

UNIVERSITÄTSKLINIKUM DES SAARLANDES  
KLINIK FÜR INNERE MEDIZIN III  
KARDIOLOGIE, ANGIOLOGIE UND INTERNISTISCHE INTENSIVMEDIZIN  
DIREKTOR: UNIVERSITÄTSPROFESSOR DR. MED. M. BÖHM

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Universitätsklinik des Saarlandes**

---

Pilot-Studie zur Wirksamkeit und Verträglichkeit des  
Phosphodiesterase-V-Inhibitors SLx-2101 bei Patienten  
mit sekundärem Morbus Raynaud

eingereicht durch

**Ulrike Johanna Lee, geb. Passek**

**Homburg/Saar im September 2013**

**Meiner Familie  
in Dankbarkeit gewidmet**

# Inhalt

1. Zusammenfassung .....	7
1. Summary .....	8
2. Einleitung .....	10
2.1. Morbus Raynaud .....	10
2.1.1. Definition und Einteilung .....	10
2.1.2. Primäre Form.....	10
2.1.3. Sekundäre Form .....	10
2.1.4. Stadieneinteilung kapillarmikroskopischer Veränderungen am Beispiel Sklerodermie .....	11
2.2. Pathophysiologie des Morbus Raynaud .....	13
2.3. Klinische Symptomatik .....	16
2.4. Therapie des Morbus Raynaud .....	17
2.5. Untersuchte Substanz (SLx-2101).....	19
2.6. SLx-2101-Pharmakokinetik .....	20
2.7. Dosisfindung und Verträglichkeit .....	21
2.8. Isoenzym-Selektivität SLx-2101 im Vergleich zu anderen PDE-V-Inhibitoren .....	22
2.9. Ziel der Arbeit .....	23
3. Material und Methoden .....	24
3.1. Ziele der Studie .....	24
3.2. Endpunkte der Studie .....	24
3.3. Studienpopulation.....	25
3.3.1. Anzahl der Probanden, Ein-, und Ausschlusskriterien .....	25
3.4. Studien Design .....	27
3.4.1. Allgemeiner Ablauf.....	27
3.4.2. Behandlungsphasen .....	28
3.5. Untersuchungen.....	30
3.5.1. Kapillarmikroskopie.....	30
3.5.2. Pulmonal Arterieller Druck .....	32
3.5.3. Laborbestimmungen .....	32
3.5.4. Weitere Laboruntersuchungen.....	33
3.5.5. Urinuntersuchung .....	34
3.5.6. Körperliche Untersuchung, Vitalparameter, Elektrokardiogramm und ophthalmologische Untersuchung.....	35
3.6. Telefonische Visite.....	36
3.7. Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events, AE) .....	36
3.8. Abbruchkriterien .....	38
3.8.1. Zugelassene Kriterien des Studienabbruchs: .....	38
3.9. Studienmedikation.....	38
3.9.1. Allgemeine Beschreibung .....	38
3.9.2. Dosisanpassung .....	39
3.10. Datenmanagement .....	40
3.11. Qualitätskontrolle und Qualitätssicherheit .....	40
3.12. Audit.....	40
4. Ergebnisse .....	41
4.1. Studienpopulation.....	41
4.2. Primärer Studienendpunkt.....	44
4.3. Sekundäre Studienendpunkte .....	44
4.3.1. Raynaud-Attacken .....	44
4.3.2. Mikrozirkulation.....	46
4.3.3. Inflammationsparameter.....	47
4.3.4. Rechtsventrikulärer systolischer Druck.....	48
4.3.5. Natriuretisches Peptid Typ B (BNP) .....	49
4.3.6. Vitalparameter .....	50

4.3.7. Elektrokardiogramm.....	50
4.3.8. Laborparameter .....	51
4.3.9. Pharmakokinetik.....	54
4.4. Studien-Compliance .....	54
4.5. Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events (AE)).....	55
5. Diskussion .....	58
5.1. Limitationen .....	63
6. Literaturverzeichnis.....	66
7. Danksagung .....	71
8. Lebenslauf .....	72

# Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AE	Adverse Event
AT-II-Antag.	Angiotensin-II-Antagonisten
ASAT	Aspartat- Aminotransferase
ALAT	Alanin- Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	area under plasma concentration-time curve
BMI	Body- Maß- Index
BNP	Brain Natriuretic Peptide/ natriuretische Peptid Typ B
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
Ca <sup>2+</sup>	Calcium-Ionen
CCD	Charge Couple Device
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CK	Creatinkinase
CK-MB	Creatinkinase- Myokardtyp
C-K-B	Calcium-Kanal-Blocker
cm	Centimeter
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CREST	Calzinosi, Raynaud-Phänomen, Motilitätsstörungen des Ösophagus, Sklerodaktylie, Teleangiektasien)
CRO	Contract Research Organisation
C <sub>max</sub>	maximale Plasmakonzentration
CRP	C-reaktives Protein
CRF	Case Report Form
CV	Abweichungskoeffizient
CI	Konfidenz- Intervall
°C	Grad Celsius
DAG	Diacylglycerin
DBP	diastolic blood pressure
dl	Deziliter
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
EKG	Elektrokardiogramm
E2	Östradiol
ET	Endothelin
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
G	G-Protein
g	gramm
GCP	Good Clinical Practice
γ-GT	Gamma-Glutamyltransferase
GOT	Glutamat- Oxalacetat- Transferase
GPT	Glutamat- Pyruvat- Transferase
GTP	Guanosintriphosphat
HDPE	Hochdruck-Poly-Ethylen- Flaschen
HDL	High Density Lipoprotein
HF	Herzfrequenz

HIV	Human immunodeficiency virus
IL-6	Interleukin- 6
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
IU	International Unit
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
LDH	Laktatdehydrogenase
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MHz	Megahertz
mol	Mol
NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	Nicht steroidale Anti-Rheumatika
PAK/G	Proteinkinase A/G
PAOD	Peripheral Arterial Occlusive Disease
PASP	Pulmonal arterieller systolischer Druck
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDE-V	Phosphodiesterase-5
pg	Picogramm
PIP <sub>2</sub>	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PLC	Phospholipase C
PPI	Protonen-Pumpen-Inhibitor
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RCS	Raynaud Condition Score
RR	Blutdruck nach Riva Rochi
RVSP	Rechtsventrikulärer systolischer Druck
SAE	Serious Adverse Event
SBP	systolic blood pressure
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
SSRI	Selektive Serotonin Reuptake Inhibitoren
t <sub>max</sub>	Zeit bis C <sub>max</sub>
t <sub>1/2</sub>	Halbwertszeit
TTE	Trans-Thorakale-Echokardiographie
TXA	Thromboxan
UEK	Unabhängige Ethik Kommission
u.a.	unter anderem
vgl.	vergleiche

# 1. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit untersuchte in einer randomisierten, doppelblind, placebo-kontrollierten, cross-over Pilot-Studie die Wirksamkeit, Sicherheit und Verträglichkeit des PDE-V-Inhibitors SLx-2101 bei Patienten mit sekundärem Morbus Raynaud. Bei der Raynaud-Krankheit handelt es sich um einen ischämischen Vasospasmus der Digitalarterien und präkapillären Arteriolen. Durch diese Minderdurchblutung kann es zu Farb-, und Empfindungsstörungen einzelner Finger und/ oder Zehen kommen. Die Attacken können sehr schmerzhaft sein und sind häufig mit Gewebsläsionen assoziiert. Die sekundäre Form des Morbus Raynaud tritt häufig im Rahmen einer Grunderkrankung auf. Hierbei handelt es sich meist um Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis, wie z.B. Kollagenosen oder Vaskulitiden. SLx-2101 als potenter, selektiver Hemmstoff der Phosphodiesterase-V, führt zu einer Vasodilatation durch die Stickstoffmonoxid (NO)-vermittelte Kumulation von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) in der glatten Gefäßmuskulatur. Dieser Effekt könnte bei Patienten mit Morbus Raynaud zu einer verbesserten digitalen Perfusion und somit zur Reduktion der klinischen Symptomatik führen. Nach Screening und Einschluss in die Studie, umfasste das Studiendesign der vorliegenden Studie zwei Behandlungsphasen von je 14 Tagen. Die Teilnehmer erhielten entweder 10 mg SLx-2101 täglich oder 10 mg Placebo täglich 14 Tage lang. Im Laufe der Behandlungsphasen mussten sich die Studienteilnehmer zur Untersuchung der Wirksamkeit, Sicherheit und Verträglichkeit des Medikamentes regelmäßigen Visiten unterziehen. Zu Beginn der Studie wurde den Probanden ein Tagebuch ausgehändigt, welches zur Untersuchung des primären Studienendpunktes diente. Hierin wurden durch jeden Probanden Dauer, Häufigkeit und Schweregrad der Raynaud-Attacken dokumentiert. Am Ende der Studie erfolgte eine Abschlussuntersuchung. Durch SLx-2101 konnte keine signifikante Verbesserung des primären Endpunktes der Studie, der Raynaud-Symptomatik, festgestellt werden. Eine Tendenz zur Abnahme der Gesamtanzahl-, und Dauer der Raynaud-Attacken konnte aber im Vergleich zur Placebo-Therapie gezeigt werden.

Eine klare Therapieempfehlung geht aus der Studie nicht hervor, demnach bleibt die Behandlung des Morbus Raynaud aktuell unbefriedigend. Größere multizentrische Studien, mit höheren Probandenzahlen könnten einen signifikanten Vorteil der Substanz zeigen.

# 1. Summary

## **Pilot study to examine the safety, tolerability and pharmacodynamic profile of the Phosphodiesterase-V-Inhibitor SLx-2101 in subjects with secondary Raynaud's disease**

This doctoral thesis describes the randomised, double-blind, placebo-controlled, cross-over pilot study to examine the safety, tolerability, pharmacodynamic and pharmacokinetic profile of a repeat oral dose of SLx-2101 administered once daily for a total duration of 14 days in patients with secondary Raynaud's disease. Raynaud's disease is an ischemic vasospasm of the digital arteries and pre-capillary arterioles, which may lead to alteration in color and sensibility in several fingers and toes. These attacks can be very painful and can result in deep tissue necrosis with gangrene. The secondary Raynaud's disease is mostly associated with other diseases, like collagenosis, vasculitis or Peripheral Arterial Occlusive Disease (PAOD). Due to systemic disease of skin and connective tissue of blood vessels they result in angiopathy of small arteries and arterioles from which Raynaud's disease can manifest. SLx-2101 is a potent and selective inhibitor of Phosphodiesterase type V (PDE-V) which increases the dilatation of blood vessels due to accumulation of cyclic guanosine monophosphate (cGMP). This physiological chain reaction is triggered through release of nitric oxide (NO) from endothelial cells. The inhibition of PDE-V due to SLx-2101 leads to high cGMP-levels, so vasodilatation and perfusion increase. This condition should have a positive effect on symptomatic patients with Raynaud's disease. After screening and inclusion, the subjects underwent two 14-day treatment periods. They either took 10 mg SLx-2101 daily in one 14-day period or 10 mg placebo daily. During that time subjects underwent procedures to investigate safety, tolerability and efficacy of SLx-2101. At the start of the study, subjects were asked to keep a diary to help investigate the primary endpoint of the study, the Raynaud's Condition Score. Subjects were asked to document the number and duration of Raynaud attacks and note the Raynaud's Condition Score daily. The study was finished by a follow-up examination.

The treatment with SLx-2101 failed to proof statistical significance measured by the primary endpoint but on the positive it did indicate a slight decrease of the Raynaud's Condition Score, which was due to reduced frequency and severity of Raynaud attacks in comparison of placebo treatment.

Unfortunately there is no definite recommendation for the therapy with SLx-2101 used in patients with secondary Raynaud's disease that can be given due to the lack of significant results. Further multicenter trials with more statistical power might be able to demonstrate a significant benefit of SLx-2101.

## **2. Einleitung**

### **2.1. Morbus Raynaud**

#### **2.1.1. Definition und Einteilung**

Der Morbus Raynaud wird beschrieben als ein episodisch auftretender, durch Kälte oder emotionalen Stress ausgelöster ischämischer Vasospasmus der Digitalarterien (Baumhäkel und Böhm, 2010). Meist sind mehrere Langfinger, manchmal alle vollständig oder gliedweise betroffen. In der Regel finden sich keine Veränderungen proximal der Grundgelenke und selten an den Daumen. Bei ca. 20% der Patienten sind zusätzlich die Zehen betroffen, seltener treten Vasospasmen der Ohren, Nase oder Mamillen auf (Casparly und Creutzig 2006). Die Erkrankung ist nach ihrem Erstbeschreiber, dem französischen Arzt Maurice Raynaud (1834-1881) benannt und wird in eine primäre und eine sekundäre Form eingeteilt.

#### **2.1.2. Primäre Form**

Unter der primären Form des M. Raynaud versteht man eine rein funktionelle Störung der präkapillären Arteriolen. Charakterisiert ist sie durch einen symmetrischen Befall, das Fehlen von Gewebsnekrosen, Ulzerationen oder Gangrän. Die Krankheit tritt nicht im Gefolge einer Grunderkrankung auf. Die Gefäße weisen kapillarmikroskopisch keine Anomalien auf. Die Symptome der Erkrankung sind meist milde, und das mittlere Erkrankungsalter liegt bei ca. 14 Jahren (Wigley 2002). Die Inzidenz beträgt 3-5% in der allgemeinen Bevölkerung, wobei Frauen etwa fünfmal häufiger betroffen sind als Männer (Wigley 2002; Zeni und Ingegnoli 2004).

#### **2.1.3. Sekundäre Form**

Die primäre, idiopathische Form des Morbus Raynaud kann von der seltener auftretenden sekundären Form unterschieden werden. Man spricht hierbei auch von dem Raynaud-Syndrom, da die Erkrankung sekundär, im Rahmen einer anderen Grunderkrankung auftritt. Der Erkrankungsbeginn liegt hier meist im mittleren Alter. Frauen sind häufiger betroffen als Männer (Wigley 2002; Zeni und Ingegnoli 2004). Die korrespondierende Symptomatik der Raynaud-Attacken ist oftmals sehr stark, schmerzhaft und tritt meist asymmetrisch auf. Der ausgeprägte Vasospasmus kann bei der sekundären Form durch eine länger andauernde

Ischämie zu oberflächlichen Ulzerationen führen und in einigen Fällen kann daraus eine tiefe Gewebsnekrose mit Gangrän (Rattenbissphänomen) resultieren, die eine Amputation erforderlich machen kann.

In der Regel bestehen beim sekundären Raynaud-Syndrom organische Veränderungen der Digitalarterien aufgrund der verschiedenen Grunderkrankungen, z.B. Kollagenosen (Sklerodermie, Lupus Erythematodes, CREST), Vaskulitiden (M. Winiwarter- Buerger), Vibrationsschäden (Karpaltunnelsyndrom, Sudeck‘ Dystrophie), periphere arterielle Embolien-, und Verschußkrankheiten (pAVK). Darüber hinaus können auch verschiedene Medikamente bei der Entstehung eines Raynaud-Syndroms eine Rolle spielen (vergleiche Tabelle 1) (Creutzig et al. 1996; Bakst et al. 2008).

<b>Pharmaka als Trigger für Morbus Raynaud</b>
β-Blocker (z.B. Propranolol)
Ergotamine
Antidepressiva
Andere Psychopharmaka (z.B. Ritalin)
Dopaminerge Substanzen (z.B. Pramipexol)
Chemotherapeutika (Bleomycin, Cisplatin)
Interferon-α
Östrogene

**Tabelle 1:** Pharmaka, die einen Morbus Raynaud induzieren können

#### **2.1.4. Stadieneinteilung kapillarmikroskopischer Veränderungen am Beispiel Sklerodermie**

Unter den rheumatologischen Erkrankungen, ist die Sklerodermie eine Erkrankung bei der Patienten oft typische kapillarmikroskopische Veränderungen aufweisen. Zur besseren Verlaufsbeurteilung teilte man diese in verschiedene Stadien ein. Stadium I geht mit typischen frühen Veränderungen, wie fokalen Kapillarektasien und Einblutungen einher, wobei die

Kapillardichte noch normal ist und eine Ödem-Bildung möglich ist. Im Verlauf des Stadiums II kann sich vermehrt ein Begleitödem entwickeln, die Kapillardichte nimmt ab und es bilden sich zunehmend ektatische Kapillaren bis hin zur Megakapillare (vgl. Abbildung 1). Im Stadium III nehmen Megakapillaren, Deformierungen und Ödem-Bildungen zu, die Kapillardichte nimmt ab. Das Stadium IV weist nur noch wenige, überwiegend deformierte Kapillaren und ein ausgeprägtes Ödem auf, größere Abschnitte sind gefäßfrei (Carpentier et al. 1983).



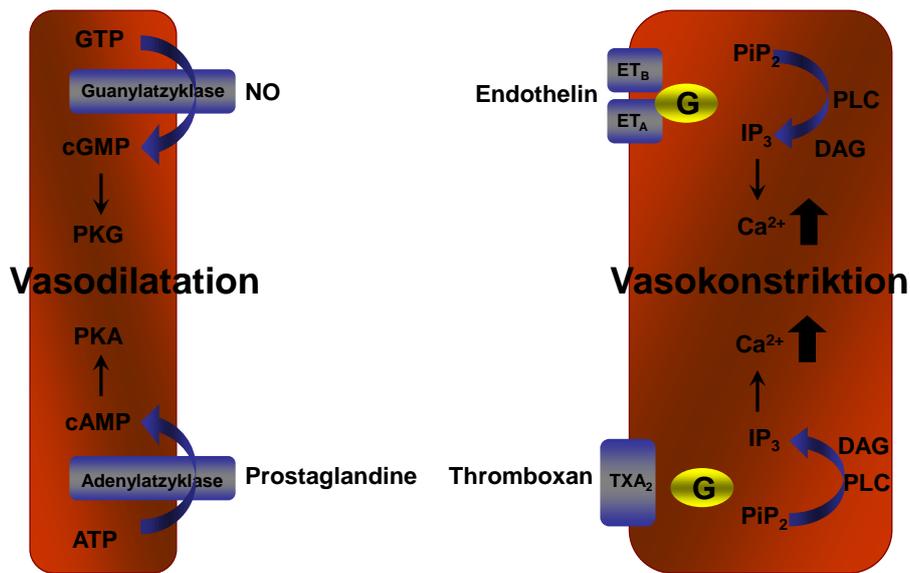
**Abbildung 1:** Mega-, oder Riesenkapillare, modifiziert nach Häntsch (Häntsch 2006)

Eine spätere Klassifizierung der morphologischen Veränderungen durch Cutolo et al. teilte die mikrovaskulären Veränderungen der systemischen Sklerodermie in drei typische Muster im Verlauf der Erkrankung ein. Ein „Frühes“ Muster, was durch einige erweiterte Kapillaren bzw. Riesenkapillaren, vereinzelte kapilläre Hämorrhagien, eine unauffällige Kapillarverteilung und keinem sicheren Kapillarverlust charakterisiert ist. Ein „Aktives“ Muster, wo sich viele Riesenkapillaren, viele kapilläre Hämorrhagien, vereinzelt Kapillarverlust, eine leicht veränderte Kapillaranordnung und wenige verzweigte Kapillaren finden. Das „Späte“ Muster ist charakterisiert durch eine irreguläre Erweiterung der Kapillaren, einige oder fehlende Riesenkapillaren und Hämorrhagien, schweren Kapillarverlust und avaskuläre Areale, sowie einer Desorganisation der Kapillaranordnung und Vorkommen von verzweigten Kapillaren und Kapillarbüschel (Cutolo et al. 2006).

Beim Systemischen Lupus Erythematoses (SLE) zeigen 35-60% der Patienten große, ektatische Kapillaren (Megakapillaren) zwischen normalen Schlingen, sowie segmentale Kaliberschwankungen und torquierte Kapillaren. Die seropositive Rheumatoide Arthritis zeichnet sich durch Gefäßverzweigungen und schießschartenartige Elongationen sowie eine deutlich granuläre Strömung aus (Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie).

