

Aus der Hautklinik und Poliklinik  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg- Universität Mainz

Analyse der inflammatorischen Zellen in Hautläsionen von Patienten mit  
Rosazea

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg- Universität Mainz  
vorgelegt von

Shhade Moussa  
aus Nahariyya, Israel

Mainz 2018

Tag der Promotion: 09.07.2019

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Rosazea</b> .....	<b>8</b>
1.1	Allgemeine Informationen/ Epidemiologie.....	8
1.2	Pathogenese .....	9
1.3	Histopathologie.....	10
1.4	Klinisches Bild.....	11
1.5	Schwergrade .....	12
1.6	Differentialdiagnose.....	17
1.7	Therapie .....	19
<b>2</b>	<b>Ziel und Fragestellung der Arbeit</b> .....	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>Material</b> .....	<b>23</b>
3.1	Herstellung der Paraffinschnitte.....	23
3.2	Immunhistochemische Färbungen .....	23
3.2.1	Material .....	23
3.2.2	Antikörper.....	24
3.3	Auswertung.....	26
<b>4</b>	<b>Methode</b> .....	<b>26</b>
4.1	Patientenkollektiv .....	26
4.2	Probeentnahme .....	26
4.3	Herstellung der Paraffinschnitte.....	27
4.4	Immunhistochemische Verfahren .....	28
4.4.1	Produktion der Antikörper .....	28
4.4.2	Polymerkonjugat-Methode .....	29
4.4.3	Färbeverfahren .....	30
4.4.3.1	Deparaffinierung.....	30
4.4.3.2	Antigendemaskierung.....	30
4.4.3.3	Färbeprotokoll .....	31
4.5	Analyse der Biopsien.....	32
4.5.1	Bilddokumentationen.....	32
4.5.2	Bildanalyse.....	32
4.5.2.1	Bildbearbeitung mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler .....	33
4.5.2.2	Analyse mit ImageJ im Detail.....	33
<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>36</b>
5.1	Übersicht.....	36
5.2	Histologische Schnitte.....	40

5.2.1	Patient 1 (männlich)	Journal- Nr.: 0045-2017.....	40
5.2.2	Patient 2 (männlich)	Journal- Nr.: 0468II-2017.....	43
5.2.3	Patient 3 (weiblich)	Journal-Nr.:0546-2017 .....	46
5.2.4	Patient 4 (weiblich)	Journal-Nr.: 0774-2017 .....	49
5.2.5	Patient 5 (männlich)	Journal-Nr.: 0997-2017.....	52
5.2.6	Patient 6 (männlich)	Journal-Nr.: 1088-2017.....	55
5.2.7	Patient 7 (männlich)	Journal-Nr.: 1944-2017.....	58
5.2.8	Patient 8 (weiblich)	Journal-Nr.: 2284-2017 .....	61
5.2.9	Patient 9 (weiblich)	Journal-Nr.: 2438-2017 .....	64
5.2.10	Patient 10 (weiblich)	Journal-Nr.:2674-2017 .....	67
5.2.11	Patient 11 (weiblich)	Journal-Nr.:2798-2017 .....	70
5.2.12	Patient 12 (weiblich)	Journal-Nr.:3838-2017 .....	73
5.2.13	Patient 13 (weiblich)	Journal-Nr.: 5775-2015 .....	76
5.2.14	Patient 14 (weiblich)	Journalnr.:4510-2015.....	79
5.2.15	Patient 15 (männlich)	Journal-Nr.: 2548-2016.....	82
5.2.16	Patient 16 (männlich)	Journal-Nr.: 5763-2015.....	85
5.2.17	Patient 17 (weiblich)	Journal-Nr.: 5811-2015 .....	88
5.2.18	Patient 18 (männlich)	Journal-Nr.: Kröber 20015 .....	91
5.3	Antikörperauszählung.....		94
<b>6</b>	<b>Diskussion.....</b>		<b>99</b>
6.1	Zusammenfassung der Ergebnisse.....		99
6.2	Diskussion der Methoden .....		100
6.3	Diskussion der Ergebnisse.....		102
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>		<b>106</b>
	<b>Quellenverzeichnis .....</b>		<b>107</b>
	<b>Anhang histologische Übersichtsbilder; HE.....</b>		<b>112</b>
	<b>Danksagung .....</b>		<b>115</b>
	<b>Curriculum vitae .....</b>		<b>116</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Rosazea Grad I- Rosacea erythematosa teleangiectatica Flächige Erytheme und Teleangiektasien zentrofazial. (52) .....	12
Abbildung 2: Rosazea Grad II: Rosacea papulopustulosa. Zentrofazial neben Erythem und Teleangiektasien zusätzlich Papeln und Pusteln. (52) .....	13
Abbildung 3: a) Rosazea Grad III: Glandulär hyperplastische Rosazea. Papeln, Pusteln, entzündliche Knoten und fibrosierenden Entzündung mit Gewebehypertrophie. b) Rhinophym (52).....	13
Abbildung 4: Rosazeaartige Dermatitis.....	14
Abbildung 5: Okuläre Rosazea (52) .....	16
Abbildung 6: Rosazea Management: Allgemeine Maßnahmen und topische Therapieoptionen.....	21
Abbildung 7 (a) Schematische Darstellung eines monoklonalen Antikörpers.....	28
Abbildung 8 Polymerkonjugat-Methode: Indirekter Nachweis eines Antikörpers; .....	29
Abbildung 9 Fünf ausgewählte Areale (20-fache Vergrößerung) .....	32
Abbildung 10 Farbearbeitung mit ImageJ- IHC Profiler .....	33
Abbildung 11 Bildanalyse mit ImageJ.....	35
Abbildung 12:Auswertung mit ImageJ .....	35
Abbildung 13: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 1 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	42
Abbildung 14: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 2 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	45
Abbildung 15: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 3 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	48
Abbildung 16: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 4 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	51
Abbildung 17: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 5 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	54
Abbildung 18: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 6 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	57
Abbildung 19: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 7 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	60

