Reaktionen und fleckförmigen Hyperpigmentierungen. Trotz der Nebenwirkungen hielt sich diese Form der Vitiligobehandlung über Jahrtausende und war die Grundlage der Entwicklung der modernen Photochemotherapie. Mitte des 20. Jahrhunderts konnten die photosensibilisierenden Furocumarine, als die für Wirkung und Nebenwirkung verantwortlichen Substanzen, aus den in der Volksmedizin verwandten Pflanzenextrakten isoliert und synthetisch hergestellt werden [22]. Eines der wichtigsten Furocumarine war das 8-Methoxypsoralen (8-MOP), welches erstmals von Lerner et al. [58] oral verabreicht wurde, um eine gleichmäßige Photosensibilisierung der gesamten Körperoberfläche zu erreichen. Gleichzeitig mit der Entdeckung der systemischen Applikation von 8-MOP wurden neue leistungsstarke Bestrahlungs- und Dosimetrieeräte entwickelt, welche es erlaubten, Patienten statt mit Sonnenlicht mit künstlichen UVA-Strahlen und kontrollierten UVA-Dosen zu behandeln. Nachdem Wolff und Fitzpatrick aus Wien und Boston Mitte der 70er Jahre über gute Erfolge in der Therapie von Psoriasispatienten durch UVA-Bestrahlung nach Einnahme von 8-Methoxypsoralen berichteten, entwickelte sich die PUVA-Therapie weltweit schnell zu einer der wichtigsten Behandlungsformen der Psoriasis und einer Reihe weiterer Dermatosen [80, 112].

1.1.1 Psoralene

Psoralene gehören zur Gruppe der trizyklischen Furocumarine. Die Psoralene und ihre Derivate sind in Pflanzen und Früchten wie Sellerie, Feigen und Zitronen zu finden. Somit werden Psoralene bei einer normalen Ernährung in kleinen Mengen eingenommen. Die biologische Bedeutung dieser Tatsache ist unbekannt. Methoxalen wird aus dem Samen der Pflanze *Ammi majus*, die im Niltal wächst, hergestellt.

Drei Psoralene werden heute zu therapeutischen Zwecken verwendet, davon Methoxalen (8-Methoxypsoralen) am häufigsten. Trioxalen (3,4,5-Trimethylpsoralen) wird vorwiegend in Skandinavien eingesetzt [24, 78]. Bergapten (5-Methoxypsoralen) in der Schweiz und in Österreich. In Deutschland ist derzeit nur 8-Methoxypsoralen zur therapeutischen Anwendung zugelassen.

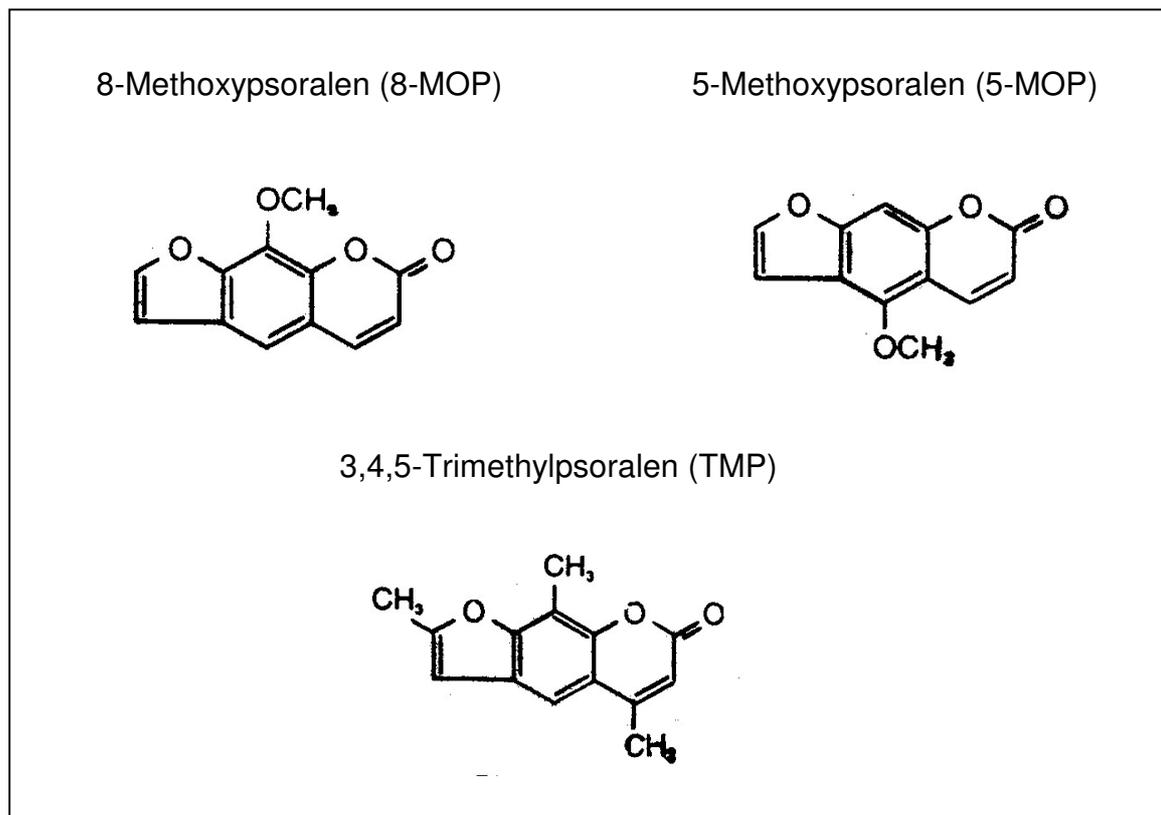


Abb. 1: In der Phototherapie verwendete Psoralene. (Nach Morison WL. Phototherapy and Photochemotherapy of Skin Disease, S. 142, 1990)

Nach oraler Einnahme werden die Psoralene in allen Geweben verteilt und bei Fehlen der photochemischen Bindung schnell in der Leber metabolisiert und über Urin und Fäzes ausgeschieden. Die Absorption aus dem Gastrointestinaltrakt ist nur eingeschränkt möglich, da Psoralene wenig wasserlöslich sind. Zudem unterliegen Psoralene einem First-Pass Effekt in der Leber und es bestehen erhebliche inter- und intraindividuelle Schwankungen in der Absorption, der maximal erreichten Psoralenkonzentration im Blut und der Psoralenpenetration in die Haut sowohl bei oraler als auch bei topischer Applikation von 8-MOP [8, 31]. Psoralene penetrieren gut in die Haut und können auch als Bad, Emulsion, Creme oder Gel appliziert werden [31, 41].

1.1.2 UVA-Bestrahlung

Der photosensibilisierende Effekt zeigt sich bei einer Wellenlänge > 320 nm. Studien zeigten, dass ein verzögertes Erythem bei einer Wellenlänge zwischen 340 und 380 nm am besten zu erzeugen war, was zur Entwicklung von Strahlern führte, deren Emissionsmaximum bei einer Wellenlänge von 360 nm lag. Neuere Studien zeigten, dass das Absorptionsmaximum von 8-Methoxypsoralen zwischen 320 – 340 nm liegt [15]. Strahlungsgeräte mit einem solchen Absorptionsmaximum wurden jedoch klinisch noch nicht getestet.

Als Bestrahlungsquellen werden verschiedene Hochdruckbrenner und Niederdruck-Fluoreszenzröhren verwendet, deren Emissionsspektrum im UVA-Bereich (320 – 400 nm) liegt.

Die Bestrahlungsdosen sollten immer in Joule/cm^2 angegeben [52] werden, da jedes Gerät eine etwas unterschiedliche Leistung abgibt, weshalb Zeitangaben keinen Rückschluss auf die tatsächlich applizierte Strahlendosis erlaubten. Insbesondere bei Gerätewechsel könnte es bei reinen Zeitangaben zu Fehldosierungen kommen. Auch die Intensität desselben Strahlers nimmt im Laufe der Zeit ab und muss in regelmäßigen Abständen neu ausgemessen werden. Die für die sichere und effektive Durchführung der PUVA-Therapie erforderliche Dosimetrie erfolgt mit Hilfe kommerziell erhältlicher UVA-Dosimeter.

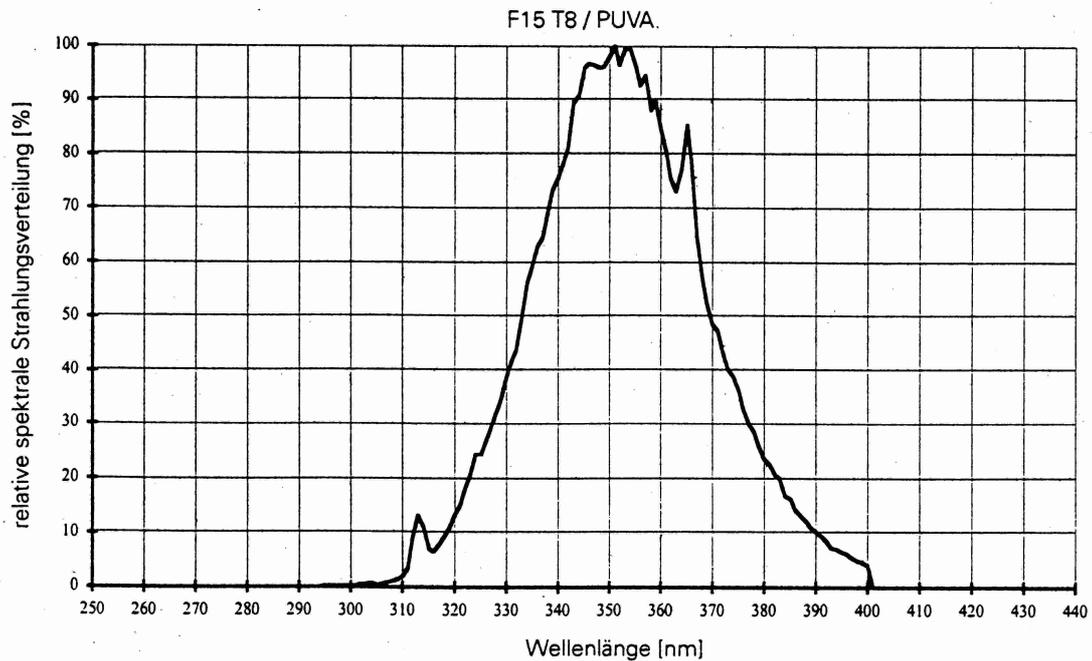


Abb. 2: Strahlerkennlinie einer bei der PUVA Therapie eingesetzten UVA-Strahlenröhre (Waldmann F15 T8/PUVA, Waldmann Medizintechnik, S. 12, 1998)

1.1.3 Minimale phototoxische UVA-Dosis (MPD)

Die minimale phototoxische UVA-Dosis MPD ist definiert als die geringste UVA-Dosis, die in Verbindung mit einer lichtsensibilisierenden Substanz eine gerade sichtbare gleichmäßige Rötung mit scharfer Begrenzung erzeugt. Sie gibt die individuelle Schwellenempfindlichkeit gegenüber phototoxischen Reaktionen an und liefert damit einen Anhaltspunkt für die initiale UVA-Dosis. Mit ihrer Hilfe kann zu Beginn einer PUVA-Therapie eine zu hohe Bestrahlungsdosis und eine gegebenenfalls damit einhergehende großflächige phototoxische Reaktionen vermieden werden. Zudem gibt es Hinweise, dass sich durch eine kurzzeitige und aggressive Therapieplanung, begonnen mit einer optimalen UVA-Initialdosis, eine schnellere Remission erreichen lässt und durch die damit geringere Kumulativdosis unter Umständen das Langzeit-Karzinomrisiko gesenkt werden kann [36].

1.1.4 Wirkungsmechanismus der PUVA-Therapie

Da sich die systemische Photochemotherapie zur effektiven Behandlung der Psoriasis, einer entzündlichen Hauterkrankung, für die unter anderem eine Hyperproliferation der epidermalen Keratinozyten charakteristisch ist, eignete, nahm man an, dass die Effektivität der PUVA-Therapie auf der Fähigkeit beruht, antiproliferativ zu wirken. Nach der Erweiterung des Indikationsspektrums auf Hauterkrankungen, bei denen die hyperproliferativen Prozesse von untergeordneter, immunologische Veränderungen jedoch von herausragender Bedeutung sind, wurde spekuliert, dass die therapeutische Effektivität ultravioletter Strahlung wesentlich auf der Fähigkeit beruht, die Haut immunmodulatorisch zu beeinflussen. Während UVB-Bestrahlung aufgrund ihrer Eindringtiefe lediglich direkte Wirkung auf epidermale Strukturen wie Keratinozyten und Langerhans-Zellen besitzt, können mit einer UVA-Therapie neben Fibroblasten, dermalen dendritischen Zellen und Endothelzellen auch die Haut infiltrierende Entzündungszellen (z.B. T-Lymphozyten, Mastzellen, neutrophile Granulozyten) beeinflusst werden [4, 23].

Antiproliferative Effekte

Psoralene interkalieren mit DNA-Molekülen im Zellkern, wodurch es bei Bestrahlung von Zellen mit UVA-Licht der Wellenlängen zwischen 320 – 400 nm zunächst zur Absorption eines Photons und zur Ausbildung von Monoaddukten der Psoralene mit Pyrimidinbasen der DNA kommt. Durch die Absorption eines zweiten Photons kommt es dann zu Polyaddukten und psoralenvermittelter Kreuzvernetzung der DNA-Stränge. Durch diese Reaktion wird die DNA-Neosynthese in der Epidermis und dadurch die Zellteilung behindert, was zu einer transienten Hemmung der Zellproliferation führt [6, 14, 48, 80, 109]. Mit steigender Zahl an Polyaddukten kommt es schließlich zur Ausbildung zytotoxischer bzw. apoptotischer Prozesse [66].

PUVA-induzierte Apoptose

Die Auslösung des programmierten Zelltodes (Apoptose) in pathogenetisch relevanten Zellen, z.B. gewebeinfiltrierenden Entzündungszellen, wird für die PUVA-Therapie als wichtiges Wirkprinzip zur antientzündlichen Therapie angesehen [66]. Hierbei scheinen vor allem T-Lymphozyten (im Vergleich z. B. zu anderen Zellpopulationen wie Monozyten und Keratinozyten) besonders empfindlich für eine photochemotherapeutisch induzierte Apoptose zu sein [50, 114]. Für die Therapie primär T-Zell-vermittelter Hauterkrankungen (atopische Dermatitis, kutanes T-Zellymphom, Psoriasis) stellt daher vermutlich die Induktion der Apoptose von T-Lymphozyten ein zentraler Wirkmechanismus dar. Die genauen Mechanismen, durch die eine Photochemotherapie T-Zellapoptose induzieren kann, sind bislang nur unzureichend bekannt. Im Rahmen extracorporaler Photochemotherapie bei Patienten mit Sezary-Syndrom konnten Apoptosen bei T-Lymphozyten nachgewiesen werden [114]. Der Nachweis, dass eine systemische PUVA-Therapie zur T-Zellapoptose in entsprechend befallener Haut bei Patienten mit z.B. Psoriasis oder T-Zellymphom führt, gelang bisher jedoch noch nicht.

Immunmodulatorische Wirkung

Photoimmunologische Wirkprinzipien können auf der Modulation der Produktion und Freisetzung löslicher, immunmodulatorischer Mediatoren oder einer Beeinflussung der Expression von Adhäsionsmolekülen und anderen Oberflächenmolekülen beruhen. Den meisten erfolgreich mit PUVA-Therapie behandelten Krankheiten wird eine immunologische Pathogenese zugeschrieben. Ein Charakteristikum entzündlicher, UV-responsiver Dermatosen wie z.B. der Psoriasis vulgaris oder der atopischen Dermatitis ist eine gesteigerte Expression des interzellularen Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1) auf der Oberfläche epidermaler Keratinozyten [51]. So geht eine erfolgreiche PUVA-Therapie der Psoriasis vulgaris mit einer Reduktion der ICAM-1-Expression in läsionaler Haut einher [62]. Studien der letzten Jahre zeigten eine deutliche Suppression der Immunzellen der Haut, insbesondere der Langerhans-Zellen [2, 17] und der dermalen T-Lymphozyten (CD3, CD4, CD8) [53, 106].

1.1.5 Nebenwirkungen, Risiken und Kontraindikationen der PUVA-Therapie

Akut auftretende Effekte

Als häufigste akute unerwünschte Wirkung, ist die phototoxische Reaktion beschrieben. Sie ist durch ein Erythem charakterisiert und kann bei höheren UV-Dosen zu Blasenbildung führen. Die Ausprägung des Erythems hängt vom Hauttyp, der krankheitsbedingten Empfindlichkeit der Haut, der Wellenlänge, der UV-Dosis und der Psoralenkonzentration ab [13, 24, 52, 86, 105]. Die phototoxischen Reaktionen zwingen jedoch nur selten zu Therapieabbrüchen. In der Regel ist eine kurze Behandlungspause oder eine etwas langsamere Dosissteigerung ausreichend. Das Auftreten einer phototoxischen Reaktion kann meist schon bei Beachtung bestimmter Grundregeln wie der Bestimmung der individuellen MPD vor Therapiebeginn und der Einhaltung einer Therapiepause nach zwei Behandlungstagen vermieden werden [46]. Als weitere mögliche unerwünschte Effekte, die aber im Regelfall ebenfalls nicht zum Therapieabbruch zwingen, sind die Induktion einer polymorphen Lichtdermatose, PUVA-Juckreiz, Provokation eines Lupus erythematoses und Follikulitiden beschrieben worden [64]. Zudem kommt es an der mit Psoralenen und UVA behandelten Haut zu einer Pigmentation. Sie beginnt etwa eine Woche nach Start der Bestrahlung, kann über Monate bis Jahre persistieren und ist dunkler als nach UVB-Bestrahlung. Anders als die UVB-Pigmentierung scheint die PUVA-Pigmentierung unabhängig von einer Erythemreaktion aufzutreten [115].

Langzeiteffekte

Als wichtigste unerwünschte Langzeitwirkungen werden chronische aktinische Schäden und ein erhöhtes Hautkrebsrisiko diskutiert. Obwohl die in der Literatur angegebenen Daten zum PUVA induzierten Karzinomrisiko stark divergieren, lassen sie dennoch den Schluss zu, dass ab einer gewissen kumulativen UVA-Dosis das Hautkrebsrisiko steigt [60, 61, 65, 97, 100, 101]. Multizentrische Langzeitstudien aus den USA und Europa belegen mittlerweile das dosisabhängig erhöhte Langzeitrisiko zur Entwicklung von Stachelzellkarzinomen nach Hochdosis-Photochemotherapie mit systemisch applizierten Psoralenen und nachfolgender UVA Bestrahlung und empfehlen eine strenge Indikationsstellung und langfristige Nachkontrollen [61, 100]. Es hat sich gezeigt, dass besonders die

Verbindung mit vorangegangener oder gleichzeitiger Behandlung mit Arsen, ionisierenden Strahlen, Antimetabolite wie Methotrexat und Cyclosporin A das Karzinomrisiko deutlich erhöhen [59, 87, 99]. Zudem scheint die Inzidenz weiterer Stachelzellkarzinome nach erfolgter Erstmanifestation bei Patienten, die mit PUVA behandelt wurden, gegenüber der normalen Bevölkerung erhöht [42]. Ob die Langzeitbehandlung mit PUVA ebenfalls das Risiko für das Auftreten von malignen Melanomen steigert, wird kontrovers diskutiert [61, 101]. Auch ist noch nicht eindeutig geklärt, ob die beschriebenen unerwünschten Langzeitwirkungen auch bei topischer PUVA-Therapie auftreten. Erste Publikationen konnten bisher jedoch kein erhöhtes Langzeitrisiko belegen [61].

Systemische Effekte

Neben diesen lokal an der Haut auftretenden Effekten limitieren bei der oralen PUVA-Therapie systemische unerwünschte Wirkungen in Form von Übelkeit, Erbrechen und Kopfschmerzen den Einsatz. Zudem verlangt die Photosensibilisierung des gesamten Integumentes nach systemischer Gabe von 8-MOP eine 24stündige konsequente Meidung von Sonnenlicht. Weiterhin lagern sich Psoralene auch an Linse und Media des Auges an. Hierbei können Psoralene mit den Proteinen der Linse Photoaddukte erzeugen und durch eine Akkumulation dieser zur Kataraktbildung führen [113]. Eine solche Kataraktbildung konnte nur bei Mäusen und Ratten, nicht aber an Kaninchen erzeugt werden [12, 79]. In der Literatur finden sich nur wenige Fälle von Kataraktbildung beim Menschen unter Photochemotherapie, was sich, neben den spezie-spezifischen Unterschieden, auch durch den routinemäßig eingesetzten Augenschutz bei systemischer PUVA-Therapie erklären lässt [5, 11, 16].

Kontraindikationen

Bei häufig chronisch rezidivierend verlaufenden Krankheiten wie der Psoriasis ist oftmals eine lebenslange Betreuung der Patienten notwendig. Bei regelmäßiger PUVA Therapie können die Bestrahlungsdosen im Laufe des Lebens kumulative UV-Dosen erreichen, welche mit einem erhöhten Karzinomrisiko verbunden sein könnten. Daher sollte die PUVA Therapie bei Kindern und Jugendlichen nur nach strenger Indikationsstellung zum Einsatz kommen [86].

Bei Patienten mit gleichzeitiger oder vorangegangener Behandlung mit Arsen, ionisierenden Strahlen oder Antimetaboliten wie Methotrexat und Cyclosporin A und Patienten mit chronischen Lichtschäden sollte die PUVA Therapie aufgrund des erhöhten Karzinomrisikos so lange als Kontraindikation betrachtet werden bis beweiskräftige Daten für Langzeitbehandlungen vorliegen, sofern nicht die Schwere der Erkrankung einen Einsatz erforderlich macht [86, 87].

Eine systemische PUVA Therapie sollte während der Schwangerschaft und Stillzeit nicht eingesetzt werden.

Schwere Beeinträchtigungen der Leber- und Nierenfunktion sind relative Kontraindikationen, da es bei Beeinträchtigung von Metabolismus und Ausscheidung zu Dosierungsproblemen und schweren phototoxischen Reaktionen kommen kann. Eine unmittelbare Hepato- und Nephrotoxizität konnte für Psoralene jedoch nicht nachgewiesen werden [84].

Absolut kontraindiziert ist die PUVA Therapie bei Krankheiten, die durch Licht provoziert oder verschlechtert werden können, wie z.B. Lupus erythematoses, Porphyrien, Pemphigus oder Pemphigoid. Ausgeschlossen hiervon sind Lichtdermatosen, bei denen PUVA prophylaktisch im Rahmen einer so genannten „Hardening-Therapie“ eingesetzt werden kann. [9, 32, 38]

Bei Ganzkörper-Bade-PUVA ist zu beachten, dass für Patienten mit kardiopulmonalen Beschwerden ein Warmwasservollbad unter Umständen eine zu große kardiopulmonale Belastung darstellt. Die kardiale Belastbarkeit sollte daher bei Risikopatienten vor Therapiebeginn internistisch abgeklärt werden, um gefährdete Patienten von der Bad-Photochemotherapie auszuschließen. Bei entsprechender Indikation kann mit der konventionellen oralen PUVA Therapie behandelt werden. [86]

Katarakt oder Aphakie stellen, vor allem bei der topischen PUVA, keine Kontraindikation dar, solange für einen adäquaten Augenschutz gesorgt wird. Auch die HIV-Infektion wird derzeit nicht als Kontraindikation für eine PUVA Therapie angesehen [72].