## **2.2. Pathophysiologie des Morbus Raynaud**

Die Pathophysiologie des M. Raynaud ist bislang nicht vollständig geklärt. Maurice Raynaud nahm ursprünglich an, dass die kälteinduzierten, episodischen digitalen Ischämien sekundär aufgrund einer reflexartigen Sympathikus-gesteuerten Vasokonstriktion zustande kommen (Raynaud 1862). Aufgrund der, zumindest partiellen, Wirksamkeit einer pharmakologischen Blockade der Alpha-Rezeptoren bzw. einer chemisch-, oder chirurgischen Sympathektomie, die die Frequenz und den Schweregrad des M. Raynaud bei einigen Patienten positiv beeinflussen kann, könnte dieser Mechanismus vor allem dem primären Raynaud-Phänomen zu Grunde liegen (Harrison 2005). Bei der sekundären Form scheinen aktuelle Daten eher von einem Ungleichgewicht vasokonstriktorischer (Endothelin, Thromboxan) gegenüber vasodilatatorischer Komponenten (Stickstoffmonoxid, Prostaglandine) auszugehen (Kahaleh und Matucci-Cerinic 1995; Boin und Wigley 2005; Baumhäkel und Böhm 2010).



**Abbildung 2:** Dysbalance zwischen Vasokonstriktion und Vasodilatation bei Morbus Raynaud. Stickstoffmonoxid (NO) und Prostaglandine wirken über die Aktivierung der Adenylat,- oder Guanylatzyklase und Proteinkinase A/G vasodilatierend. Endothelin und Thromboxan bewirken eine Vasokonstriktion über G-Protein-gekoppelte-Rezeptoren. Bei Patienten mit sekundärem M. Raynaud liegt ein Ungleichgewicht zu Gunsten vasokonstriktorischer Substrate vor (Baumhäkel und Böhm 2010).

Bei Patienten mit Bindegewebserkrankungen, wie der systemischen Sklerodermie konnten signifikant höhere Endothelin-I-Plasmaspiegel nachgewiesen werden. Dieser potente Vasokonstriktor führt zu einer Kollagenvermehrung, dadurch zu einer zunehmend starken Fibrosierung des Bindegewebes, sowie strukturellen Gefäßveränderungen und spielt somit eine entscheidende Rolle bezüglich des Krankheitsverlaufes dieser Patienten (Rajagopalan et al. 2003). Demnach könnte die Hemmung von Endothelin-I-Rezeptoren die pathophysiologisch deletären Folgen des vaskulären Remodelings durch die Proliferation von glatten Muskelzellen und Fibroblasten als möglichen Behandlungsansatz bei Patienten mit systemischer Sklerodermie verhindern oder gar umkehren (Kirchengast und Munter 1999).

Eine weitere entscheidende Rolle bei der Pathogenese des M. Raynaud spielt Angiotensin II. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) reguliert den Gefäßtonus, wirkt sich aber auch auf den Gefäßumbau aus (Friedrich et al. 2006; Baumhäkel et al. 2008). Die genaue Wirkung des RAAS auf den Morbus Raynaud ist noch unklar, aber bei Patienten mit systemischer Sklerodermie sind erhöhte Angiotensin-II-Konzentrationen im Serum nachgewiesen worden, wodurch die Behandlung mit ACE-Hemmern oder Angiotensin-

Rezeptor-Antagonisten eine mögliche Therapieoption darstellen könnte (Kawaguchi et al. 2004).

Den Vasokonstriktoren stehen die Vasodilatoren, wie Prostaglandin oder Stickstoffmonoxid (NO) gegenüber. Wobei Prostaglandin nicht nur eine vasodilatierende Wirkung hat, sondern auch die Plättchenaggregation hemmt und chemotaktisch auf Leukozyten wirkt (Yardumian et al. 1986). Darüberhinaus erhöht es die fibrinolytische Aktivität, was einer zusätzlichen Gefäßverengung vorbeugt und daher bei Patienten mit sekundärem Raynaud-Syndrom eine wichtige Rolle spielt (Bertele et al. 1988). Die endotheliale Synthese von NO ist ein entscheidender Faktor bei den pathophysiologischen Mechanismen des M. Raynaud. Endogen und exogen wirkt NO als effektiver Vasodilatator über die Aktivierung der Guanylatzyklase mit erhöhter zyklischer Guanosinmonophosphat-Konzentration (cGMP). Die Dephosphorylierung der Myosin Leichtketten der glatten Gefäßmuskelzelle resultiert in einer Vasodilatation. Die NO-Synthese ist bei der sekundären Form des M. Raynaud geringer als bei der primären Form, was die pathophysiologische Bedeutung unterstreicht (Baumhäkel und Böhm 2010).

Neben den genannten molekularen Mechanismen der Vasokonstriktion, können auch thermische Effekte eine Rolle spielen. Patienten mit primärem Raynaud-Phänomen zeigten während einer Phase der Kälteeinwirkung ein erhöhtes Ansprechen der Gefäße auf  $\alpha_2$ -Adrenorezeptor-Antagonisten, Serotonin und Angiotensin II. Diese Effekte konnten durch Hinzugabe eines Tyrosinkinase-Inhibitors umgekehrt werden (Furspan et al. 2004). Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass die Phosphorylierung von Tyrosin durch die Kälteeinwirkung bei diesen Patienten erhöht ist. Darüberhinaus sind  $\alpha_2$ -Adrenorezeptoren wichtig bei der Thermoregulation und zeigen eine höhere Aktivität nach Kälteeinwirkung (Chotani et al. 2000). Zugrunde liegt eine kälteinduzierte Zunahme des rho/rho-Kinase-Signalweges mit daraus resultierender Translokation des  $\alpha_2$ -Adrenorezeptors an die Zellmembran (Bailey et al. 2004; Bailey et al. 2005). Man nimmt an, dass die vermehrte Expression dieses Rezeptors bei primärem Raynaud-Phänomen möglicherweise eine große Bedeutung unter Östrogen-Einwirkung hat. Dies ist wahrscheinlich auf die erhöhte Rezeptor-Translokation unter dem Östrogen-Einfluss zurückzuführen, was die Geschlechterverteilung mit hoher Prävalenz des primären Raynaud-Phänomens bei Frauen, das durchschnittliche

Eintrittsalter (ca. 14 Jahre) und die Abnahme der Erkrankung im höheren Lebensalter parallel zur Menopause erklären könnte (Baumhäkel und Böhm 2010).

### 2.3. Klinische Symptomatik

Das Vollbild der klinischen Symptomatik ist durch das „Trikolore Phänomen“ geprägt. Die ischämischen Attacken laufen in drei aufeinanderfolgenden Phasen ab: 1) Blässe, 2) Zyanose, 3) Hautrötung. Die Farbveränderungen sind üblicherweise gut demarkiert und auf Zehen und/oder Finger beschränkt. Typischerweise verfärben sich ein oder mehrere Finger weiß, wenn der Patient einer kalten Umgebung ausgesetzt ist oder einen kalten Gegenstand berührt. Das Abblassen resultiert aus einer Ischämie der Arteriolen im Bereich der Finger, -oder Zehengrundgelenke. Als Folge der Ischämie kommt es zu einer Hypoxie und gleichzeitig zu einer CO<sub>2</sub>-Anreicherung in den Kapillaren und Venolen, sodass sich hieraus eine Zyanose entwickelt. Kältegefühl, Taubheitsgefühl und Parästhesien der Finger begleiten die Phase der Weißverfärbung und Zyanose häufig. Als Reaktion hierauf versucht der Patient durch Reiben oder durch Wärmeeinwirkung den Prozess abzukürzen. Hierdurch können sich die digitalen Vasospasmen lösen. Nachfolgend kommt es zu einer postischämisch überschießenden Perfusion, die Durchblutung der dilatierten Arteriolen und Kapillaren steigt deutlich an. Diese „reaktive Hyperämie“ verursacht eine tiefrote Verfärbung der Finger und Zehen. Die hyperämische Phase löst beim Patienten häufig eine klopfende Schmerzwahrnehmung aus. Eine solche Raynaud-Attacke kann bis zu 60 Minuten andauern. Nicht jeder Patient durchläuft diese drei Phasen nach dem klassischen „Trikolore Phänomen“, insbesondere bei organisch fixierten Stenosen kann die reaktive Hyperämie fehlen (Harrison 2005).



**Abbildung 3:** Das Foto zeigt das typische Bild einer Raynaud-Attacke. Man sieht die Abblassung des distalen Digitus II der rechten und der linken Hand (eigenes Fotomaterial).

## **2.4. Therapie des Morbus Raynaud**

Die Therapieoptionen beim primären oder sekundären M. Raynaud sind nach wie vor unbefriedigend. Das größer werdende Verständnis für die pathophysiologischen Mechanismen der Erkrankung führte jedoch in den letzten Jahren zu neuen Therapieansätzen. Die Behandlung ist hauptsächlich abhängig von der Ätiologie der Raynaud Krankheit und daneben auch von individuellen Symptomen und dem Vorkommen von Ulzerationen. Sowohl bei der primären als auch bei der sekundären Form des M. Raynaud steht die Anpassung der Lebensumstände an erster Stelle. Ausreichende Körperwärmeisolation, das Vermeiden von Kälteexpositionen, das Absetzen möglicher vasokonstriktorisch wirkender Medikamente und Einstellen des Nikotinkonsums spielen eine wichtige Rolle und können schon eine wirksame Therapie sein, vor allem bei der primären Form des M. Raynaud (Fries et al. 2005). Beim sekundären Raynaud-Syndrom sind das Vermeiden der möglicherweise zu Grunde liegenden physikalischen oder chemischen Noxen sowie die Therapie der Grunderkrankung ausschlaggebend.

Im Hinblick auf die pathophysiologischen Vorgänge des M. Raynaud, basiert die medikamentöse Behandlung auf der vasomotorischen Regulation durch direkte Vasodilatoren (Nitrate, Calcium-Kanal-Blocker, Prostaglandine, PDE-V-Inhibitoren) und den Inhibitoren der Vasokonstriktion (Endothelin-Rezeptor-Antagonisten, Angiotensin-Rezeptor-Blocker,  $\alpha$ -Rezeptor-Blocker). Darüberhinaus können Substanzen, die die endotheliale Funktion verbessern (rho-Kinase-Inhibitoren, Statine) und die Interaktion mit der neuronalen Gefäßregulation (Serotonin-Reuptake-Inhibitoren), die Symptome verbessern (Baumhäkel und Böhm 2010).

Viele Medikamente, die zur Behandlung des M. Raynaud eingesetzt werden könnten sind für diese Indikation in Deutschland nicht zugelassen. Zugelassene Medikamente für den M. Raynaud, sind Nitrate, Calcium-Kanal-Blocker und Prostaglandine. Am besten etabliert haben sich hierunter die Calcium-Kanal-Blocker vom Dihydropyridintyp (Nifedipin-Typ) (Stosic-Grujicic et al. 2001). Neuere langwirksamere Substanzen vom Dihydropyridintyp (Felodipin, Amlodipin) scheinen im Vergleich zu Nifedipin besser verträglich zu sein bei vergleichbarer Wirksamkeit (Thompson und Pope 2005). Kardioselektive Calcium-Kanal-Blocker (Phenylalkylamin-Typ, Benzothiazepin-Typ) haben sich bei Patienten mit schwerem M. Raynaud als ineffektiv erwiesen (Kinney et al. 1982).

Die vasospasmolytische Wirkung von Nitratpräparaten ist vor allem im Bereich der Kupierung schwerer Raynaud-Attacken mit dem kurzwirksamen Glyceroltrinitrat etabliert. Die Wirksamkeit von Nitroglycerin in topischer Applikation als Salbe ist zwar gut belegt, aber aufgrund der oftmals auftretenden Nebenwirkungen (starke Kopfschmerzen und Blutdruckabfälle) nur limitiert anwendbar (Kleckner et al. 1951; Teh et al. 1995; Anderson et al. 2002). Prostaglandine (Alprostadil, Iloprost, Latanoprost) werden vorwiegend bei der fortgeschrittenen sekundären Form des M. Raynaud mit drohenden oder bereits eingetretenen Gewebnekrosen eingesetzt. Ihre Wirksamkeit ist beschrieben, jedoch gibt es kaum kontrollierte Studien (Marasini et al. 2004; Boin und Wigley 2005). Oral verfügbare Prostaglandine haben sich vor allem wegen ihrer intestinalen Nebenwirkungen nicht etablieren können. Weitere Substanzen, zu denen kleinere klinische Studien mit möglichen positiven Effekten vorliegen, die aber keine oder noch keine Zulassung zur Behandlung des M. Raynaud haben sind AT-II-Antagonisten (Losartan),  $\alpha$ 1-Rezeptor-Blocker (Prazosin) und Serotonin-Reuptake- Inhibitoren (Fluoxetin) (Wigley 2002; Wood und Ernst 2006).

Eine zuletzt ausreichend untersuchte Substanz ist der Endothelin-Rezeptor-Antagonist Bosentan. Studien mit Bosentan bei Sklerodermie-Patienten konnten ein signifikant geringeres Neuauftreten von digitalen Ulzerationen nachweisen. In einer randomisierten Multicenter-Studie, der RAPIDS-1-Studie (Randomized Placebo-controlled Investigation of Digital Ulcers in Scleroderma) aus dem Jahr 2004 mit 122 Probanden wurde der Effekt von Bosentan auf digitale Ulzerationen untersucht. Bei 48% der Probanden reduzierte sich die Anzahl der Ulzerationen während der 16-wöchigen Behandlungsphase mit Bosentan (Korn et al. 2004). Gestützt wird dieses Ergebnis durch eine jüngere Studie aus 2011, der RAPIDS-2-Studie. In dieser doppelblind, placebo-kontrollierten Multicenter-Studie wurden 188 Probanden mit systemischer Sklerodermie und mindestens einer digitalen Ulzeration behandelt. Es erfolgte eine 24-wöchige Behandlungsphase mit Bosentan oder Placebo. Ein Neuauftreten von digitalen Ulzerationen konnte unter Bosentan im Vergleich zu Placebo um bis zu 30% gesenkt werden (Matucci-Cerinic et al. 2011). Ein positiver Effekt auf bestehende Ulzerationen konnte jedoch nicht gezeigt werden.

Seit etwa zehn Jahren werden Substanzen aus der Gruppe der Phosphodiesterase-V-Inhibitoren (PDE-V-Inhibitoren) als optionale Therapie bei der Behandlung des M. Raynaud

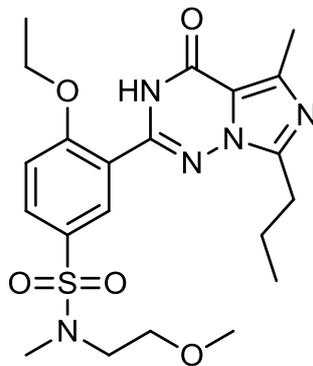
eingesetzt. Jedoch liegt für keine Substanz eine Zulassung vor. PDE-V-Inhibitoren vermitteln durch Akkumulation von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) in der glatten Gefäßmuskelzelle einen vasodilatatorischen Effekt. In der Behandlung der erektilen Dysfunktion und pulmonalen Hypertonie haben sich PDE-V-Inhibitoren bereits etabliert und sind für diese Indikationen zugelassen (Goldstein et al. 1998; Ghofrani et al. 2002). Aufgrund der vasodilatatorischen Eigenschaften (Sebkhi et al. 2003) und der beschriebenen antiproliferativen Effekte (Takimoto et al. 2005), könnte der Einsatz von PDE-V-Inhibitoren, gerade bei Patienten mit sekundärem Raynaud-Syndrom vielversprechend sein. Die aktuell verfügbaren Substanzen Sildenafil, Tadalafil und Vardenafil sind in verschiedenen Studien und Fallberichten bei Patienten mit primärem und sekundärem M. Raynaud eingesetzt worden. In einigen dieser Berichte wurde die Verwendung von PDE-V-Inhibitoren bei Patienten, vorzugsweise solche mit sekundärem Raynaud-Syndrom, mit einer symptomatischen Verbesserung, Heilung der Ulzerationen und objektiven Verbesserung des Blutflusses assoziiert (Lichtenstein 2003; Rosenkranz et al. 2003; Kropman 2004; Kumana et al. 2004; Baumhäkel et al. 2005; Colglazier et al. 2005; Fries et al. 2005; Gore und Silver 2005; Yung et al. 2005; Caglayan et al. 2006). Da es kaum therapeutische Optionen in der Behandlung des M. Raynaud gibt, ist es besonders wichtig den Betroffenen eine neue, effektive Therapie anbieten zu können.

## **2.5. Untersuchte Substanz (SLx-2101)**

SLx-2101 ist ein wirksamer, selektiver PDE-V-Inhibitor. Es handelt sich um ein Molekül mit einem Molekulargewicht von 463,5 g/mol. Der chemische Name lautet 4-ethoxy-N-(2-methoxyethyl)-N-methyl-3-(5-methyl-4-oxo-7-propyl-3,4-dihydroimidazo[1,5-f][1,2,4]triazin-2-yl)benzenesulfonamide. Pharmakologische Studien zeigen, dass SLx-2101 *in vivo* zu dem langlebigen Metaboliten M1 (SLx-2081) verstoffwechselt wird, welcher ebenso ein wirksamer, selektiver PDE-V-Inhibitor ist, jedoch einen späteren Wirkungseintritt und eine längere Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) als SLx-2101 aufweist (nicht veröffentlichte Daten aus interner Kommunikation). Die Phosphodiesterase-V ist spezifisch für das zyklische Guanosinmonophosphat (cGMP) und für dessen Abbau verantwortlich. SLx-2101 als potenter, selektiver Hemmstoff der PDE-V, führt zu einer Kumulation von cGMP in der Gefäßmuskelzelle und somit zu einer Vasodilatation. Ein Teil des physiologischen Prozesses der Gefäßdilatation beinhaltet die Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) aus den Endothelzellen in die glatte Gefäßmuskelzelle. Dadurch wird das Enzym Guanylatzyklase

aktiviert, welches durch die Umwandlung von Guanosintriphosphat (GTP) in zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) dessen Ausschüttung erhöht. So wird eine Muskelentspannung ausgelöst, die einen besseren Blutfluss ermöglicht.

Aus nicht-klinischen Studien geht hervor, dass SLx-2101 und SLx-2081 eine gleichstarke Wirksamkeit verglichen mit Vardenafil, jedoch eine stärkere Inhibition der PDE-V verglichen mit Sildenafil und Tadalafil hervorrufen. Hinzu kommt die hohe Spezifität von SLx-2101 und SLx-2081 gegenüber PDE-V, verglichen mit anderen PDE-Inhibitoren. Zudem bewirkten SLx-2101 und SLx-2081 höhere cGMP-Spiegel im Vergleich zu Sildenafil. Sogar mit einer geringeren effektiven Plasmakonzentration ( $E_{50}$ ) konnten die untersuchte Substanz sowie der Metabolit höhere cGMP-Spiegel hervorrufen als Sildenafil (nicht veröffentlichte Daten aus interner Kommunikation).



**Abbildung 4:** Strukturformel SLx-2101 (eigenes Material)

## 2.6. SLx-2101-Pharmakokinetik

Pharmakologische Studien sowohl mit Nagetieren, als auch mit Hunden haben gezeigt, dass SLx-2101 rasch resorbiert wird. Der maximale Plasmaspiegel wird im Mittel 60 Minuten nach oraler Gabe im nüchternen Zustand erreicht. Die Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) beträgt ca. neun Stunden. SLx-2101 wird überwiegend hepatisch zu dem wirksamen Metaboliten SLx-2081 verstoffwechselt. Die  $t_{1/2}$  von SLx-2081 beträgt im Vergleich ca. 9,5 Stunden. Somit wird eine noch länger andauernde Wirkung bereitgestellt. Die Plasma-Protein-Bindung der beiden Moleküle beträgt 95-97%. Die Ausscheidung von SLx-2101 erfolgt zu 80-92% durch fäkale Elimination, der Rest über renale Ausscheidung. Die Haupteelimination erfolgt innerhalb der ersten 24 Stunden und ist im Wesentlichen 48 Stunden nach Einnahme der Substanz beendet.

Sowohl SLx-2101 als auch seinem Metaboliten M1 konnte in vitro keine signifikante Cytochrom-P450-Isoenzym-Inhibition nachgewiesen werden. In toxiko-kinetischen Studien an Nagetieren und Hunden zeigte sich bei täglicher Einnahme über 14 Tage keine Akkumulation in Augen oder Haut, sowie sonstiger Akkumulation von SLx-2101 und SLx-2081 im Körper (nicht veröffentlichte Daten aus interner Kommunikation).