Abbildung 20: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 8 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	63
Abbildung 21: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 9 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	66
Abbildung 22: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 10 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	69
Abbildung 23: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 11 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	72
Abbildung 24: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 12 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.....	75
Abbildung 25: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 13 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.....	78
Abbildung 26: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 15 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.....	81
Abbildung 27: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 15 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.....	84
Abbildung 28: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 16 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.....	87
Abbildung 29: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 17 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.....	90
Abbildung 30: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 18 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.....	93
Abbildung 31: Mittelwerte der Antikörperauszählung im Überblick. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Rosazea. ....	94
Abbildung 32: Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Rosazea; Fehlerindikator: Standardfehler. ....	95
Abbildung 33: Mittelwerte der Antikörperauszählung im Überblick. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen gesunden Patienten. ....	96
Abbildung 34: Anzahl der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten der Kontrollgruppe (gesunde Haut), Fehlerindikator: Standardfehler .....	97
Abbildung 35: Antikörperauszählung. Gegenübergestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Rosazea und allen gesunden Patienten, Fehlerindikator: Standardfehler. ....	98

Abbildung 37: T- Test (Signifikanz der Unterschiede bei Patienten mit Rosazea und gesunden Patienten ..... 98

# 1 Rosazea

## 1.1 Allgemeine Informationen/ Epidemiologie

Rosazea, auch Kupferrose genannt, ist eine chronische Hauterkrankung des Gesichtes. Die Erkrankung ist von dem lateinischen Begriff „rosaceus“ für rosenfarbig abgeleitet. (2)

Auf Grund des hauptsächlichlichen Vorkommens im Gesicht führt die Erkrankung zu erheblichen psychosozialen Problemen und sozialer Isolierung von Betroffenen.

Rosazea manifestiert sich im Erwachsenenalter und läuft meist über viele Jahre schubweise in drei Stadien ab: Rosacea erythematoso-teleangiectatica, Rosacea papulopustulosa, glandulär-hyperplastische Rosazea. Diese unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Morphologie und Therapiestrategien.

Klinisch werden zahlreiche Sonderformen unterschieden. Hierzu gehören Rosacea conglobata, Rosacea fulminans, granulomatöse Rosazea, persistierendes Ödem bei Rosazea, okuläre Rosazea und Steroidrosazea. Zudem werden zunehmend Formen beobachtet, die durch Chemotherapie von bösartigen Tumoren mit Inhibitoren des epidermalen Wachstumsfaktors (Cetuximab, Gefitinib, Erlotinib) ausgelöst werden. Diese Sonderformen sind jedoch noch nicht hinreichend erforscht. (1, 2)

Die Ursache der Rosazea ist bislang noch nicht bekannt. Bei vorhandenen Prädispositionen können physikalische und chemische Reize erste Krankheitsmanifestationen induzieren und zu Exazerbationen einer bevorstehenden Rosazea führen.