1.2 Unterschiedliche Formen der PUVA-Therapie

Systemische PUVA-Therapie

Topische PUVA-Therapie

- Ganzkörper-PUVA-Bad-Therapie
- Lokale PUVA-Therapie
 - Pinselung
 - Bad
 - Creme
 - Gel

1.2.1 Systemische PUVA-Therapie

Die systemische Photochemotherapie, bei welcher die Photosensibilisierung durch eine orale Verabreichung von 8-Methoxypsoralen durchgeführt wird, wurde 1974 von Parrish et al. zur Behandlung der Psoriasis eingeführt [80]. Seither hat sich die perorale PUVA Therapie weltweit zu einer wichtigen Behandlungsform der Psoriasis etabliert und eine Vielzahl von klinischen Studien belegen ihre Effektivität [37, 68, 80, 102, 111]. Angespornt durch die durchschlagenden Therapieerfolge bei der Psoriasis wurde PUVA bei weiteren Dermatosen erprobt [7]. In den darauffolgenden Jahren hat sich das Indikationsspektrum durch systematische klinische Studien zunehmend erweitert, so dass mittlerweile eine ganze Reihe von Dermatosen, die weder morphologisch noch pathogenetisch miteinander verwandt sind, mit PUVA therapiert werden können. Dazu gehören u.a. die Mycosis fungoides [27, 46, 88], der Lichen ruber [7, 78, 107] und das Atopische Ekzem [33, 72]. Auch bei palmoplantaren Dermatosen wie der palmoplantaren Psoriasis [70], beim chronisch dyshidrotischen Ekzem [70, 89, 104], bei chronisch hyperkeratotischer Dermatitis der Hände [69] und bei chronischer Kontaktallergie [89, 104] konnte man die Wirksamkeit dieser Behandlung nachweisen.

Vor der Durchführung einer systemischen PUVA-Therapie sollten folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

- Strenge Indikationsstellung
- Schriftliche Aufklärung durch den Arzt
- Schriftliche Einwilligung des Patienten
- Augenärztliches Konsil
- Laborwerte: Leberwerte, Nierenwerte, Blutbild
- Verordnung einer seitlich schließenden UV-Schutzbrille
- Absetzen photosensibilisierender Medikamente
- Bestimmung der individuellen Lichtempfindlichkeit des Patienten durch Bestimmung der minimalen phototoxischen UVA-Dosis (MPD)

Durchführung:

Zunächst wird bei der systemischen PUVA Therapie die minimale phototoxische UVA-Dosis bestimmt. Wegen der verzögerten Ausbildung des PUVA Erythems sollte zur Beurteilung der maximalen Erythemausprägung mindestens 72 Stunden abgewartet werden. Die erste therapeutische UVA-Dosis sollte 75% der MPD nicht überschreiten. Wegen der pharmakokinetisch zu erwartenden Gewebsspiegel sollte die Bestrahlung erst 2 Stunden nach Einnahme des Photosensibilisators 8-Methoxypsoralens (8-MOP) in Form von Tabletten in einer Dosierung von 0,6-0,8 mg/kg KG erfolgen. Nach Einnahme von 8-MOP muss der Patient für die nachfolgenden 24 Stunden eine spezielle UV-Schutzbrille tragen. Wegen der erhöhten Gefahr penile Hauttumoren zu entwickeln [98], wird Männern während der Bestrahlung die Abdeckung der Genitale empfohlen.

Die Initialbehandlung erfolgt 3 - 4 mal wöchentlich bis zur klinischen Erscheinungsfreiheit. Danach folgt etwa einen Monat lang eine Erhaltungs- oder Intervallbehandlung 1 – 2 mal pro Woche zur Stabilisierung des Hautbefundes.

Um eine Kumulation des phototoxischen Effekts aufeinanderfolgender Behandlungen zu vermeiden, muss nach 2 Bestrahlungstagen ein Tag Behandlungspause eingelegt werden. Jede Dosis wird ca. 2-3 mal appliziert. Die Dosissteigerung erfolgt erythemorientiert, in der Regel um 0,5 – 1,0 J/cm². Wegen des erst nach 72 Stunden auftretenden PUVA-Erythems sollte die Dosissteigerung frühestens alle 3 Tage erfolgen (entspricht 2 Behandlungstagen mit derselben Dosis und einem Tag Behandlungspause).

1.2.2 Topische PUVA-Therapie

Obwohl schon 1976 in Skandinavien von Fischer et al. die PUVA Therapie in Form eines Trimethylpsoralen Bades und nachfolgender UVA-Bestrahlung durchgeführt wurde [24], schenkte man der topischen Applikation von Psoralenen als Photosensibilisator zunächst kaum Aufmerksamkeit, da mit der systemischen PUVA Therapie eine sehr wirkungsvolle Behandlungsform zur Verfügung stand. Bei meist guter therapeutischer Wirksamkeit ist die systemische PUVA Therapie jedoch häufig mit erheblichen Nebenwirkungen und Problemen assoziiert. So führt die Einnahme von 8-MOP bei einem erheblichen Anteil der Patienten zu Nebenwirkungen wie Übelkeit und Erbrechen, die nicht selten zum Therapieabbruch zwingen [63, 113]. Die systemische PUVA Therapie beeinträchtigt den Patienten in seinen Lebensgewohnheiten häufig erheblich, da nach der Einnahme des Photosensibilisators für bis zu 24 Stunden eine konsequente Meidung stärkerer Sonnenexposition und das Tragen einer speziellen UV-Schutzbrille erforderlich ist. Die orale Einnahme von 8-MOP führt zu einer Photosensibilisierung des gesamten Integumentes. Bei Patienten, bei denen nur ein kleiner Teil der Körperoberfläche behandelt werden sollte, wie es z. B. bei palmoplantaren Dermatosen der Fall ist, führt dies am restlichen Integument unter Umständen zu einer unnötigen Inkaufnahme der bereits beschriebenen unerwünschten Langzeitwirkungen, wie etwa dem erhöhten Risiko Stachelzellkarzinome zu entwickeln. Zudem kann die Resorption und Metabolisierung von 8-MOP erhebliche intra- und interindividuelle Unterschiede aufweisen und zu therapeutisch relevanten Änderungen des Ausmaßes der Photosensibilisierung führen.

Angesichts dieser Grenzen der systemischen PUVA Therapie wurde Mitte der 80er Jahre wieder begonnen verschiedene Formen der topischen PUVA Therapie zu erproben, um eine alternative Behandlungsform ohne die unerwünschten Effekte der systemischen PUVA-Therapie zu schaffen.

1.2.2.1 PUVA-Bad-Therapie

Bei der PUVA-Bad-Therapie wird der zu behandelnde Patient zur Photosensibilisierung in einer 37°C warmen wässrigen 8-Methoxypsoralen-Lösung gebadet bevor die UVA-Bestrahlung erfolgt. Diese Art der Photochemotherapie wurde 1986 von Lowe et al. mit der systemischen PUVA-Therapie zur Behandlung der Psoriasis verglichen und als wirksame Alternative zur konventionellen PUVA-Therapie bewertet [63]. Bei gleicher Effektivität zeichnet sich die PUVA-Bad-Therapie durch das Ausbleiben der bei systemischer Therapie häufig auftretenden Nebenwirkungen wie z.B. Übelkeit und Erbrechen aus [13, 63, 113] und scheint in den letzten Jahren die klassische orale PUVA-Therapie vielfach zu ersetzen [9, 13, 17, 43, 63, 106]. Das Ausbleiben von systemischen Wirkungen wird der geringen systemischen Absorption von Psoralenen bei topischer Applikation zugeschrieben [28, 39, 67, 105, 108]. So betragen die Serumspiegel nach Psoralenzufuhr über Badewasser nur bis zu 4% der sonst therapeutisch benötigten Konzentrationen ($< 4 \text{ ng/ml}$) [39]. Damit sind nach heutiger Sicht auch Nieren- oder Leberstoffwechselstörungen keine Kontraindikationen für die PUVA-Bad-Photochemotherapie. Als weiterer wichtiger Vorteil der PUVA-Bad-Therapie ist die nur kurz andauernde Photosensibilisierung zu nennen. Die UV-Sensitivität ist bereits ca. 1-2 Stunden nach dem 8-Methoxypsoralen-Bad deutlich abgesunken [21, 76]. Das ist im Vergleich zur systemischen PUVA-Therapie (anhaltende Photosensibilisierung bis zu 24 Stunden nach oraler Applikation von 8-MOP) für den Patienten ein enormer Gewinn an Lebensqualität, da das konsequente Meiden starker Sonnenexposition und das Tragen einer Schutzbrille nicht notwendig ist.

Andererseits führt die PUVA-Bad-Therapie zu einer sehr viel stärkeren Sensibilisierung gegenüber UVA-Strahlung als nach systemischer Gabe von 8-MOP. Da die Photosensibilität nach topischer Applikation von 8-MOP 4 bis 10 mal höher sein kann, ist es noch wichtiger als bei peroraler PUVA vor Therapiebeginn die individuelle MPD zu bestimmen um phototoxische Reaktionen zu vermeiden [11, 13, 63]. Durch die stärkere Photosensibilisierung werden zur Behandlung geringere UVA-Dosen benötigt und die kumulative Dosis für einen Therapiezyklus mit PUVA-Bad-Photochemotherapie kann auf bis zu 10-25% der Gesamt-UVA-Dosis einer systemischen PUVA-Therapie gesenkt werden [13, 43]. Ob durch die

aus der stärkeren Photosensibilisierung resultierenden, geringeren kumulativen UVA-Gesamtdosis auch das Langzeitkarzinomrisiko gesenkt werden kann, ist noch nicht eindeutig geklärt [13, 43, 59, 97]. Skandinavische Studien zeigten ein im Vergleich zur systemischen PUVA-Therapie geringeres Karzinomrisiko für mit 3,4,5-Trimethylpsoralen (TMP) durchgeführter PUVA-Bad-Therapie [13]. Unklar ist jedoch, ob dieses verminderte Risiko auf die geringeren kumulativen Gesamtdosen oder auf das in Skandinavien anstelle von 8-MOP verwendete TMP zurückzuführen ist.

Bezüglich der Effektivität liegt für die PUVA-Bad-Photochemotherapie mittlerweile eine multizentrische, randomisierte Vergleichsstudie vor, in welcher ein signifikanter Vorteil der PUVA-Bad-Behandlung gegenüber einer alleinigen UVB-Phototherapie und ein vergleichbarer Therapieerfolg gegenüber einer UVB-Photosoletherapie nachgewiesen werden konnte [10, 92].

Das Indikationsspektrum der PUVA-Bad-Photochemotherapie entspricht grundsätzlich dem der systemischen PUVA-Therapie. Jedoch können auch Patienten behandelt werden, bei denen die Nebenwirkungen der peroralen PUVA-Therapie zu einer Beendigung der Therapie zwingen würden. Zusätzlich konnte mit der PUVA-Bad-Photochemotherapie auch das Indikationsspektrum der Phototherapie erweitert werden. So führte die PUVA-Bad-Therapie z.B. bei Patienten mit zirkumskripten Sklerodermien zu einer eindrucksvollen Verbesserung des Hautbefundes [45].

Durchführung

Vor Therapiebeginn sollte wegen der ausgeprägten UV-sensibilisierenden Eigenschaften der Psoralene die Bestimmung der individuellen MPD durchgeführt werden. Während nach systemischer Applikation von 8-MOP die maximale Erythemausprägung am 2. oder 3. Tag den Höhepunkt erreicht, ist die Dynamik des Erythems nach einem Psoralenbad nochmals um 24-48 Stunden verzögert. Aus diesem Grund sollte die MPD bei der Bade-PUVA-Therapie frühestens am 3. Tag abgelesen werden [43]. Neuere Untersuchungen zeigten sogar erst nach 4-5 Tagen eine maximale Ausprägung des Erythems nach MPD-Testung [3, 40]. Die Photosensibilisierung wird erreicht indem der Patient 15-20 Minuten in einem 37°C

warmem Wasserbad, dem 8-Methoxypsoralen in einer Konzentration von 0,5-1,0 mg/l zugesetzt ist, badet [32]. Unmittelbar nach dem Bad erfolgt die UVA-Bestrahlung. Die Therapie sollte mit 20-30% der individuellen MPD begonnen werden. Ein wichtiger neuer Aspekt dieser Therapieform ist, dass die Photosensitivität während der ersten 4 Tage deutlich ansteigt und die MPD während der ersten Tage auf etwa die Hälfte des Ausgangswertes absinkt [11, 49]. Die Patienten sind somit am 3. und 4. Tag empfindlicher gegenüber UVA als vor Therapiebeginn und die Dosis sollte, insbesondere zu Anfang der Therapie, frühestens bei jeder 3. Behandlung um ca. 30 % gesteigert werden. Grundsätzlich erfolgt die Dosissteigerung wie bei der systemischen PUVA-Therapie erythemorientiert.

Die Durchführung der PUVA-Bad-Therapie verlangt einen vergleichsweise großen zeitlichen, logistischen, apparativen und daher kostenintensiven Aufwand. So müssen in der dermatologischen Praxis entsprechend ausgestattete Badebereiche eingerichtet und Hygieneanforderungen berücksichtigt werden.

1.2.2.2 Lokale PUVA-Therapie

Aufgrund des möglicherweise gesteigerten Karzinomrisikos bei langfristiger PUVA-Therapie ist es von großem Interesse, so viele nicht zu therapierende Hautareale wie möglich von der Photosensibilisierung und Bestrahlung auszuschließen und nur erkrankte Haut selektiv zu photosensibilisieren. Dies gilt vor allem für Patienten, bei denen nur eine kleine Körperoberfläche erkrankt ist, wie dies beispielsweise bei palmoplantaren Dermatosen der Fall ist. Um solche Langzeitriskien und die systemischen Nebenwirkungen der peroralen PUVA-Therapie zu vermeiden wurden verschiedene Methoden entwickelt, um eine streng lokalisierte Photosensibilisierung durch Psoralene durchzuführen [20, 29, 34, 91, 95].

In einigen Studien war die topische Applikation von Psoralenen in Form von alkoholischen Lösungen oder Lotionen mit einer Konzentration an 8-MOP zwischen 0,1% und 1,0 % erfolgreich zur Behandlung palmoplantarer Dermatosen

eingesetzt worden [35, 94, 95]. Neben den weniger gravierenden Nebenwirkungen wie persistierender Hyperpigmentierung und lokalisiertem Juckreiz sind wesentliche Nachteile dieser Methode dass 8-MOP-Plasmakonzentrationen denen einer systemischen PUVA-Therapie vergleichbar sind [74], sowie das Auftreten schwerer phototoxischer Reaktionen mit Rötung, Blasenbildung und brennendem Schmerz [1, 57, 73, 110]. Aufgrund der geringen therapeutischen Breite wurde diese Form der topischen PUVA-Therapie wieder zunehmend zugunsten der lokalen Bade-PUVA-Photochemotherapie verlassen [44].

Als eine Abwandlung der Ganzkörper-Bade-PUVA-Therapie besteht, z.B. bei palmoplantaren Dermatosen, die Möglichkeit Hände und Füße selektiv zu photosensibilisieren. Die therapeutische Effizienz zur Behandlung therapieresistenter palmoplantarer Dermatosen, wie der Psoriasis palmoplantaris und dem hyperkeratotischem sowie dyshydrosiformem Hand- und Fußekzem, scheint, bei deutlich geringeren kumulativen UVA-Dosen, der systemischen PUVA-Therapie zu gleichen [19, 29, 44, 91, 95, 96, 103].

Da bei Ganzkörper-PUVA-Bad keine relevanten 8-MOP-Serumspiegel messbar sind, kann die fehlende systemische Resorption auch bei einer viel kleineren Applikationsfläche wie etwa bei der Hand- und Fuß-Bade-PUVA-Therapie angenommen werden [18, 28, 39, 105, 108].

Im Gegensatz zur topischen PUVA-Therapie mit 8-MOP-Lösung oder -Lotion ist die lokale PUVA-Bad-Therapie wesentlich besser steuerbar, da es kaum zu phototoxischen Reaktionen kommt [44].

Zusätzlich entstehen logistische Probleme, da die therapeutisch erforderliche Photosensibilisierung der Haut nach 8-MOP-Bad nur in einem relativ kurzen Zeitintervall (10-40 min) bestehen bleibt [77].

Um diese aufwändige Photosensibilisierungsphase zu vereinfachen und um zusätzlich zu der lokalen Hand- und Fuß-PUVA auch umschriebene Hautveränderungen, wie z.B. psoriatische Plaques oder nummuläre Ekzemherde, selektiv therapieren zu können, wurden in den letzten Jahren weitere Applikationsformen von 8-Methoxypsoralen auf ihre therapeutische Wirksamkeit hin untersucht. So stellte De Rie et al. 1995 in einer Studie erste Ergebnisse über die topische Applikation eines 0,005%igen 8-Methoxypsoralen Gels vor. Sowohl

bei Patienten mit Psoriasis vom Plaque Typ als auch bei Patienten mit palmoplantarer Psoriasis und hyperkeratotischem Ekzem wurden, bei völligem Fehlen von unerwünschten phototoxischen Reaktionen und systemisch messbaren 8-MOP-Serumwerten, gute Behandlungserfolge beschrieben [20].

1997 berichtete Stege et al. von einer bei 10 Patienten mit hyperkeratotisch-rhagadiformen Hand- und/oder Fußekzemen durchgeführten Creme-PUVA-Photochemotherapie, bei der 8-MOP in Form einer Wasser-in-Öl Emulsion aufgetragen wurde. Grundmann-Kollmann et al. führte 1999 eine Studie im Halbseitenversuch mit PUVA-Creme- und PUVA-Bad-Therapie durch. Auch hierbei zeigte sich diese Form der 8-MOP-Applikation als ein effektives Verfahren zur Durchführung einer lokalen PUVA-Photochemotherapie. Die Ganzkörperbehandlung mit der 8-MOPhaltigen Creme führte nicht zu messbaren 8-MOP Serumspiegel und es wurden in beiden Studien keine überschießenden phototoxischen Reaktionen beobachtet [29, 96].

Da die Konservierung einer Cremegrundlage für die topische Applikation von 8-Methoxypsoralen wegen der UV-Filterwirkung spezifischer Konservierungsmittel laut NRF 11.88 nicht unproblematisch und mikrobiell sehr anfällig zu sein scheint, wäre eine Gelgrundlage unter Umständen besser geeignet und einfacher zu handhaben [75]. Zudem gibt es Hinweise, dass die Applikation von Psoralenen über einen Gelträger gegenüber der Applikation mit Hilfe einer Cremegrundlage trotz kürzerer Einwirkzeiten eine stärkere Photosensibilisierung hervorrufen und damit eventuell die kumulative UV-Gesamtdosis weiter senken kann [30].

1.3 Eindringtiefe des applizierten 8-Methoxypsoralen

Neben dem klinischen Vergleich der Wirksamkeit einer UVA Bestrahlung nach Auftragen eines Psoralen-Gels oder nach Baden in einem Psoralen-Wasserbad wären Untersuchungen über das Penetrationsverhalten von 8-MOP nach Auftragen auf die Haut mittels verschiedenen Trägerstoffen zur Therapieoptimierung hilfreich. Der Zeitraum bis zur maximalen Penetrationstiefe von 8-MOP in die Haut kann Aufschluss über die optimale Einwirkzeit der topischen Psoralenzubereitungen geben. Bislang gibt es nur wenige Daten über die Eindringtiefe von 8-MOP in der Haut und den Zeitraum, in welchem 8-MOP in die Epidermis und Dermis penetriert.

Da es sich bei den Psoralenen um fluoreszierende Substanzen handelt könnte eine Möglichkeit die Eindringtiefe zu bestimmen, die Aktivierung und optische Messung der Psoralen-Fluoreszenz in Gewebsschnitten mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes sein.

1.3.1 Fluoreszenz der Psoralene

Bei den Psoralenen handelt es sich um hoch photoaktive Substanzen. Damit es zu biologischen und immunologischen Änderungen an Epidermis und Dermis kommen kann, bedarf es einer Aktivierung der Psoralene mittels Bestrahlung durch UVA Licht. Hierbei erfahren die Psoralene durch Absorption von Licht einer bestimmten Wellenlänge eine Strukturänderung [81]. Pathak beschreibt 1960 einen zur Aktivierung der Psoralene notwendigen Wellenlängenbereich zwischen 340 und 380nm, wobei die maximale Absorption für 8-Methoxypsoralen bei 360nm liegt. Hierbei kommt es zu Fluoreszenz des aktivierten 8-Methoxypsoralens mit einem Emissionsspektrum zwischen 420 und 460 nm sowie einer maximalen Emission von 8-Methoxypsoralen bei 460 nm [82].

Aufgrund der fluoreszierenden Eigenschaft von 8-Methoxypsoralen kann die Substanz mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskopes sichtbar gemacht werden. So beschrieb 1985 Sasaki et al. die Aufnahme der Psoralene in Nukleoli von menschlichen, von der Mundschleimhaut entnommenen Zellen durch

fluoreszenzmikroskopische Detektion von 8-Methoxypsoralen nach Anregung in einem Wellenlängenbereich von 304nm und 340nm [90].

1.3.2 Die Chorioallantoismembran des Hühnerembryos als Testsystem

Zur Bestimmung der Eindringtiefe in Abhängigkeit der Applikationsdauer von 8-MOP und der Trägerstoffe wäre eine erhebliche Anzahl an Hautbiopsien vor und während einer PUVA-Behandlung notwendig, was keinem Patienten zuzumuten wäre. Eine einfachere Möglichkeit bietet ein schon mehrfach erfolgreich eingesetztes Testsystem durch Transplantation humaner Haut auf die Chorioallantoismembran (CAM) des Hühnerembryos. Dieses System ist schon lange bekannt. Bereits 1912 berichtete Murphy über die Transplantation eines humanen Tumors auf die Chorioallantoismembran eines Hühnerembryos. In den vergangenen Jahrzehnten gab es auf den Gebieten Virologie, Bakteriologie, Onkologie, Transplantationsmedizin, Angiogenese, Hämatologie, Biochemie und Umweltmedizin zahlreiche Arbeiten mit bebrüteten Hühnereiern und der Chorioallantoismembran als Testsystem [55, 67, 85, 93].

Bei der Chorioallantoismembran des Hühnerembryos handelt es sich um eine dünne, nur aus wenigen Zellschichten bestehende durchsichtige Membran, die sich aus den drei Keimblättern Ektoderm, Mesoderm mit der primären Anlage der Blutgefäße, und Entoderm durch Verschmelzung der Allantois und des Chorions entwickelt. Die Chorioallantoismembran wächst an der Innenfläche der harten Eischale und dient dem Hühnerembryo hauptsächlich zum Gasaustausch [54] (Abb.1).