## **2.7. Dosisfindung und Verträglichkeit**

SLx-2101 ist ein PDE-V-Inhibitor, der bereits Wirksamkeit in der Behandlung der erektilen Dysfunktion in einer Phase IIa-Studie gezeigt hat. Hierbei wurden Einzeldosen von 5-60 mg untersucht. Vorausgehende Daten konnten nach 48 Stunden mit einer Einzeldosis von 10 mg eine Verbesserung der erektilen Funktion darlegen. SLx-2101 zeigte ein sehr akzeptables Sicherheits-, und Verträglichkeitsprofil in insgesamt drei Studien. Es handelte sich um zwei Studien mit gesunden Probanden und eine Phase IIa-Studie mit Probanden, die an erektiler Dysfunktion litten. Diese Studien prüften Einzeldosen bis 80 mg und Wiederholungs-dosen von weiteren 20 mg. Die Dauer der pharmakodynamischen Aktivität von SLx-2101 bei diesen Studien, verglichen mit der Wirksamkeit von Vardenafil, bestätigte bei einer Halbwertszeit ( $t_{1/2}$ ) von circa neun Stunden, ein wirksames pharmakodynamisches Profil bei der täglichen Einmalgabe. Diese Ergebnisse stützen weitere Untersuchungen mit SLx-2101 als tägliche Einmalmedikation für die mögliche Behandlung des Morbus Raynaud. Vorherige Studien mit PDE-V-Inhibitoren, wie Sildenafil und Vardenafil, zeigten eine Wirksamkeit in kleinen Kurzzeit-Studien, bei einer täglichen Zweimalgabe, wobei die Behandlung als Einmalgabe bei längerer Therapiedauer zu bevorzugen wäre (Hatzimouratidis und Hatzichristou 2008).

Vorversuche zur Evaluation der Dosisfindung der Substanz SLx-2101 wurden an Ratten und Hunden durchgeführt. Hierbei konnten bei einer einmalig hochdosierten Gabe von 100-200 mg/kg Körpergewicht keine unerwünschten Nebenwirkungen dokumentiert werden. Wobei diese Dosierung annäherungsweise der 50-fachen maximalen geplanten Dosis in der vorliegenden klinischen Studie entsprach (nicht publizierte Daten, interne Kommunikation).

Weitere Versuche wurden nach einer einmaligen Gabe von 50 mg/kg Körpergewicht SLx-2101 an normotensiven und spontan hypertensiven Ratten durchgeführt. Bei normotensiven Ratten beobachtete man nur einen milden Abfall des mittleren arteriellen Blutdrucks, die spontan hypertensiven Ratten zeigten in gleicher Dosierung im Gegensatz einen signifikanten Blutdruckabfall (nicht publizierte Daten, interne Kommunikation). Schließlich wurde in einer

14-tägigen Studie mit Ratten und Hunden die wiederholte Gabe von SLx-2101 untersucht. Bei wiederholter täglicher Gabe von 5-25 mg/kg Körpergewicht in beiden Spezies wurden akute hämodynamische Effekte bei Hunden beurteilt. Die Herzfrequenz, der Blutdruck und das EKG wurden über sechs Stunden nach Substanzeinnahme gemessen. SLx-2101 zeigte bei 0.1, 1.0, 5.0, 7.5, und 10 mg/kg Körpergewicht keine akuten Effekt auf die Hämodynamik (nicht publizierte Daten, interne Kommunikation).

Ausgehend von den Ergebnissen nicht-klinischer Studien zur Toxikologie und Pharmakologie zeigte sich, dass eine SLx-2101 Dosis von 5 bis 20 mg für den Menschen ungefährlich ist und auch wiederholte tägliche Applikation nicht zur Kumulation führt.

## 2.8. Isoenzym-Selektivität SLx-2101 im Vergleich zu anderen PDE-V-Inhibitoren

Die Selektivität von SLx-2101 sowie des Metaboliten SLx-2081 auf die Isoformen der Phosphodiesterase sind im Vergleich zu den bereits verfügbaren Substanzen in Tabelle 2 dargestellt. Diese Daten weisen daraufhin, dass SLx-2101 und sein M1 Metabolit SLx-2081, sehr wirksame Inhibitoren der PDE-V sind und mit der Selektivität von Vardenafil und Sildenafil vergleichbar sind. Wie die Tabelle 2 zeigt, ist die Selektivität der PDE-Inhibitoren unterschiedlich ausgeprägt. Aufgrund der geringen Selektivität von SLx-2101 bezüglich der Phosphodiesterase VI, die hauptsächlich retinal exprimiert wird, erfolgten in der vorliegenden Studie ophthalmologische Kontrolluntersuchungen der Probanden.

Substanz	PDE-V IC <sub>50</sub> (nM)	Isoenzym Selektivität (PDE-V IC <sub>50</sub> )					
		PDE-I	PDE-II	PDE-III	PDE-IV	PDE-VI	PDE-XIa
SLx-2101	0.21	>66	>16.000	>5.000	>5.000	>13	>1.300
SLx-2081	0.24	>115	>3.500	>4.200	>1.150	>17	>850
Vardenafil	0.21	>115	>70.000	~3.000	>5.000	>16	>1.900
Sildenafil	1.2	>75	>80.000	>5.000	>3.700	~30	>4.500
Tadalafil	5	>10.000	>10.000	>10.000	>10.000	>700	~14

**Tabelle 2:** Isoenzym-Selektivität verschiedener PDE-V-Inhibitoren

## **2.9. Ziel der Arbeit**

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, im Rahmen einer monozentrischen Pilotstudie, die Wirksamkeit und Verträglichkeit des PDE-V-Inhibitors SLx-2101 bei der Behandlung des sekundären M. Raynaud zu untersuchen.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1. Ziele der Studie**

Die vorliegende Arbeit untersuchte in einer randomisierten, doppelblind, placebo-kontrollierten, cross-over Pilot-Studie die Sicherheit, Verträglichkeit und das pharmakokinetische Profil von SLx-2101 bei Patienten mit sekundärem Morbus Raynaud. Das primäre Studienziel war die Beurteilung des Schweregrades der Raynaud-Attacken während der 14-tägigen Einnahmezeit von SLx-2101. Das sekundäre Studienziel waren die Untersuchung der Häufigkeit und Gesamtdauer der Raynaud-Attacken, des kapillären Blutflusses, der Änderung des pulmonal arteriellen systolischen Drucks (PASP), die Wirkung von SLx-2101 auf verschiedene Entzündungsparameter (CRP, IL-6), den Herzinsuffizienzmarker natriuretisches Peptid Typ B (BNP), sowie des pharmakokinetischen Profils und die Untersuchung der Sicherheit und Verträglichkeit von SLx-2101.

### **3.2. Endpunkte der Studie**

Der primäre Endpunkt der Studie, der Raynaud Condition Score, wurde in ausgehändigten Tagebüchern anhand einer Analogskala ausgewertet (0-10 Punkte), wobei 0 Punkte zeigten, dass die Attacke asymptomatisch war und 10 Punkte eine extreme Einschränkung während einer Attacke, wie z.B. Schmerzen, eingeschränkte Beweglichkeit und Missempfinden ausdrückten (vgl. Abbildung 5) (Merkel et al. 2002). Sekundäre Endpunkte waren Anzahl und Gesamtdauer der Raynaud-Attacken, unerwünschte Ereignisse (Adverse Events), Änderungen der Vitalparameter, die kapilläre Flussmessung, pharmakokinetische Parameter, der PASP und die Inflammationsparameter C-reaktives Protein-, und Interleukin-6, sowie des Herzinsuffizienzmarkers BNP.



spontanen Amenorrhö mit Werten des Follikelstimulierenden Hormons (FSH)  $>40$  mIU/ml und Östradiol-Werten (E2) von  $<25$  pg/ml

- bei fertilen Frauen sollte vor und während der Studie eine ausreichende Kontrazeption durch hormonellen Schutz (oral, Depot oder Implantat) und zusätzlich durch Präservativ oder Spermizide gegeben sein
- die handsignierte Einverständniserklärung vor Beginn studienbezogener Prozeduren
- Body-Maß-Index (BMI)  $17-30$  kg/m<sup>2</sup>
- nicht pathologisches 12-Kanal-EKG
- Ausschluss eines Drogen-Abusus anhand einer Urin-Analyse
- Möglichkeit des Verzichts auf vasoaktive Medikamente, wie Calcium-Kanal-Blocker oder Nitrate von mindestens einer Woche vor Studienbeginn bis zum Studienende
- Ausschluss einer Hepatitis B,- C oder HIV-Infektion
- die Verfügbarkeit der Probanden zu Untersuchungen im Rahmen der Studie

#### **3.3.1.2. Ausschlusskriterien:**

- vorangegangene oder aktuelle Erkrankungen die studienrelevante Prozeduren behindern, die Sicherheit beeinträchtigen oder sich auf die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Messungen auswirken könnten
- eine arterielle Hypertonie (SBP  $\geq 160$  mmHg und DBP  $\geq 100$  mmHg) oder eine arterielle Hypotonie (SBP  $<95$  mmHg und DBP  $<45$  mmHg)
- eine Hypersensibilität gegenüber der Substanz SLx-2101 oder sonstiger Bestandteile
- die Beeinträchtigung der Leberfunktion, entsprechend Child-Pugh-Klassifikation Grad B oder C oder die 1,5 fache Erhöhung der allgemeingültigen Referenzwerte der Transaminasen
- ein Alkoholabusus (maximaler, wöchentlicher Alkoholkonsum von mehr als 210 mg oder täglich mehr als 30 mg für Männer und mehr als 20 mg für Frauen)
- eine vergangene oder aktuelle Funktionsstörung des Gastrointestinaltraktes, der Leber oder Nieren (Serumkreatinin  $>2.0$  mg/dl) oder andere Bedingungen, die Absorption, Verteilung, Metabolismus oder Ausscheidung von Medikamenten stören könnten
- ein Myokardinfarkt innerhalb der letzten 12 Monaten
- fehlende Absetzbarkeit vasoaktiver Medikamente (z.B. Calcium-Kanal-Blocker oder Nitrate), potenter CYP3A4-Inhibitoren (z.B. Ketoconazol, Itraconazol und Ritonavir)

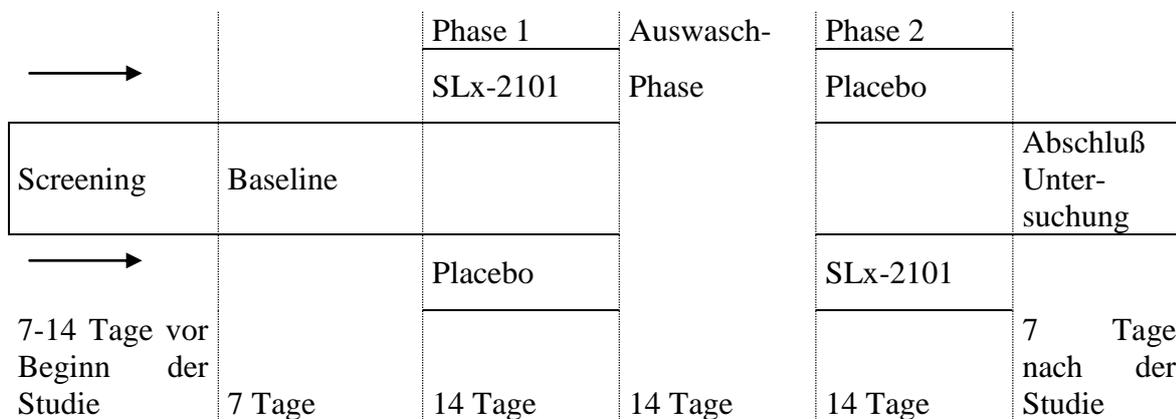
oder CYP3A4-Agonisten (z.B. Bosentan, Carbamazepin, Phenytoin, Phenobarbital und Rifampicin)

- die Einnahme von selektiven Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren (SSRI)
- ein Verlust des Sehvermögens mit vaskulärer Ursache in Vergangenheit oder Gegenwart
- Schwangere oder stillende Probandinnen
- die Teilnahme an einer anderen klinischen Medikamentenstudie innerhalb der letzten dreißig Tage vor Beginn der Studie mit SLx-2101

### 3.4. Studien Design

#### 3.4.1. Allgemeiner Ablauf

Die Studie wurde im Studienzentrum der Klinik für Innere Medizin III (Kardiologie, Angiologie und Internistische Intensivmedizin) des Universitätsklinikums des Saarlandes durchgeführt.



**Abbildung 6:** Studien-Design

Die Probanden durchliefen je zwei Studienphasen von jeweils 14 Tagen. Die Einnahmephasen waren durch eine Auswasch-Phase von mindestens 14 Tagen voneinander getrennt. In den Einnahmephasen nahmen die Probanden entweder 10 mg SLx-2101 täglich oder Placebo in der ersten Phase ein und entsprechend umgekehrt in der zweiten Phase. Nach Beendigung der zweiten Einnahmephase, wurde die Studie mit einer Abschlussuntersuchung

innerhalb von sieben Tagen nach Studienende beendet. Das Patienten-Screening fand 7-14 Tage vor der ersten Medikamentengabe statt. Eingeschlossenen Probanden wurde am Tag des Screenings ein Tagebuch ausgehändigt. Hierin wurde die Raynaud-Condition-Score (Dauer, Häufigkeit und Schweregrad der Raynaud- Attacken) 7 Tage lang, bis zu Beginn der Studie, dokumentiert (Baseline Tag -7 bis Tag -1).

### **3.4.2. Behandlungsphasen**

Die Probanden wurden zum Screening und an Tag 1, 7 und 14 beider Behandlungsphasen im Studienzentrum untersucht. Die nachstehende Tabelle 3 zeigt eine Übersicht der durchgeführten Maßnahmen an den unterschiedlichen Studien-Tagen.

Studienuntersuchungen	Screening <sup>a</sup>	Phasen 1 and 2					Abschluss- untersuchung <sup>f</sup>
		Tag 1	Tag 4	Tag 7	Tag 10	Tag 14	
Einverständniserklärung	X						
Med. Vorgeschichte und Zustand	X						
Körperliche Untersuchung <sup>i</sup>	X <sup>i</sup>						X <sup>i</sup>
Herkunft	X						
Körpergewicht	X						X
Größe	X						
SLx-2101/Placebo-Gabe		X	X	X	X	X	
Kapillarmikroskopie		X				X	
Raynaud Condition Score	X <sup>b</sup>	X		X		X	
Vitalparameter <sup>g</sup>	X	X		X		X	X
PASP	X	X		X		X	X
12-Kanal EKG	X <sup>c</sup>	X		X		X	X
Klinische Chemie Hämatologie und Urinalyse <sup>d</sup>	X	X <sup>d</sup>		X <sup>d</sup>		X <sup>d</sup>	X <sup>d</sup>
FSH, E2 <sup>h</sup>	X						
Pharmakokinetische Proben		X <sup>e</sup>		X		X <sup>e</sup>	
CRP, IL-6, BNP		X				X	
Schwangerschafts-Test	X	X					X
Adverse Events		X	X	X	X	X	X
Begleitmedikation erfragen	X	X	X	X	X	X	X
Telefonvisite			X		X		

**Tabelle 3:** Die Tabelle zeigt an welchen Studientage die verschiedenen Untersuchungen und Maßnahmen erfolgten. a: Screening innerhalb 7 - 14 Tage vor Beginn der Studie, b: Baseline für 7 Tage vor Beginn der Studie, c: EKG: drei Ausdrücke innerhalb 5 Min. nur bei Screening, d: Urinalyse nur bei Screening, e: Proben vor Medikamentengabe, 1, 2, und 4 Stunden nach Med.-Gabe, f: Abschlussuntersuchung ab 7 Tage nach der letzten Medikamentengabe, g: Blutdruck und Herzfrequenz, h: für postmenopausale Frauen, i: ophthalmologische Untersuchung: Sehstärke, Farbsehen und Gesichtsfeld- Test; Wiederholung der Untersuchung, wie erforderlich zusätzlich zu Screening und zur Abschlussuntersuchung

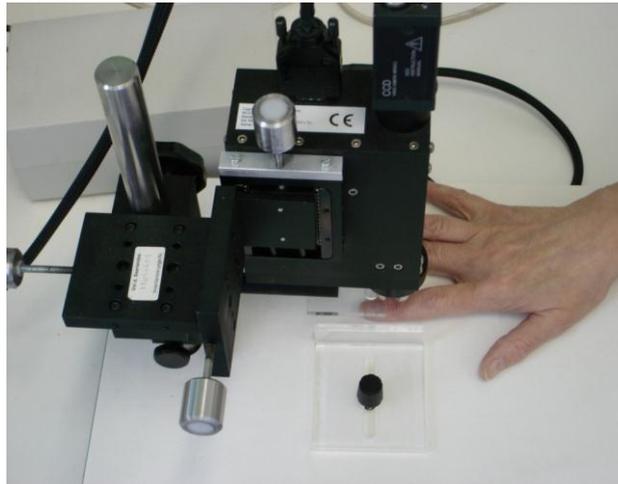
## 3.5. Untersuchungen

### 3.5.1. Kapillarmikroskopie

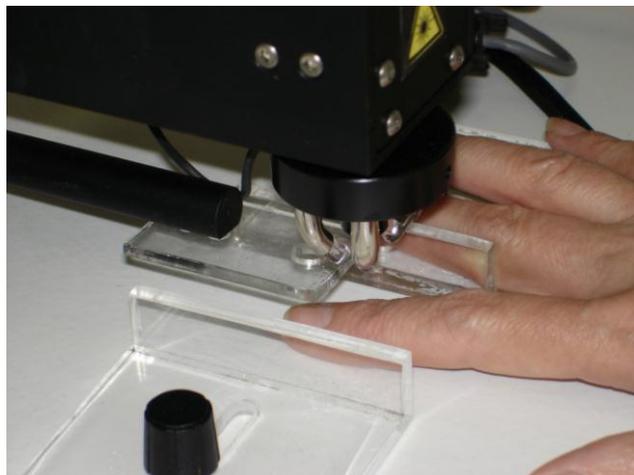
Um mögliche Effekte von SLx-2101 auf die Vasoreagibilität zu untersuchen, wurde die Geschwindigkeit des Blutflusses in Kapillaren der Nagelfalz mittels eines Laser Dopplers gemessen. Die Kapillaren konnten mit Hilfe eines digitalen Kapillarmikroskops ca. 400 fach vergrößert auf dem Bildschirm wiedergegeben werden. Bei dem Kapillarmikroskop handelte es sich um ein Laser Doppler Anemometer (vgl. Abb. 8,9). Das Gerät stellt mit einer 1.5 mW, 780 nm Laser Diode einen  $5 \times 10 \mu\text{m}$  elliptischen Punkt scharf ein. Unter Betrachtung einer Charge Coupled Device (CCD) Kamera, konnte der Laserstrahl auf eine einzige Kapillare positioniert werden (vgl. Abbildung 7). Die Dopplerfrequenzverschiebung des reflektierten Laserstrahls wurde mittels einer speziellen Software in die erforderliche Kapillarflußgeschwindigkeit umformatiert.



**Abbildung 7:** Die Abbildung zeigt einige Nagelfalzkapillaren in der Ansicht durch ein Kapillarmikroskop (eigenes Fotomaterial)



**Abbildung 8:** Die Abbildung zeigt ein Kapillarmikroskop im Einsatz am Patienten (eigenes Fotomaterial)



**Abbildung 9:** Die Abbildung zeigt ein Kapillarmikroskop im Einsatz am Patienten (eigenes Fotomaterial)

Zu Beginn der Studie wurden bei jedem Probanden fünf Kapillaren vergleichbarer Breite (10-15  $\mu\text{m}$ ) an zwei verschiedenen Fingern einer Hand ausgewählt. Die Lokalisation jeder Kapillare wurde elektronisch dokumentiert, so dass eine spätere Identifikation aller fünf Kapillaren aufgrund ihrer signifikanten Form und Umgebung möglich war. Der Blutfluss in der einzelnen Kapillare wurde fünf Minuten gemessen und aufgezeichnet.