Die Erkrankung kann bislang nicht geheilt werden, aber allgemein lässt sie sich gut kontrollieren. (3)

Schätzungen ergeben, dass circa 2 bis 5 % der Erwachsenen in Deutschland an Rosazea erkrankt sind. Die Erkrankung beginnt meist im dritten oder vierten Lebensjahrzehnt und nimmt ihren Höhepunkt zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr ein. Selten sind Kinder betroffen. Zudem kann ein erhöhtes Auftreten in nördlichen Ländern Europas beschrieben werden, in denen vermehrt hellhäutige, rothaarige keltische Hauttypen leben.

Die Prävalenz wird in Nordeuropa mit circa 10%, im Süden mit 2% angegeben. (4)



## 1.2 Pathogenese

Der Pathomechanismus für die Rosazea konnte bislang wissenschaftlich noch nicht fundiert aufgeschlüsselt werden.

Triggerfaktoren können zur Erstmanifestation der Erkrankung oder zur Exazerbation einer bevorstehenden Rosazea führen. Zu diesen Faktoren zählen unter anderem:

- Sonnenstrahlung,
- Kosmetika,
- Temperaturwechsel,
- Hitze und
- psychische Einflüsse.

Da eine initiale Flushsymptomatik mit starker, langanhaltender Errötung des Gesichts die Erkrankung bestimmt wurden bereits Studien über thermoregulatorische Mechanismen bei Patienten mit Rosazea erhoben, die eine Störung dieser beschreiben. (5)

Patienten mit Rosazea haben eine genetische Prädisposition für die Erkrankung. Bestimmte Faktoren führen unter erhöhter Aktivität reaktiver Sauerstoffradikale zur Schädigung sowie Dilatation von Gefäßen und einer konsekutiven Bindegewebssalteration.

Eine chronische Entzündungsreaktion mit einer Anflutung entzündlicher Zellen und Entzündungsmediatoren führt zum Phänotyp der Rosazea mit Erythem, Papeln und Pusteln. Die Beteiligung der Lymphgefäße führt abschließend zu einer ödematösen Schwellung. Die chronische Entzündung und der Lymphstau induzieren letztendlich die Gewebshyperplasie, die sich phänotypisch als hyperplastisch- glanduläre Form der Rosazea manifestiert. Es kommt durch die chronische Entzündung zu einer Schädigung der dermalen Gefäße und des umliegenden Bindegewebes. (6, 7, 8)

### 1.3 Histopathologie

Die histopathologischen Befunde sind hinweisend, jedoch nicht spezifisch. Daher ist die histopathologische Abklärung einer Rosazea selten notwendig.

Die unspezifischen histopathologischen Befunde sind von der Form der Rosazea abhängig.

Alle Formen weisen in unterschiedlich starker Ausprägung folgende histopathologische Merkmale auf:

- Ektatische Blut- und Lymphgefäße
- superfizielle perivaskuläre sowie perifollikuläre lymphohistiozytäre Infiltrate
- geringe Ödeme
- zahlreiche verdickte elastische Fasern.

**Schweregrad I:** Geringe Ausprägung der histopathologischen Veränderungen. (18)

**Schweregrad II:** Deutliche Ausprägung der histologischen Merkmale. Hinzu kommt eine intrafollikuläre Anreicherung von neutrophilen Granulozyten sowie ein lymphohistiozytäres Infiltrat. Weiterhin findet man eine Zerstörung der Architektur der unteren Dermisanteile. (19)

**Phyma:** Histopathologisch sind sie durch vergrößerte Talgdrüsenfollikel, dilatierte follikuläre Infundibula mit gelegentlichen Zysten, dilatierte Gefäße und ein perifollikuläres lymphohistiozytäres Infiltrat gekennzeichnet. Daneben finden sich häufig: Granulome, Eiter und eine Fibroplasie. (20)

**Granulomatöse Rosazea:** Kennzeichnend sich perifollikuläre und perivaskuläre nicht-verkäsende Epitheloidzellgranulome mit Lymphozyten und Plasmazellen. Zudem können Follikelrupturen auftreten. (21)

**Rosacea fulminans:** Kennzeichnend sind Granulozytenansammlungen und Nekrosen sowie ausgedehnte Abszesse und eine pseudoepitheliomatöse Hyperplasie.