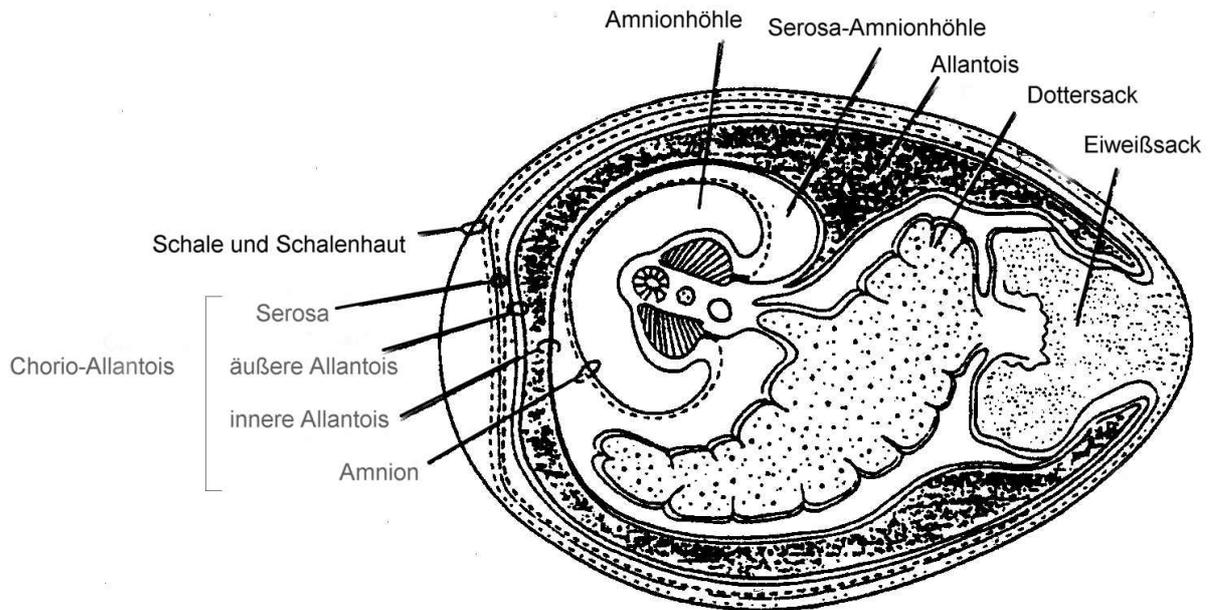


Abb. 3: Schematischer Querschnitt durch das Hühnerei am 14. Bebrütungstag. (C. Huillon, Embryologie, 1972)

Die Chorioallantoismembran bietet eine gute Voraussetzung als Substrat für die Kultivierung von Zellen oder Gewebe humanen oder tierischen Ursprungs, da das Hühnerembryo bis etwa zur Hälfte der Bebrütungszeit keine suffiziente Immunabwehr besitzt. Auf 5 Tage alte Hühnerembryos aufgebrachte Zellen werden von der Chorioallantoismembran aufgenommen und von nach weiteren 2-3 Tagen einsprossenden Gefäße versorgt [56].

Mit Hilfe dieses Testsystems besteht somit die Möglichkeit eine 8-Methoxypsoralenzubereitung auf vitale humane Haut aufzutragen und anschließend fluoreszenzmikroskopisch zu untersuchen.

1.4 Fragestellung

Bisher existieren keine vergleichbaren Daten über die klinische Wirksamkeit und das Nebenwirkungsspektrum der lokalen PUVA-Therapie mittels eines 8-Methoxypsoralengels. Wir wollten mit dieser Studie im Halbseitenversuch bei Patienten mit palmoplantaren und umschriebenen Dermatosen klären, ob sich durch eine PUVA-Therapie mit Photosensibilisierung mittels eines 8-MOPhaltigen Gels die selben oder bessere klinische Ergebnisse erzielen lassen wie bei Photosensibilisierung mittels eines 8-MOPhaltigen Hand- und Fuß-Bades.

Zudem soll untersucht werden wie weit das mittels unterschiedlicher Trägerstoffe applizierte 8-MOP in die menschliche Haut penetriert und in welchem Zeitraum es zu einer maximalen Eindringtiefe von 8-MOP kommt.

Dazu sollten folgende Fragestellungen geprüft werden:

1. Lässt sich durch Applikation von 8-Methoxypsoralen (8-MOP) in Form eines Gels eine ausreichende aber sichere Photosensibilisierung erzielen?
2. Kommt es unter der Therapie mittels 8-MOP-Gel schneller zu einer Remission als unter Therapie mittels PUVA-Bad?
3. Sind mittels 8-MOP-Gel weniger Behandlungen bis zum Erreichen einer Remission notwendig als unter PUVA-Bad-Therapie?
4. Unterscheidet sich der Therapieerfolg beider Therapieoptionen?
5. Unterscheiden sich die kumulativen Gesamtdosen beider Therapieoptionen?
6. Penetriert 8-MOP nach Applikation in Form eines Gels schneller oder tiefer in die Menschliche Haut als nach einem 8-MOP-Bad?

2. Patienten und Methodik

2.1 Patienten

Bei den Patienten handelt es sich ausschließlich um Patienten der Poliklinik der Abteilung Dermatologie des Universitätsklinikums Ulm. Der Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Ulm in der vorliegenden Form zugestimmt. Voraussetzung für die Aufnahme eines Patienten in die Studie war das Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung. Aufgenommen in die Studie wurden Patienten mit beidseitig etwa in gleichem Ausmaß verteilten psoriatischen Plaques, Psoriasis palmoplantaris, Ekzema palmoplantaris und Lichen ruber. Ausschlusskriterien für die Studie waren Alter unter 18 Jahren, Schwangerschaft und Stillperiode, erhöhte Photosensibilität oder Einnahme photosensibilisierender Medikamente, maligne Tumoren der Haut wie Basaliomen, Stachelzellkarzinomen, malignen Melanomen und anderen malignen Tumoren in der Vorgeschichte sowie HIV-Risikopatienten. Ebenso wurden Patienten ausgeschlossen, denen eine Therapiefrequenz von 3 bis 4 Behandlungen in der Woche nicht möglich war, Patienten, die bis 4 Wochen vor Studieneinschleusung in photochemotherapeutischer Behandlung waren, Patienten unter systemischer Therapie mit antipsoriatisch wirksamen Medikamenten (Neostigason, Cyclosporin A, Methotrexat, Fumarate) bis 4 Wochen vor Studienbeginn und Patienten mit topischer Therapie mit Antipsoriatika (Steroide, Vitamin-D3-Analoga, Cignolin, Retinoide) bis 2 Wochen vor Studienbeginn.

2.2 Studientherapie

Die Therapie fand im Funktionsbereich Phototherapie und Photodiagnostik der Abteilung Dermatologie der Universität Ulm statt. In einer Eingangsuntersuchung wurde nach Prüfung aller Ein- und Ausschlusskriterien der Hautbefund und, zur Beurteilung der Schwere der Ausprägung, ein modifizierter PASI-Score erhoben. Die Zuteilung der Therapien erfolgte mittels eines computergenerierten Randomisationsplanes.

2.2.1 Bestimmung der minimalen phototoxischen Dosis (MPD)

Aufgrund starker individueller Varianz der Empfindlichkeit gegenüber einer Psoralen-UV-Phototherapie und um die Potenz des 8-MOP-Gels zu berücksichtigen, musste vor Beginn der Bestrahlungstherapie mit Hilfe der minimalen phototoxischen Dosis (MPD) die initiale UV-Dosis festgelegt werden.

Zur Bestimmung der minimalen phototoxischen Dosis (MPD) wurde eine Photosensibilisierung beider Unterarme durch 8-MOP getrennt nach Applikationsart durchgeführt. Es erfolgte zunächst die Photosensibilisierung eines Unterarmes mit 8-MOP in Form eines Warmwasserbades mit Zusatz von 0,5mg/l 8-MOP (Meladinine Lösungspräparat 0,3%) bei 37 °C über 20 Minuten sowie durch Auftragen einer 0,0005%igen 8-MOP-Gel-Rezeptur über 30 min am anderen Unterarm. Sollte sich mit der 0,0005%igen Rezeptur noch kein sichtbares Erythem erzielen lassen, waren weitere MPD-Testungen mit 0,001%iger, bzw. 0,005%iger Gel-Rezeptur vorgesehen. Direkt im Anschluss erfolgte eine UVA-Bestrahlung auf insgesamt 6 Testfeldern (Größe je 1x2 cm) mit Bestrahlungsdosen von 0,5 J/cm², 1 J/cm², 1,5 J/cm², 2 J/cm², 2,5 J/cm² und 3 J/cm². Die Bestrahlung erfolgte mittels eines Teilkörperbestrahlungsgerätes vom Typ PUVA 800 (der Firma Waldmann, Villingen-Schwenningen, Deutschland) mit einem Strahlungsspektrum von 320 bis 400nm und einem Maximum bei 355 nm. Die Ablesung wurde sofort sowie nach 24, 48, 72 und 96 Stunden durch den gleichen, behandelnden Arzt durchgeführt. Ließ sich mit der 0,0005%igen Rezeptur noch kein sichtbares Erythem erzielen, wurden die weiteren MPD-Testungen und Therapien mit 0,001%iger, bzw. 0,005%iger Rezeptur

durchgeführt. Die MPD-Testung erfolgte immer mit derselben Konzentration an 8-MOP, mit der später auch die Therapie durchgeführt wurde.

2.2.2 Applikation der Studienmedikation

Nach der letzten Ablesung der minimalen phototoxischen Dosis (MPD) wurde die Bestrahlungstherapie eingeleitet. Hierzu badeten die Patienten die der Badetherapie zugeordneten Körperherde 20 Minuten in einem Teilkörper-Warmwasserbad (37°C) dem 8-Methoxypsoralen (Meladinine Lösungskonzentrat 0,3% der Firma Galderma, Freiburg) zugesetzt wurden. Die Badekonzentration betrug hierbei 0,5 mg 8-Methoxypsoralen/Liter Badewasser. Hierbei handelt es sich um eine etablierte und für diese Behandlung zugelassene Therapieform.

Auf die Herde der anderen Körperhälfte wurde das 8-MOP-haltige Gel entsprechender Konzentration aufgetragen und nach 30 Minuten Einwirkzeit mit klarem Wasser abgewaschen. Das 8-MOP-haltige Gel wurde von der Apotheke der Universität Ulm als magistrale Rezeptur (S. Tabelle 1) bezogen.

Tabelle1: Magistrale Rezeptur des zur Therapie verwendeten 8-MOP-haltigen Gels

8-Methoxypsoralen	0,0005 (bzw. 0,001 oder 0,005)
Ethanol 96%	15,0
Propylenglykol	20,0
Hydroxypropylcellulose	5,0
Aqua dest.ad	100,0

2.2.3 Durchführung der Lichttherapie

Direkt im Anschluss an die Photosensibilisierung erfolgte die Bestrahlung aller Körperherde. Je nach Befundausdehnung und -lokalisierung wurde mit einer Teil- oder Ganzkörpereinheit bestrahlt.

Die Bestrahlung der Hände und Füße wurde mit Hilfe eines UV 180/200 Teilkörpergerätes (der Firma Waldmann, Villingen-Schwenningen, Deutschland) durchgeführt. Das Basisgerät war mit 8 UVA-Strahlern vom Waldmann-Typ F15-T8-PUVA ausgerüstet. Diese weisen ein Strahlungsspektrum von 315 bis 400 nm mit einem Maximum bei 365 nm auf. Das Zusatzgerät vom Typ PUVA 200 L (der Firma Waldmann, Villingen-Schwenningen, Deutschland) war mit 14 UVA-Strahlern vom Waldmann-Typ F8 T5 / PUVA ausgestattet. Das Strahlungsspektrum war mit dem des Basisgerätes identisch. Die Röhrenleistung wurde regelmäßig mittels Dosimetrie durch einen Waldmann UV-Meter überprüft und ergab bei 360 nm eine Bestrahlungsleistung von 11,4 mW/cm².

Die Ganzkörperbestrahlung zur Behandlung stammnaher Herde wurde mittels eines 7001 K Ganzkörperbestrahlungsgerätes (der Firma Waldmann, Villingen-Schwenningen, Deutschland) durchgeführt das mit 27 Waldmann-Niederdrucklampen F85/100W-PUVA bestückt war. Die durch das Gerät ständig selbst ermittelte Dosisleistung betrug 8,0 mW/cm².

2.2.4 Therapieverlauf

Die Behandlung wurde mit einer Initialdosis von 30% der individuellen minimalen phototoxischen Dosis (MPD) begonnen und 3–4 mal wöchentlich durchgeführt. Da eine maximale phototoxische Reaktion unter PUVA-Therapie frühestens nach etwa drei bis vier Tagen einsetzt, erfolgt eine mindestens eintägige Bestrahlungspause nach zwei aufeinanderfolgenden Behandlungstagen. Eine individuell angepasste Dosissteigerung um 20–30% wurde, sofern keine Kontraindikation vorlag, nach frühestens 72 Stunden durchgeführt. Eine Dosisreduktion war jederzeit möglich. Vor jeder Bestrahlung wurde der Patient

durch den therapiesteuernden Arzt auf das Auftreten eines Erythems hin untersucht und die zu verabreichende UV-Dosis festgelegt. Dabei wurde so verfahren, dass bei einem nicht vorhandenen Erythem die vorherige Bestrahlungsdosis um 20–30 % erhöht, und bei einem gerade noch erkennbaren Erythem die Dosis beibehalten wurde. Bei gut erkennbaren Erythemen erfolgte eine Dosisreduktion um 20–30 %. Bei deutlich erkennbaren Erythemen wurde eine Bestrahlungspause und bei Erythemen mit Ödembildung eine Bestrahlungspause und externe Steroide bis zu drei Tagen Dauer verordnet. Sollten unterschiedliche Bestrahlungsdosen erforderlich sein wurde die jeweils nicht zu bestrahlende Körperhälfte mit einem UV-undurchlässigen Material (Alu-Folie) abgedeckt.

Tabelle 2: Steigerungsanweisung unter PUVA-Therapie

Erythem	Bestrahlungsdosis (UV-Dosis)
nicht vorhanden	+30% der letzten Dosis
gerade noch erkennbar	keine Steigerung
gut erkennbar	- 30% der letzten Dosis
deutlich erkennbar	Bestrahlungspause
mit Ödem	Bestrahlungspause + Maßnahmen (externes Steroid bis zu 3 Tagen)

PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A; UV: Ultraviolettstrahlung

Als Begleittherapie wurden wirkstofffreie oder harnstoffhaltige rückfettende Externa verwendet. Die Anwendung systemischer Antipsoriatika wie Cyclosporin A, Metotrexat, Retinoide, Fumarate und antipsoriatischer Externa wie Cignolin, Vitamin-D3-Analoga, Kortikosteroide war verboten. Nur bei symmetrisch aufgetretenen geringgradigen phototoxischen Reaktionen oder massiven akuten Schüben wurden kurzzeitig, für beide Behandlungsarme identisch, topische Kortikosteroide verwendet.

Die PUVA-Therapie wurde durchgeführt bis eine Abheilung der Hautveränderungen erfolgte. Konnte keine Remission erreicht werden, wurde die Behandlung nach Erreichen einer kumulativen Gesamtdosis von 200 J/cm² oder spätestens nach der 50. Bestrahlung abgebrochen.

Bei eindeutigem Überwiegen des Therapieerfolges auf einer Körperseite, konnte sowohl auf Wunsch des Patienten als auch auf Anordnung des behandelnden Arztes eine Therapieumstellung auf ein beidseitig gleiches Behandlungsschema

(also beidseitige Photosensibilisierung mittels 8-MOP-Bad bzw. 8-MOP-Gel) erfolgen.

2.2.5 Beurteilung der Hautveränderungen und Datenerhebung

Zur Verlaufskontrolle wurden die Hautveränderungen zu Beginn der Therapie, in wöchentlichen Abständen während der Therapie und am Ende der Therapie unter zu Hilfenahme eines Bewertungsschemas beurteilt. Da derzeit für palmoplantare Dermatosen kein allgemein anerkanntes Bewertungsschema existiert erfolgte die Beurteilung getrennt nach Körperhälften mittels einer Modifikation des sich schon bewährten Psoriasis area and severity Index (PASI).

Der PASI-Score wurde 1978 von Fredriksson et al. zur Beurteilung des Ausprägungsgrades psoriatischer Hautveränderung am gesamten Körper sowie des Verlaufes einer Psoriasistherapie eingeführt und hat sich seither in vielen Studien als international anerkanntes, standardisiertes, klinisches Bewertungskriterium des Therapieerfolges einer antipsoriatischen Behandlung bewährt [25, 26]. Fredriksson erhob für die Parameter Erythem, Infiltration und Desquamation mit einer semiquantitativen Schätzung der Ausprägungsgrade „nicht vorhanden“ (0 Punkte), „gering“ (1 Punkt), „mäßig“ (3 Punkte) und „sehr schwer“ (4 Punkte). Die befallene Fläche in Prozent geht mit 0-6 Punkte in den Score ein, wobei 0% mit 0 Punkte, 1-9% mit 1 Punkt, 10-29% mit 2 Punkten, 30-49% mit 3 Punkten 50-69% mit 4 Punkten, 70-89% mit 5 Punkten und 90-100% mit 6 Punkten bewertet wird. Die Summe der Ausprägungsgrade wird mit der Fläche multipliziert und geht getrennt für Kopf (Faktor 0,1), Stamm (Faktor 0,3), obere Extremität (Faktor 0,2) sowie untere Extremität (Faktor 0,4) in den Gesamtscore ein. Der Maximalwert des PASI-Scores beträgt somit 72.

Da in dieser Studie nur lokalisierte Formen der Psoriasis, bzw. palmoplantare Dermatosen behandelt werden, ist eine Anwendung des auf den gesamten Körper bezogenen klassischen PASI-Scores nicht sinnvoll. Daher wird dieser Score dahingehend modifiziert, dass die Erhebung nicht nach Körperbereichen getrennt erfolgt, sondern nur für die Fläche der umschriebenen, zu therapierenden Hautveränderung. Eine ähnliche Modifikation des PASI-Scores hatte sich bereits

in einer von Peter et al. 1994 beschriebenen Untersuchung an Patienten mit palmoplantarer Psoriasis bewährt [83].

In dieser Studie wurde bei Patienten mit mehreren Hautveränderungen pro Studienarm, wie dies z.B. bei gleichseitigen Hautveränderungen an Händen und Füßen der Fall ist, zur Gesamtbeurteilung der Hautveränderungen eines Patienten entsprechend der Gel bzw. Bad zugeteilten Körperhälfte der Mittelwert aus Handbefund und Fußbefund gebildet. Der mittels diesem modifizierten PASI-Score maximal erhebbare Wert beträgt somit 72. Dieser Wert ist nicht mit dem des PASI-Scores nach Frederiksohn vergleichbar, da dieser den gesamten Körper beurteilt.

$$\text{PASI-Score}_{\text{modifiziert}} = \text{Score}_{\text{Fläche}} * (\text{Score}_{\text{Erythem}} + \text{Score}_{\text{Schuppung/Bläschenbildung}} + \text{Score}_{\text{Infiltration}})$$

Zusätzlich erfolgte wöchentlich eine digitale Fotodokumentation der Hautveränderungen. So konnte unter zu Hilfenahme der Vorbefunde Veränderungen der Hauterscheinung einfacher verglichen und nach dem PASI-Score bewertet werden. Diese Bewertung erfolgte immer durch den selben behandelnden Arzt um eventuelle Fehler durch interindividuelle Beurteilungsmaßstäbe auszuschließen.

2.3. Experimentelle Bestimmung der Eindringtiefe des applizierten 8-MOP

2.3.1 Gewinnung der Vollhauttransplantate

Zur Transplantation auf die Chorioallantoismembran verwendeten wir humane Vollhaut, welche bei operativen Eingriffen wie Nachexzisionen oder plastischen Defektdeckungen bei Patienten der Abteilung Dermatologie des Universitätsklinikums Ulm überschüssig anfiel. Die operierten Patienten unterzeichneten hierzu, entsprechend den Richtlinien der Medizinischen Ethikkommission der Universität Ulms, im Vorfeld eine schriftliche Einverständniserklärung. Die Vollhaut wurde in phosphatgepufferter Kochsalzlösung transportiert, innerhalb einer Stunde präpariert und bis zur Transplantation auf die Chorioallantoismembran bei -80°C tiefgefroren. Die Präparation umfasste eine vorsichtige Abtrennung des subkutanen Fettgewebes, um eine ausreichende Nährstoffdiffusion nach Aufbringen auf die Chorioallantoismembran bis zum Anwachsen des Hauttransplantates zu ermöglichen. Zudem erfolgte eine Präparation der Vollhaut zum Aufbringen auf die Chorioallantoismembran, vor dem Tiefrieren, in $0,5 \times 0,5$ cm große Teilstücke.

2.3.2 Hauttransplantation auf das Chorioallantoissystem des Hühnerembryos

Für das Chorioallantoissystem wurden befruchtete Hühnereier bei $37,8^{\circ}\text{C}$ und 60% relativer Luftfeuchtigkeit 4-5 Tage lang bebrütet. Danach erfolgte eine Eröffnung der Hühnereischale am spitzen Pol des Eies auf eine Größe von etwa 2×2 cm um die Chorioallantoismembran freizulegen. Nach Überprüfung des Hühnerembryos auf Vitalität erfolgte das vorsichtige Aufbringen eines frisch aufgetauten 5mm großen Hauttransplantates auf die Chorioallantoismembran. Zur weiteren Bebrütung des Hühnerembryos wurde die Öffnung am Hühnerei mittels eines Leukosilkheftpflasters wieder sorgfältig verschlossen. Zwei bis drei Tage darauf zeigte sich eine zunehmende Vaskularisation in der Umgebung des, in die Chorioallantoismembran eingewachsenen, Hauttransplantates. Die Vitalität des Transplantates wurde zunächst klinisch, nachfolgend mikroskopisch kontrolliert. So zeigt sich ein regelrechtes Hauttransplantat bei lebendigem Hühnerembryo

hautfarben und gut vaskularisiert, während ein nekrotisches Transplantat eine zunehmend gräuliche Verfärbung aufweist.

2.3.3 Aufbringen der Testsubstanzen

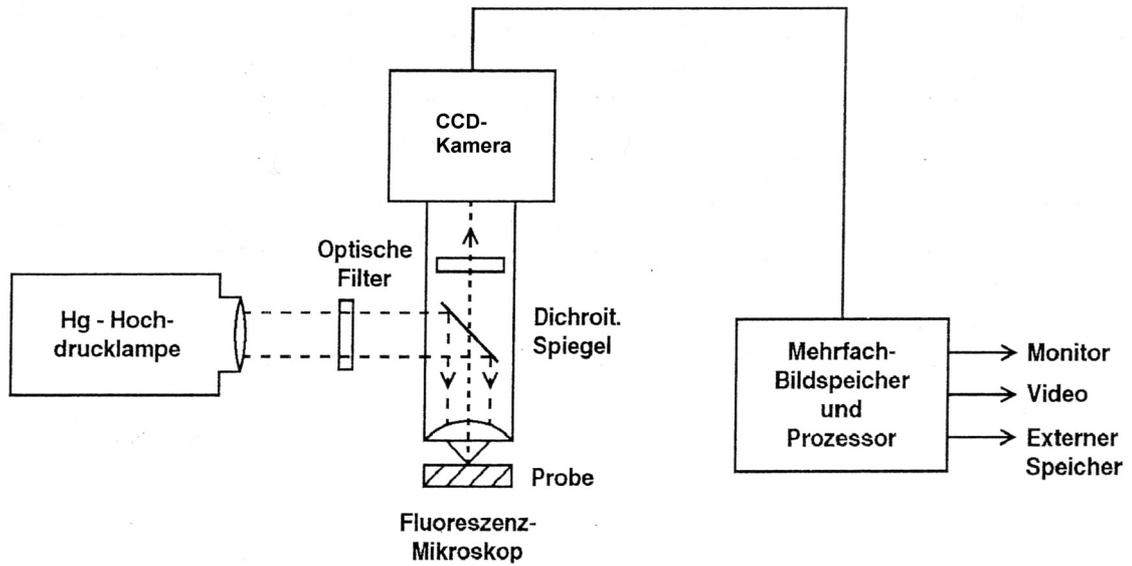
Auf augenscheinlich vitale Hauttransplantate wurde am 7. oder 8. Tag, je nach Entwicklungsstadium des Vollhaut-Chorioallantoismembran-Testsystems, 8-Methoxypsoralen in Form unterschiedlicher Trägersubstanzen, mittels einer Pipette auf die Hauttransplantate aufgebracht. Für Psoralen-Gel, adäquat der zur Therapie benutzten Konzentrationen von 0,005% und 0,0005%, entsprach der Applikationszeitraum 30 Minuten. Die 8-Methoxypsoralen-Badelösung wurde, in der selben zur Therapie verwendeten Konzentration, über einen Zeitraum von 20 Minuten aufgebracht. Um einen Vergleich mit der in der Literatur beschriebenen 8-Methoxypsoralen-Creme in einer Konzentration von 0,0006% zu erhalten, trugen wir diese über einen Zeitraum von 30 Minuten auf ein Hauttransplantat auf. Um einen ersten Anhalt zu bekommen, ob eine höhere 8-Methoxypsoralen Konzentration im selben Behandlungszeitraum schon in tiefere Hautschichten eindringt, erfolgte das Aufbringen der zur Herstellung der PUVA-Badelösung käuflichen Psoralen-Alkohol-Lösung in einer Konzentration von 0,3% über einen Zeitraum von 20 Minuten. Zur Vergleichskontrolle möglicher ebenfalls fluoreszierender Störfaktoren erfolgte über einen Zeitraum von 20 Minuten das Auftragen einer 70% Ethanollösung und über einen Zeitraum von 30 Minuten das Auftragen der Gelbasiszubereitung ohne 8-Methoxypsoralen.