Während der Messung lieferte ein akustisches Signal des Dopplers die exakte Position des Lasers. Das CAM-1 Laser Anemometer System errechnete die maximale, minimale sowie die durchschnittliche Flussgeschwindigkeiten. Falsche Positionen des Laserstrahls, zum Beispiel durch unabsichtliche Bewegungen des Patienten wurden sofort durch Verklingen des

Dopplersignals wahrgenommen, in der Aufnahme aufgezeichnet und in der abschließenden Doppleranalyse nicht berücksichtigt.

Alle Flussmessungen wurden in einem ruhigen, auf Raumtemperatur (ca. 22 °C) regulierten Zimmer am sitzenden Patienten durchgeführt. Um unter gleichbleibenden Temperaturverhältnissen messen zu können, wurde die zu messende Hand mit Hilfe eines Heizkissens stets auf 31-32 °C temperiert. Hierdurch wurden temperaturabhängige Schwankungen der Kapillaren minimiert. Der Blutfluss wurde als Durchschnitt des Flusses in den fünf Kapillaren bewertet. Diese Untersuchung wurde an Tag 1 und 14 vor Medikamenteneinnahme und zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme durchgeführt.

### **3.5.2. Pulmonal Arterieller Druck**

Eine mögliche pharmakodynamische Wirkung auf den pulmonalarteriellen systolischen Blutdruck (PASP) wurde mittels einer transthorakalen Echokardiographie untersucht. Das trikuspidale Regurgitations-Volumen wurde dabei mit dem kontinuierlichen Wellen-Modus (2.5 MHz Signalumwandler) anhand der vereinfachten Bernoulli-Gleichung im Vier-Kammer-Blick bestimmt. Der Wert des höchsten Flusses wurde hierbei als Näherungswert des rechtsventikulären und damit pulmonalarteriellen Druckes bestimmt und dokumentiert.

Diese Untersuchung wurde am Screening-Tag, an Tag 1, 7, 14 vor Medikamenteneinnahme und bei der Abschlussuntersuchung durchgeführt.

### **3.5.3. Laborbestimmungen**

Es erfolgten Blutuntersuchungen für klinische Chemie und Hämatologie am Screening-Tag, vor der Medikamenteneinnahme an den Tagen 1, 7 und 14 beider Behandlungsphasen und bei der Abschlussuntersuchung. Die Blutproben wurden unmittelbar nach Entnahme am Probanden zur Analyse in das klinikeigene Zentrallabor gebracht und anhand lokal verwendeter Referenzwerte ausgewertet. Während der ganzen Studie wurde den Probanden insgesamt etwa 150 ml Blut entnommen. Im Ermessen des Studienarztes konnten weitere Blutentnahmen erfolgen. Die folgende Tabelle 4 zeigt, welche Parameter im Einzelnen in den Laboruntersuchungen bestimmt wurden.

<b>Entnahme-Behältnis und Laboruntersuchung</b>	<b>4,7-ml-Lithium-Heparin-Monovette Klinische Chemie</b>	<b>2,7-ml-EDTA-Monovette Hämatologie</b>
<b>Untersuchte Parameter</b>	Natrium	Differentialblutbild (Automat/Mikroskop)
	Kalium	Hämoglobin
	Chlorid	Hämatokrit
	Calcium	Thrombozyten
	Kreatinin	Leukozyten
	Harnstoff	Neutrophile Granulozyten
	Glucose	Eosinophile Granulozyten
	Creatinkinase (CK)	Basophile Granulozyten
	CK-MB	Lymphozyten
	ASAT (GOT)	Monozyten
	ALAT (GPT)	Retikulozyten
	Cholesterin	
	Triglyceride	
	HDL-Cholesterin	
	alkalische Phosphatase (AP)	
	Bilirubin (gesamt)	
	Eiweiß (Fe)	
	Albumin	
	Laktatdehydrogenase (LDH)	
	C-reakt. Protein (CRP)	
	Natriuretisches Peptid, Typ B (BNP)	

**Tabelle 4:** Untersuchte Laborparameter

### **3.5.4. Weitere Laboruntersuchungen**

Das Blut für die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Bestimmungen wurde in einer 4,7-ml-Serum-Monovette gesammelt. Unmittelbar nach der Entnahme wurde das Blut

zu Serum und Plasma zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma mit Hilfe einer Pipette in jeweils zwei Eppendorf-Gefäße umgefüllt, ein Original und ein Reserve-Gefäß. Dies ergab für einen Probanden zwei Gefäße vor Medikamenteneinnahme und sechs Gefäße nach Medikamenteneinnahme. Außerdem zwei Gefäße vor Medikamenteneinnahme zur späteren Bestimmung von IL-6. Anschließend wurden alle Gefäße in der Tiefkühltruhe bei -70°C aufbewahrt. Die Blutproben wurden zur pharmakokinetischen Analyse wurden auf Trockeneis über Nacht in das zuständige Labor versendet: FOCUS Clinical Drug Development GmbH, Stresemannallee 6, 41460, Neuss, Deutschland.

Nach Abschluss der Studie wurden die Plasmaproben zur quantitativen Bestimmung von IL-6 unter Verwendung des IMMULITE 2500 Systems herangezogen. IL-6 wurde als Inflammationsmarker im Serum der Probanden mit Hilfe eines sequentiellen Festphasen-Chemilumineszenz-immunometrischen Assays bestimmt.

Das Blut zur Bestimmung des Follikelstimulierenden Hormons (FSH), BNP, sowie das Blut zur Bestimmung der Hepatitis Serologie und des HI-Virus (HIV) wurden in eine 4,7-ml-Serum-Monovette am Probanden entnommen und im klinikeigenen Zentrallabor anhand lokal verwendeter Referenzwerte ausgewertet. FSH wurde nur bei prämenopausalen Frauen und nur einmal am Screening-Tag bestimmt. BNP wurde an den Tagen 1 und 14 beider Behandlungsphasen bestimmt. Die Hepatitis Serologie, sowie HIV wurde nur einmalig am Screening-Tag untersucht.

### **3.5.5. Urinuntersuchung**

Eine Probe des Mittelstrahlurins von 10-20 ml wurde nur am Screening-Tag zur Urinanalyse anhand von Urinsticks, zum Drogen-Screening zum Ausschluss eines Drogen,- Arzneimittel-Abusus, sowie einer Schwangerschaft gesammelt. Der Schwangerschaftstest wurde an Tag 1 beider Behandlungsphasen und am Tag der Abschlussuntersuchung wiederholt. Die übrigen klinischen Laboruntersuchungen wurden beim Screening, vor der Medikamenteneinnahme an Tag 1, 7 und 14 beider Behandlungsphasen und am Tag der Abschlussuntersuchung durchgeführt.

<b>Drogen-Screening</b>
Amphetamine
Barbiturate
Benzodiazepine
Kokain
Metamphetamin
Methadon
Opiate
Phencyclidin
Cannabis
Trizyklische Antidepressiva

**Tabelle 5:** Untersuchte Substanzen im Drogen-Screening

### **3.5.6. Körperliche Untersuchung, Vitalparameter, Elektrokardiogramm und ophthalmologische Untersuchung**

Zunächst erfolgte beim Screening und zur Abschlussuntersuchung eine orientierende klinische körperliche Untersuchung durch den Studienarzt. Die Vitalparameter (systolischer, diastolischer Blutdruck und Herzfrequenz) und das 12-Kanal EKG wurden am Patienten in Rückenlage, nach 20-minütiger Ruhephase durchgeführt. Die Untersuchung wurde am Screening-Tag, vor der Medikamentengabe an Tag 1, 7, 14 beider Phasen und eine, zwei und vier Stunden nach Medikamentengabe an Tag 1, 14 beider Phasen und bei der Abschlussuntersuchung durchgeführt. Das EKG wurde beim Screening zunächst dreimal innerhalb von fünf Minuten abgeleitet, außerdem vor Medikamenteneinnahme an Tag 1, 7, 14 beider Phasen, zwei Stunden nach Einnahme an Tag 1 und 14 beider Phasen und zur Abschlussuntersuchung. Aufgrund der möglichen Farbsehstörungen als Nebenwirkung der Substanz SLx-2101 durch eine nicht-selektive Hemmung der PDE-VI, wurde beim Screening, wenn erforderlich während der Studie und bei der Abschlussuntersuchung ein augenärztliches Konsilium durchgeführt. Dieses beinhaltete eine Augenuntersuchung, Prüfung der Sehstärke, des Farbsehvermögens und des Gesichtsfeldes. Die Untersuchung erfolgte in der Klinik für Ophthalmologie des Universitätsklinikums des Saarlandes.

### **3.6. Telefonische Visite**

Die Probanden erhielten zur Befragung ihres Befindens, eventueller Vorkommnisse, Unverträglichkeiten des Medikamentes oder eingenommener Begleitmedikamente an Tag 4 und 10 einen Telefonanruf durch den Studienarzt. Dies wurde anschließend im Studienordner (Case Report Form, CRF) dokumentiert.

### **3.7. Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events, AE)**

Um jegliche unvorhersehbaren Vorkommnisse oder Unverträglichkeiten (AE) des Studienmedikamentes feststellen zu können, wurden die Probanden während den Behandlungsphasen durch den Studienarzt und durch das Studienpersonal regelmäßig befragt und untersucht. Zur möglichst genauen Beaufsichtigung solcher Ereignisse dienten die Befragung der Probanden an Tag 1 und 14, eine, zwei und vier Stunden, sowie an Tag 7 nach Einnahme der Medikamente, wie auch die Telefonvisite an Tag 4 und 10. Außerdem ließ sich die Sicherheit der Probanden während der Studie anhand der Blutdruck,- und Pulskontrollen, sowie durch EKG und die Laborbestimmung der Blutwerte an den Behandlungstagen kontrollieren. Zudem wurden die Probanden darauf hingewiesen jedes Zeichen oder Symptom einer Unverträglichkeit sofort zu melden. Generell wurde die Sicherheit der Probanden an Schweregrad, Dauer der unerwünschten Ereignisse und deren möglicher Zusammenhang mit der Studienmedikation bemessen.

Jede Art von unerwünschten Ereignissen (AE) und ihr möglicher Zusammenhang mit der Studienmedikation, wurden dokumentiert: Zeichen und Symptome, die genaue Zeit des Ereignisses, die Dauer, eventuelle Behandlung und Kontroll-Untersuchungen.

Unter Adverse Events wurden in diesem Zusammenhang alle unvorhersehbaren medizinischen Ereignisse während der Studie verstanden, die nach Einnahme des zu untersuchenden medizinischen Produktes SLx-2101 bei einem Probanden auftraten. Dabei musste kein zwingender Zusammenhang zwischen dem Ereignis und dem Medikament bestanden haben. Ein solches Ereignis konnte daher jedes ungünstige und/oder unbeabsichtigte Zeichen sein, auch Labor-Abweichungen, Symptome oder Krankheit, die temporär in Verbindung mit dem medizinischen Produkt zu bringen waren. Zu den schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse (serious adverse events, SAE) zählten

definitionsgemäß lebensbedrohliche Vorkommnisse und Unverträglichkeiten, die eine längere Hospitalisierung des Probanden erforderlich machen und in andauernder oder signifikanter gesundheitlicher Einschränkung resultieren können. Hierbei musste jedes schwerwiegende Ereignis, welches während der Studie oder 30 Tage nach der letzten Medikationseinnahme auftrat, umgehend innerhalb von 24 Stunden dem Studiensponsor mitgeteilt werden.

Alle unerwünschten Ereignisse wurden in Schweregrad und möglichem Zusammenhang mit der Studienmedikation wie folgt durch den Studienarzt ausgewertet und eingeteilt.

<b>Schweregrad</b>	<b>Beschreibung</b>
Mild	Erleben von Symptomen und Zeichen, leicht tolerierbar
Mäßig	Unwohlsein mit der Möglichkeit zur Linderung des Symptoms, hält aber nicht von täglichen Tätigkeiten ab
Ernst	Unfähigkeit gewöhnliche Arbeit zu verrichten

<b>Zusammenhang</b>	<b>Beschreibung</b>
Sicher	Es gibt den Beweis der Beteiligung der Studienmedikation, z.B. eine verlässliche Berichterstattung oder Bewertung; der zeitliche Auftritt des Ereignisses zur Medikamenteneinnahme ist zusammenhängend; das Ereignis ist am ehesten mit der Behandlung zu begründen; das Ereignis zeigt ein Muster, welches zu dem passt, was man über Nebenwirkungen der Studienmedikation kennt
Wahrscheinlich	Es gibt den Beweis der Beteiligung der Studienmedikation, z.B. verlässliche Berichterstattung oder Bewertung; der zeitliche Auftritt des Ereignisses zur Medikamenteneinnahme ist zusammenhängend; das Ereignis ist am ehesten mit der Behandlung zu begründen
Möglicherweise	Es gibt den Beweis der Beteiligung der Studienmedikation, z.B. verlässliche Berichterstattung oder Bewertung; der zeitliche Auftritt des Ereignisses und die Medikamenteneinnahme ist zusammenhängend; das Ereignis könnte auch möglicherweise anders begründet sein

Wahrscheinlich

nicht

Es gibt den Beweis der Beteiligung der Studienmedikation, z.B. verlässliche Berichterstattung oder Bewertung; das Ereignis ist am ehesten anders zu begründen

Sicher nicht

Der Proband hat die Studienmedikation nicht eingenommen; der zeitliche Auftritt des Ereignisses zur Medikamenteneinnahme ist nicht zusammenhängend; es gibt offensichtlich einen anderen Grund für das Ereignis.

### **3.8. Abbruchkriterien**

#### **3.8.1. Zugelassene Kriterien des Studienabbruchs:**

- die Forderung des Probanden, von der Studie ausgeschlossen zu werden
- intolerable Unverträglichkeiten
- klinisch relevante Abweichungen der Laborparameter oder EKG-Veränderungen im Ermessen des Studienarztes
- die Indikation für eine medikamentöse Therapie, die laut Studienprotokoll nicht zulässig ist
- Fehlende Compliance des Probanden gegenüber dem Protokoll

Bei Abbruch der Studie auf eigenen Wunsch, wurde im Rahmen der letzten durchgeführten Visite eine Abschlussuntersuchung durchgeführt. Bei Abbruch der Studie aufgrund einer relevanten Unverträglichkeit, wurde der Proband bis zum Sistieren der Unverträglichkeit bzw. bis zum Abschluss der erforderlichen Behandlung durch den Studienarzt betreut. Darüberhinaus fand ebenfalls eine Abschlussuntersuchung statt.

### **3.9. Studienmedikation**

#### **3.9.1. Allgemeine Beschreibung**

Die Substanz SLx-2101 und die äquivalente Dosis Placebo wurden in hartschaligen, lichtundurchlässigen, weißen Gelatine-Kapseln verabreicht.

	<b>Placebo (Lactosemonohydrat)</b>	<b>Verum (SLx-2101 Kapseln)</b>
<b>Dosierungsform</b>	Kapsel, Größe 0	Kapsel, Größe 0
<b>Dosierung</b>	5 mg	5 mg
<b>Physikalische Beschreibung</b>	weiß, lichtundurchlässig	weiß, lichtundurchlässig
<b>Verabreichungsform</b>	oral	oral

**Tabelle 6:** Allgemeine Beschreibung der Studienmedikation

Die Kapseln wurden für jeden Probanden in lichtundurchlässigen, weißen, luftdichten Hochdruck-Poly-Ethylen- Flaschen (HDPE) verpackt. Jeder Studienteilnehmer erhielt in beiden Studienphasen einen Behälter mit jeweils 28 Kapseln. Es waren täglich zwei Kapseln a 5 mg SLx-2101 oder Placebo mit 240 ml stillem Wasser einzunehmen. An den Tagen 1, 7 und 14 wurde die verbleibende Anzahl an Kapseln kontrolliert. Abweichungen von der geplanten Einnahme der Studienmedikation wurden dokumentiert. Die Medikamentenflaschen für die nächste Behandlungsphase wurden in einem abschließbaren und temperaturkontrollierten Raum im Studienzentrum gelagert.

### **3.9.2. Dosisanpassung**

PDE-V-Inhibitoren haben bei einer geringen Prozentzahl von Patienten in Placebo-kontrollierten Studien typischerweise eine milde blutdrucksenkende Eigenschaft gezeigt (Rosenkranz et al. 2003). Im Falle einer signifikanten Blutdruckänderung im Vergleich zur Eingangsuntersuchung, wurde die Dosis SLx-2101 von 10 mg auf 5 mg reduziert. Eine signifikante Blutdruckänderung wurde für die Studie definiert als ein Abfall des systolischen Blutdrucks unter 85 mmHg, des diastolischen Blutdrucks unter 45 mmHg oder ein Abfall des systolischen Druckes um mehr als 30 mmHg, sowie des diastolischen Blutdrucks um mehr als 20 mmHg im Vergleich zur Messung bei der Eingangsuntersuchung. Ungeachtet dessen, ob der Proband die Begleitsymptome der Hypotension, wie Abgeschlagenheit, Müdigkeit, Appetitlosigkeit, Schwindel oder Sturzgefahr bemerkte oder nicht, war in diesem Fall eine Reduktion der Medikamentendosis erforderlich.

### **3.10. Datenmanagement**

Die Daten der Studienteilnehmer wurden durch den Studienarzt oder durch einen Beauftragten des Studienpersonals in den Studienordnern (Case Report Forms- CRFs) jedes Probanden abgeheftet. Darin erfolgte außerdem die genaue Dokumentation aller Untersuchungsergebnisse. Gemäß den internationalen und nationalen Richtlinien werden die CRFs 20 Jahre archiviert. Es fand ein regelmäßiges Monitoring im Rahmen der Durchführung der Studie durch die Contract Research Organisation (CRO), Focus GmbH, Neuss statt.

### **3.11. Qualitätskontrolle und Qualitätssicherheit**

Der Studien-Monitor hatte alle Aspekte der Studie unter Berücksichtigung der gegenwärtigen good clinical practice (GCP), im Sinne von international anerkannten, nach ethischen und wissenschaftlichen Gesichtspunkten aufgestellten Regeln, für die Durchführung von klinischen Studien und den standardisierten Behandlungsprozeduren unter nachvollziehbaren Regularien zu beurteilen (Bundesministerium der Justiz 2004). Der Monitor hatte Zugang zu allen Daten, Dokumenten und Aufzeichnungen, die benötigt wurden, um die Integrität der Durchführungen im Studienzentrum beurteilen und absichern zu können.

### **3.12. Audit**

Um die anerkannte GCP und die behördlichen Erfordernisse gewährleisten und versichern zu können, hatte die Auftrag gebende Firma die Möglichkeit eine Qualitätsprüfung im Studienzentrum durchzuführen. Aufsichtsbehörden konnten außerdem eine regulatorische Einsichtnahme dieser Studie wahrnehmen. Solche Betriebsprüfungen konnten jederzeit während oder nach Beendigung der Studie erfolgen. Falls ein Prüfer das Studienzentrum betrat, hatten der Studienarzt und das Institut ihm vollen Zugang zu allen relevanten Dokumenten zu gewähren und sich Zeit zu nehmen, alle Unklarheiten und relevanten Themen zu diskutieren. Die Studie wurde entsprechend der EU Clinical Trial Directive 2001/20/EC, der ICH Leitlinien (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) für GCP (datiert auf Juli 1996) und nach den ethischen Prinzipien der Erklärung von Helsinki durchgeführt (Rickham 1964). Die Studie ist bei dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) unter der EudraCT Nummer 2007-000397-23 und der Clinical Trial Nummer *NCT00528242* registriert.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Studienpopulation

Es wurden 18 Probanden (15 Frauen, 3 Männer) mit sekundärem Raynaud-Syndrom aufgrund einer Kollagenose in die Studie eingeschlossen. Ein Proband hat nach der Randomisierung die Einwilligung zurückgezogen, entsprechend wurden die Ergebnisse von 17 Patienten in der statistischen Auswertung berücksichtigt. Die Genese des sekundären Raynaud-Syndroms waren systemische Sklerodermie (n=7), CREST-Syndrom (n=3), Lupus erythematoses (n=2), Sharp-Syndrom (n=2) und Mischkollagenose (n=3).