**Rosacea conglobata:** Kennzeichnend ist eine diffuse Verbreiterung des gesamten Bindegewebes sowie eine Hyperplasie der Talgdrüsenfollikel. (22)

**Morbus Morbihan:** Kennzeichnend ist eine Mastzellenanreicherung in allen Ebenen des Bindegewebes. Eine mastzellinduzierte Fibrose könnte die Gewebsinduration erklären. (23)

#### 1.4 Klinisches Bild

Das typische klinische Bild der Rosazea ist eine zentrofaziale Manifestation mit vorrangiger Beteiligung von Stirn, Nase, Kinn und Wange. Eine extrafaziale Ausbreitung in der Brustregion, am Nacken sowie auf der Kopfhaut können ebenfalls auftreten.

Als Leitsymptome der Rosazea werden

- Flush
- persistierende Erytheme
- Papeln und Pusteln
- Lymphödeme sowie
- Teleangiektasien beschrieben.

Das Erythem weist in der Regel eine Persistenz von drei Monaten auf und spart obligatorischer Weise die Periorbitalregion aus.

Weitere Symptome sind Brennen und Stechen, das Auftreten von Plaques, lokalisierte oder diffuse Ödeme, Hauttrockenheit, das Auftreten von Phymen und/ oder eine Augenbeteiligung. (24)

## 1.5 Schwergrade

Man unterscheidet ein Vorstadium, drei Hauptstadien sowie Sonderformen.

### **Vorstadium: Rosazea-Diathese**

Als erste Symptome werden „flushartige“ flächige Erytheme beschrieben, die im weiteren Verlauf immer häufiger auftreten. Diese Erytheme ziehen sich durch alle Stadien der Erkrankung und werden als besonders unangenehm empfunden. Die Haut ist sehr leicht zu irritieren und reagiert bereits auf kleine Stimuli. Im weiteren Verlauf wandeln sich die anfänglich transienten Erytheme in persistierende Rötungen um. (8,9)

### **Stadium I: Rosacea erythematoso-teleangiectatica**

Kennzeichnend ist ein bleibendes Erythem mit unterschiedlich stark ausgeprägten Teleangiektasien. Die Empfindlichkeit der Haut nimmt in diesem Stadium deutlich zu. Subjektive Begleitsymptome werden stechend, brennend und juckend beschrieben.



Abbildung 1: Rosazea Grad I- Rosacea erythematoso teleangiectatica flächige Erytheme und Teleangiektasien zentrofazial. (47)

### **Stadium II: Rosacea papulopustulosa**

Kennzeichnend sind zentrofaziale entzündlich gerötete Papeln und Pusteln auf erythematösem Grund. Sie persistieren in der Regel über längere Zeiträume.

Gelegentlich kommt es in dieser Phase zu Verwechslungen mit Akne vulgaris, wobei die für die Akne typischen Primäreffloreszenzen, die Komedonen, fehlen.

Üblicherweise treten die Effloreszenzen symmetrisch auf. Es betrifft zunächst Stirn, Kinn und Wangen bevor schließlich das gesamte Gesicht betroffen ist. Ausbreitungen außerhalb der Gesichtsregion sind nicht üblich, können aber vorkommen. (8,9)



Abbildung 2: Rosazea Grad II: Rosacea papulopustulosa. Zentrofazial neben Erythem und Teleangieektasien zusätzlich Papeln und Pusteln. (47)

### Stadium III: Glandulär-hyperplastische Rosazea

Kennzeichnend sind große entzündliche Knoten und Plaque mit Infiltrationen und einer Gewebshyperplasie. Prädilektionsstellen sind Nase und Wange.