Nach Einwirken der Testsubstanzen wurde die behandelte Haut vorsichtig mitsamt der Chorioallantoismembran vom Ei-Modell abgelöst und eingebettet in OCT Compound der Firma Tissue Tec sofort in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Zusätzlich erfolgte das Tiefrieren unbehandelter Haut mitsamt der Chorioallantoismembran um als direkten Vergleich deren Fluoreszenzmuster zu bestimmen. Die so im Dunkeln abgeschirmten und tiefgefrorenen Hautstücke wurden gesammelt, anschließend kryographisch in einer Schnittstärke von 25µm geschnitten und nativ auf Objektträger aufgebracht. Die Nativschnittpräparate wurden anschließend bis zur Fluoreszenzmikroskopie konsequent im Dunkeln

aufbewahrt um ein Ausbleichen zu verhindern. Um durch nekrotisches Gewebe verursachte systemische Fehlerquellen zu vermeiden, erfolgten von weiteren Kryoschnitten zusätzlich HE Färbungen, welche mikroskopisch auf eine regelrechte Schichtung hin überprüft wurden.

2.3.4 Beurteilung der Eindringtiefe mittels Fluoreszenzmikroskopie

Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden mittels eines Zeiss Axiophot Forschungsmikroskops durchgeführt. Das Mikroskop war mit einer Einrichtung zur Hellfeld-, Phasenkontrast-, Auflichtfluoreszenz- und Polarisationsfluoreszenzmikroskopie ausgestattet. Die mikroskopischen Untersuchungen erfolgten mittels eines Objektivs in 10facher Vergrößerung. Die Fluoreszenzbeleuchtung erfolgte am Mikroskop mit einer Quecksilberhochdrucklampe. Zwischen Mikroskop und Quecksilberhochdrucklampe bestand die Möglichkeit zur Fluoreszenzmikroskopie verschiedene Filterblöcke in den Strahlengang einzuschieben. Zur Fluoreszenzanregung wurden Filterblöcke verwendet, welche Licht in der Wellenlänge von 350 – 400 nm, durchlassen. Auf die Mikroskopiereinheit war zur Videodokumentation eine CCD-Kamera aufgesetzt. Um extrem schwache Fluoreszenzen nachweisen zu können, wurde das Kamerasignal über ein nachgeschaltetes Bildverarbeitungssystem (Video Frame Memory C 1901 Mark II, Hamamatsu) durch Aufaddierung von etwa 100 Einzelbildern verstärkt (Abb. 2).



CCD: Charge Coupled Device (Sensor, welcher ein zur einstrahlenden Lichtmenge proportionales Signal ausgibt); Hg: Quecksilber

Abb. 4: Schematischer Aufbau der Video-Mikroskopiereinheit

2.4 Statistik

Sämtliche Boxplots, Kaplan-Meier-Kurven und Wilcoxon-Tests wurden mit Hilfe des Programms "Statistika" berechnet und erstellt.

2.4.1 Zeitraum bis zum Erreichen einer Remission

Da es sich in dieser Studie um eine verbundene Versuchsanordnung und bei den behandelten Patienten um eine relativ kleine Fallzahl handelt wurde der Zeitraum bis zur Abheilung der Hautveränderungen beider Therapiegruppen mit den Methoden der Überlebenszeitanalyse (Kaplan-Meier ohne Log-Rank-Test) verglichen. Die Darstellung erfolgte als Kurve. Der Behandlungszeitraum bis zum Erreichen einer Remission wurde in Tagen gemessen. Als Remission wurde ein PASI-Score unter 4 gewertet. Therapieabbruch, Therapiewechsel oder ein PASI-Score über 4 bei Therapieabbruch wurde nicht als Remission gewertet. Bei Nichterreichen einer Remission floss der entsprechende Behandlungszeitraum als Zensierungsvariable in die Berechnung ein.

2.4.2 Anzahl der Bestrahlungen bis zum Erreichen einer Remission

Ebenso wie der Zeitraum bis zum Erreichen einer Remission wurde auch die Anzahl an Behandlungen bis zum Erreichen einer Remission zwischen beiden Therapiegruppen mit den Methoden der Überlebenszeitanalyse für verbundene Stichproben verglichen.

2.4.3. Kumulative Bestrahlungsdosis

Neben der kumulativen Bestrahlungsdosis bei Therapieabschluss wurde die bis zum Erreichen einer Remission notwendige kumulative Gesamtdosis zwischen beiden Therapiegruppen mit den Methoden der Überlebenszeitanalyse (Kaplan-Meier ohne Log-Rank-Test) verglichen. Die Darstellung erfolgte als Kurve.

2.4.4 Therapieerfolg

Zum Vergleich des Schweregrades der Hautveränderungen beider Therapiegruppen vor Therapiebeginn und nach Therapieabschluss wurden die erhobenen PASI-Scores mittels eines nichtparametrischen Testverfahrens für verbundene Stichproben (Wilcoxon-Test) untersucht und ausgewertet. Die beiden Gruppen (PUVA-Bad-Therapie und PUVA-Gel-Therapie) wurden auf den Median untersucht und hinsichtlich der folgenden Hypothesen geprüft:

- H0 - Die Gruppen unterscheiden sich nicht in Hinblick auf die nach Therapieabschluss erhobenen durchschnittlichen PASI-Scores.
- H1 - Die Gruppen unterscheiden sich in Hinblick auf die nach Therapieabschluss erhobenen durchschnittlichen PASI-Scores.

Zudem erfolgte, zur Beurteilung des Therapieerfolges der jeweiligen Therapiegruppe, ein Vergleich des Schweregrades der Hautveränderungen vor Therapiebeginn und nach Therapieabschluss. Dieser Vergleich erfolgte ebenfalls mit Hilfe der für die Hautveränderungen erhobenen PASI-Scores mittels eines nichtparametrischen Testverfahrens für verbundene Stichproben (Wilcoxon-Test). Die jeweiligen Gruppen (Ausprägung der Hautveränderungen vor Therapiebeginn und nach Therapieabschluss) wurden auf den Median untersucht und hinsichtlich der folgenden Hypothesen geprüft:

- H0 - Die Gruppen unterscheiden sich nicht in Hinblick auf die mittels PUVA-Gel therapierten Hautveränderungen.
- H1 - Die Gruppen unterscheiden sich in Hinblick auf die mit PUVA-Gel therapierten Hautveränderungen.

Zusätzlich erfolgte die graphische Darstellung des Therapieverlaufs, jeweils für PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Therapie, mit Hilfe der erhobenen PASI-Scores zu den Therapiezeitpunkten 0, 5., 10., 15., 20., 25., 30., 35., 40., 45. und 50. Behandlung mittels Box-Plot-Diagrammen. Untersucht wurde für beide Therapieoptionen jeweils die Maximale Verbesserung des Hautbefundes durch den Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben.

2.4.5 Absolute Befundänderung unter Therapie

Zur Beurteilung der absoluten Befundänderung unter Berücksichtigung des Ausgangswertes wurde für jeden Patienten die Differenz der PASI-Scores vor Therapie zu denen nach Therapie berechnet und anschließend für beide Therapieoptionen miteinander statistisch mittels eines nichtparametrischen Testverfahrens für Verbundene Stichproben (Wilcoxon-Test) verglichen. Von den jeweiligen Gruppen (PUVA-Bad-Therapie und PUVA-Gel-Therapie) wurden die Mediane gebildet und hinsichtlich der folgenden Hypothesen geprüft:

- H0 - Die Gruppen unterscheiden sich nicht in Hinblick auf die absolute Befundänderung nach Therapie.
- H1 - Die Gruppen unterscheiden sich in Hinblick auf die absolute Befundänderung nach Therapie.

3. Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

20 Patienten, 12 Frauen und 8 Männer zwischen 24 und 75 Jahre alt (Altersmedian: 51 Jahre), mit Hautveränderungen an Händen, Füßen und Unterschenkeln, wurden nach Aufklärung über Studiendesign und -Therapie sowie Unterzeichnung einer schriftlichen Einverständniserklärung in die Studie aufgenommen. Darunter befanden sich 8 Patienten mit Psoriasis, 8 Patienten mit dyshidrotischem Ekzem, 3 Patienten mit hyperkeratotischem Ekzem und ein Patient mit Lichen ruber. 10 mal waren Hände und Füße von der entsprechenden Hautveränderung betroffen, 6 mal nur die Hände, 3 mal nur die Füße und einmal die Unterschenkel.

Die Ausprägung des Hautbefundes vor Therapiebeginn, beurteilt durch den modifizierten PASI-Score, betrug von allen mit PUVA-Bad zu behandelnden Hautveränderungen im Median 29,4 (Minimum: 6, Maximum: 52,5) und von allen mit PUVA-Gel zu behandelnden Hautveränderungen im Median 28,8 (Minimum: 6, Maximum: 56). Somit bestand vor Therapiebeginn zwischen beiden Studienarmen kein relevanter Unterschied im Ausprägungsgrad ihrer Hautveränderungen.

Tabelle 3: Übersicht über das Patientenkollektiv

Patient	Geschlecht	Alter	Diagnose	Lokalisation	Ausgangs-Befund (PASI-Score)	
					Badseite	Gelseite
1	m	24	Dyshidrotisches Ekzem	H + F	52,5	48
2	w	53	Psoriasis	F	43	56
3	m	62	Hyperkeratotisches Ekzem	H + F	42	34
4	w	47	Psoriasis	H + F	13	13
5	w	49	Dyshidrotisches Ekzem	H + F	33	38,5
6	m	33	Psoriasis	H + F	41	41
7	m	52	Lichen ruber	H	26	16
8	w	64	Psoriasis	F	47	47
9	w	29	Dyshidrotisches Ekzem	H	16	30
10	w	64	Psoriasis	H + F	20	21
11	w	27	Psoriasis	F	14	14
12	m	63	Dyshidrotisches Ekzem	H	6	6
13	w	48	Dyshidrotisches Ekzem	H + F	26	26
14	m	66	Dyshidrotisches Ekzem	H + F	46	41
15	m	47	Dyshidrotisches Ekzem	H + F	33	30
16	m	62	Hyperkeratotisches Ekzem	H + F	21	24
17	w	45	Dyshidrotisches Ekzem	H	50	40
18	w	61	Psoriasis	H	13	7
19	w	75	Psoriasis	US	27	24
20	w	52	Hyperkeratotisches Ekzem	H	24	24

m: männlich; w: weiblich; H: Hände; F: Füße; US: Unterschenkel; PASI: Psoriasis area and severity Index

3.2 Minimale phototoxische Dosis (MPD)

Gemäß der Einteilung nach Fitzpatrick entsprach der Lichthauttyp nach Fitzpatrick (HT) bei 9 Patienten HT 2, bei 9 Patienten HT 3 und bei 2 Patienten HT 4.

Im Rahmen der MPD Testung konnte auf der mittels PUVA-Bad (8-MOP-Konzentration 0,5 mg/l) photosensibilisierten Seite Werte zwischen 1,0 J/cm² und > 3,0 J/cm² (Median 2,75 J/cm²) ermittelt werden.

Um phototoxische Reaktionen zu vermeiden erfolgte vor allem bei empfindlichen Lichthauttypen nach Fitzpatrick und bei anamnestisch eruiertes Lichtempfindlichkeit eine MPD Testung mittels der schwächsten in unserer Studie verwendeten Gelkonzentration von 0,0005%. Bei klinisch oder anamnestisch lichtunempfindlicheren Patienten erfolgte eine Sensibilisierung der Haut zur MPD Testung mittels 0,001%igem bzw. 0,005%igem 8-MOP-Gel. Da im Falle einer nicht messbarer MPD eine erneute MPD Testung mit einem höherprozentigen 8-MOP-Gel für den Patienten eine Verzögerung des Therapiebeginns um mindestens eine Woche bedeutet hätte, erfolgte auf Wunsch der Patienten und aus Praktikabilitätsgründen auch dann ein sofortiger Therapiebeginn mit dem zuvor getesteten Gel, wenn sich mittels der MPD Testung kein Erythem erzeugen ließ.

Für die mittels PUVA-Gel sensibilisierten Areale wurden 5 Patienten bei einer Gelkonzentration von 0,0005%, 4 Patienten mit 0,001% und 11 Patienten mit 0,005% 8-MOP getestet. Bei den mit 0,0005%igen Gel getesteten Patienten zeigte sich bei zwei Patienten mit HT 2 eine MPD von 3,0 J/cm². Bei keinem der 4 Patienten, die mit einer Gel-Konzentration von 0,001% getestet und behandelt wurden, ließ sich eine phototoxische Reaktion erzielen (MPD >3,0 J/cm²). Von den 11 Patienten, die mit einer Gel-Konzentration von 0,005% getestet und behandelt wurden beobachteten wir bei einem Patienten (HT 3 eine MPD von 1,0 J/cm² und bei einem Patienten (HT 3) eine MPD von 3,0 J/cm². Die mittels PUVA-Gel-Photochemotherapie ermittelten MPDs sind somit insgesamt höher als die mittels PUVA-Bad-Photochemotherapie ermittelten Werte.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Bedingungen und Ergebnisse der Ermittlung der Minimalen Phototoxischen Dosen des Patientenkollektivs.

In unserem Patientenkollektiv zeichnete sich kein einheitlicher Zusammenhang zwischen Gel-Konzentration, Hauttyp nach Fitzpatrick und minimaler phototoxischer Dosis ab.

Tabelle 4: Die ermittelten Minimalen Phototoxischen Dosen des Patientenkollektivs

Patient	Geschlecht	Diagnose	Haut-Typ nach Fitzpatrick	Konzentration		MPD	
				Bad (in mg/l)	Gel (in %)	Bad (in Joule)	Gel (in Joule)
1	m	Dyshidrotisches Ekzem	3	0,5	0,005	>3,0	>3,0
2	w	Psoriasis	2	0,5	0,005	2,5	>3,0
3	m	Hyperkeratotisches Ekzem	3	0,5	0,005	3,0	>3,0
4	w	Psoriasis	3	0,5	0,005	3,0	>3,0
5	w	Dyshidrotisches Ekzem	4	0,5	0,005	>3,0	>3,0
6	m	Psoriasis	2	0,5	0,0005	2,5	3,0
7	m	Lichen ruber	3	0,5	0,0005	2,0	>3,0
8	w	Psoriasis	2	0,5	0,001	2,5	>3,0
9	w	Dyshidrotisches Ekzem	2	0,5	0,001	2,0	>3,0
10	w	Psoriasis	2	0,5	0,001	2,5	>3,0
11	w	Psoriasis	3	0,5	0,005	3,0	>3,0
12	m	Dyshidrotisches Ekzem	2	0,5	0,005	2,5	>3,0
13	w	Dyshidrotisches Ekzem	2	0,5	0,0005	>3,0	>3,0
14	m	Dyshidrotisches Ekzem	3	0,5	0,001	>3,0	>3,0
15	m	Dyshidrotisches Ekzem	2	0,5	0,0005	2,0	3,0
16	m	Hyperkeratotisches Ekzem	3	0,5	0,005	>3,0	>3,0
17	w	Dyshidrotisches Ekzem	3	0,5	0,005	1,0	1,0
18	w	Psoriasis	3	0,5	0,005	1,5	3,0
19	w	Psoriasis	4	0,5	0,005	>3,0	>3,0
20	w	Hyperkeratotisches Ekzem	2	0,5	0,0005	>3,0	>3,0

m: männlich, w: weiblich, MPD: Minimale Phototoxische Dosis

3.3 Zeitraum bis zur Remission

Unter PUVA-Bad-Therapie konnte bei 13 von 20 Patienten (65%) eine vollständige Remission erreicht werden, wohingegen unter PUVA-Gel-Therapie die Anzahl der Patienten mit Vollremission bei 15 von 20 Patienten (75%) lag. Unter beiden Therapieoptionen konnte die frühzeitigste Remission bereits nach 9 Tagen erreicht werden, wobei die längste Zeit bis zum Erreichen einer Remission 114 Tage betrug.

Tabelle 5: Überblick über die jeweilige Behandlungsdauer bis zum Erreichen einer Remission unter PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Therapie

Patient	Diagnose	Anzahl der Tage bis zum Erreichen einer Remission	
		PUVA-Bad-Therapie	PUVA-Gel-Therapie
1	Dyshidrotisches Ekzem	46	46
2	Psoriasis	84	107
3	Hyperkeratotisches Ekzem	-	101
4	Psoriasis	37	37
5	Dyshidrotisches Ekzem	-	-
6	Psoriasis	68	-
7	Lichen ruber	35	35
8	Psoriasis	114	114
9	Dyshidrotisches Ekzem	29	-
10	Psoriasis	-	-
11	Psoriasis	-	19
12	Dyshidrotisches Ekzem	9	9
13	Dyshidrotisches Ekzem	-	58
14	Dyshidrotisches Ekzem	-	-
15	Dyshidrotisches Ekzem	-	32
16	Hyperkeratotisches Ekzem	61	61
17	Dyshidrotisches Ekzem	85	37
18	Psoriasis	56	44
19	Psoriasis	42	42
20	Hyperkeratotisches Ekzem	57	46

PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A; - : Es wurde keine Remission erreicht

Die Gründe für das Nichterreichen einer Remission sind vielfältig. Nur eine Patientin unserer Patientenpopulation zeigte ein völliges Therapieversagen der Hautläsionen auf PUVA-Therapie, sowohl auf der mit Gel als auch auf der mit Bad behandelten Seite. Bei einer Patientin (Patient 5) mit dyshidrotischem Handekzem musste die Therapie nach 70 Tagen (30 Bestrahlungen bei einer

kumulativen Gesamtdosis von 96,6 J/cm²), unter immer wiederkehrenden Ekzemschüben ohne wesentliche Besserung des Hautbefundes, abgebrochen werden.

Ein gutes Ansprechen auf PUVA-Therapie mit deutlicher Befundbesserung, jedoch ohne vollständige Abheilung der Hautläsionen (PASI > 4), konnte bei 4 weiteren Patienten beobachtet werden. Hierbei kam es bei einer Patientin mit Psoriasis palmoplantaris (Patient 10) sowohl unter PUVA-Bad- als auch unter PUVA-Gel-Therapie zu einer wesentlichen Befundbesserung, ohne dass eine völlige Remission der Hautläsionen erreicht werden konnte (PASI vor Therapie: Bad 20, Gel 21. PASI nach Therapie: Bad 14, Gel 10). Bei zwei Patienten mit hyperkeratotischem und dyshidrosiformem Ekzem (Patient 3 und 14) konnte lediglich unter PUVA-Bad-Therapie keine vollständige Remission erreicht werden (Patient 3 vor Therapie: Bad 42. Nach Therapie: Bad 11. Patient 14 vor Therapie: Bad 46. Nach Therapie: 6,5). Unter PUVA-Gel-Therapie lag ein Patient mit Psoriasis palmoplantaris (Patient 6) bei Therapieabschluss mit einem PASI von 7,5 über der festgelegten Remissionsgrenze von 4 (Vor Therapie: Gel 41).

Ein weiterer Grund für das Nichterreichen einer Remission war die Therapieumstellung von einer Therapieoption auf die andere, so dass anschließend beide Seiten mit derselben Methode photosensibilisiert wurden. Dies konnte sowohl bei Nachhängen des Therapieerfolgs auf einer Seite vom zuständigen Oberarzt angeordnet werden, oder auf Wunsch des zu behandelnden Patienten erfolgen. So wurde bei drei Patienten (Patient 11, 13 und 15) nach nur mäßigem Therapieerfolg auf der mit Bade-PUVA behandelten Seite, eine Umstellung der Therapie auf PUVA-Gel beidseits vom Patient gewünscht bzw. aus therapeutischen Gründen angeordnet. Bei allen 3 Patienten konnte nach der Therapieumstellung auf PUVA-Gel eine Remission erreicht werden. Dabei erreichten Patient 13 und 15 gleichzeitig mit der anderen, vollständig mit PUVA-Gel therapierten Körperhälfte den Remissionszustand. Bei Patient 11 waren im Vergleich zur Gegenseite 10 weitere Bestrahlungen notwendig um eine vollständige Remission zu erzielen.

Zwei Patienten (Patient 9 und 14) wünschten die Umstellung der PUVA-Gel-Therapie auf PUVA-Bad-Therapie, infolge nur schleppender Befundbesserung. Dabei konnte bei Patient 14 nach Therapieumstellung eine vollständige Remission erreicht werden, wobei auf der durchgehend mit PUVA-Bad behandelten

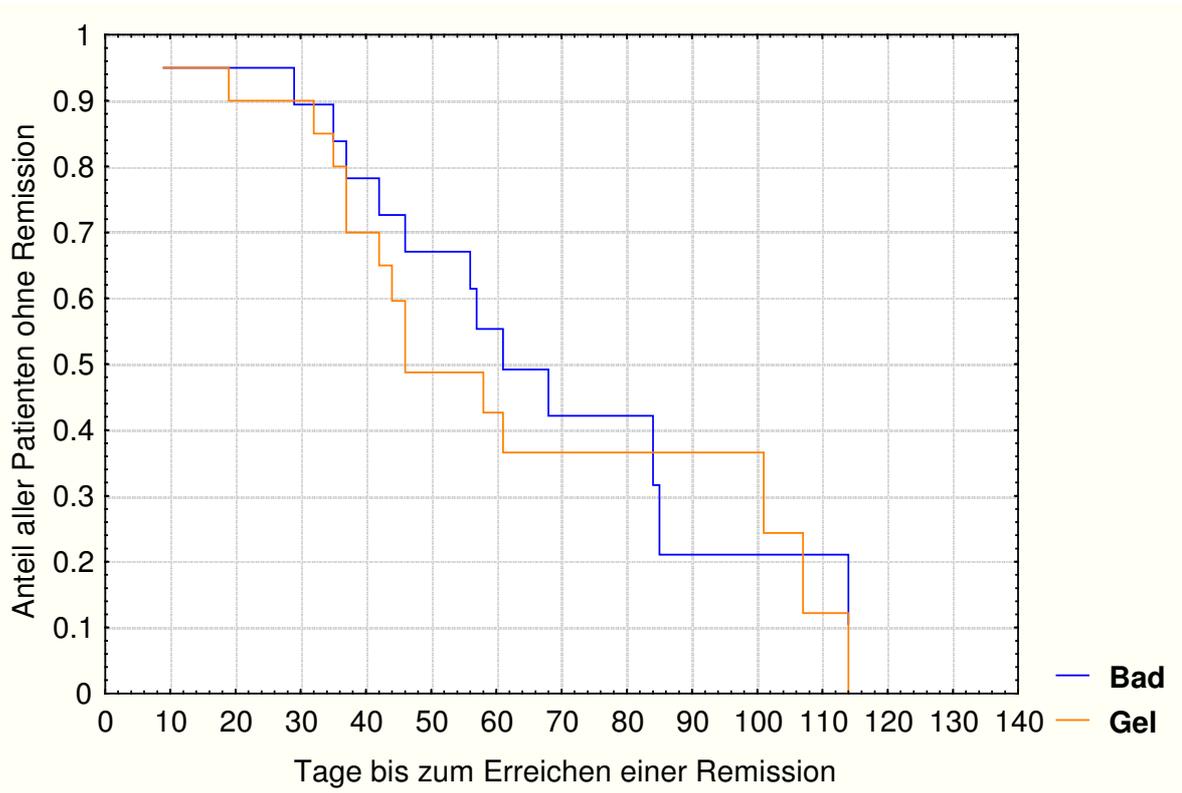
Gegenseite eine vollständige Remission ausblieb. Bei Patient 14 konnte nach Therapieumstellung von PUVA-Gel auf PUVA-Bad nur eine erhebliche Befundbesserung erzielt werden, wohingegen auf der vollständig mit PUVA-Bad behandelten Seite eine Remission erreicht wurde.