Vor Randomisierung wurde bei allen weiblichen Probanden protokollgemäß eine Schwangerschaft ausgeschlossen. Die Virusserologie bezüglich Hepatitis B, C und HIV war bei allen Probanden negativ. Die Charakteristika und Komorbiditäten der Probanden sind in Tabelle 7 und 8 dargestellt.

Baseline- Charakteristika	Mittelwert $\pm$ SD
Alter (Jahre)	47.2 $\pm$ 9.6
Größe (cm)	167.1 $\pm$ 6.9
Gwicht (kg)	63.9 $\pm$ 9.8
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.9 $\pm$ 3.7
RR syst. (mmHg)	129 $\pm$ 18
RR diast. (mmHg)	83 $\pm$ 8
HF (min)	75 $\pm$ 12

**Tabelle 7:** Baseline- (Ausgangs) Charakteristika der Studienpatienten

<b>Begleiterkrankungen</b>	<b>Anzahl n (%)</b>
Art. Hypertonie	4 (23%)
COPD	1 (6%)
Hypothyreose	4 (23%)
Hyperlipoproteinämie	2 (12%)
Rheumatoide Arthritis	1 (6%)
Migräne	1 (6%)
Depression	3 (18%)
Tinnitus	2 (12%)
Glaukom	1 (6%)
M. Bechterew	1 (6%)
Lipödem	1 (6%)

**Tabelle 8:** Begleiterkrankungen der Studienpatienten

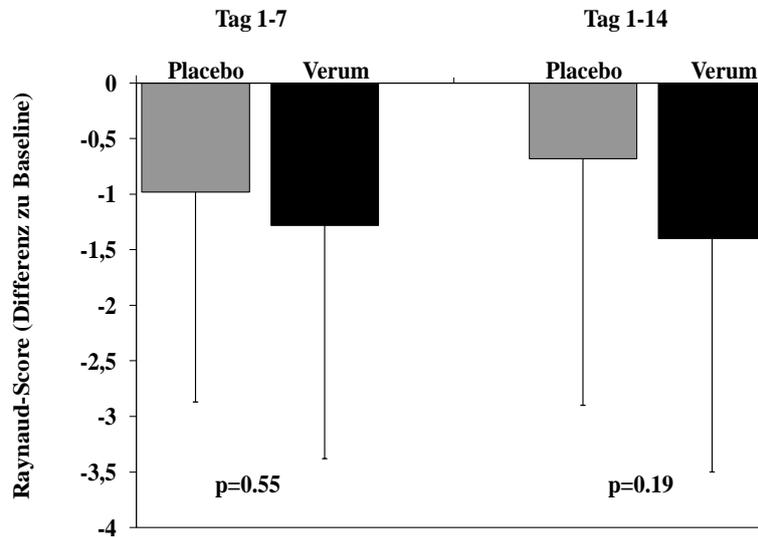
16 Probanden nahmen vor Beginn der Studie eine regelmäßige Medikation ein (Tabelle 9). Bei drei Probanden wurde gemäß dem Studienprotokoll die vasoaktive medikamentöse Therapie (Diltiazem, Amlodipin, Bosentan, Nifedipin, Naftidrofuryl) für den Zeitraum der Studie unterbrochen.

<b>Begleitmedikation</b>	<b>Anzahl n (%)</b>
<b><u>Gastrointestinal:</u></b>	
Protonen-Pumpen-Inhibitoren (PPI)	4 (23%)
<b><u>Analgetisch/ Anti-inflammatorisch:</u></b>	
Nicht Steroidale Anti-Rheumatika (NSAR)	14 (82%)
Tramadol	1 (6%)
<b><u>Schilddrüse:</u></b>	
L-Thyroxin	4 (23%)
<b><u>Psychopharmaka:</u></b>	
Doxepin	1 (6%)
Sulpirid	1 (6%)
Sertralin <sup>1</sup>	1 (6%)
<b><u>Kardiovaskulär:</u></b>	
Ramipril	5 (29%)
Bisoprolol	1 (6%)
Diltiazem	1 (6%)
Amlodipin	1 (6%)
Bosentan	1 (6%)
Nifedipin	1 (6%)
Naftidrofuryl	1 (6%)
<b><u>Immunsuppressiva:</u></b>	
Azathioprin	2 (12%)
Methotrexat	4 (23%)

**Tabelle 9:** Begleitmedikation der Studienpatienten. 1 Die Sertralin-Einnahme eines Probanden wurde als Protokollverstoß dokumentiert. Der Sponsor der Studie wurde hierüber in Kenntnis gesetzt.

## 4.2. Primärer Studienendpunkt

Der Raynaud-Score wurde im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung sowohl durch die Intervention mit SLx-2101 als auch im Placebo-Behandlungsarm tendenziell verringert. Zwischen den Behandlungsgruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied (Abb. 10).

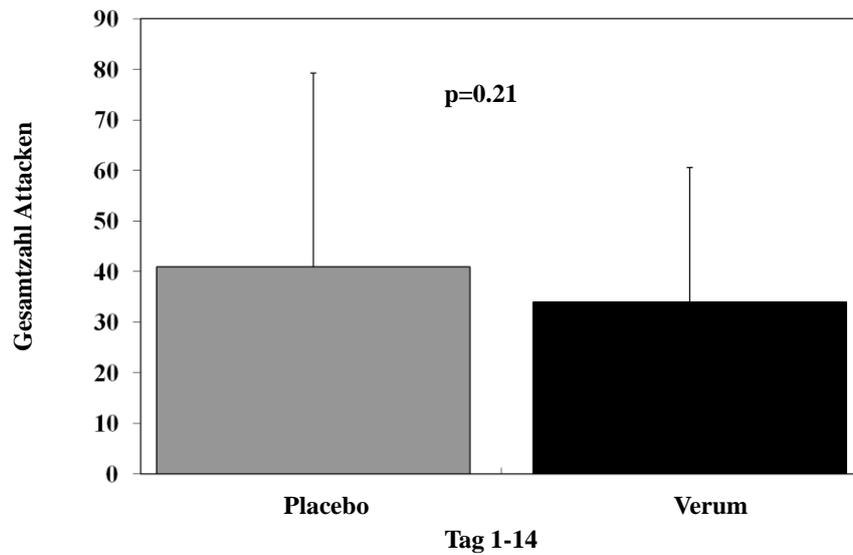


**Abbildung 10:** Der Raynaud-Score wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Raynaud-Score bei n=17 Probanden an Tag 1-7 und 1-14 im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung. Mean±SD.

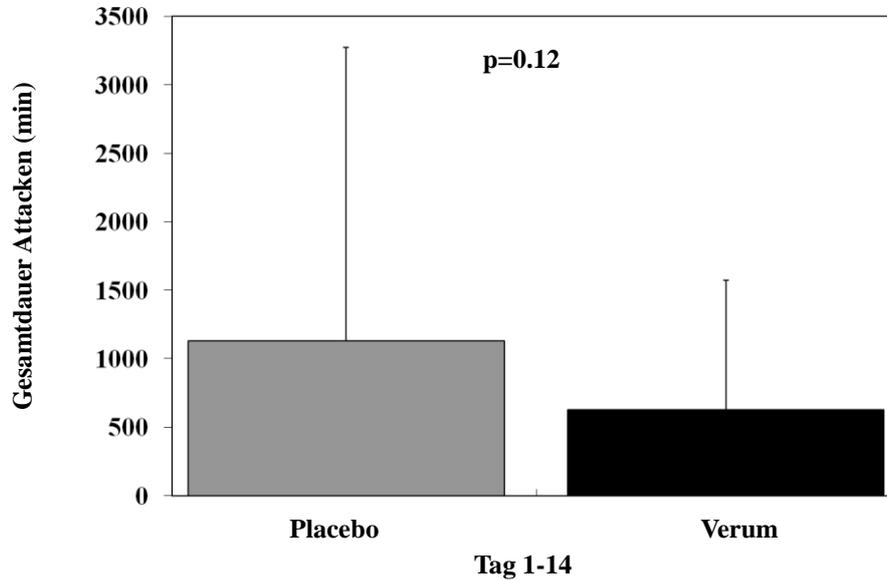
## 4.3. Sekundäre Studienendpunkte

### 4.3.1. Raynaud-Attacken

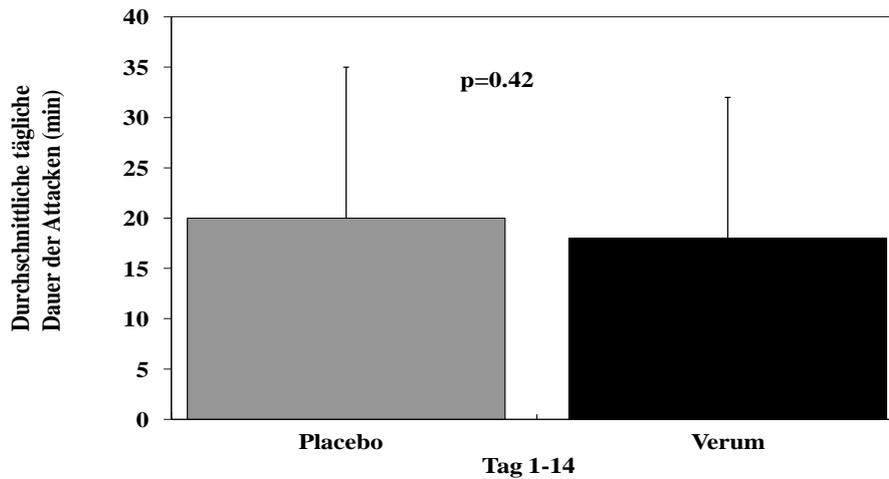
Die Gesamtanzahl, Gesamtdauer und durchschnittliche tägliche Dauer der Raynaud-Attacken wurden durch die medikamentöse Therapie mit SLx-2101 im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst. (Abb. 11.1, 11.2, 11.3)



**Abbildung 11.1:** Die Gesamtzahl der Attacken wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte Anzahl der Attacken bei n=17 Probanden an Tag 1-14. Mean±SD.



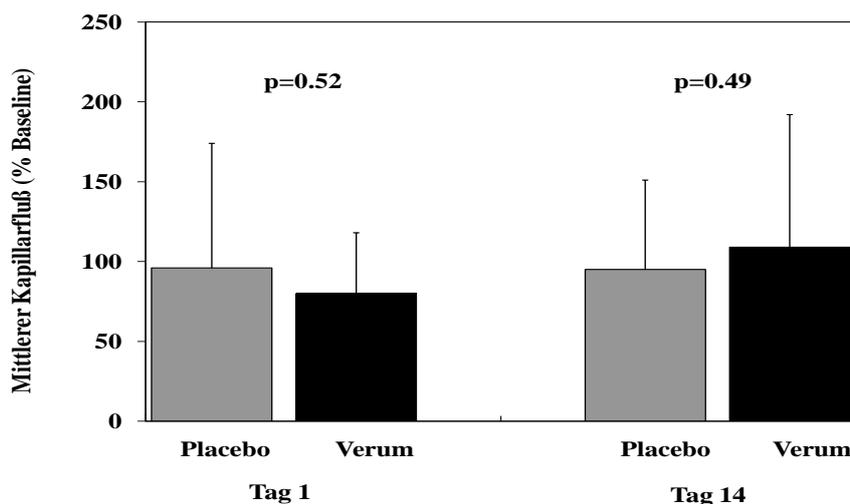
**Abbildung 11.2:** Die Gesamtdauer der Attacken wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte Anzahl der Attacken bei n=17 Probanden an Tag 1-14. Mean±SD.



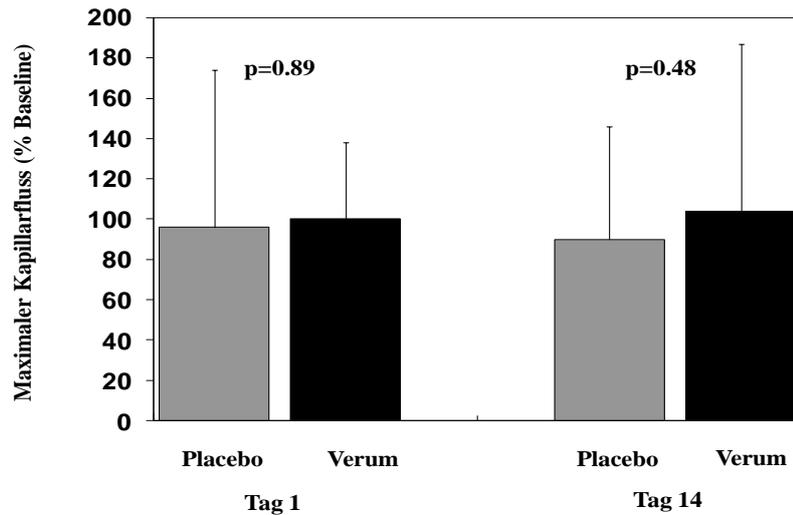
**Abbildung 11.3:** Die durchschnittliche tägliche Dauer der Raynaud-Attacken wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte Anzahl der Attacken bei n=17 Probanden an Tag 1-14. Mean±SD.

#### 4.3.2. Mikrozirkulation

Die Mikrozirkulation wurde mit Hilfe eines Laser Doppler Anemometer in fünf Nagelfalz-Kapillaren beider Hände jedes Probanden gemessen. Dabei wurden der mittlere und maximale Kapillarfluss durch die medikamentöse Therapie mit SLx-2101 im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst (Abb. 12.1 und 12.2).



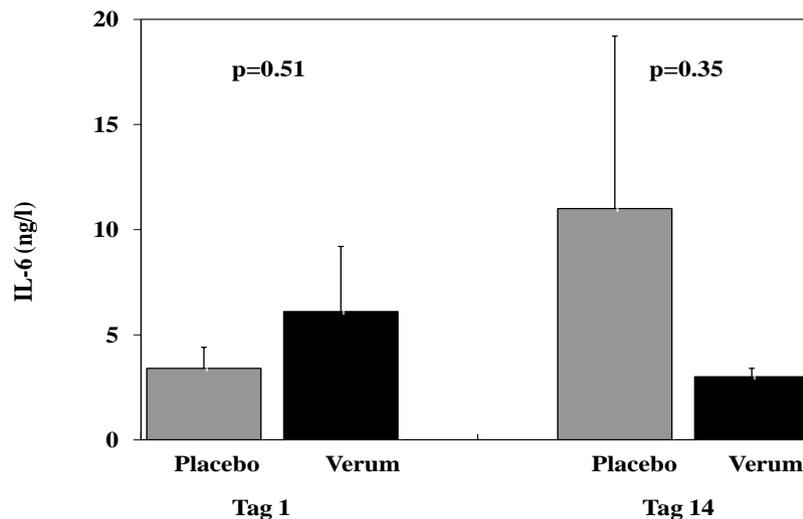
**Abbildung 12.1:** Die mittlere Perfusionsgeschwindigkeit in den Kapillaren wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte Flussmessung in 5 Kapillaren bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14 zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung. Mean±SD.



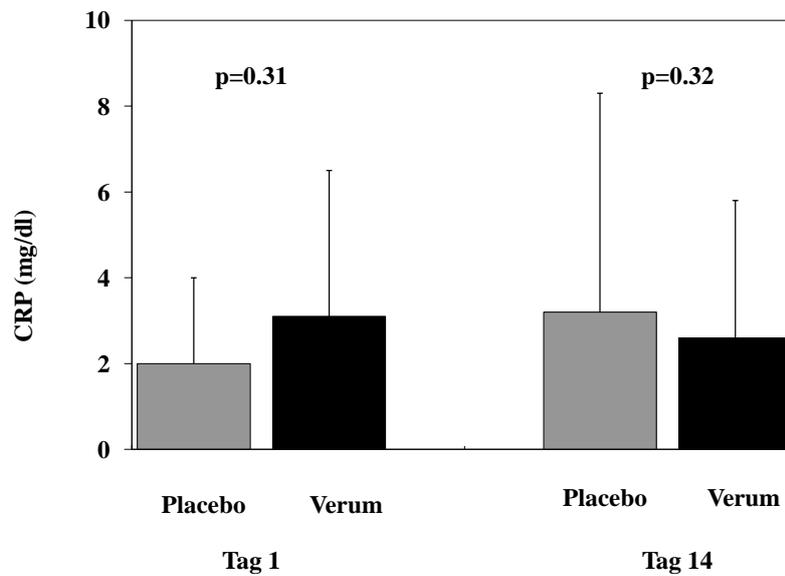
**Abbildung 12.2:** Die maximale Perfusionsgeschwindigkeit in den Kapillaren wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte Flussmessung in fünf Kapillaren bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14 zwei Stunden nach Medikamenteneinnahme im Vergleich zur Ausgangsuntersuchung. Mean±SD.

### 4.3.3. Inflammationsparameter

Interleukin-6 und das C-reaktive Protein wurden im Rahmen der Laboruntersuchungen bestimmt um einen Effekt der Therapie mit SLx-2101 auf die Inflammation im Rahmen der Grunderkrankung beurteilen zu können (Abb. 13.1 und 13.2).



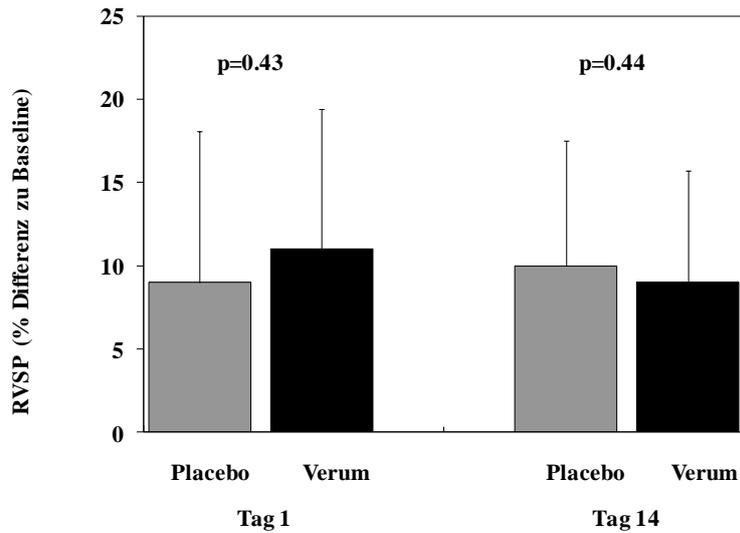
**Abbildung 13.1:** Die IL-6-Plasmakonzentrationen wurden durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Wert bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14. Mean±SEM.



**Abbildung 13.2:** Die CRP-Plasmakonzentrationen wurden durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Wert bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14. Mean±SD.

#### 4.3.4. Rechtsventrikulärer systolischer Druck

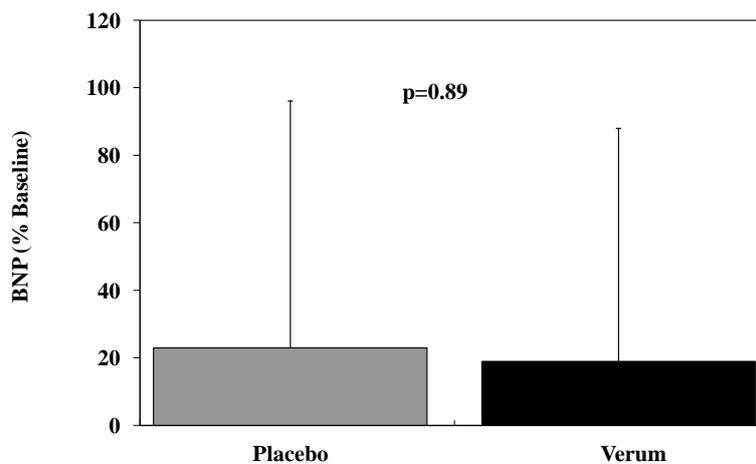
PDE-V-Inhibitoren senken den pulmonalarteriellen Widerstand. Als indirektes Maß für den pulmonalarteriellen Druck wurde die rechtsventrikuläre Belastung echokardiographisch (rechtsventrikulärer systolischer Blutdruck-RVSP) bestimmt. Darüberhinaus erfolgte die Untersuchung des Herzinsuffizienzmarkers BNP (Natriuretisches Peptid, Typ B) (Pruszczyk 2005). Der Rechtsventrikuläre systolische Blutdruck wurde durch die medikamentöse Therapie mit SLx-2101 im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst (Abb. 14).