Tabelle 6: Ursachen für das Nichterreichen einer Remission

	PUVA-Bad-Therapie	PUVA-Gel-Therapie
Therapieabbruch bei Nichtansprechen der PUVA Lichttherapie	Patient 5	
Ausbleiben einer vollständigen Remission mit deutlicher Befundbesserung	Patient 10	
	Patient 3 Patient 14	Patient 6
Therapieumstellung von PUVA-Bad- auf PUVA-Gel-Therapie	Patient 11 Patient 13 Patient 15	
Therapieumstellung von PUVA-Gel- auf PUVA-Bad-Therapie		Patient 9 Patient 14

PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A

Nach Schätzung der Beobachtungszeiten nach Kaplan Meier betrug die mediane Beobachtungsdauer bis zum Eintreten einer Remission für die PUVA-Therapie mittels Photosensibilisierung durch ein 8-MOP-Bad 60,5 Tage und für die PUVA-Therapie mittels 8-MOP-Gel 46 Tage. In der graphischen Darstellung der Remissionswahrscheinlichkeiten besteht für die Therapiedauer bis zum Erreichen einer Remission kein signifikanter Unterschied zwischen PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Therapie.



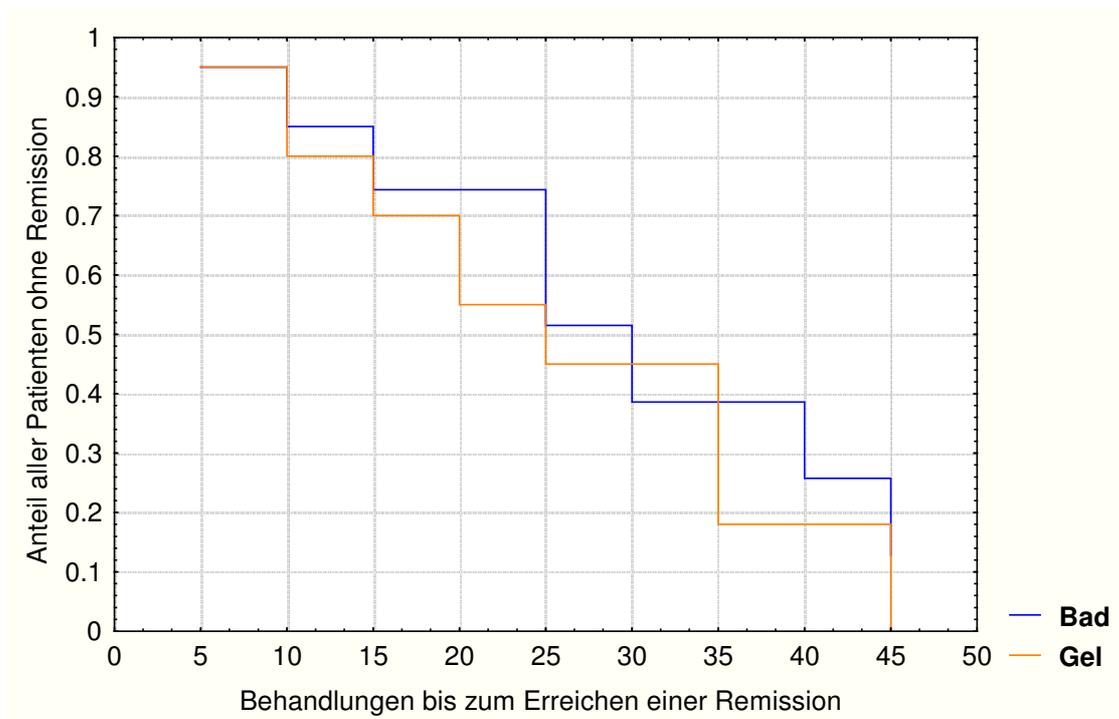
PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A

Abb. 5: Remissionswahrscheinlichkeiten unter Bade- und Gel-PUVA-Therapie in Abhängigkeit der Zeit (Kaplan-Meier-Kurve).

3.4 Anzahl der Bestrahlungen bis zum Erreichen einer Remission

Um unabhängig von der Therapiedauer die nötige Anzahl an Bestrahlungen bis zum Erreichen einer Remission beurteilen zu können wurde an der selben Population die Anzahl an Bestrahlungen bzw. Behandlungen mit Hilfe der Überlebenszeitanalyse von Kaplan-Meier untersucht. Nach jeder 5. Behandlung wurde für die entsprechende Hautveränderung der PASI-Score erhoben. Ansonsten gleicht die Methode der in 3.3 angewandten zeitabhängigen Schätzung der Remissionswahrscheinlichkeit.

Nach der Kaplan-Meier-Methode betrug die mediane Anzahl an Bestrahlungen bis zum Auftreten einer Remission unter PUVA-Bad-Therapie 26,2 Bestrahlungen, versus 25 Bestrahlungen unter PUVA-Gel-Therapie. Unter beiden Therapieoptionen konnte die frühzeitigste Remission bereits nach 5 Bestrahlungen erzielt werden. Abgesehen von Therapieversagern, betrug die maximal erforderliche Anzahl, bis zum Erreichen einer Remission, für beide Therapieoptionen 45 Bestrahlungen. Dies lässt, unter Berücksichtigung der niedrigen Fallzahl, auch in der graphischen Darstellung keinen signifikanten Unterschied zwischen der Photosensibilisierung mittels Bad und Gel zu.



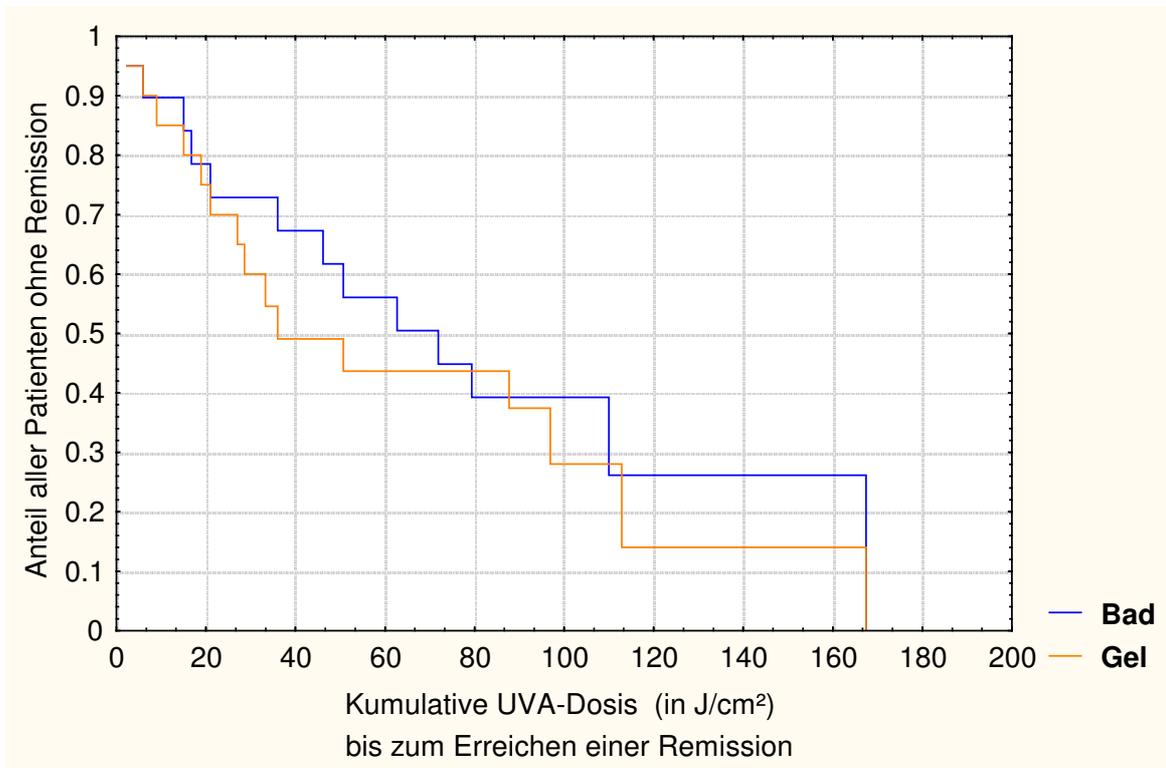
PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A

Abb. 6: Remissionswahrscheinlichkeiten unter Bade- und Gel-PUVA-Therapie in Abhängigkeit der Anzahl an durchgeführten Behandlungen (Kaplan-Meier-Kurve).

3.5 Kumulative Bestrahlungsdosis

Kumulative Bestrahlungsdosis bis zum Erreichen einer Remission

Im Vergleich der Remissionswahrscheinlichkeiten nach Kaplan Meier betrug die mediane kumulative Bestrahlungsdosis bis zum Eintreten einer Remission für die PUVA-Bad-Therapie 63,5 Tage und für die PUVA-Gel-Therapie 35,6 Tage. In der graphischen Darstellung der Remissionswahrscheinlichkeiten in Abhängigkeit der kumulativen Bestrahlungsdosis besteht kein signifikanter Unterschied zwischen PUVA-Bad- und PUVA- Gel-Therapie.



PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A
UVA: Ultraviolettstrahlung A

Abb. 7: Remissionswahrscheinlichkeiten unter Bade- und Gel-PUVA-Therapie in Abhängigkeit der kumulativen UVA-Gesamtdosis (Kaplan-Meier-Kurve).

Kumulative Bestrahlungsdosen bei Therapieabschluss

Nach Erreichen der klinischen Erscheinungsfreiheit wurde zur Stabilisierung des Hautbefundes noch eine Erhaltungs- bzw. Intervallbehandlung angeschlossen. Die kumulative Gesamtdosis aller 20 therapierten Patienten (Median) betrug nach Therapieabschluss für beide Arme 91,6 J/cm² (Minimum 14,7 J/cm² , Maximum 191,4 J/cm²).

Tabelle 7: Anzahl an Bestrahlungen, kumulative Gesamtdosen (KGD) bis zum Erreichen einer Remission sowie kumulative Gesamtdosen (KGD) nach Therapieabschluss unter Bade-PUVA- versus Gel-PUVA-Therapie.

Patient	Diagnose	Bestrahlungen bis Remission		KGD bis Remission		KGD bei Therapieabschluss
		PUVA-Bad-Therapie	PUVA-Gel-Therapie	PUVA-Bad-Therapie	PUVA-Gel-Therapie	Bade-PUVA Gel-PUVA
1	Dyshidrotisches Ekzem	25	25	36,0	36,0	57,6
2	Psoriasis	30	35	71,9	96,9	141,9
3	Hyperkeratotisches Ekzem	-	35	-	87,7	157,7
4	Psoriasis	10	10	6,0	6,0	48,0
5	Dyshidrotisches Ekzem	-	-	-	-	96,6
6	Psoriasis	30	-	79,4	-	99,0
7	Lichen ruber	10	10	21,0	21,0	30,3
8	Psoriasis	45	45	167,4	167,4	191,4
9	Dyshidrotisches Ekzem	15	-	16,8	-	88,3
10	Psoriasis	-	-	-	-	95,5
11	Psoriasis	-	10	-	9,0	76,0
12	Dyshidrotisches Ekzem	5	5	2,4	2,4	14,7
13	Dyshidrotisches Ekzem	-	35	-	112,9	150,7
14	Dyshidrotisches Ekzem	-	-	-	-	105,9
15	Dyshidrotisches Ekzem	-	20	-	33,3	98,1
16	Hyperkeratotisches Ekzem	25	25	50,7	50,7	63,0
17	Dyshidrotisches Ekzem	40	20	110,7	27,0	110,7
18	Psoriasis	25	15	62,7	18,9	91,8
19	Psoriasis	15	15	15,0	15,0	15,0
20	Hyperkeratotisches Ekzem	25	20	46,2	28,6	100,2

PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A; KGD: Kumulative Gesamtdosis in J/cm²

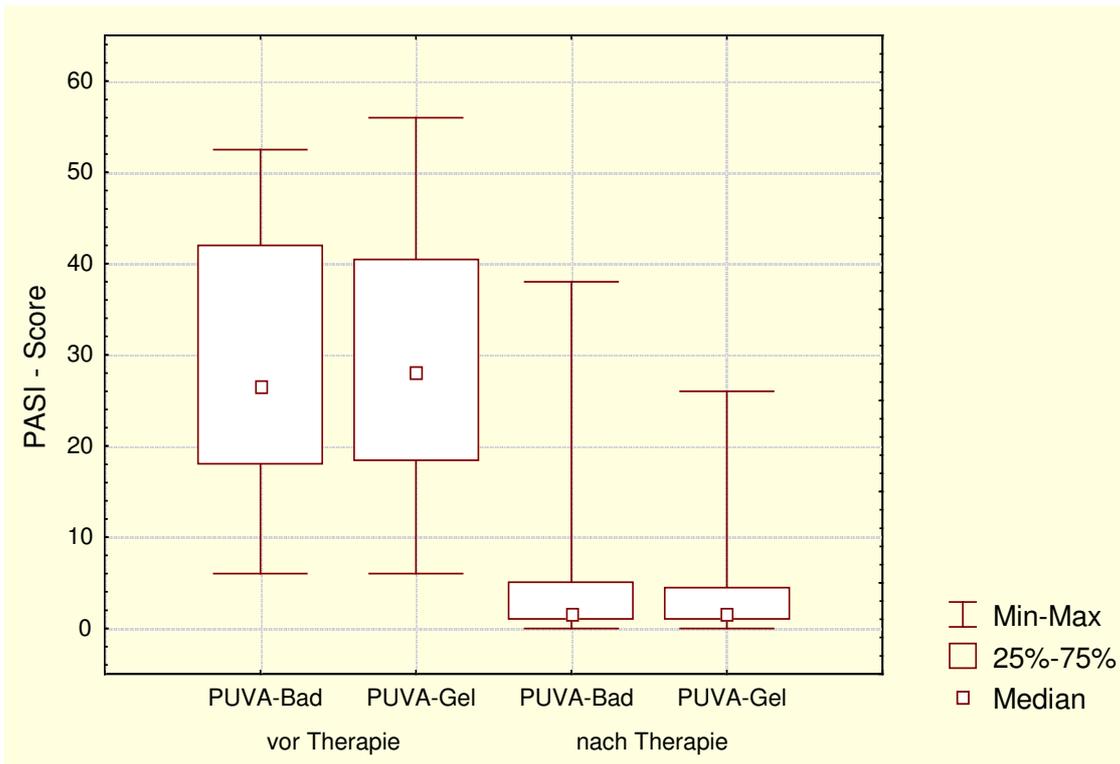
- : Es wurde keine Remission erreicht

3.6 Therapieerfolg

Zu Behandlungsbeginn betrug der Median der PASI-Scores für die mit PUVA Bad therapierten Körperhälften 26,5 (Minimum 6, Maximum 52,5) versus 28 (minimum 6, Maximum 56) für die mit PUVA-Gel behandelten Hautveränderungen. Die Irrtumswahrscheinlichkeit (p-Wert) betrug 0,651 und war somit deutlich über dem vorgegebenen Signifikanzniveau von 0,05 und damit nicht signifikant.

Nach abgeschlossener PUVA-Bad-Therapie lag der Median der PASI-Scores für die mit PUVA-Bad behandelten Hautveränderungen bei 1,5 (Minimum 0, Maximum 38) versus 1,5 (Minimum 0, Maximum 26) für die mit PUVA-Gel behandelten. Vergleicht man den PASI-Score beider Studienarme nach Therapieabschluss, liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit (p-Wert) von 0,346 deutlich über dem Signifikanzniveau von 0,05 und die Nullhypothese kann nicht verworfen werden. Damit besteht kein signifikanter Unterschied des Therapieergebnisses zwischen PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Therapie.

Nach Therapieabschluss zeigte sich somit für beide Therapieoptionen im Wilcoxon Test für verbundene Stichproben ein signifikanter Unterscheid zum Therapiebeginn (Irrtumswahrscheinlichkeit (p-Wert) für PUVA-Bad 0,00 und für PUVA-Gel 0,00).



PUVA-Bad: Photochemotherapie mittels 8-Methoxy-psoralen in Badelösung und Ultraviolettstrahlung A
 PUVA-Gel: Photochemotherapie mittels 8-Methoxy-psoralen in Gelzubereitung und Ultraviolettstrahlung A
 PASI: Psoriasis area and severity Index

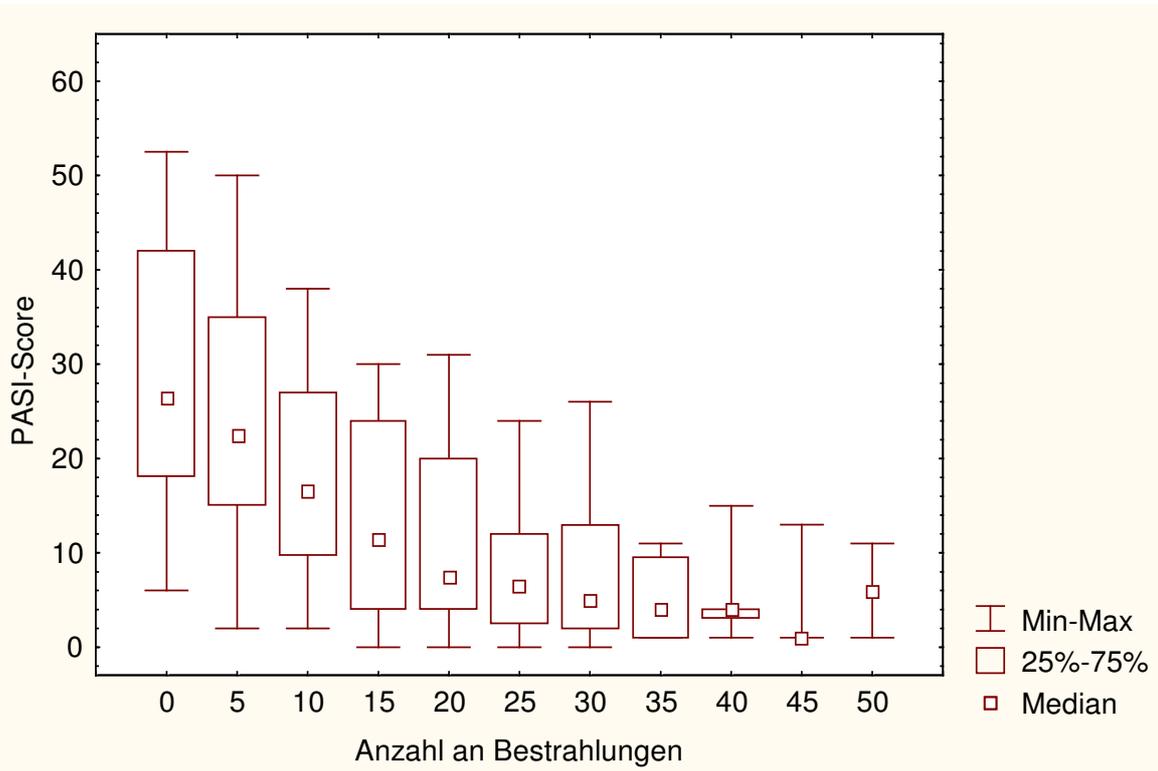
Abb. 7: PASI-Scores vor und nach PUVA-Bad-Therapie versus PUVA-Gel-Therapie (Box-Plot).



Abb. 9: Dyshidrosiformes Handekzem vor und nach PUVA-Bad-Therapie (Photochemotherapie mittels 8-Methoxypsoralen in Badelösung und Ultraviolettstrahlung A) - Patient 16.

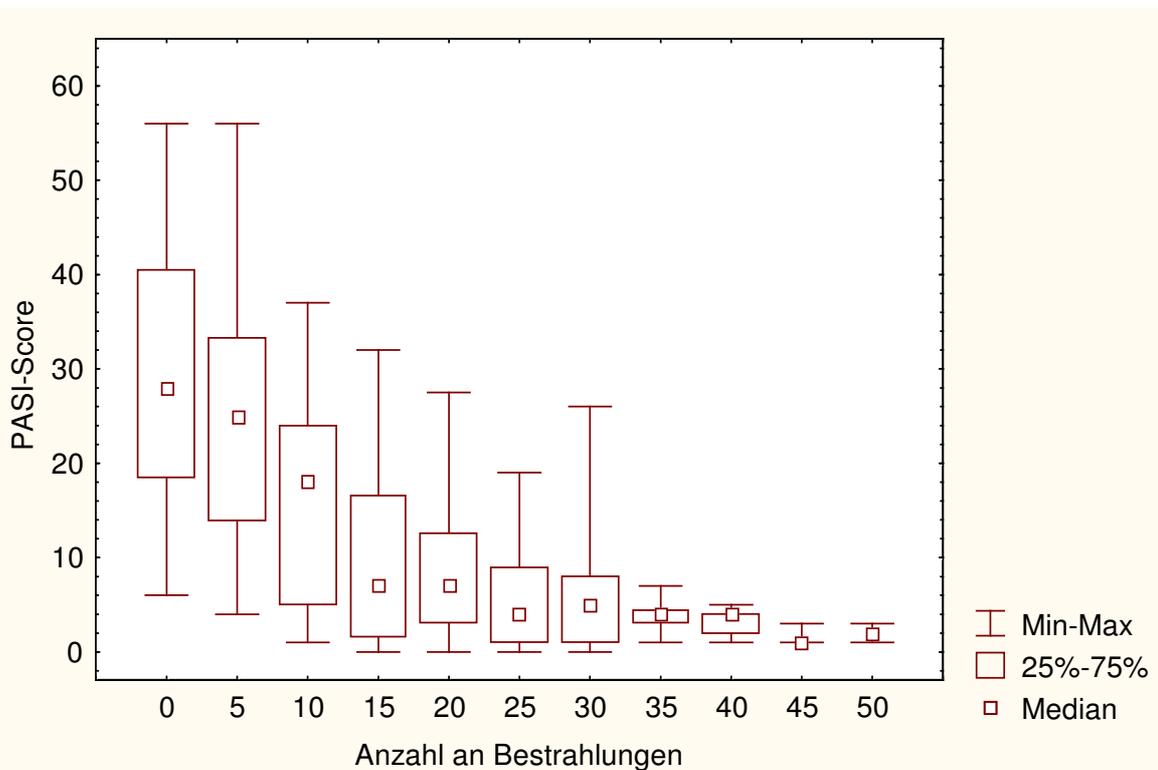


Abb. 10: Dyshidrosiformes Handekzem vor und nach PUVA-Gel-Therapie (Photochemotherapie mittels 8-Methoxypsoralen in Gelzubereitung und Ultraviolettstrahlung A) - Patient 16.



PUVA-Bad: Photochemotherapie mittels 8-Methoxypsoralen in Badelösung und Ultraviolettstrahlung A
 PASI: Psoriasis area and severity Index

Abb. 11: PASI-Scores unter PUVA-Bad-Therapie (Box-Plots).



PUVA-Gel: Photochemotherapie mittels 8-Methoxypsoralen in Gelzubereitung und Ultraviolettstrahlung A
 PASI: Psoriasis area and severity Index

Abb. 12: PASI-Scores unter PUVA-Gel-Therapie (Box-Plots).

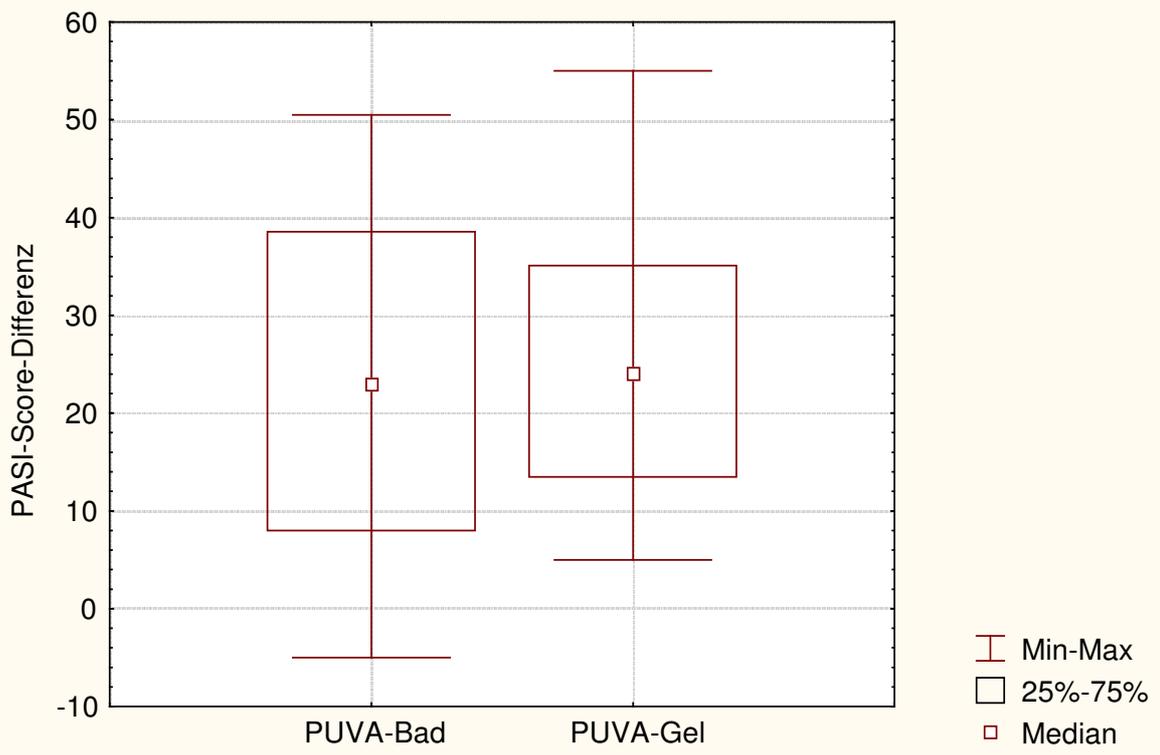
3.7 Absolute Befundänderung unter Therapie

Für die mit PUVA-Bad-Photochemotherapie behandelten Hautveränderungen ergab sich für die Differenz der PASI-Scores vor und nach Therapie ein Median von 23 und für die Differenz der mit PUVA-Gel-Photochemotherapie behandelten Hautveränderungen ein Median von 24. Damit zeigte sich auch im Vergleich der absoluten Befundänderung, bewertet durch den PASI-Score, kein signifikanter Unterschied (Irrtumswahrscheinlichkeit (p-Wert) von 0,44 deutlich über dem Signifikanzniveau von 0,05) zwischen den Therapieoptionen PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Photochemotherapie.

Tabelle 8: Differenz der PASI-Scores vor und nach Therapie

Patient	Diagnose	Differenz der PASI-Scores vor und nach Therapie unter PUVA-Bad	Differenz der PASI-Scores vor und nach Therapie unter PUVA-Gel
1	Dyshidrotisches Ekzem	50,5	45
2	Psoriasis	42	55
3	Hyperkeratotisches Ekzem	31	31
4	Psoriasis	13	13
5	Dyshidrotisches Ekzem	7	12,5
6	Psoriasis	37	34
7	Lichen ruber	25	15
8	Psoriasis	46	46
9	Dyshidrotisches Ekzem	17	17
10	Psoriasis	6	11
11	Psoriasis	4	14
12	Dyshidrotisches Ekzem	5	5
13	Dyshidrotisches Ekzem	23	24
14	Dyshidrotisches Ekzem	40	36
15	Dyshidrotisches Ekzem	-5	28
16	Hyperkeratotisches Ekzem	20	24
17	Dyshidrotisches Ekzem	46	36
18	Psoriasis	9	6
19	Psoriasis	27	24
20	Hyperkeratotisches Ekzem	23	23

PUVA: Photochemotherapie mit Psoralen und Ultraviolettstrahlung A; PASI: Psoriasis area and severity Index



PUVA-Bad: Photochemotherapie mittels 8-Methoxypsoralen in Badelösung und Ultraviolettstrahlung A
 PUVA-Gel: Photochemotherapie mittels 8-Methoxypsoralen in Gelzubereitung und Ultraviolettstrahlung A
 PASI: Psoriasis area and severity Index

Abb. 12: PASI-Score-Differenzen für PUVA-Bad-Therapie versus PUVA-Gel-Therapie (Box-Plot).

3.8 Fluoreszenzmikroskopie

3.8.1 Angehen der Haut auf der Chorioallantoismembran

Von den insgesamt 80 befruchteten und bei 37,8°C und 60% relativer Luftfeuchtigkeit bebrüteten Hühnereiern zeigten nach 4-5 Tagen 55 Eier eine regelrechte Ausbildung des Hühnerembryos mit Vaskularisation und Vitalitätszeichen.

Die zur Transplantation verwendete Vollhaut stammte von Tumorexzisionen insgesamt 4 Patienten der Hautklinik Ulm. Verwendet wurden ausschließlich, nicht von Tumorgewebe befallene und nicht zur histologischen Diagnostik notwendige, Hautanteile der Exzidate. Hierbei handelte es sich um Vollhaut 1 x aus dem Bereich eines Oberarmes, 1x eines Unterschenkels und 2x des Rückens. Nach Ausdünnen der Vollhaut durch Ablösen des subcutanen Fettgewebes mittels eines Skalpell erfolgte das Aufbringen der auf 0,5 x 0,5 cm großen Hautstücke auf der Chorioallantoismembran der bebrüteten Hühnereier.

Nach 2 bzw. 3 Tagen zeigte sich bei 30 der 55 mit Hauttransplantaten präparierten Eiern ein vitaler Hühnerembryo mit augenscheinlich vitalem, auf der Chorioallantoismembran angewachsenem und durch einsprossenden Gefäßen vaskularisierten Gewebestücken. 5 der aufgebrachten Vollhauttransplantate mussten wegen Nekrosezeichen wie gräulicher Verfärbung der Hautpräparate, fehlender Vaskularisation oder leblosem Hühnerembryo verworfen werden.

3.8.2 Fluoreszenz und Eindringtiefe des 8-Methoxypsoralens in die Haut

Auf die angegangenen Hautpräparate wurden verschiedene Zubereitungen mit und ohne 8-Methoxypsoralen aufgetragen (Tabelle).

Zudem erfolgte parallel eine HE-Färbung der Kryoschnitte zum Ausschluss nekrotischer Hauttransplantate. Hierbei zeigten 28 der transplantierten und mit Trägerstoffen versetzten, HE gefärbten, Hautpräparate in der Auflichtmikroskopie histologisch eine regelrechte Zellarchitektur. Zwei Präparate, eines mit 70% Ethanollösung und eines mit 8-Methoxypsoralen Lösung 0,3% der Firma Galderma versetzt, zeigten sich histologisch nekrotisch.

Tabelle 9: Fluoreszenzverteilung der Kryoschnittpräparate unter Anregung eines Fluoreszenzmikroskops

Anzahl	Aufgetragene Zubereitung	Einwirkzeit	Fluoreszenz in Epidermis	Fluoreszenz in Dermis
5	Haut unbehandelt	-	Keine / schwache Fluoreszenz	Diffuse Fluoreszenz der Kollagenfasern
5	Gelbasis	30 min	Keine / schwache Fluoreszenz	Diffuse Fluoreszenz der Kollagenfasern
6	8-MOP Gel 0,0005%	30 min	Keine / schwache Fluoreszenz	Diffuse Fluoreszenz der Kollagenfasern
2	70% Ethanol	20 min	1 Transplantat nekrotisch	
			Keine / schwache Fluoreszenz	Diffuse Fluoreszenz der Kollagenfasern
6	8-MOP Ethanolkonzentrat 0,3% (Firma Galderma)	20 min	1 Transplantat nekrotisch	
			Keine / schwache Fluoreszenz	Diffuse Fluoreszenz der Kollagenfasern
6	8-MOP Badelösung 0,5mg/l	20 min	Keine / schwache Fluoreszenz	Diffuse Fluoreszenz der Kollagenfasern

8-MOP: 8-Methoxypsoralen

In der Fluoreszenzmikroskopie zeigte sich nach hundertfacher Aufrechnung durch das nachgeschaltete Bildverarbeitungssystem bei keinem der Schnittpräparate eine von der Epidermis ausgehende starke und in der Dermis abgeschwächt sichtbare, gerichtete Fluoreszenz. Vielmehr zeigte sich die Epidermis, als auch die Oberflächenstruktur auf welcher das aufgetragene 8-Methoxypsoralen fluoreszierend zu erwarten gewesen wäre, als nur sehr schwach bis überhaupt nicht fluoreszierend. Vielmehr war eine deutliche und gleichmäßig starke Fluoreszenz des kollagenen Bindegewebes in allen Dermissschichten gleichermaßen auszumachen. Im Vergleich zwischen der unbehandelten Haut, den Trägerstoffen Ethanol und Gelbasis und den 8-Methoxypsoralenhaltigen Zubereitungen zeigte sich kein markanter Unterschied im Fluoreszenzmuster und der Fluoreszenzintensität.

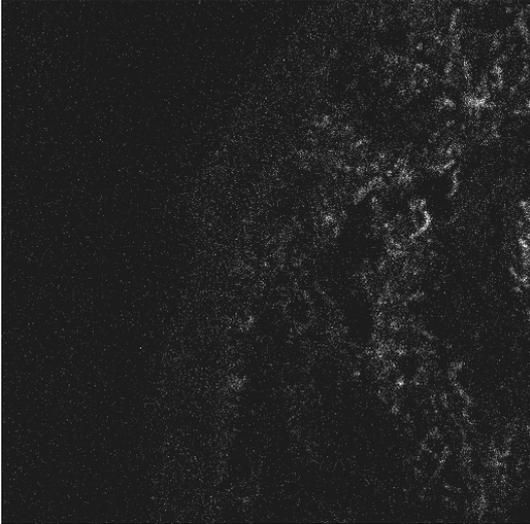


Abb. 14: Fluoreszenzmikroskopie unbehandelter Haut.

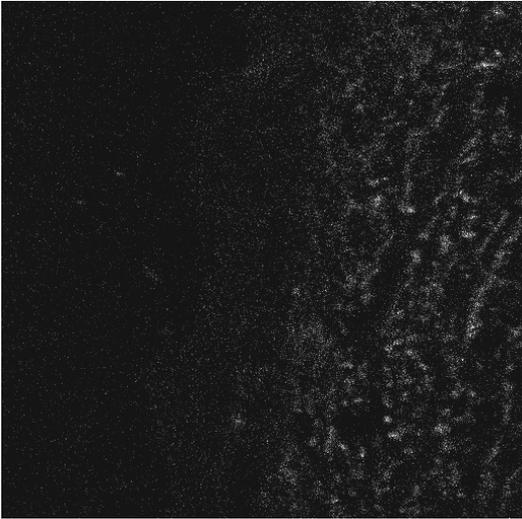


Abb. 15: Fluoreszenzmikroskopie von Haut nach Aufbringen einer 8-Methoxypsoralen-Badelösung.

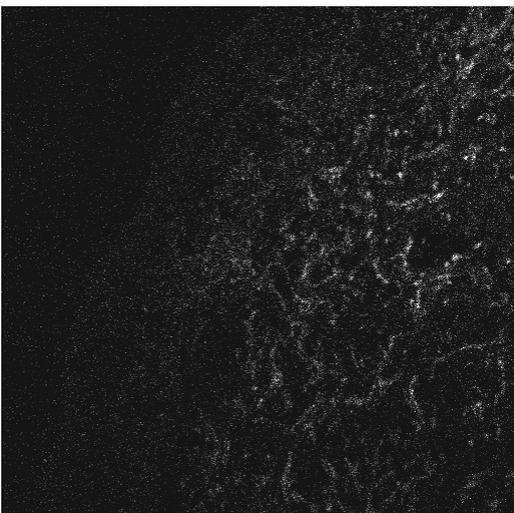


Abb. 16: Fluoreszenzmikroskopie von Haut nach Auftragen eines 8-Methoxypsoralen-Gels (0,005%).

4. Diskussion

Die systemische PUVA-Therapie hat sich als eine wirkungsvolle Therapieoption bei einer Vielzahl verschiedener Dermatosen bewährt [7, 27, 47, 70, 102, 104]. Trotzdem zwingen Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen oftmals zum Therapieabbruch [9]. Darüber hinaus macht die bis zu 24 Stunden anhaltende Photosensibilisierung des ganzen Körpers das Meiden stärkerer Sonneneinstrahlung und das Tragen einer speziellen UV-Schutzbrille nötig, was die Lebensqualität der Patienten über den meist langwierigen Behandlungszeitraum erheblich einschränkt [9]. Zudem ist häufig eine Photosensibilisierung des gesamten Körpers nicht erforderlich, womit das karzinogene Potential der Photochemotherapie deutlich reduziert werden könnte.

Als eine alternative Therapieoption konnte die PUVA-Bad-Photochemotherapie, bei Fehlen von systemischen Nebenwirkungen und geringeren kumulativen UVA-Dosen die orale PUVA-Therapie vielfach ersetzen [9, 13, 17, 43, 63, 106]. Es zeigte sich, dass im Gegensatz zur systemischen Einnahme von 8-MOP, bei der durch starke inter- und intraindividuelle Schwankungen oftmals unterschiedliche Gewebespiegel erreicht werden [8], eine gleichmäßige und sichere Photosensibilisierung möglich ist [18, 28, 39, 105, 108]. Selbst bei ausreichender Photosensibilisierung des Zielorgans Haut lassen sich oft nur sehr niedrige 8-MOP-Serumspiegel nach PUVA Bad Therapie nachweisen, was das Ausbleiben systemischer Nebenwirkungen erklärt. Aufgrund der weitgehend abklingenden Photosensibilisierung nach bis zu 3 Stunden kann der sonst langfristig zu gewährleistende Sonnenschutz unterbleiben [21, 76].

Neben diesen Vorteilen gegenüber der systemischen PUVA-Therapie stellt die Durchführung der PUVA-Bad-Photochemotherapie jedoch einen erheblichen räumlichen, sanitärtechnischen, logistischen und personellen Aufwand dar. Zudem bleibt die lokale PUVA-Bad-Therapie distal gelegenen Hautveränderungen wie den palmoplantaren Dermatosen vorbehalten, da eine selektive Photosensibilisierung stammnaher Herde nicht durchführbar ist. Um den aufwendigen Badevorgang durch einen einfacheren Weg zu ersetzen und um zudem auch umschriebene Hautveränderungen wie z.B. psoriatische Plaques oder nummuläre Ekzemherde selektiv behandeln zu können, wurden bereits mehrfach lokale Methoden zur Photosensibilisierung durch 8-MOP beschrieben [20, 29, 34, 91, 95].

Nach topischer Applikation von 8-MOP-Lösungen und -Emulsionen wurden bei großflächiger Anwendung am Körper 8-MOP-Plasmaspiegel, ähnlich denen bei systemischer PUVA-Therapie, beobachtet [74]. Zudem machten schwere phototoxische Reaktionen und ungleiche Verteilung der 8-MOP die PUVA-Pinselung durch ihre schmale therapeutische Breite zu einer schwierig zu handhabenden Methode [1, 57, 73, 110]. Das Auftreten unregelmäßiger PUVA-Pigmentierungen stellte ein zusätzliches kosmetisches Problem dar.

1994 beschrieben De Rie et al. eine mit Psoralen-Gel durchgeführte PUVA-Therapie, mit der sowohl bei palmoplantaren Dermatosen als auch bei psoriatischen Plaques gute klinische Ergebnisse erzielt wurde. Dabei konnten weder im Urin noch im Serum nennenswerte 8-MOP-Spiegel nachgewiesen werden. Phototoxische Nebenwirkungen traten bei keinem der 16 mit 8-MOP-Gel behandelten Patienten auf.

Auch mit der Entwicklung einer 8-MOPhaltigen Creme konnte Stege et al. 1997 zeigen, dass eine PUVA-Creme-Photochemotherapie bei 10 Patienten mit rezidivierenden hyperkeratotisch-rhagadiformen Hand- und Fußekzemen effektiv zur topischen PUVA-Therapie eingesetzt werden kann, ohne dass systemische Nebenwirkungen oder messbare 8-MOP-Serumspiegel auftraten [96].

Allerdings berichtete das Neue Rezeptur-Formularium (NRF) 01.99 dass eine Gel-Grundlage für die topische Applikation von 8-MOP hinsichtlich der Haltbarkeit besser geeignet wäre als eine Creme-Grundlage. Die Konservierung einer photosensibilisierenden Rezeptur sei wegen der UV-Filterwirkung spezifischer Konservierungsmittel nach NRF 11.88 nicht unproblematisch und als unkonservierte wässrige Cremezubereitung wie sie Stege et al. verwendeten [96] auf ihre Haltbarkeit auf eine Woche beschränkt und damit im klinischen Alltag schwer zu handhaben. Eine Gelgrundlage würde schon alleine durch die eingearbeitete Alkoholmenge einen besseren antimikrobiellen Schutz gewährleisten [75].

Zudem wurde für eine Photosensibilisierung mittels eines 8-MOP-Gels eine sehr viel stärkere Photosensibilisierung als gegenüber einer 8-MOP-Creme [30] postuliert, wobei bislang aber noch weitere vergleichende Studien, insbesondere im therapeutischen Vergleich mit der bereits etablierten PUVA-Bad-Therapie, ausstanden.

4.1 Photosensibilisierung durch 8-Methoxypsoralen-Gel

Es hatte sich gezeigt, dass eine PUVA-Photochemotherapie, die auf einer vorab durchgeführten Messung der individuellen MPD basiert, zu einem schnelleren Abklingen der Hautveränderungen und einer geringeren kumulativen UVA-Dosis führt [9]. Darüber hinaus kann das Risiko des Auftretens schwerer phototoxischer Reaktionen verringert werden um eine PUVA-Therapie sicherer durchzuführen.

Untersuchungen zur Phototoxizität durch Messung der MPD von 8-MOP-Creme- und 8-MOP-Gel-Zubereitungen ließen eine deutlich höhere photosensibilisierende Potenz des 8-MOP-Gels vermuten [30], weshalb wir in dieser Studie sehr vorsichtig mit niedrigen 8-MOP-Konzentrationen (0,0005%, 0,001%, 0,005%) die MPD-Testungen begannen. Obwohl mit einer maximalen Konzentration von 0,005% 8-MOP die selbe Gelzusammensetzung verwendet wurde, konnten im Gegensatz zu den Ergebnissen von Grundmann-Kollmann et al. keine phototoxischen Reaktionen wie starke Erythem- und Blasenbildung beobachtet werden. Allerdings führten wir die MPD-Testung nur bis zu einer maximalen Höchstdosis von 3,0J/cm² durch, wohingegen die Bestrahlung der Testfelder unter Grundmann-Kollman et al. bis 6,0J/cm² durchgeführt wurde, was unter Umständen die Schwere der phototoxischen Reaktion erklären könnte. Allerdings unterscheiden sich auch die erzielten minimalen phototoxischen Dosen beider Untersuchungen markant. Während Grundmann-Kollmann et al. bei allen 7 getesteten Personen mit einer Gelkonzentration von 0,001-0,005% eine MPD < 0,5 J/cm² beobachtete, konnte bei unseren 20 Patienten nach bis zu 96 Stunden nur 4 mal eine MPD < 3,0 J/cm² abgelesen werden. Die anhand unserer 20 Patienten erzielten Ergebnisse lassen auf eine weniger aggressive phototoxische Potenz schließen als nach den bereits veröffentlichten Untersuchungen zu erwarten war. Dies lässt wiederum, besonders in Verbindung mit dem Ausbleiben phototoxischen Nebenwirkungen während der Therapie und den guten Behandlungserfolgen auf eine sicher durchzuführende Alternative zur bisher angewandten PUVA-Photochemotherapie schließen. Das Ausbleiben schwerer phototoxischer Reaktionen in unseren Untersuchungen ähnelt zudem den Beobachtungen, welche de Rie et al. 1995 mit einer ebenfalls vergleichbaren 8-MOP-Gelzubereitung zur Durchführung einer PUVA-Therapie machte [20].

Es fiel in unserer Patientenpopulation kein Zusammenhang zwischen den Ermittelten MPDs und den entsprechend erhobenen Hauttypen nach Fitzpatrick auf.

Aktuelle Studien lassen vermuten, dass das Erythem nach 8-MOP-Bad erst nach 4-5 Tagen und nicht erst wie bisher angenommen nach 3-4 Tagen zur vollen Ausprägung kommt [3, 40]. Da in unseren Untersuchungen nur bis zu 96 Stunden nach Applikation des 8-MOP-Gels die Ablesung der MPD erfolgte, wäre durchaus denkbar, dass die bei uns ermittelten MPD-Werte noch etwas weiter ansteigen hätten können. Darüber hinaus wäre allerdings zu klären, ob sich die Zeitkinetik des Erythemverlaufs unter PUVA-Bad von der unter PUVA-Gel unterscheidet. Immerhin wurde schon zwischen dem Auftreten eines Erythems unter systemischer PUVA-Therapie und PUVA-Bad-Photochemotherapie 24 Stunden Unterschied postuliert. Mit dem in dieser Studie angewandten Therapieregime und einer UV-Dosissteigerung nach bis zu 3 Tagen wurden jedoch keine phototoxischen Reaktionen beobachtet. Dies ließe entweder vermuten, dass die Abklingrate der 8-MOP-Gewebespiegel nach einer Photosensibilisierung mittels 8-MOP-Gel ähnlich bzw. noch höher liegt als nach einem 8-MOP-Bad oder aber dass die im Gel angewandten Psoralenkonzentrationen zum optimalen Erzeugen einer MPD noch zu niedrig gewählt waren.

Auch nachdem sich mit Hilfe der PUVA-Gel-Photochemotherapie trotz Nichterreichen einer MPD bei 80% unserer Patientenpopulation, ein der PUVA-Bad-Photochemotherapie ähnlicher Behandlungserfolg erzielen ließ, wäre durchaus denkbar, dass sich mit einer weiteren vorsichtigen Steigerung der Konzentration an 8-MOP in der Gelzubereitung bis zum Erreichen einer sicheren MPD, die Therapiedauer und die kumulative UVA-Dosis, die in dieser Studie zum Erreichen einer Remission notwendig war, noch weiter reduziert ließe.