**Abbildung 14:** Der rechtsventrikuläre systolische Blutdruck wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte Druckmessung per Echokardiographie bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14. Mean±SD.

#### 4.3.5. Natriuretisches Peptid Typ B (BNP)

Das BNP wurde durch die medikamentöse Therapie mit SLx-2101 im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst (Abb. 15).



**Abbildung 15:** Die BNP-Plasmakonzentrationen wurden durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelte, prozentuale Differenz zur Ausgangsuntersuchung n=17 Probanden an Tag 14. Mean±SD.

### 4.3.6. Vitalparameter

Die Bestimmung der Vitalparameter (systolischer, diastolischer Blutdruck und Herzfrequenz) erfolgte zum Zeitpunkt des Screenings sowie an Tag 1, 7 und 14. Der Blutdruck und die Herzfrequenz wurden durch die Therapie mit SLx-2101 im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst (Tabelle 10).

<b>Vitalparameter Mean±SD Phase I+II</b>	<b>Sys. BD (mmHg), SLx2101 ±SD</b>	<b>Sys. BD (mmHg), Placebo ±SD</b>	<b>Diast. BD (mmHg), SLx-2101 ±SD</b>	<b>Diast. BD (mmHg), Placebo ±SD</b>	<b>HF(min), SLx-2101 ±SD</b>	<b>HF (min), Placebo ±SD</b>
Screening	129±18		83±8		75±12	
Tag 1 vor Einnahme	132±21	132±23	84±10	85±11	76±10	72±12
Tag 1, 1h nach Einnahme	119±21	130±26	78±12	86±11	71±7	67±6
Tag 1, 2h nach Einnahme	118±17	125±23	79±10	83±8	71±10	67±11
Tag 1, 4h nach Einnahme	123±19	128±21	79±11	84±9	73±10	67±9
Tag 7	128±6	128±22	83±10	85±11	71±8	71±8
Tag 14, vor Einnahme	125±20	127±20	82±11	81±9	74±10	73±11
Tag 14, 1h nach Einnahme	121±17	125±20	77±12	83±10	73±9	72±10
Tag 14, 2h nach Einnahme	117±32	123±20	81±11	80±10	70±10	66±8
Tag 14, 4h nach Einnahme	125±16	125±18	84±8	83±9	73±8	73±10
Abschlussuntersuchung	127±15		81±8		72±10	

**Tabelle 10:** Vitalparameter (systolischer/diastolischer Blutdruck ±SD und Herzfrequenz ±SD). Die Vitalparameter wurden durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert (n.s. aller Werte zu jedem Zeitpunkt gegenüber der Screening-Untersuchung). Systolischer/ diastolischer Blutdruck und Herzfrequenz n=17 Probanden an Tag 1,7 und 14. Mean±SD.

### 4.3.7. Elektrokardiogramm

Die AV-Überleitungszeit, sowie die frequenzkorrigierte QT-Zeit nach BAZETT ( $QT_c = QT\text{-Dauer (ms)} / \sqrt{RR \text{ (sec)}}$ ) wurde durch die medikamentöse Therapie mit SLx-2101 im

Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst (Tabelle 11). Während der Studie kam es zu keinen relevanten EKG-Veränderungen.

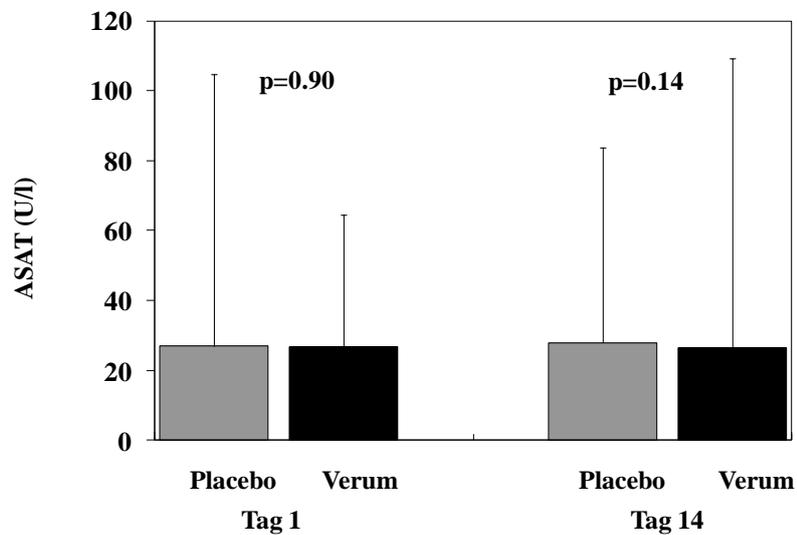
<b>EKG Mean±SD Phase I+II</b>	<b>PQ-Zeit (ms) SLx-2101</b>	<b>PQ-Zeit (ms) Placebo</b>	<b>QTc-Zeit (ms) SLx-2101</b>	<b>QTc-Zeit (ms) Placebo</b>
Screening	154±35	n.d.	431±21	n.d.
Tag 1 vor Einnahme	159±30	161±52	427±26	425±15
Tag 1, 2h nach Einnahme	158±30	162±31	419±17	421±13
Tag 7	159±28	160±29	424±19	425±21
Tag 14, vor Einnahme	151±30	156±32	422±19	425±22
Tag 14, 2h nach Einnahme	158±29	158±33	423±21	416±17
Abschlußuntersuchung	154±26	n.d.	423±19	n.d.

**Tabelle 11:** EKG (PQ und QTc- Zeit unter SLx-2101 und Placebo); nicht durchgeführt (n.d.). Das EKG wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert (n.s. aller Werte zu jedem Zeitpunkt gegenüber der Screening-Untersuchung). Gemittelte PQ-Zeit und QTc-Zeit n=17 Probanden an Tag 1,7 und 14. Mean±SD.

#### **4.3.8. Laborparameter**

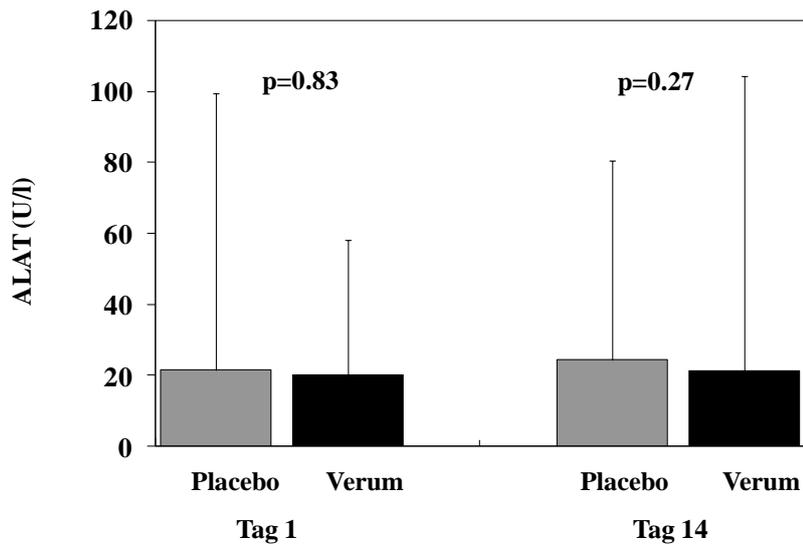
Die Transaminasen ASAT, ALAT, sowie die Gamma-Glutamyl-Transferase und der Retentionsparameter Kreatinin wurden durch die medikamentöse Therapie mit SLx-2101 im Vergleich zu Placebo nicht signifikant beeinflusst. (Abb. 16.1, 16.2, 16.3, 16.4)

### 4.3.8.1. Aspartat-Amiotransferase



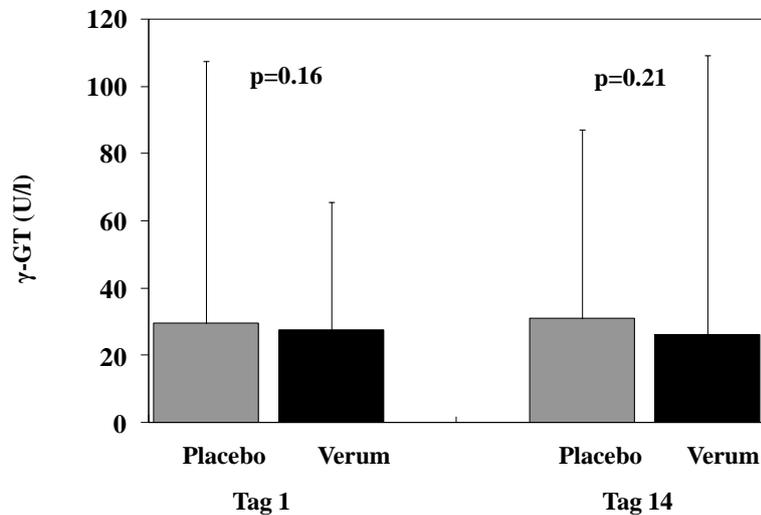
**Abbildung 16.1:** Die ASAT wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Wert bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14 beider Phasen. Mean±SD.

### 4.3.8.2. Alanin-Aminotransferase



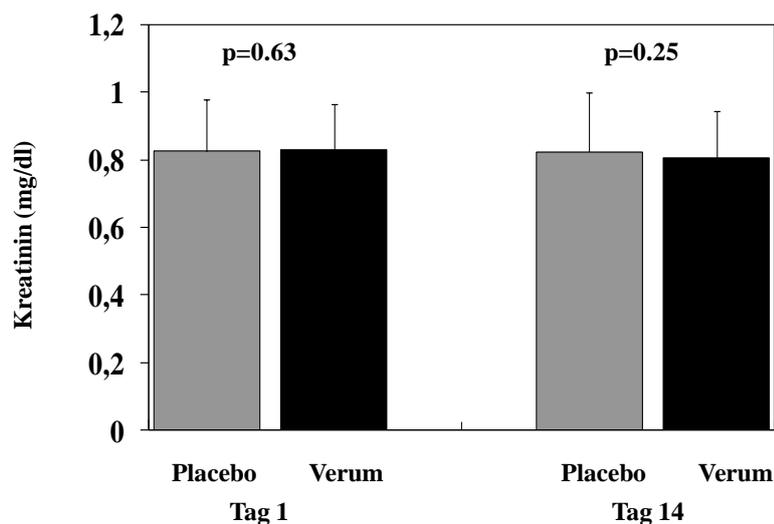
**Abbildung 16.2:** Die ALAT wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Wert bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14. Mean±SD.

### 4.3.8.3. Gamma-Glutamyl-Transferase ( $\gamma$ -GT)



**Abbildung 16.3:** Die  $\gamma$ -GT wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Wert bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14. Mean $\pm$ SD.

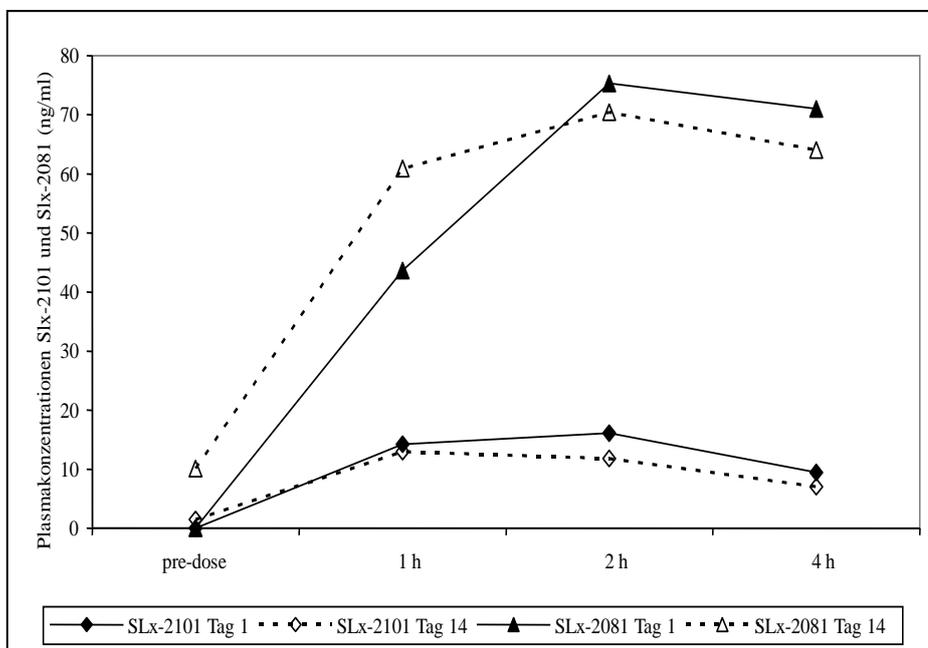
### 4.3.8.4. Kreatinin



**Abbildung 16.4:** Kreatinin. Der Nierenretentionsparameter wurde durch die Therapie mit SLx-2101 nicht signifikant verändert. Gemittelter Wert bei n=17 Probanden an Tag 1 und 14. Mean $\pm$ SD.

### 4.3.9. Pharmakokinetik

Zur Analyse der Pharmakokinetik der Testsubstanz wurden die Plasmakonzentrationen von SLx-2101 sowie des aktiven Metaboliten SLx-2081 eine, zwei und vier Stunden nach Einnahme des Medikamentes gemessen. Die Blutentnahmen erfolgten zu Beginn der Studie (Tag 1) sowie am letzten Behandlungstag (Tag 14). Die Plasmakonzentrationen von SLx-2101 und dem aktiven Metaboliten SLx-2081 zeigten keine signifikante Differenz zu Beginn der Behandlung im Vergleich zum Steady-State an Tag 14 (Abb. 17). Darüber hinaus zeigte sich kein signifikanter Kumulationseffekt nach 14-tägiger Behandlung mit SLx-2101.



**Abbildung 17:** Zeitlicher Verlauf der Plasmakonzentrationen von SLx-2101 und dem Metabolit SLx-2081 an Tag 1 und Tag 14, 1, 2 und 4 Stunden nach Medikamenteneinnahme

### 4.4. Studien-Compliance

Alle Studienteilnehmer nahmen mindestens eine Dosis SLx-2101 ein. Die Einnahmedauer der Studien-, und Placebomedikation betrug jeweils 14 Tage. Bei fünf von 17 Probanden (29%) wurde die Dosierung von 10 mg auf 5 mg SLx-2101 reduziert. Bei einem von 17 wurde das

Studienmedikament abgesetzt. Ursächlich hierfür waren schwere Kopfschmerzen, Migräne, Schwindel und ophthalmologischen Störungen. Bei drei Probanden wurde die Dosis ab Tag 3 auf 5 mg SLx-2101 reduziert, bei einem Proband wurde ab Tag 6 auf 5 mg SLx-210 reduziert, ein weiterer Proband nahm an den Tagen 4-7 selbstständig keine Medikation und ab Tag 8 wurde bei diesem Proband auf 5 mg SLx-2101 reduziert. In Tabelle 12 ist die numerische Auflistung der Einnahme-Tage und Dosisreduktion dargestellt.

<b>Behandlung mit 10 mg SLx-2101</b>	<b>Behandlung mit 5 mg SLx-2101</b>	<b>Keine Behandlung mit SLx-2101</b>	<b>Anzahl der Probanden (n)</b>
14 Tage			n=11
6 Tage	8 Tage		n=1
3 Tage	11 Tage		n=3
3 Tage	7 Tage	4 Tage (Tag 4 bis 7)	n=1
1 Tag		13 Tage	n=1

**Tabelle 12:** Die Tabelle stellt dar, welche Probanden-Anzahl die volle Dosis SLx-2101 einnahm bzw. bei welcher Probanden-Anzahl eine Dosisreduktion oder ein Aussetzen der Medikation während der Studie vorgenommen wurde (n=17 Probanden).

#### **4.5. Unerwünschte Ereignisse (Adverse Events (AE))**

Insgesamt kam es während der Studie zu 47 unerwünschten Ereignissen (AEs) bei 16 Probanden (94%). Fünf AEs von vier Probanden (23%) wurden während der Einnahme von Placebo angegeben und 42 AEs von zwölf Probanden (70%) während der Einnahme von SLx-2101. Die häufigsten Ereignisse waren bei zehn Probanden (59%) ophthalmologische Störungen und bei neun Probanden (53%) Vasoregulationsstörungen (Schwindel, orthostatischer Schwindel, Kopfschmerzen und Migräne) unter der Einnahme von SLx-2101. Unter Einnahme von Placebo waren Vasoregulationsstörungen (Schwindel, haltungsbedingter Schwindel, Kopfschmerzen und Migräne) die häufigsten AEs. Dies wurde von drei Probanden (18 %) berichtet. Die Intensität der AEs wurde als mild bis mäßig eingestuft. Ausnahme war ein Migräne-Anfall, der mit schwerer Intensität bewertet wurde. Bei keinem der AEs war eine

medikamentöse Intervention erforderlich. Eine detaillierte Auflistung der aufgetretenen AEs zeigt Tabelle 13.

Organ Funktionsstörung	Beschreibung	Behandlung	
		Placebo	SLx-2101
		N=17 x (y,z%)	N=17 x (y,z%)
Alle		5 (4, 23.5%)	42 (12, 70.6%)
Augen	Gesamt	0	16 (10, 58.8%)
	Empfindungsstörung	0	2 (2, 11.8%)
	Chromatopsie	0	2 (2, 11.8%)
	Augentrockenheit	0	1 (1, 5.9%)*
	Lidödem	0	2 (2, 11.8%)
	Lichtempfindlichkeit	0	3 (3, 17.6%)
	Photopsie	0	1 (1, 5.9%)
	Sehstörung	0	5 (5, 29.4%)*
Gastrointestinal	Gesamt	0	3 (2, 11.8%)
	Diarrhö	0	1 (1, 5.9%)
	Nausea	0	1 (1, 5.9%)
	Vomitus	0	1 (1, 5.9%)
Generell	Gesamt	0	1 (1, 5.9%)
	Malaise/Missstimmung	0	1 (1, 5.9%)
Infektion	Gesamt	0	1 (1, 5.9%)
	Nasopharyngitis	0	1 (1, 5.9%)
Muskuloskeletal und Bindegewebe	Gesamt	1 (1, 5.9%)	1 (1, 5.9%)
	Rückenschmerzen	0	1 (1, 5.9%)
	Gelenkschwellung	1 (1, 5.9%)	0
Nervensystem und Vasoregulation	Gesamt	4 (3, 17.6%)	15 (9, 52.9%)
	Schwindel	2 (2, 11.8%)*	8 (7, 41.2%)
	Haltungsbedingter Schwindel	1 (1, 5.9%)*	0
	Kopfschmerzen	1 (1, 5.9%)	4 (4, 23.5%)
	Migräne	0	3 (2, 11.8%)
Kardiovaskulär	Gesamt	0	0

**Tabelle 13:** Dargestellt sind die organbezogenen, unerwünschten Ereignisse während der 14-tägigen Einnahme von SLx-2101 und Placebo bei n=17 Probanden. x (y, z%): x = Anzahl der AEs, y =Anzahl der Probanden mit jeweiligem AE, z = Prozentzahl der Probanden mit jeweiligem AE, die eine respektive Dosis erhielten

\* ein unerwünschtes Ereignis, das als wahrscheinlich nicht medikamentenbedingt beurteilt wurde

Eine Probandin brach die Studien-Teilnahme aufgrund eines unerwünschten Ereignisses nach der ersten Einnahme von SLx-2101 ab. Es handelte sich hierbei um eine Flush-Symptomatik, gefolgt von Schwindel, Kopfschmerzen, Farbsehstörungen, Nausea und Vomitus. Die Symptome begannen eine Stunde nach Einnahme von SLx-2101 und waren nach drei Tagen vollständig reversibel.

<b>Auftreten unerwünschter Ereignisse</b>	<b>Behandlung</b>	
	<b>Placebo</b>	<b>SLx-2101</b>
	<b>N=17</b>	<b>N=17</b>
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>
Anzahl der Probanden mit AE	4 (23.5%)	13 (76.5%)
Anzahl der Probanden mit medikamenten- assoziierten AEs	3 (17.6%)	12 (70.6%)
Anzahl der Probanden mit lebensbedrohlichen AEs	0	0
Anzahl der Probanden mit Dosisreduktion aufgrund AEs	0	5 (29.4%)
Anzahl der Probanden mit Studienabbruch aufgrund AEs	0	1 (5.9%)

**Tabelle 14:** Die Tabelle zeigt das prozentuales Auftreten unerwünschter Ereignisse unter SLx-2101 und unter Placebo bei n=17 Probanden.