4.2 Therapieeffizienz

Mittlerweile wurden zahlreiche Möglichkeiten der lokalen PUVA-Therapie für palmoplantare Dermatosen beschrieben. Obwohl eine Gelzubereitung als topische Form zur Photosensibilisierung mittels 8-MOP geeignet scheint, fehlen bislang weitere Untersuchungen, welche die therapeutische Effektivität einer PUVA-Gel-Photochemotherapie mit der bereits etablierten PUVA-Bad-Photochemotherapie [10, 92] vergleichen.

Ein direkter Rückschluss auf die Therapieeffizienz der PUVA-Gel-Therapie im Vergleich zu den zahlreichen Studien zur PUVA-Bad-Therapie von palmoplantaren Dermatosen [34, 35, 44, 57, 95, 104] ist nicht nur wegen der sehr unterschiedlichen Ausprägungsgraden von palmoplantaren Hautveränderungen sondern auch wegen der nicht einheitlichen Therapieschemata, der unterschiedlichen statistischen Auswertungen und den sehr divergierenden Beurteilungsschemata des Therapieerfolges nicht möglich. Shephard et al. berichtet 1998 über zahlreiche Studien bei mittels PUVA-Bad behandelter palmoplantarer Dermatosen mit einem klinischen Therapieerfolg zwischen 73 – und 90% bei einer durchschnittlichen Anzahl an Behandlungen von 22 bis zu 44 und einem Median an kumulativen UVA-Gesamtdosen zwischen 68 und 165 J/cm² [95]. In einer Studie von Kerscher et al. 1994, werden mittels PUVA-Bad-Therapie von palmoplantaren Dermatosen in 55% eine Remission, in 35% eine Teilremission und in 10% ein Nichtansprechen auf die Photochemotherapie (Median von 26 Bestrahlungen und 58,8J/cm²) beschrieben.

Nach den in unserer Studie als Definition einer Remission festgelegten Bedingungen beobachteten wir bei 65% der mit PUVA-Bad therapierten Hautveränderungen eine Remission, bei 30% eine klinische Befundbesserung und bei einem Patient ein völliges Nichtansprechen auf die PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Photochemotherapie. Die hier in dieser Studie beschriebenen Therapieerfolge im Rahmen der mit PUVA-Bad behandelten Hautveränderungen liegen im Bereich der Bandbreite jahrelang international veröffentlichter Beobachtungen [34, 35, 44, 57, 95, 104] und waren hinsichtlich der Befundbesserung sowohl für die mit PUVA-Bad als auch mit PUVA-Gel therapierten Hautveränderungen statistisch signifikant.

Für die mit PUVA-Gel behandelten Hautveränderungen konnte in unserer Studie ein leicht besseres Ergebnis gegenüber den mit PUVA-Bad behandelten mit 75% vollständiger Remission, 20% Befundbesserung und dem beschriebenen Non-Responder beobachtet werden, wobei sich der Unterschied zwischen beiden Therapiearmen im Wilcoxon-Test statistisch als nicht signifikant zeigte.

Da der alleinige Vergleich der PASI-Befunde bei Therapieabschluss die Gefahr beinhaltet, dass die Relation zum Ausgangswert nicht beachtet wird untersuchten wir zudem die absolute Befundänderung im gesamten Behandlungszeitraum. Der Hautbefund nach Therapie könnte im Seitenvergleich auch lediglich nur deshalb auf einer Seite eine Remission erreicht haben oder wesentlich besser sein da eventuell schon vor Therapie eine wesentliche Seitendifferenz in der Befallsausprägung bestand. Um dies zu vermeiden, wurde die Änderung des PASI-Wertes (PASI-Score vor Therapie minus PASI-Score nach Therapie) für jeden Patienten und jede Therapieoption einzeln untersucht und anschließend statistisch verglichen. Auch nach Ausschaltung dieses möglichen statistischen Fehlers zeigten sich beide Therapieoptionen als gleich effektiv ohne einen signifikanten Unterschied zwischen den absoluten Befundbesserungen (PASI-Differenz PUVA-Bad 23 versus 24 PUVA-Gel).

Auch bezüglich der medianen Beobachtungsdauer und der medianen Anzahl an Behandlungen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Therapieoptionen PUVA-Bad und PUVA-Gel ausgemacht werden. So betrug die mediane Beobachtungsdauer nach Kaplan-Meier-Schätzung für die mittels PUVA-Bad therapierten Hautveränderungen 60,5 Tage gegenüber 46 Tage für die mittels PUVA-Gel therapierten. Dies lässt eine etwas schnellere Abheilung unter der PUVA-Gel-Behandlung vermuten. Auch aus dem Kurvenverlauf der graphischen Darstellung lässt sich ablesen, dass die Wahrscheinlichkeit eine Remission zu erreichen für die PUVA-Gel-Gruppe zu vielen Zeitpunkten größer ist als für die PUVA-Bad-Vergleichsgruppe. Allerdings berühren und schneiden sich die Kurven in Ihrem Verlauf an einigen Punkten, so dass sich für keine der beiden Therapieoptionen eine eindeutige Tendenz für das Überwiegen der Remissionswahrscheinlichkeiten über den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg abzeichnet. Im Hinblick auf den Zeitraum bis zum Erreichen einer Remission bestehen somit kein signifikanter Unterschiede zwischen PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Therapie.

In Hinblick auf die mediane Anzahl der Bestrahlungen (PUVA-Bad 26,2 Bestrahlungen versus 25 Bestrahlungen für PUVA Gel) und den Verlauf der Kurven im Kaplan-Meier-Diagramm lässt sich, bei sich immer wieder schneidenden Kurven, keine eindeutig unterschiedliche Tendenz zwischen den beiden Therapieoptionen erkennen. Im Hinblick auf die Remissionswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der notwendigen Anzahl an Bestrahlungen muss somit bei den von uns Behandelten Patienten für die PUVA-Bad- und PUVA-Gel-Therapie von einer gleich guten Therapieeffizienz ausgegangen werden.

Grundmann-Kollmann et al. verglich 1999 eine PUVA-Creme-Therapie mit der PUVA-Bad-Therapie [29]. Hierbei konnten bei 12 Patienten mit Psoriasis, atopischem Ekzem und hyperkeratotischem Ekzem, ähnliche Ergebnisse beobachtet werden, wobei für die mit PUVA-Creme behandelten Hautveränderungen deutlich mehr Bestrahlungen zum Abheilen der Hautveränderungen notwendig waren als für die PUVA-Bad-Vergleichsgruppe (Median PUVA-Bad: 18, PUVA-Creme: 27). Es zeigte sich nach Therapieende für PUVA-Bad eine gute bis sehr gute Befundbesserung in 58% der Fälle versus 50% für PUVA-Creme mit 33% Non-Responder für beide Therapiearme. Die hier von Grundmann-Kollmann et al. beschriebene Therapieeffizienz ist insgesamt ebenfalls vergleichbar mit den zahlreichen für PUVA-Bad beobachteten Ergebnissen [34, 35, 44, 57, 95, 104]. Verglichen mit den Beobachtungen der von uns mit PUVA-Gel behandelten Hautveränderungen lassen die in dieser Studie gezeigten Ergebnisse, wenn auch nicht statistisch verifizierbar oder signifikant, doch eine raschere Befundbesserung gegenüber PUVA-Creme und eventuell auch gegenüber PUVA-Bad vermuten. Da es auch Hinweise gibt, dass eine Photosensibilisierung mittels 8-MOP-Gel zu einer stärkeren Photosensibilisierung als mittels 8-MOP-Creme führt [30], wäre denkbar, dass eine PUVA-Gel-Photochemotherapie die Kumulative UVA-Gesamtdosis und damit eventuell auch das Karzinomrisiko weiter senken könnte. Um diese Beobachtungen weiter zu verifizieren sind sicherlich zukünftig noch Studien mit größeren Patientenpopulationen und weiterreichenden Untersuchungen, insbesondere zur Optimierung der 8-MOP Konzentration in der verwendeten Galenik, notwendig.

Bezüglich der kumulativen UVA-Gesamtdosen in unserer Studie beobachteten wir bei allen therapierten Patienten nach Therapieabschluss unter PUVA-Bad- als auch unter PUVA-Gel-Therapie eine mittlere kumulative Gesamtdosis von 91,6 J/cm² (Minimum 14,7 J/cm², Maximum 191,4 J/cm²). Aus Praktikabilitätsgründen wurden beide Körperteile unter einer Bestrahlungseinheit immer gleichzeitig bestrahlt. Einen zwingenden medizinischen Grund, zur einseitigen Dosisanpassung, wie z. B. phototoxische Reaktionen, hatte es bei den 20 von uns therapierten Patienten nicht gegeben. Somit war eine seitendifferente Dosisanpassung nicht notwendig. Nach vollständiger Abheilung auf nur einer Seite eines Studienarms wurde seitengleich die Photochemotherapie fortgesetzt, da auch eine nach erfolgter Abheilung angeschlossene Fortführung der Bestrahlung mittels Intervallbehandlung einen positiven Einfluss auf die Befundstabilisierung hat und aus medizinischer Sicht den Patienten nicht zu verwehren war. Dadurch entstanden bis zum Therapieabschluss, also nach erfolgter Intervallbehandlung, gleich hohe kumulative Bestrahlungsdosen für die mit Bad und Gel durchgeführte PUVA-Therapie und es ließ sich kein Unterschied hinsichtlich der kumulativen Gesamtdosis zwischen beiden Therapieoptionen feststellen. Die hier festgestellte kumulative Gesamtdosis ist im Median mit 91,6 J/cm² im Vergleich zu den in anderen Studien angegebenen Werten relativ hoch. So reichen die kumulativen Gesamtdosen im Rahmen beschriebener PUVA-Bad-Therapien palmoplantarer Dermatosen im Median von 58,8 J/cm² bis zu 165 J/cm² [34, 36, 44, 57, 95, 104]. Mit eingeschlossen wurden in unserer Berechnung jedoch auch kumulative UVA-Gesamtdosen von Patienten bei denen keine Vollremission erreicht werden konnte und von solchen bei denen eine Therapieumstellung auf beidseitig gleiche PUVA-Therapie erfolgte sowie die nach erreichter Remission noch angeschlossenen Intervalltherapie zur Befundstabilisierung was den relativ hohen Wert und die schlechte Vergleichbarkeit mit anderen beschriebenen kumulativen Gesamtdosen erklärt.

4.3 Fluoreszenz und Eindringtiefe des 8-Methoxypsoralens in die Haut

In unseren Untersuchungen konnte mit Hilfe des verwendeten Laserfluoreszenzmikroskops keine Fluoreszenz von 8-Methoxypsoralen in den untersuchten Gewebeschnitten nachgewiesen werden. Sowohl die unbehandelte Haut als auch die mit 8-Methoxypsoralen behandelte Haut zeigte ein diffuses Fluoreszenzmuster der Dermis und nur keine, bis lediglich vereinzelt, eine dezente Fluoreszenz der Epidermis, in welcher nach Auftragen von 8-MOP auf die Hautoberfläche eigentlich eine stärkere Fluoreszenz zu beobachten hätte sein müssen.

Die wohl entscheidende Ursache für die in allen Präparaten diffus zur Ansicht kommenden Fluoreszenz liegt sehr wahrscheinlich an der Eigenfluoreszenz des dermalen Bindegewebes, welche eine Detektion von 8-MOP mittels der von uns verwendeten Apparatur überlagert und damit unmöglich macht. In der Literatur wurde verschiedentlich über das Emissionsspektrum der dermalen Strukturen bei unterschiedlichen Anregungswellenlängen berichtet. So beschreibt Na 2001 eine maximale Fluoreszenzemission des dermalen Kollagens bei 375nm unter einer Anregung von 330nm und eine maximale Emission bei 455nm unter Anregung mit 370nm. Bei Bestrahlung der menschlichen Haut mit Licht im Bereich von 340, 350, 360, 370 und 380nm zeigte sich ein schwer aufzugliederndes Emissionsspektrum mit einer Eigenfluoreszenz zwischen 400 und 800nm. Die hierbei beschriebenen Emissionsmaxima von 450nm, 520nm und 625nm, postulierte Na, würden wahrscheinlich durch Eigenfluoreszenz von Nicotinamid Adenin Dinucleotid (NADH), Flavin Adenine Dinucleotide (FAD) und Porphyrinen hervorgerufen. Somit entsteht eine Überlagerung des Emissionsspektrums und des Emissionsmaximum von 8-Methoxypsoralens (zwischen 420 und 460nm, mit einem Emissionsmaximum bei 460nm) und der dermalen Autofluoreszenz. Hierbei scheint die Eigenfluoreszenz der Hautstrukturen die Fluoreszenzemission von 8-MOP vollständig zu überlagern.

Die in der Literatur durch Sasaki et al. beschriebene Detektion von Psoralenen mit Hilfe deren Fluoreszenz im angeregten Zustand, auf die sich unsere Versuchsanordnung bezog, wurden anhand von oralen Mukosazellen durchgeführt [90]. Bei Zellen der Mundschleimhaut liegt ein weitaus geringerer Anteil an Kollagen vor. Hierdurch wäre erklärbar, dass es bei der

Versuchsanordnung von Sasaki et al. zu einer unbedeutenden Überlagerung durch die Autofluoreszenz der Hautfilamente kam, was eine Messung der Psoralen-Fluoreszenz ermöglichte. Eine fluoreszenzmikroskopische Detektion von 8-Methoxypsoralen von der Mundschleimhaut entnommener Zellen ließe aber keine Rückschlüsse auf das Penetrationssverhalten von 8-Methoxypsoralen in normal verhornender Körperhaut zu, da sich beide Hauttypen anatomisch als auch physiologisch zu sehr unterscheiden. Durch die fehlende Verhornung der Mukosazellen ist zudem auch eine, gegenüber der verhornenden Haut, erhöhte Aufnahme von 8-Methoxypsoralen in die Mukosazellen anzunehmen. Eine dadurch weitaus höhere Konzentration von 8-Methoxypsoralen in den Zellfilamenten steigert zudem die Möglichkeit einer Detektion wie dies von Sasaki et al. beschrieben wurde.

Eine denkbare systemische Fehlerquelle könnte ein Ausbleichen der Psoralenfluoreszenz zwischen den einzelnen Arbeitsschritten darstellen, wobei während der gesamten Versuchsabfolge eine Bestrahlung der Schnittpräparate durch Transport in abgedunkelten Behältern und die Untersuchung mittels Fluoreszenzmikroskops in der Dunkelkammer erfolgte.

4.5 Schlussfolgerung

Zusammenfassend zeigt unsere Studie, dass sich eine lokale topische PUVA-Photochemotherapie durch Photosensibilisierung mittels eines 8-Methoxypsoralen-Gels und nachfolgender UVA-Bestrahlung eben so sicher und effektiv zur Behandlung palmoplantarer Dermatosen und psoriatischer Plaques anwenden lässt wie eine PUVA-Bad-Photochemotherapie.

Da bei der vor Therapiebeginn durchgeführten MPD-Testung bis 3,0 J nur bei 4 von 20 Patienten ein Erythem beobachtet werden konnte, wäre denkbar, dass durch eine weitere Steigerung der 8-MOP-Konzentration des Gels noch eine weitere Reduktion der kumulativen UVA-Gesamtdosen erreicht werden könnte.

Die Behandlungsergebnisse ließen für die PUVA-Therapie mit Hilfe eines Gels eine leicht erhöhte Remissionswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit der Behandlungsdauer, der Anzahl an Bestrahlungen und der kumulativen Gesamtdosen gegenüber der PUVA-Bad-Therapie vermuten. Wegen der nicht durchweg einheitlich verlaufenden Tendenz und der geringen Fallzahl kann nicht sicher von einer höheren Erfolgsquote der PUVA-Gel-Therapie ausgegangen werden. Die Therapieergebnisse scheinen sich jedoch soweit zu ähneln, dass bei beiden Therapieoptionen von einer ähnlich guten Therapieeffizienz ausgegangen werden kann.

Auch der statistische Vergleich der absoluten PASI-Scores vor und nach Therapie und der PASI-Score-Differenzen zwischen den beiden Therapieoptionen PUVA-Gel und PUVA-Bad ergab keinen signifikanten Unterschied, so dass auch diese Ergebnisse auf einen gleichwertigen Therapieerfolg von PUVA-Bad und PUVA-Gel schließen lassen.

Systemische Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen und Übelkeit sowie Nebenwirkungen in Form von phototoxischen Reaktionen oder fleckiger Hyperpigmentierung wurden bei keinem der 20 Patienten beobachtet. Damit konnte gezeigt werden, dass sich mit Hilfe einer 8-Methoxypsoralen-Gelzubereitung, gleich eines 8-MOP-Warmwasserbades, eine gleichmäßige und sichere Photosensibilisierung erzeugen lässt.

Der Therapieerfolg, der in dieser Studie bei 20 Patienten mittels der Bade-PUVA-Therapie erzielt werden konnte, ähnelt den Ergebnissen anderer Autoren. Da sich im Halbseitenversuch durch eine PUVA-Photochemotherapie mit Applikation von 8-MOPhaltigem Gel zur Photosensibilisierung ähnliche klinische Ergebnisse erreichen ließen wie mit Hilfe eines 8-MOPhaltigen Hand- und Fuß-Bades, könnte damit die PUVA-Gel-Therapie eine sichere und effektive Alternative zur Behandlung umschriebener photosensibler Dermatosen darstellen. Mit dem Vorteil einer exakten Photosensibilisierung und Behandlung umschriebener Hautveränderungen kann das karzinogene Risiko der PUVA-Photochemotherapie reduziert werden. Zudem bedarf die Photosensibilisierung mit 8-MOP-Gel eines erheblich geringeren organisatorischen und pflegerischen Aufwands als eine PUVA-Bad-Therapie.

Die in unserer Studie verwendete fluoreszenzmikroskopische Versuchsanordnung eignet sich wegen der starken Eigenfluoreszenz des dermalen Bindegewebes nicht zur Bestimmung des Penetrationsverhaltens von 8-Methoxypsoralen.

Zur Optimierung der PUVA-Therapie sind sicherlich weitere Untersuchungen zur Pharmakokinetik von 8-Methoxypsoralen notwendig um mittels optimalen Gewebespiegeln, niedrigen Plasmakonzentrationen und damit ausbleibenden systemischen Nebenwirkungen zu Versuchen die Therapieeffizienz weiter zu steigern und gleichzeitig das kanzerogene Nebenwirkungsrisiko so weit wie möglich zu senken. Insbesondere bezüglich der PUVA-Gel-Photochemotherapie werden in Zukunft noch weitere vergleichbare, aber größer angelegte klinische Studien zur Optimierung von Einwirkdauer und 8-MOP-Konzentration der Gelzubereitung nötig sein, da die bisher behandelte Anzahl an Patienten noch zu klein ist.

5. Zusammenfassung

Die PUVA-Bad-Photochemotherapie (UVA-Bestrahlung der durch ein 8-Methoxypsoralen-Warmwasserbad photosensibilisierten Haut) ist eine hochwirksame Methode zur Behandlung einer Vielzahl von Dermatosen. Um den Vorgang der Photosensibilisierung durch den Aufwendigen Badevorgang zu vereinfachen und um umschriebene Hautveränderungen selektiv behandeln zu können wurde die klinische Wirksamkeit einer PUVA-Gel-Phototherapie (UVA-Bestrahlung der mittels eines 8-Methoxypsoralen-Gels photosensibilisierten Haut) mit der PUVA-Bad-Photochemotherapie verglichen. Die Studie erfolgte im Halbseitenversuch an 20 Patienten mit umschriebenen psoriatischen Plaques, Psoriasis palmoplantaris, Lichen ruber, dyshidrotischen und hyperkeratotischen Hand- und Fußekzem. Die Hautveränderungen und der Therapieerfolg wurden mit Hilfe eines speziellen Bewertungsschemas verglichen und beurteilt.

Bei der vor Therapiebeginn durchgeführten MPD-Testungen (MPD: Minimale Phototoxische Dosis) mit dem jeweils zur Therapie verwendeten 8-Methoxypsoralen-Gel konnte nur bei 4 Patienten eine MPD $< 3,0J$ erreicht werden. Phototoxische Reaktionen traten sowohl nach der MPD-Testung als auch während der Therapie bei keinem der 20 Patienten auf. Es konnte gezeigt werden, dass sich mit Hilfe einer 8-Methoxypsoralen-Gelzubereitung eine gleichmäßige und sichere Photosensibilisierung erzeugen lässt. Der Behandlungserfolg, der in dieser Studie mittels der PUVA-Bad-Therapie erzielt werden konnte ähnelt den Ergebnissen anderer Autoren. Im Halbseitenversuch ließen sich durch eine PUVA-Therapie mit Applikation von 8-Methoxypsoralenhaltigem Gel zur Photosensibilisierung vergleichbare klinischen Ergebnisse erreichen wie mit Hilfe eines 8-Methoxypsoralenhaltigen Hand- und Fuß-Bades. Damit könnte die PUVA-Gel-Therapie eine einfach zu Handhabende, sichere und effektive Alternative zur Behandlung umschriebener photosensibler Dermatosen darstellen, ohne dabei gesunde Hautareale miteinzubeziehen.

Die Fluoreszenzmikroskopie erwies sich als ungeeignete Methode zur Bestimmung des Penetrationsverhaltens von 8-Methoxypsoralen in normalverhornender Haut.

6. Literaturverzeichnis

1. Abel EA, Goldberg LH, Farber EM: Treatment of palmoplantar psoriasis with topical methoxsalen plus long-wave ultraviolet light. *Arch Dermatol* 116: 1257-1261 (1980)
2. Ashworth J, Kahan MC, Breathnach SM: PUVA therapy decreases HLA-DR+ CD1a+ Langerhans cells and epidermal cell antigen-presenting capacity in human skin, but flow cytometrically-sorted residual HLA-DR+ CD1a+ Langerhans cells exhibit normal allc antigen-presenting funktion. *Br J Dermatol* 120: 329 (1989)
3. Behrens-Williams S, Gruss C, Grundmann-Kollmann M, Peter RU, Kerscher M: Assessment of minimal phototoxic dose following 8-methoxypsoralen bath: maximal reaction on average after 5 days. *Br J Dermatol* 142: 112-115 (2000)
4. Bos JD, Krieg SR: Psoriasis infiltrating cell Immunophenotype: changes induced by PUVA or corticosteroid treatment in T-cell subsets, Langerhans` cells and interdigitating cells. *Acta Derm Venerol (Stockholm)* 65: 390 (1985)
5. Boukes RJ, Bruynzeel DP: Ocular findings in 340 long-term treated PUVA patients. *Photodermatology* 2: 178-180 (1985)
6. Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Winkelmann RK: *Dermatologie und Venerologie*, 4.Auflage, Springer, Berlin Heidelberg New York S. 563 (1994)
7. Brenner W, Gschnait F, Hönigsmann H, Fritsch P: Erprobung von PUVA bei verschiedenen Dermatosen. *Hautarzt* 29: 541-544 (1978)
8. Brickl R, Schmid J, Koos FW: Clinical pharmacology of oral psoralen drugs. *Photodermatology* 1: 174-186 (1984)
9. British Photodermatology Group: British Photodermatology Group guidelines for PUVA. *Br J Dermatol* 130: 246-255 (1994)
10. Brockow T, Schiener R, Franke A, Resch KL, Peter RU. A pragmatic randomized controlled trial on the effectiveness of low concentrated saline spa water baths followed by ultraviolet B (UVB) compared to UVB only in moderate to severe psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 21: 1027-1037 (2007)

11. Calzavara-Pinton PG, Ortel B, Carlino AM, Honigsmann H, De Panfilis G: Phototesting and phototoxic side effects in bath PUVA. *J Am Acad* 28: 657-659 (1993)
12. Cloud TM, Hakim R, Griffinn AC: Photosensitization of the eye with methoxalen. *Arch Ophthalmol* 66: 689-694 (1961)
13. Collins P, Rogers S: Bath-water compared with oral delivery of 8-methoxypsoralen PUVA therapy for chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol* 127: 392-395 (1992)
14. Cox AJ, Abel EA: Epidermal dystrophy: occurrence after psoriasis therapy with psoralen and long wave ultra-violet light. *Arch Dermatol* 115: 567-570 (1979)
15. Cripps DJ, Lowe NJ, Lerner AB: Action spectra of topical psoralens: a reevaluation. *Br J Dermatol* 107: 77-83 (1982)
16. Cyrilin MN, Pedvis-Leftick A, Suger J: Cataract formation in association with ultraviolet photosensitivity. *Ann Dermatol* 12: 786-790 (1980)
17. Czernielewski J, Juhin L, Shroot S, Brun P: Langerhans`cells in patients with psoriasis: effect of treatment with PUVA, PUVA bath, etretinate and anthralin. *Acta Derm Venerol (Stockholm)* 65: 97 (1985)
18. David M, Lowe NJ, Halder RM, Borok M: Serum 8-methoxypsoralen (8-MOP) concentrations after bath water delivery of 8-MOP plus UVA. *J Am Acad Dermatol* 23: 931-932 (1990)
19. Davis MD, McEvoy MT, el-Azhary RA: Topical psoralen-ultraviolet A therapy for palmoplantar dermatoses: experience with 35 consecutive patients. *Mayo Clin Proc* 73: 407-411 (1998)
20. De Rie MA, Van Rendenburg JP, Versnick AC, Stolk LM, Bos JD, Westerhof W: A new psoralen-containing gel for topical PUVA therapy: development, and treatment results in patients with palmoplantar and plaque-type psoriasis, and hyperkeratotic eczema. *Br J Dermatol* 132: 964-969 (1995)
21. Degitz K, Plewig G, Rocken M: Rapid decline in photosensitivity after 8-methoxypsoralen bathwater delivery. *Arch Dermatol* 132: 1394-1395 (1996)
22. El Mofty AM: A preliminary clinical report on the treatment of leukoderma with *Ammi majus* Linn. *J Roy Egyptian Med Assoc* 31: 651-655 (1948)
23. Everett M, Yeagers E, Sayre R, Olson R: Penetration of epidermis by ultraviolet rays. *Photochem Photobiol* 5: 533-542 (1966)

24. Fischer T, Alsins J: Treatment of psoriasis with trioxalen baths and dysprosium lamps. *Acta Derm Venerol (Stockh)* 56: 383-390 (1976)
25. Fredriksson T, Lassus A, Salde L: Reproducibility of Clinical Trials of Topical Glucocorticosteroids. *Int J Dermatol* 22: 536-539 (1983)
26. Fredriksson T, Pettersson U: Severe psoriasis-oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 157: 238-244 (1978)
27. Gilchrest BA, Parrish JA, Tanenbaum L, Haynes HA, Fitzpatrick TB: Oral methoxalen photochemotherapy of mycosis fungoides. *Cancer* 38: 683-689 (1976)
28. Gomez MI, Azana JM, Arranz I, Harto A, Ledo A: Plasma levels of 8-methoxypsoralen after bath-PUVA for psoriasis: relationship to disease severity. *Br J Dermatol* 133: 37-40 (1995)
29. Grundmann-Kollmann M, Behrens S, Peter RU, Kerscher M: Treatment of severe recalcitrant dermatoses of the palms and soles with PUVA-bath versus PUVA-cream therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 15: 87-89 (1999)
30. Grundmann-Kollmann M, Leiter U, Behrens S, Gottlöber P, Mooser G, Krähn G, Kerscher M: The time course of phototoxicity of topical PUVA: 8-methoxypsoralen cream-PUVA vs. 8-methoxypsoralen gel-PUVA. *Br J Dermatol* 140: 963-991 (1999)
31. Grundmann-Kollmann M, Podda M, Bräutigam L, Hardt-Weinelt K, Ludwig RJ, Geisslinger G, Kaufmann R, Tegeder I: Spatial distribution of 8-methoxypsoralen penetration into human skin after systemic or topical administration. *Br J Clin Pharmacol* 54: 535-539 (2002)
32. Gschnait F, Hönigsmann H, Brenner W, Fritsch P, Wolff K: Induction of UV light tolerance by PUVA in patients with polymorphous light eruption. *Br J Dermatol* 99: 293-295 (1978)
33. Gschnait F, Hönigsmann H, Konrad K, Fritsch P, Wolff K: Photochemotherapie (PUVA) bei Neurodermitis. *Z Hautkr* 52: 1219-1224 (1977)
34. Halpern SM, Anstey AV, Dawe RS, Diffey BL, Farr PM, Ferguson J, Hawk JLM, Ibbotson S, McGregor JM, Murphy GM, Thomas SE, Rhodes LE: Guidelines for topical PUVA: a report of the British Photodermatology Group. *Br J Dermatol* 142: 22-31 (2000)

35. Hawk JL, Grice PL: The efficacy of localized PUVA therapy for chronic hand and foot dermatoses. *Clin Exp Dermatol* 19: 479-482 (1994)
36. Henseler T, Christophers E, Hönigsmann H, Wolff K: Skin tumors in the european PUVA study. *J Am Acad Dermatol* 16: 108-116 (1987)
37. Henseler T, Wolff K, Honigsmann H, Christophers E: Oral 8-methoxypsoralen photochemotherapy of psoriasis. The European PUVA study: a cooperative study among 18 European centres. *Lancet* 1: 853-857 (1981)
38. Hönigsmann H: Toleranzsteigerung bei Photodermatosen durch Photochemotherapie. *Z Hautkr* 58: 54-57 (1983)
39. Huuskonen H, Koulu L, Wilen G: Quantitative determination of methoxsalen in human serum, suction blister fluid and epidermis by gas chromatography mass spectrometry. *Photodermatol* 1: 137-140 (1984)
40. Ibbotson SH, Farr PM: The time-course of psoralen ultraviolet A (PUVA) erythema. *J Invest Dermatol* 113: 346-350 (1999)
41. Kammerau B, Klebe U, Zesch A, Schaefer H: Penetration, Permeation, and Resorption of 8-Methoxypsoralen. *Arch Dermatol Res* 255: 31-42 (1976)
42. Katz KA, Marcil I, Stern RS: Incidence and risk factors associated with a second squamous cell carcinoma or basal cell carcinoma in psoralen + ultraviolet a light-treated psoriasis patients. *Invest Dermatol* 118: 1038-1043 (2002)
43. Kerscher M, Lehmann P, Plewig G: PUVA-Bad Therapie. Indikationen und praktische Durchführung. *Hautarzt* 45: 526-528 (1994)
44. Kerscher M, Plewig G, Lehmann P: PUVA-Bad-Therapie mit 8-Methoxypsoralen zur Behandlung von palmoplantaren Dermatosen. *Z Hautkr* 69: 110-112 (1994)
45. Kerscher M, Volkenandt M, Meurer M, Lehmann P, Plewig G, Röcken M: Treatment of localised scleroderma with PUVA bath photochemotherapy. *Lancet* 343: 1233 (1994)
46. Kerscher M, Volkenandt M, Plewig G: PUVA-Bad-Photochemotherapie: Prinzip und Indikationen. *Dt Ärztebl* 93: 1538-1541 (1996)
47. Konrad K, Gschnait F, Hönigsmann H, Fritsch P, Wolff K: Photochemotherapie bei Mycosis fungoides. *Hautarzt* 29: 191-197 (1978)

48. Koulu L, Soderstrom KO, Jansen CT: Relation of antipsoriatic and Langerhans cell depleting effect of systemic psoralen photochemotherapy: a clinical enzyme histochemical and electron microscopic study. *J Invest Dermatol* 84: 591-593 (1984)
49. Koulu LM, Jansen CT: Skin phototoxicity variations during repeated bath PUVA exposures to 8-methoxypsoralen and trimethylpsoralen. *Clin Exp Dermatol* 9: 64-69 (1984)
50. Krueger JG, Wolfe JT, Nabeja RT et al. Successful ultraviolet B treatment of psoriasis is accompanied by a reversal of keratinocyte pathology and by selective depletion of intraepidermal T cells. *J Exp Med* 188: 2057-2068 (1995)
51. Krutmann J, Koeck A, Schauer E et al.: Tumor necrosis factor b and ultraviolet radiation are potent regulators of human keratinocyte ICAM-1 expression. *J Invest Dermatol* 95: 127-131 (1990)
52. Krutmann J: Dermatologische Phototherapie. *Hautarzt* 42: 407-414 (1991)
53. Krutmann J, Elmetts CA: Recent mechanism studies in photoimmunology. Yearly review. *Photochem Photobiol* 48: 787-798 (1988)
54. Kunzi-Rapp K: Die Chorioallantoismembran des befruchteten Hühnereies: ein In-vivo-Modell in der photodynamischen Therapie. Med. Dissertation, Universität Ulm (1996)
55. Kunzi-Rapp K; Genze F; Kufer R; Reich E; Hautmann RE; Gschwend JE: Chorioallantoic membrane assay: vascularized 3-dimensional cell culture system for human prostate cancer cells as an animal substitute model. *J Urol* 166: 1502-1507 (2001)
56. Kunzi-Rapp K; Ruck A; Kaufmann R: Characterization of the chick chorioallantoic membrane model as a short-term in vivo system for human skin. *Arch Dermatol Res* 291:290-295 (1999)
57. Layton AM, Sheehan-Dare R, Cunliffe WJ: A double-blind, placebo-controlled trial of topical PUVA in persistent palmoplantar pustulosis. *Br J Dermatol* 124: 581-584 (1991)
58. Lerner AB, Denton CR, Fitzpatrick TB: Clinical and experimental studies with 8-methoxypsoralen in vitiligo. *J Invest Dermatol* 20: 299-314 (1953)

59. Lindelof B, Sigurgeirsson B, Tegner E, Larko O, Berne B: Comparison of the carcinogenic potential of trioxsalen bath PUVA and oral methoxsalen PUVA. A preliminary report. *Arch Dermatol* 128: 1341-1344 (1992)
60. Lindelöf B, Sigurgeirsson B, Tegner E, Larkö O, Johannesson A, Berne B, Christensen OB, Anderson T, Törngren M, Molin L, Nylander-Lundquist E, Emtestam L: PUVA and cancer: A large scale epidermological study. *Lancet* 338: 91-93 (1991)
61. Lindelöf B, Sigurgeirsson B, Tegner E, Larkö O, Johannesson A, Berne B, Ljunggren B, Anderson T, Törngren M, Molin L, Nylander-Lundquist E, Emtestam L: PUVA and cancer risk: the Swedish follow-up study. *Br J Dermatol* 141: 108-112 (1999)
62. Lisby S, Ralfkiaer E, Rothlein R, Vejlsgaard GI: Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression correlated to inflammation. *Br J Dermatol* 120: 479-481 (1989)
63. Lowe NJ, Weingarten D, Bourget T, Moy LS: PUVA therapy for psoriasis: comparison of oral and bath-water delivery of 8-methoxypsoralen. *J Am Acad Dermatol* 14: 754-760 (1986)
64. Lüftl M, Degitz K, Plewig G, Röcken M: Psoralen bath plus UV-A therapy. Possibilities and limitations. *Arch Dermatol* 133: 1597-1603 (1997)
65. Mali-Gerrits MGH, Gaasbeek D, Boezemann J, Kerkhof van de PCM: Psoriasis therapie and the risk of skin cancer. *Clin Exp Dermatol* 16: 85-89 (1991)
66. Marks DI, Fox RM: Mechanism of photochemotherapy induced apoptotic cell death in lymphoid cells. *Biochem Cell Biol* 69: 754-760 (1991)
67. Melkonian G; Wang JL; Chung J; Munoz N; Talbot P: CD44 and tenascin play critical roles in growth and vascular development of the chick chorioallantoic membrane and are targets of cigarette smoke. *Anat Embryol (Berl)* 208: 109-20 (2004)
68. Melski JW, Tannenbaum L, Parrish JA, Fitzpatrick TB, Bleich HL: Oral methoxalen photochemotherapy for the treatment of psoriasis: a cooperative clinical trial. *J Invest Dermatol* 68: 328-335 (1977)
69. Mobacken H, Rosen K, Swanbeck G. Oral psoralen photochemotherapy (PUVA) of hyperkeratotic dermatitis of the palms. *Br J Dermatol* 109: 205-208 (1983)

70. Morison WL, Parrish JA, Fitzpatrick TB: Oral methoxalen photochemotherapy of recalcitrant dermatoses of the palms and soles. *Br J Dermatol* 99: 297-302 (1978)
71. Morison WL, Parrish JA, Fitzpatrick TB: Oral psoralen photochemotherapy of atopic eczema. *Br J Dermatol* 98: 25-30 (1978)
72. Morison WL: PUVA therapy is preferable to UVB phototherapy in the management of HIV-associated dermatoses. *Photochem Photobiol* 64: 267-268 (1996)
73. Murray D, Corbett MF, Warin AP: A controlled trial of photochemotherapy for persistent palmoplantar pustulosis. *Br J Dermatol* 102: 659-663 (1980)
74. Neild VS, Scott LV: Plasma levels of 8-methoxypsoralen in psoriatic patients receiving topical 8-methoxypsoralen. *Br J Dermatol* 106: 199-203 (1982)
75. Neues Rezepturformularium (NRF) 17. Ergänzung 2000 Eschborn; GOVI-Verlag; 1-2 (1983)
76. Neumann NJ, Kerscher M, Ruzicka T, Lehmann P. Evaluation of PUVA bath phototoxicity. *Acta Derm Venereol* 77: 385-387 (1997)
77. Neumann NJ, Ruzicka T, Lehmann P, Kerscher M: Rapid Decrease of Phototoxicity After PUVA Bath Therapie With 8-Methoxapsoralen. *Arch Dermatol* 132: 1394 (1996)
78. Ortonne JP, Thivolet, Sannwald C: Oral photochemotherapy in the treatment of lichen planus (LP). Clinical results, histological and ultrastructural observations. *Brit J Dermatol* 99: 77-88 (1978)
79. Parrish JA, Chylack LT, Woehler ME, Cheng H-M, Pathak MA, Morison WL, Krugler J, Nelson WF: Dermatological and ocular examinations in rabbits chronically photosensitized with methoxalen. *J Invest Dermatol* 73: 256-258 (1979)
80. Parrish JA, Fitzpatrick TB, Tanenbaum L, Pathak MA: Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxalen and longwave ultraviolet light. *N Engl J Med* 291: 1207-1212 (1974)
81. Pathak MA: Mechanism of psoralen photosensitization and in vivo biological action spectrum of 8-methoxypsoralen. *J Invest Dermatol* 37: 397-407 (1961)
82. Pathak MA, Fellman JH: Activating and fluorescent wave-lengths of furocoumarins: psoralens. *Nature* 185: 382-383 (1960)

83. Peter RU, Färber L, Weiss J, Kohnen R, Weidinger G, Ruzicka T: Low-dose cyclosporin A in palmoplantar psoriasis: evaluation of efficacy and safety. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 3: 518-524 (1994)
84. Rassner G, Steinert M, Bercher M, Rodermund O-E, Henning D, Mey T, Heinzel M: Untersuchungen zur chronisch-systemischen Toxizität einer oralen Photochemotherapie mit 8-Methoxypsoralen und UVA. *Hautarzt* 38: 10-17 (1987)
85. Ribatti D; Vacca A; Roncali L; Dammacco F: The chick embryo chorioallantoic membrane as a model for in vivo research on anti-angiogenesis. *Curr Pharm Biotechnol* 1: 73-82 (2000)
86. Röcken M, Kerscher M, Volkenandt M, Plewig G: Balneo-Phototherapie. *Hautarzt* 46: 437-450 (1995)
87. Roelandts R: Kanzerogene Risiken der Phototherapie und der Photochemotherapie. *Hautarzt* 38: 388-394 (1987)
88. Roenigk HH: Photochemotherapy for Mycosis fungoides. Long-term follow-up study. *Cancer Treat Rep* 63: 669-673 (1979)
89. Rosen K, Mobacken H, Swanbeck G: Chronic eczematous dermatitis of the hands: a comparison of PUVA and UVB treatment. *Acta Derm Venereol* 67: 48-54 (1987)
90. Sasaki M; Meguro F; Kumazawa E; Fujita H; Kakishima H; Sakata T : Evidence for uptake of 8-methoxypsoralen and 5-methoxypsoralen by cellular nuclei. *Mutat Res* 197: 51-58 (1988)
91. Schempp CM , Müller H , Czech W, Schöpf E, Simon JC. Treatment of chronic palmoplantar eczema with local bath-PUVA therapy. *J Am Acad Dermatol* 36: 733-737 (1997)
92. Schiener R; Brockow T; Franke A; Salzer B; Peter RU; Resch KL: Bath PUVA and saltwater baths followed by UV-B phototherapy as treatments for psoriasis: a randomized controlled trial. *Arch Dermatol* 143: 586-596 (2007)
93. Schughart K; Accart N: Use of adenovirus vectors for functional gene analysis in the chicken chorioallantoic membrane. *Biotechniques* 34: 178-183 (2003)
94. Sheehan-Dare RA, Goodfield MJ, Rowell NR. Topical psoralen photochemotherapy (PUVA) and superficial radiotherapy in the treatment of chronic hand eczema. *Br J Dermatol* 12: 65-69 (1989)

95. Shephard SE, Schregenberger N, Dummer R, Panizzon RG. Comparison of 8-MOP aqueous bath and 8-MOP ethanolic lotion (Meladinine) in local PUVA therapy. *Dermatology* 197: 25-30 (1998)
96. Stege H, Berneburg M, Ruzicka T, Krutmann J: Creme-PUVA-Photochemotherapie. *Der Hautarzt* 48: 89-93 (1997)
97. Sten RS, Laird N: The carcinogenic risk of treatments for severe psoriasis. *Cancer* 73: 2759-2764 (1994)
98. Stern RS, Bagheri S, Nichols K; PUVA Follow Up Study. The persistent risk of genital tumors among men treated with psoralen plus ultraviolet A (PUVA) for psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 47: 33-39 (2002)
99. Stern RS, Laird N, Melski J, Parrish JA, Fitzpatrick TB, Bleich HL: Cutaneous Squamous-Cell Carcinoma in Patients treated with PUVA. *N Engl J Med* 310: 1156-1161 (1984)
100. Stern RS, Liebman EJ, Väkevä L. Oral psoralen and ultraviolet-A light (PUVA) treatment of psoriasis and persistent risk of nonmelanoma skin cancer. PUVA Follow-up Study. *J Natl Cancer Inst* 90: 1278-1284 (1998)
101. Stern RS, Nichols KT, Väkevä LH. Malignant melanoma in patients treated for psoriasis with methoxsalen (psoralen) and ultraviolet A radiation (PUVA). The PUVA Follow-Up Study. *N Engl J Med* 336: 1041-1045 (1997)
102. Swanbeck G, Thyresson-Hök M, Bredberg A, Lambert B: Treatment of psoriasis with oral methoxalens and longwave ultraviolet light. Therapeutic results and cytogenetic hazards. *Acta Derm Venerol* 55: 367-376 (1975)
103. Taylor CR, Baron ED: Hand and foot PUVA soaks: an audit of the Massachusetts General Hospital's experience from 1994 to 1998. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 15: 188-192 (1999)
104. Tegner E, Thelin I. PUVA treatment of chronic eczematous dermatitis of the palms and soles. *Acta Derm Venereol* 65:451-453 (1985)
105. Thomas SE, O'Sullivan J, Balac N: Plasma levels of 8-methoxypsoralen following oral or bath-water treatment. *Br J Dermatol* 125: 56-58 (1991)
106. Vallat VP, Gilleaudeau P, Battat I, Wolfe J, Nabeya R, Heftler N, Hodak E, Gottlieb AB, Krueger JG: PUVA bath therapy strongly suppresses immunological and epidermal activation in psoriasis: a possible cellular basis for remittive therapy. *J Exp Med* 180: 283-296 (1994)

107. Von Kobyletzki G, Gruss C, Altmayer P, Kerscher M: Balneophotochemotherapie des Lichen ruber. *Hautarzt* 48: 323-327 (1997)
108. von Kobyletzki G, Hoffmann K, Kerscher M, Altmeyer P. Plasma levels of 8-methoxypsoralen following PUVA-bath photochemotherapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 14: 136-138 (1998)
109. Walter JF, Voorhees JJ, Kelsey WH, Duell EA: Psoralen plus black light inhibits epidermal DNA synthesis. *Arch Dermatol* 107: 861-865 (1973)
110. Wilkinson JD, Ralfs IG, Harper JI, Black MM: Topical methoxsalen photochemotherapy in the treatment of palmoplantar pustulosis and psoriasis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 59: 193-198 (1979)
111. Wolff WK, Fitzpatrick TB, Parrish JA, Gschnait F, Gilchrest G, Hönigsmann H, Pathak MA, Tannenbaum L (1976): Photochemotherapy with orally administered methoxsalen. *Arch Dermatol* 112: 943-950 (1976)
112. Wolff K, Hönigsmann H, Gschnait F, Konrad K: Photochemotherapie bei Psoriasis. Klinische Erfahrungen bei 152 Patienten. *Dtsch Med Wochenschr* 100: 2471-2477 (1975)
113. Wolff K: Side effects of psoralen photochemotherapy (PUVA). *Br J Dermatol* 122: 117-125 (1990)
114. Yoo EK, Rook AH, Elenitas R, Gasparro FP, Vowels BR: Apoptosis induction by ultraviolet light A and photochemotherapy in cutaneous T-cell lymphoma: Relevance to mechanism of therapeutic action. *J Invest Dermatol* 107: 235-242 (1996)
115. Zaynoun S, Konrad K, Gschnait F, Wolff K: The pigmentary response to photochemotherapy. *Acta Derm Venereol (Stockholm)* 57: 431-440 (1977)

7. Anhang

Danksagung

Bei der Entstehung der vorliegenden Promotionsarbeit waren mir viele Personen auf unterschiedliche Art und Weise behilflich. All diesen möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen. Ganz besonders danken möchte ich jedoch:

Herrn Prof. Dr. med. R. U. Peter der mir die Durchführung diese interessante Promotionsarbeit ermöglichte und mir bis zu deren Vollendung stets hilfreich zur Seite stand.

Frau Prof. Dr. med. M. Kerscher die mit ihren guten Ideen wesentlich an der Initiierung dieser Arbeit beteiligt war.

Herrn Dr. med. R. Schiener der mir über die lange Zeit von der praktischen Durchführung, Patientenbetreuung bis zur Vollendung dieser Promotionsarbeit jederzeit hilfsbereit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Frau Dr. med. K. Kunzi-Rapp und ihrem Team im Institut für Lasertechnologien Ulm welche mir, immer fröhlich und freundlich und allzeit bereit bei der Durchführung der Ei-Modell-Präparationen und Fluoreszenzmikroskopie zur Seite standen.

Schwester Marita für ihre unschätzbare Hilfsbereitschaft und Erfahrung bei der praktischen Durchführung und Patientenbetreuung in der Lichtabteilung der Dermatologie im Bundeswehrkrankenhaus Ulm.

Meinen Eltern und meinen Freunden welche mir immer wieder geholfen haben die für die Arbeit notwendige Energie aufrechtzuerhalten.

Zuletzt möchte ich vor allem unseren Patienten danken welche durch ihre Bereitschaft an dieser Studie teilzunehmen diese Untersuchung überhaupt erst ermöglichten.