Gemäß Definition sind keine schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse (SAE) beobachtet worden. Die ophthalmologische Abschlussuntersuchung ergab keine Hinweise auf eine Visus-Verschlechterung bei den Probanden.

## 5. Diskussion

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde in einer randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten, cross-over Pilot-Studie die Wirksamkeit, Sicherheit und Verträglichkeit des PDE-V-Inhibitors SLx-2101 bei Patienten mit sekundärem Raynaud-Syndrom untersucht.

Es konnte keine signifikante Verbesserung des primären Studienendpunktes, der Raynaud-Symptomatik der Patienten durch das Medikament SLx-2101 festgestellt werden. Tendenziell zeigte sich eine Abnahme der Gesamtzahl und Dauer der Raynaud-Attacken unter der Behandlung mit SLx-2101 im Gegensatz zu Placebo. Ein positiver Effekt auf die kutane Mikrozirkulation mittels kapillarmikroskopischer Messung konnte nicht nachgewiesen werden. Sicherheit und Verträglichkeit des Medikamentes wurden während der Studie sowohl subjektiv mittels Tagebüchern und Befragungen, als auch objektiv mittels Untersuchung der Vital,- und Laborparameter überprüft. Im Vergleich kam es unter Verum häufiger zu unerwünschten Nebenwirkungen als unter Placebo. Hier waren Symptome wie Schwindel, Kopfschmerzen, Nausea und Vomitus wie auch Sehstörungen führend. Jedoch kam es zu keinerlei schwerwiegenden Nebenwirkungen.

Man unterscheidet bei dem M. Raynaud die primäre von der sekundären Form, wobei die primäre Form auf eine rein funktionelle Störung der kleinen Gefäße der Akren zurückzuführen ist, deren Ursache letztlich unklar ist. Bei der sekundären Form liegt häufig als Ursache eine Grunderkrankung aus dem Bereich der Kollagenosen vor. Die Pathophysiologie des sekundären Raynaud-Syndroms hängt insbesondere von der Grunderkrankung bzw. der auslösenden Noxe ab. Sie ist daher vielschichtig und die Pathomechanismen sind letztendlich nicht vollständig geklärt. Maßgeblich sind jedoch Faktoren die den Gefäßtonus und Gefäßumbau beeinflussen (Bakst et al. 2008). Bei der systemischen Sklerodermie kommt es zum Beispiel durch Proliferation der Kollagenfasern neben einer Sklerosierung auch zu einer Schrumpfung des Bindegewebes, welche auf eine Dysbalance zwischen Ab-, und Aufbau der extrazellulären Matrix zurückzuführen ist (M. Kaatz 2011). Darüber hinaus konnte im Rahmen einer lokalen Inflammation nachgewiesen werden, dass perivaskuläre T-Zellen unterschiedliche Zytokine (Transforming Growth Factor  $\beta$ , Interleukin-4) weitere fibrogene Faktoren produzieren, welche unter anderem die Synthese endothelialer, für die Angiogeneese wichtige Wachstumsfaktoren behindern (M. Kaatz

2011). Zudem weisen insbesondere die kleinen Arterien und Kapillaren eine endotheliale Funktionsstörung mit konsekutiv verminderter Vasorelaxation auf (Krieg und Hunzelmann 2006). Bei betroffenen Patienten überwiegen vasokonstriktorische Faktoren (z.B. Endothelin, Thromboxan) gegenüber dilatatorischen Faktoren (Stickstoffmonoxid, Prostaglandine) (Boin und Wigley 2005) (Kahaleh und Matucci-Cerinic 1995). Auch Angiotensin II, welches über das RAAS aktiviert wird und ebenfalls vasokonstriktorisch wirkt, kann bei Patienten mit Sklerodermie vermehrt nachgewiesen werden und verstärkt somit die Ausprägung des Raynaud-Syndroms bzw. liegt diesem zu Grunde (Kawaguchi et al. 2004). Diese Veränderungen am Gefäßsystem manifestieren sich als Raynaud-Syndrom und können für den weiteren Krankheitsverlauf von entscheidender Bedeutung sein. Vor allem bei der Sklerodermie, wo das Raynaud-Syndrom durch eine Entzündungsreaktion mit konsekutiver Proliferation, sowie Hypertrophie von Gefäßmuskulatur und Fibroblasten gekennzeichnet ist, ist die Krankheitsaktivität und die Symptomatik der Patienten mit serologisch nachweisbaren Entzündungsmarkern assoziiert (z.B. CRP, Interleukin-6), die möglicherweise als Verlaufsp Parameter der Raynaud-Symptomatik verwendet werden könnten (Rajagopalan et al. 2003) (Morelli et al. 1995).

Die Therapie des M. Raynaud hat sich bislang als schwierig erwiesen. Die Notwendigkeit einer medikamentösen Therapie ist in erster Linie individuell abhängig von der Symptomatik und dem Krankheits-Progress. Zu Beginn der Therapie steht die Wandlung der Lebensgewohnheiten. Dies beinhaltet allgemeine Maßnahmen, wie das Vermeiden extremer Kälteexposition und Nikotin. Bei fortbestehender Symptomatik wird eine medikamentöse Therapie mit topischen Nitraten und niedrig-dosierten Calcium-Kanal-Inhibitoren, auch beim primären Raynaud-Phänomen empfohlen (Baumhäkel und Böhm 2010). Beim sekundären Raynaud-Syndrom werden in Ergänzung zur Lifestyle-Modifikation und Therapie der auslösenden Grunderkrankung als first-line Therapie Behandlungsversuche mit Calcium-Kanal-Inhibitoren oder anderen Vasodilatoren, wie z.B. Nitraten vorgeschlagen. Diese Substanzen sind jedoch aufgrund ihres ausgeprägten Nebenwirkungsprofils (z.B. Hypotonie bei Calcium-Kanal-Blockern und Flush-Symptomatik bei Nitraten) nur eingeschränkt einsetzbar.

Darüber hinaus sind nur wenige Substanzklassen für die Therapie des M. Raynaud untersucht worden. Eine Untersuchung von Prostaglandinen (Alprostadil, Iloprost, Latanoprost) und

Endothelin-Rezeptor-Antagonisten (Bosentan) zur Behandlung der M. Raynaud zeigten jeweils eine Verbesserung der Symptome. Jedoch ist bei Prostaglandinen die Therapie auf eine intravenöse Gabe beschränkt und der Endothelin-Rezeptor-Antagonist Bosentan führte lediglich zu einer Verminderung neu auftretender digitaler Ulzera (Boin und Wigley 2005) (Korn et al. 2004) (Pope 2007) (Matucci-Cerinic et al. 2011) (Bartolone et al. 1999).

Substanzen aus der Klasse der PDE-V-Inhibitoren haben in mehreren Studien unterschiedliche Effekte auf die Symptomatik bei Patienten mit M. Raynaud gezeigt. In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Effekt von SLx-2101 auf die Studienendpunkte festgestellt werden. Untersucht wurden hierbei der Raynaud-Score, die Raynaud-Attacken (Gesamtanzahl, Gesamtdauer und durchschnittliche tägliche Dauer der Attacken), Kapillarfluss und Inflammationsparameter.

Diese Ergebnisse werden durch andere Studien gestützt. Friedman et al. untersuchte 2007 den Effekt des PDE-V-Inhibitors Tadalafil bei Patienten mit überwiegend primärem Raynaud-Syndrom. Es handelte sich um eine doppelblind, placebo-kontrollierte, cross-over Studie. 20 Probanden erhielten Tadalafil 10 mg oder Placebo. Unter Tadalafil zeigte sich weder eine Zunahme des maximalen Blutflusses, der mittels Laser Doppler gemessen wurde, noch eine Abnahme der Vasokonstriktion (Friedman et al. 2007). Eine weitere Untersuchung der Substanz Tadalafil erfolgte durch die Arbeitsgruppe um Carlino et al. In einer randomisierten, kontrollierten Studie nahmen Probanden mit partiell systemischer Sklerodermie und konsekutiv schwerem M. Raynaud über vier Wochen Tadalafil 20 mg 2-3 mal pro Woche im Vergleich zu Pentoxifyllin ein. Insgesamt zeigte sich eine tendenzielle Verbesserung von Anzahl und Dauer der Raynaud-Attacken, aber eine endgültige Interpretation der Ergebnisse ist aufgrund der fehlenden spezifischen Informationen über die genaue Anzahl der an Sklerodermie erkrankten Probanden, sowie der fehlenden Signifikanz nicht möglich (Carlino 2005).

Im Jahr 2009 untersuchte die Arbeitsgruppe um Schioppa et al. den Effekt von Tadalafil bei 39 Probanden mit sekundärem Raynaud-Syndrom. Die Studienpatienten wurden mit 20 mg Tadalafil bzw. Placebo über vier Wochen behandelt. Die Einschlusskriterien der Studie setzten mindestens sechs Raynaud-Attacken pro Woche sowie eine Karenz aller vasoaktiven Medikamente während der Studie voraus. Auch hier zeigte sich kein statistisch signifikanter

Unterschied in den Behandlungsgruppen bezüglich des Raynaud-Scores, Anzahl und Dauer der Attacken (Schiopu et al. 2009). Die 2010 von Brueckner et al. durchgeführte Studie untersuchte den Effekt des PDE-V-Inhibitors Sildenafil auf 16 Probanden mit digitalen Ulzerationen bei Raynaud-Syndrom auf dem Boden einer Sklerodermie. Bei sieben Probanden zeigte sich zunächst eine signifikante Abnahme der Ulzerationen, jedoch entwickelten neun Probanden insgesamt zwölf neue Ulzera unter der Einnahme von Sildenafil (Brueckner et al. 2010).

In diesem Zusammenhang steht auch die Studie mit dem PDE-V-Inhibitor Vardenafil aus dem Jahr 2006 von Caglayan et al. Von 40 Probanden litten 33 an sekundärem Raynaud-Syndrom. Die Probanden wurden mit 10 mg Vardenafil zweimal täglich über zwei Wochen behandelt. Eine vasoaktive Vormedikation musste abgesetzt werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten eine Verbesserung des digitalen Blutflusses und eine deutliche Verbesserung des Raynaud-Scores, aber ohne statistische Signifikanz der Ergebnisse (Caglayan et al. 2006) (Impens et al. 2011).

Diese Studien zeigen, dass die Therapie mit PDE-V-Inhibitoren aufgrund der fehlenden signifikanten Effekte auf den M. Raynaud eher vorsichtig zu beurteilen ist, auch wenn oftmals ein tendenzieller Vorteil gegeben sein mag. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie spiegeln die oben genannte Datenlage wieder. Ein signifikanter Vorteil konnte nicht gezeigt werden.

Im Widerspruch hierzu stehen einige Veröffentlichungen von Case-Reports, welche einen positiven Effekt von PDE-V-Inhibitoren auf den M. Raynaud (Baumhäkel et al. 2005) (Garcia-Carrasco et al. 2008) (Gore und Silver 2005) und andere schwere gefäßbedingte Ischämien gezeigt haben (Kumana et al. 2004). Die behandelten Patienten berichten oft über eine subjektive Besserung der Beschwerden, jedoch handelt es sich nicht um randomisierte Studien, so dass diese Daten eher vorsichtig zu interpretieren sind. Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse einer 2005 veröffentlichten Studie einen positiven Effekt des PDE-V-Inhibitors Sildenafil bei Patienten mit M. Raynaud. In dieser monozentrischen Studie mit 18 Probanden, wovon zwei an primärem Raynaud-Phänomen und 16 an einem sekundärem Raynaud-Syndrom erkrankt waren, wurden die Probanden je vier Wochen mit Verum und Placebo behandelt. Nach 4-wöchiger Behandlung mit Sildenafil 50 mg zweimal täglich zeigten sich eine Reduktion der Raynaud-Attacken und des mittleren Raynaud-Scores (Fries et al. 2005).

Verglichen mit der vorliegenden Studie zeigen sich jedoch Unterschiede im Studiendesign sowie in der Methodik, die die konträren Ergebnisse erklären könnten. Zum Einen ist hier die Teilnahme von Probanden mit primärem Raynaud zu bemerken, was gegenüber dem sekundären Raynaud in der SLx-2101-Studie durch eine erhaltene Endothelfunktion ohne strukturellen Gefäßumbau ein besseres Ansprechen auf den PDE-V-Inhibitor wahrscheinlich macht. Zum Anderen hatten Probanden der Sildenafil-Studie digitale Ulzerationen. In der vorliegenden Studie zeigten die Probanden ein weniger schwerwiegendes klinisches Bild, so dass der erzielte Effekt insgesamt kleiner ausfiel als bei Behandlung bzw. Abheilung digitaler Ulzerationen. Zuletzt spielt bei dem M. Raynaud die Jahreszeit und das Klima eine große Rolle. Diese Studie wurde von Juni bis September durchgeführt, im Unterschied dazu erfolgte die Durchführung der SLx-2101-Studie unter anderem auch in den Wintermonaten. Zum Teil fiel die Placebo-Einnahme der Studienteilnehmer noch in den Spätsommer, die Verum-Einnahme jedoch in die Winter-Monate. Hieraus könnte ein fälschlich positiver Effekt von Placebo und ein fälschlich negativer bzw. weniger positiver Effekt der Verum-Medikation resultieren.

In einer weiteren Studie mit Tadalafil von Shenoy et al. konnte bei Patienten mit sekundärem Raynaud-Syndrom eine signifikante Besserung der Studienendpunkte durch eine Therapie mit Tadalafil gezeigt werden. In dieser Single-Center-Studie wurden 24 an sekundärem Raynaud erkrankten Probanden mit 20 mg Tadalafil täglich alternierend mit Placebo über eine Zeit von sechs Wochen mit einer einwöchigen Auswaschphase behandelt. Die Probanden durften ihre Vormedikation beibehalten und mussten nur vier Raynaud-Attacken pro Woche vorweisen. Die Ergebnisse zeigten eine Besserung von Raynaud-Score, Anzahl und Dauer der Raynaud-Attacken in der Tadalafil-Gruppe. Darüber hinaus heilten alle digitalen Ulzerationen der Probanden ab (Shenoy et al. 2010). Die Ergebnisse der Studie stehen im Widerspruch zur Schioppa-Studie, welche ein ähnliches Studiendesign hatte, jedoch keine signifikanten Ergebnisse zeigen konnte. Die mögliche Erklärung hierfür sind unter anderem das unterschiedliche Alter der Probanden (36.87 vs. 52.9 Jahre), sowie die möglichen unterschiedlichen klimatischen Umstände der Studienorte (USA vs. Indien). Aber der grundlegende Unterschied der Studien war, dass die Probanden bei Shenoy et al. ihre Begleitmedikation (ACE-Hemmer und AT-Rezeptor-Inhibitoren) während der Studienphasen weiterhin einnehmen durften und somit Tadalafil als add-on-Therapie eingenommen wurde (Impens et al. 2011). Die Fortsetzung der Begleitmedikation in der Tadalafil-Studie

unterscheidet sich auch von der vorliegenden Studie und die Daten können somit nicht zum Vergleich mit der SLx-2101-Studie herangezogen werden.

In den beschriebenen Studien zeigte sich unter der Therapie mit verschiedenen PDE-V-Inhibitoren nur teilweise eine Besserung der Symptome des M. Raynaud, die meist nicht signifikant war. Diese konträren Ergebnisse im Vergleich zu den wenigen Daten, die auf einen positiven Effekt hindeuten, könnten sich durch die unterschiedlichen Studienendpunkte sowie die Einschlusskriterien erklären lassen. Wie beschrieben, zeigt sich bei einigen Studien, wie auch bei der vorliegenden Studie zur Substanz SLx-2101 eine positive Tendenz, es fehlt aber die statistische Signifikanz.

### **5.1. Limitationen**

Wird eine Studie placebo-kontrolliert durchgeführt, besteht die Möglichkeit eines Placebo-Effektes, der das Ergebnis beeinflusst. Dies könnte ein limitierender Faktor in der vorliegenden Studie sein und wird durch die oben genannte Tadalafil-Studie untermauert. Die Arbeitsgruppe um Shioju et al. führte eine prospektive, randomisierte, placebo-kontrollierte Studie mit der Substanz Tadalafil durch. 39 Probanden wurden eingeschlossen und vier Wochen lang mit Tadalafil 20 mg im Vergleich zu Placebo behandelt. Bei den Endpunkten der Studie, dem Raynaud-Condition-Score, der Dauer und Häufigkeit der Attacken stellten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen der Verum und der Placebo Gruppe im Vergleich zu den Ausgangswerten heraus. Zum Teil kam es jedoch zu erheblichen Verbesserungen der Symptome unter Placebo (Shioju et al. 2009). Weitere Limitationen ergeben sich aus den unterschiedlichen klimatischen Bedingungen während der Behandlungsphasen, welche einen therapie,- oder medikamentenunabhängigen Effekt auf die Studienendpunkte gehabt haben könnten. Die Studie wurde ganzjährig durchgeführt und ca. ein Drittel der Studienpopulation wurde im Frühling und Herbst behandelt und untersucht. In diesen Jahreszeiten kann es zu plötzlichen und erheblichen Temperaturschwankungen kommen, was großen Einfluss auf die Symptomatik des M. Raynaud haben kann (Caspary und Creutzig 2006).

Als weiterer limitierender Faktor kommt die Patienten-Compliance in Frage. Eine unzureichende Einnahmetreue der Studienmedikation kann einen relevanten Effekt auf die Studienergebnisse haben. Um eine fehlerhafte Einnahme des Medikamentes weitgehend zu

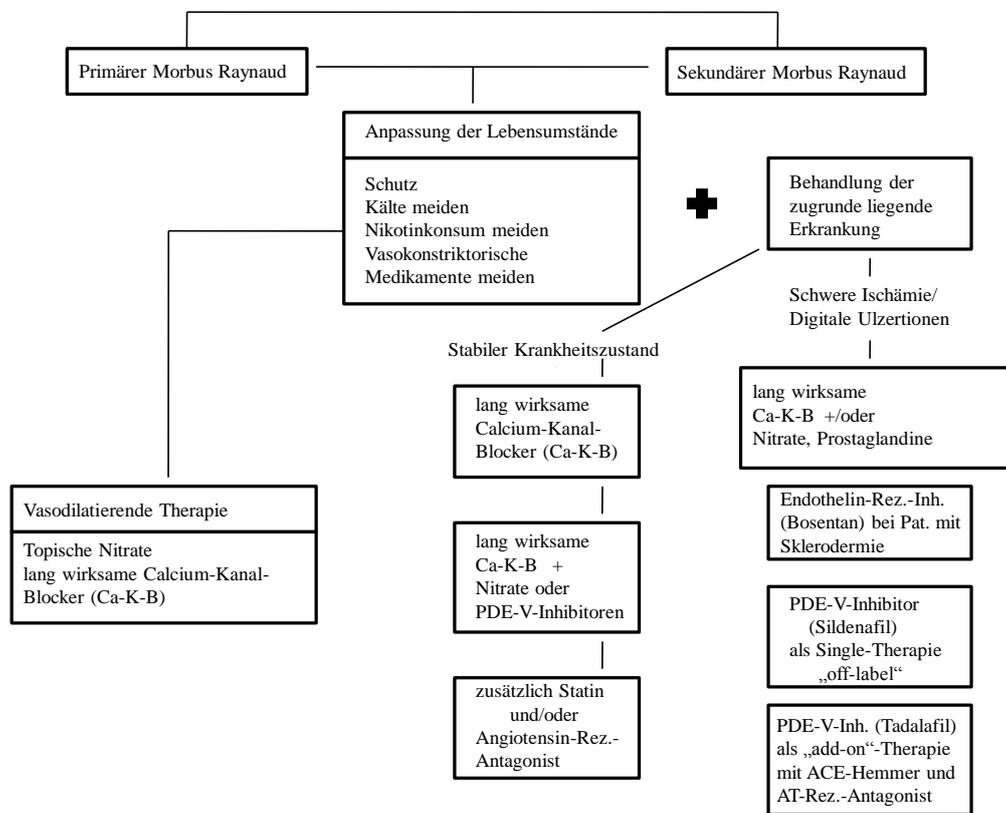
verhindern und eine Einhaltung der Compliance zu gewährleisten, wurden in der vorliegenden Studie eine Einnahme-Kontrolle mittels Tagebuch sowie pharmakokinetische Blutuntersuchungen durchgeführt.

Im Rahmen der SLx-2101-Studie zeigte sich bei einigen Studienendpunkten eine tendenzielle Verbesserung. Partiiell wurde die statistische Signifikanz nur gering verfehlt. Eine post-hoc Analyse dieser Ergebnisse ergab, dass eine höhere Probandenzahl (n=26) wahrscheinlich zu einem statistisch signifikanten Ergebnis geführt hätte. Dies bleibt jedoch letztlich spekulativ. Im Hinblick auf die Daten der oben genannten PDE-V-Inhibitoren-Studien ergibt sich hieraus jedoch die Erfordernis einer größeren, multizentrisch angelegten Studie.

Zusammenfassend kann man aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studien, sowie anhand der aktuellen Datenlage weiterer Studien zu unterschiedlichen PDE-V-Inhibitoren keine klare Therapieempfehlung geben. Weitere multizentrische Studien mit größeren Probandenzahlen und einheitlicher Methodik sind erforderlich um die Wirksamkeit abschließend beurteilen zu können. Aufgrund der aktuell limitierten Therapieoptionen bei den Patienten mit sekundärem Raynaud-Syndrom ist jedoch eine Verwendung außerhalb der Zulassung als „off-label-Gebrauch“ möglich. Die Substanzklasse der PDE-V-Inhibitoren hat hier bereits einige Erfolge gezeigt. Besonders hervorzuheben ist Sildenafil, da es in der Studie von Fries et al. 2005 eine signifikante Besserung der Mikrozirkulation und einen Rückgang der Symptome bei Patienten mit sekundärem Raynaud-Syndrom bewirkt hat und dabei von den Probanden gut toleriert wurde und zu keinen schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen geführt hat (Fries et al. 2005).

Zudem kann die Verwendung der PDE-V-Inhibitoren als „add-on-Therapie“ hervorgehoben werden und zukünftig als weitere mögliche Therapieoption gelten. Dies konnte in der Studie durch die Arbeitsgruppe um Shenoy et al. 2010 mit der Substanz Tadalafil gezeigt werden. Neben fortgesetzter Behandlung mit einem ACE-Hemmer und einem AT-Rezeptor-Antagonist, kann die zusätzliche Gabe eines PDE-V-Hemmers bei Patienten mit sekundärem M. Raynaud die Symptome signifikant verbessern. Es kam hier zu einer Abnahme der Dauer, Häufigkeit und Schwere der Raynaud-Attacken (RCS). Eine alleinige Therapie mit einem anderen PDE-V-Inhibitor als Sildenafil scheint dagegen die Symptomatik nur gering zu

beeinflussen und ist aktuell nicht zu empfehlen. Die folgende Abbildung stellt einen möglichen Therapiealgorithmus für die Behandlung des Morbus Raynaud dar.



**Abbildung 18:** Darstellung eines Therapiealgorithmus zur Behandlung des Morbus Raynaud (Calcium-Kanal-Blocker (Ca-K-B))

## 6. Literaturverzeichnis

1. Anderson ME, Moore TL, Hollis S, Jayson MI, King TA, Herrick AL (2002). Digital vascular response to topical glyceryl trinitrate, as measured by laser Doppler imaging, in primary Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 41(3): 324-8.
2. Bailey SR, Eid AH, Mitra S, Flavahan S, Flavahan NA (2004). Rho kinase mediates cold-induced constriction of cutaneous arteries: role of alpha2C-adrenoceptor translocation. *Circ Res* 94(10): 1367-74.
3. Bailey SR, Mitra S, Flavahan S, Flavahan NA (2005). Reactive oxygen species from smooth muscle mitochondria initiate cold-induced constriction of cutaneous arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289(1): H243-50.
4. Bakst R, Merola JF, Franks AG, Jr., Sanchez M (2008). Raynaud's phenomenon: pathogenesis and management. *J Am Acad Dermatol* 59(4): 633-53.
5. Bartolone S, Trifiletti A, De Nuzzo G, Scamardi R, Larosa D, Sottilotta G, Raffa A, Barbera N (1999). Efficacy evaluation of prostaglandin E1 against placebo in patients with progressive systemic sclerosis and significant Raynaud's phenomenon. *Minerva Cardioangiol* 47(5): 137-43.
6. Baumhäkel M, Scheffler P, Böhm M (2005). Use of tadalafil in a patient with a secondary Raynaud's phenomenon not responding to sildenafil. *Microvasc Res* 69(3): 178-9.
7. Baumhäkel M, Böhm M (2010). Recent achievements in the management of Raynaud's phenomenon. *Vasc Health Risk Manag* 6: 207-14.
8. Baumhäkel M, Custodis F, Schlimmer N, Laufs U, Böhm M (2008). Improvement of endothelial function of the corpus cavernosum in apolipoprotein E knockout mice treated with irbesartan. *J Pharmacol Exp Ther* 327(3): 692-8.
9. Bertele V, Mussoni L, del Rosso G, Pintucci G, Carriero MR, Merati MG, Libretti A, de Gaetano G (1988). Defective fibrinolytic response in atherosclerotic patients--effect of iloprost and its possible mechanism of action. *Thromb Haemost* 60(2): 141-4.
10. Boin F, Wigley FM (2005). Understanding, assessing and treating Raynaud's phenomenon. *Curr Opin Rheumatol* 17(6): 752-60.
11. Brueckner CS, Becker MO, Kroencke T, Huscher D, Scherer HU, Worm M, Burmester G, Riemekasten G (2010). Effect of sildenafil on digital ulcers in systemic sclerosis: analysis from a single centre pilot study. *Ann Rheum Dis* 69(8): 1475-8.
12. Bundesministerium der Justiz (2004). Good Clinical Practice-Verordnung. *Bundesgesetzblatt (BGBl)*: Seite 2081.
13. Caglayan E, Huntgeburth M, Karasch T, Weihrauch J, Hunzelmann N, Krieg T, Erdmann E, Rosenkranz S (2006). Phosphodiesterase type 5 inhibition is a novel therapeutic option in Raynaud disease. *Arch Intern Med* 166(2): 231-3.
14. Carlino G (2005). Treatment of Raynaud's phenomenon with tadalafil, a phosphodiesterase-5 inhibitor. *Ann Rheum Dis* 64.

15. Carpentier P, Franco A, Beani JC, Reymond JL, Amblard P (1983). Value of periungual capillaroscopy in the early diagnosis of systemic scleroderma. *Ann Dermatol Venereol* 110(1): 11-20.
16. Caspary L, Creutzig A (2006). Raynaud's phenomenon--current diagnosis and therapy. *Dtsch Med Wochenschr* 131(21): 1223-7.
17. Chotani MA, Flavahan S, Mitra S, Daunt D, Flavahan NA (2000). Silent alpha(2C)-adrenergic receptors enable cold-induced vasoconstriction in cutaneous arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278(4): H1075-83.
18. Colglazier CL, Sutej PG, O'Rourke KS (2005). Severe refractory fingertip ulcerations in a patient with scleroderma: successful treatment with sildenafil. *J Rheumatol* 32(12): 2440-2.
19. Creutzig A, Caspary L, Freund M (1996). The Raynaud phenomenon and interferon therapy. *Ann Intern Med* 125(5): 423.
20. Cutolo M, Sulli A, Secchi ME, Paolino S, Pizzorni C (2006). Nailfold capillaroscopy is useful for the diagnosis and follow-up of autoimmune rheumatic diseases. A future tool for the analysis of microvascular heart involvement? *Rheumatology (Oxford)* 45 Suppl 4: iv43-6.
21. Friedman EA, Harris PA, Wood, AJ, Stein CM, Kurnik D (2007). The effects of tadalafil on cold-induced vasoconstriction in patients with Raynaud's phenomenon. *Clin Pharmacol Ther* 81(4): 503-9.
22. Friedrich EB, Teo KK, Böhm M (2006). ACE inhibition in secondary prevention: are the results controversial? *Clin Res Cardiol* 95(2): 61-7.
23. Fries R, Shariat K, von Wilmsky H, Böhm M (2005). Sildenafil in the treatment of Raynaud's phenomenon resistant to vasodilatory therapy. *Circulation* 112(19): 2980-5.
24. Furspan PB, Chatterjee S, Freedman RR (2004). Increased tyrosine phosphorylation mediates the cooling-induced contraction and increased vascular reactivity of Raynaud's disease. *Arthritis Rheum* 50(5): 1578-85.
25. Garcia-Carrasco M, Jimenez-Hernandez M, Escarcega RO, Mendoza-Pinto C, Pardo-Santos R, Levy R, Maldonado CG, Chavez GP, Cervera R (2008). Treatment of Raynaud's phenomenon. *Autoimmun Rev* 8(1): 62-8.
26. Ghofrani HA, Wiedemann R, Rose F, Schermuly RT, Olschewski H, Weissmann N, Gunther A, Walmrath D, Seeger W, Grimminger F (2002). Sildenafil for treatment of lung fibrosis and pulmonary hypertension: a randomised controlled trial. *Lancet* 360(9337): 895-900.
27. Goldstein I, Lue TF, Padma-Nathan H, Rosen RC, Steers WD, Wicker PA (1998). Oral sildenafil in the treatment of erectile dysfunction. Sildenafil Study Group. *N Engl J Med* 338(20): 1397-404.
28. Gore J, Silver R (2005). Oral sildenafil for the treatment of Raynaud's phenomenon and digital ulcers secondary to systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 64(9): 1387.
29. Häntsch J (2006). Rheuma-Liga Hessen e.V., Kollagenose Workshop: Lupus erythematodes, Sjögren Syndrom u.a. Kollagenosen.

30. Harrison TR (eds) (2005). *Harrisons Innere Medizin, Deutsche Ausgabe*, 16. Auflage, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 1:1597.
31. Hatzimouratidis K, Hatzichristou DG (2008). Looking to the future for erectile dysfunction therapies. *Drugs* 68(2): 231-50.
32. Impens AJ, Phillips K, Schioppa E (2011). PDE-5 Inhibitors in Scleroderma Raynaud Phenomenon and Digital Ulcers: Current Status of Clinical Trials. *Int J Rheumatol*: 392542.
33. Kahaleh B, Matucci-Cerinic M (1995). Raynaud's phenomenon and scleroderma. Dysregulated neuroendothelial control of vascular tone. *Arthritis Rheum* 38(1): 1-4.
34. Kawaguchi Y, Takagi K, Hara M, Fukasawa C, Sugiura T, Nishimagi E, Harigai M, Kamatani N (2004). Angiotensin II in the lesional skin of systemic sclerosis patients contributes to tissue fibrosis via angiotensin II type 1 receptors. *Arthritis Rheum* 50(1): 216-
35. Kinney EL, Nicholas GG, Gallo J, Pontoriero C, Zelis R (1982). The treatment of severe Raynaud's phenomenon with verapamil. *J Clin Pharmacol* 22(1): 74-6.
36. Kirchengast M, Munter K (1999). Endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in cardiovascular remodeling. *Proc Soc Exp Biol Med* 221(4): 312-25.
37. Kleckner M, Allen EV (1951). The effect of local application of glyceryl trinitrate (nitroglycerine) on Raynaud's disease and Raynaud's phenomenon; studies on blood flow and clinical manifestations. *Circulation* 3(5): 681-9.
38. Korn JH, Mayes M, et al. (2004). Digital ulcers in systemic sclerosis: prevention by treatment with bosentan, an oral endothelin receptor antagonist. *Arthritis Rheum* 50(12): 3985-93.
39. Krieg T, Hunzelmann N (2006). Current pathophysiological aspects of systemic sclerosis. *Z Rheumatol* 65(4): 275-8.
40. Kropman RF (2004). Raynaud's phenomenon of the penis. *J Urol* 171(4): 1630.
41. Kumana CR, Cheung GT, Lau CS (2004). Severe digital ischaemia treated with phosphodiesterase inhibitors. *Ann Rheum Dis* 63(11): 1522-4.
42. Lichtenstein JR (2003). Use of sildenafil citrate in Raynaud's phenomenon: comment on the article by Thompson et al. *Arthritis Rheum* 48(1): 282-3; author reply 283.
43. Kaatz M, Norgauer J (2011). *Derma-Net-Online. Aktuelle Dermatologie für Dermatologen und dermatologisch Interessierte*, Kapitel 5.4: Sklerodermie (1-14), 1000-1200.
44. Marasini B, Massarotti M, Bottasso B, Coppola R, Papa ND, Maglione W, Comina DP, Maioli C (2004). Comparison between iloprost and alprostadil in the treatment of Raynaud's phenomenon. *Scand J Rheumatol* 33(4): 253-6.
45. Matucci-Cerinic M, Denton CP, et al. (2011). Bosentan treatment of digital ulcers related to systemic sclerosis: results from the RAPIDS-2 randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis* 70(1): 32-8.
46. Merkel PA, Herlyn K, et al. (2002). Measuring disease activity and functional status in patients with scleroderma and Raynaud's phenomenon. *Arthritis Rheum* 46(9): 2410-20.

47. Morelli S, Ferri C, Polettini E, Bellini C, Gualdi GF, Pittoni V, Valesini G, Santucci A (1995). Plasma endothelin-1 levels, pulmonary hypertension, and lung fibrosis in patients with systemic sclerosis. *Am J Med* 99(3): 255-60.
48. Pope JE (2007). The diagnosis and treatment of Raynaud's phenomenon: a practical approach. *Drugs* 67(4): 517-25.
49. Pruszczyk P (2005). N-terminal pro-brain natriuretic peptide as an indicator of right ventricular dysfunction. *J Card Fail* 11(5 Suppl): S65-9.
50. Rajagopalan S, Pfenninger D, Kehrer C, Chakrabarti A, Somers E, Pavlic R, Mukherjee D, Brook R, D'Alecy LG, Kaplan MJ (2003). Increased asymmetric dimethylarginine and endothelin 1 levels in secondary Raynaud's phenomenon: implications for vascular dysfunction and progression of disease. *Arthritis Rheum* 48(7): 1992-2000.
51. Raynaud M (1862). Local asphyxia and symmetrical gangrene of the extremities. New Sydenham Society.
52. Rheumatoide Arthritis. Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie e.V.
53. Rickham (1964). *British Medical Journal*.
54. Rosenkranz S, Diet F, Karasch T, Weihrauch J, Wassermann K, Erdmann E (2003). Sildenafil improved pulmonary hypertension and peripheral blood flow in a patient with scleroderma-associated lung fibrosis and the raynaud phenomenon. *Ann Intern Med* 139(10): 871-3.
55. Schioppa E, Hsu VM, Impens AJ, Rothman JA, McCloskey DA, Wilson JE, Phillips K, Seibold JR (2009). Randomized placebo-controlled crossover trial of tadalafil in Raynaud's phenomenon secondary to systemic sclerosis. *J Rheumatol* 36(10): 2264-8.
56. Sebkhi A, Strange JW, Phillips SC, Wharton J, Wilkins MR (2003). Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 107(25): 3230-5.
57. Shenoy PD, Kumar S, Jha LK, Choudhary SK, Singh U, Misra R, Agarwal V (2010). Efficacy of tadalafil in secondary Raynaud's phenomenon resistant to vasodilator therapy: a double-blind randomized cross-over trial. *Rheumatology (Oxford)* 49(12): 2420-8.
58. Stosic-Grujicic SD, Maksimovic DD, Stojkovic MB, Lukic ML (2001). Pentoxifylline prevents autoimmune mediated inflammation in low dose streptozotocin induced diabetes. *Dev Immunol* 8(3-4): 213-21.
59. Takimoto E, Champion HC, Li M, Belardi D, Ren S, Rodriguez ER, Bedja D, Gabrielson KL, Wang Y, Kass DA (2005). Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med* 11(2): 214-22.
60. Teh LS, Manning J, Moore T, Tully MP, O'Reilly D, Jayson MI (1995). Sustained-release transdermal glyceryl trinitrate patches as a treatment for primary and secondary Raynaud's phenomenon. *Br J Rheumatol* 34(7): 636-41.
61. Thompson AE, Pope JE (2005). Calcium channel blockers for primary Raynaud's phenomenon: a meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)* 44(2): 145-50.
62. Wigley FM (2002). Clinical practice. Raynaud's Phenomenon. *N Engl J Med* 347(13): 1001-8.

63. Wood HM, Ernst ME (2006). Renin-angiotensin system mediators and Raynaud's phenomenon. *Ann Pharmacother* 40(11): 1998-2002.
64. Yardumian DA, Mackie IJ, Brennan EC, Bull H, Machin SJ (1986). Platelet function studies during and after infusions of ZK 36374, a stable prostacyclin analogue, to healthy volunteers. *Haemostasis* 16(1): 20-6.
65. Yung A, Reay N, Goodfield MD (2005). Improvement in digital flexibility and dexterity following ingestion of sildenafil citrate (viagra) in limited systemic sclerosis. *Arch Dermatol* 141(7): 831-3.
66. Zeni S, Ingegnoli F (2004). Raynaud's phenomenon. *Reumatismo* 56(2): 77-81.

## 7. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Magnus Baumhäkel. Durch sein professionelles Engagement, seine Motivation und stets verlässliche Betreuung, sowie seine geduldige und freundliche Art, war es mir möglich mit Freude an dieser Dissertation zu arbeiten.

Herrn Prof. Dr. med. Michael Böhm danke ich sehr für die Möglichkeit, die Arbeiten der Studie in den Räumlichkeiten der Klinik für Inneren Medizin III des Universitätsklinikums des Saarlandes durchzuführen. Zudem danke ich Ihnen für den stets guten Zuspruch.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeitern des Forschungslabors der Klinik für Innere Medizin III des Universitätsklinikums des Saarlandes, sowie den Mitarbeitern des Gebäudes 24 für jedwede Hilfestellung, die ich während der Durchführung meiner Arbeit benötigt habe.

Besonders dankbar bin ich meiner ganzen Familie, meinen Eltern und meiner lieben Schwester Julia, sowie meinen Schwiegereltern. Sie haben mich während der ganzen Zeit mit allen Kräften unterstützt.

Zuletzt und am meisten danke ich meinem Ehemann Illkyu. Du hast mich mit Motivation und Geduld immer vorangetrieben und mich bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit damit sehr unterstützt. Danke!

## 8. Lebenslauf

**Name, Vorname:** Lee, Ulrike Johanna  
**Geburtsname:** Passek  
**Geburtstag/-Ort:** 29.12.1982 in Saarbrücken  
**Nationalität:** deutsch  
**Familienstand:** verheiratet mit Dr. med. Illkyu-Oliver Lee  
**Konfession:** römisch-katholisch  
**Eltern:** Dr. med. Stefan Passek  
(Facharzt Innere Medizin und Pulmonologie)  
Christine Passek, geborene Kunkler (Physiotherapeutin)  
**Geschwister:** Julia Eva Passek (Programme Manager Supply Chain)

### Schulausbildung:

1993-1999: Gymnasium am Krebsberg, Neunkirchen  
1999-2000: Steyning Grammar School, Steyning, West Sussex, England  
2000-2002: Max-Rill-Gymnasium (Internat), Reichersbeuern, Bayern

### Studium:

2002-2003/04 Universität des Saarlandes, Homburg/Saar  
Studium der Humanmedizin  
SS 2004 Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Greifswald  
seit 09/2004 Universität des Saarlandes, Homburg/Saar  
03/2006 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Physikum)  
05/2010 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung (Hammerexamen)  
06/2010 Approbation als Ärztin

### Berufliche Erfahrung:

Seit 11/2010 Assistenzärztin in der Facharzt-Weiterbildung Dermatologie  
11/2010-05/2011 Universitäts-Hautklinik Homburg/Saar, Prof. Dr. med. T. Vogt  
06/2011-07/2012 Hautarzt-Praxis Dr. med. C. Tennheuser, Saarlouis  
09/2012-05/2013 Allg. Krankenhaus Hagen, Dermatologie, Dr. med. P. Dücker  
Seit 06/2013 HELIOS Klinikum Krefeld, Dermat., PD Dr. med. C. Assaf