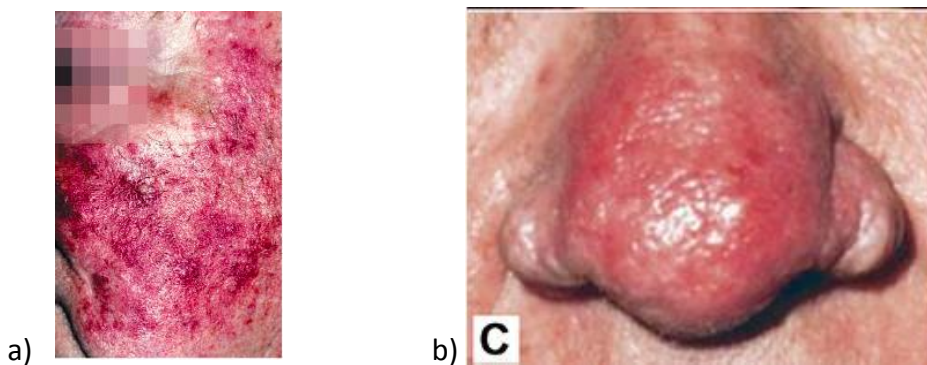


Abbildung 3: a) Rosazea Grad III: Glandulär hyperplastische Rosazea. Papeln, Pusteln, entzündliche Knoten und fibrosierenden Entzündung mit Gewebshyperplasie. b) Rhinophym (47, 61)

Als Folge der ausgedehnten Gewebsvermehrungen ist die Ausbildung verschiedenartiger Phyme (Phyma, griechisch „Schwellung, Masse, Knolle“). Sie bilden sich an verschiedenen Regionen des Gesichtes, am häufigsten ist das Rhinophym (Abbildung 3b). Seltener sind Gnatophym, Otophym, Blepharophym und Metophym. (8, 9)

## Sonderformen

### Rosacea conglobata

Simultan zu einer Acne conglobata kommt es bei der Rosazea zu einschmelzenden hämorrhagisch- abszedierenden Knoten. Weitere Zeichen sind schmerzhaft indurierte Stränge.

Differentialdiagnose

Eine Abgrenzung zur Acne conglobata kann durch die Begrenzung auf das Gesicht sowie die fehlenden Komedonen erfolgen. Nur sehr selten erscheinen Knoten an der Brust.

### Rosacea fulminans

Bei dieser Form entwickeln sich akute faziale, große zusammengeballte Knoten und Fistelgänge können das ganze Gesicht befallen. (10)



Abbildung 4: Rosazeaartige Dermatitis.

a) medikamentös durch Cetuximab induziert b) nach 3- wöchiger

Kombinationsbehandlung mit topischem Metronidazol und Minozyklin

(61)

Das Krankheitsbild wird durch Seborrhoe, Abszesse, zahlreiche Pusteln und karbunkelartige Knoten gekennzeichnet.

Diese schwerste Form der Rosazea betrifft immer junge Frauen, die eine starke psychische Beeinträchtigung durch die entstellende Dermatose erleiden. Der Allgemeinzustand

hingegen ist in der Regel kaum gestört. Auch eine bakterielle Besiedlung konnte nach bakteriologischen Untersuchungen ausgeschlossen werden.

Eine frühzeitige, intensive Therapie kann diese entstellende Dermatose sehr gut lindern.

Zudem werden Rezidive nach erfolgreicher Therapie nicht beobachtet. (11)

### **Granulomatöse Rosazea**

Kennzeichnend für diese Form sind braunrötliche Knötchen oder Papeln auf dem Boden einer diffus geröteten Haut. Diese Form ist sehr schwer zu behandeln.

Lupoide epitheloide Granulome finden sich hier verbreitet im Gesicht.

Histologisch zeigen sich lymphohistiozytäre Infiltrate mit Riesenzellen und epitheloidzellige tuberkuloide Granulome.

### **Persistierende Ödem bei Rosazea (Morbus Morbihan)**

Kennzeichnend sind derbe Ödeme im Bereich von Stirn, Nase und Wange. Verursacht werden diese Ödeme durch die ausgeprägte Beteiligung der Lymphgefäße neben den Blutgefäßen. (12)

Histologisch auffallend ist ein vermehrtes Aufkommen von Mastzellen in allen Ebenen des Bindegewebes. Aus dieser Erkenntnis ist die Erkenntnis entstanden, dass die Verhärtung des Gewebes durch eine von den Mastzellen induzierten Fibrose hervorgerufen wird.

Eine Studie weist mittels Doppleruntersuchungen eine immunologische Dysregulation in Form von Kontaktutrikaria sowie eine Störung des Lymphabflusses. (13)

### **Steroidrosazea**

Kennzeichnend ist eine Mischung aus einer Rosacea papulopustulosa und den Steroidnebenwirkungen Atrophie und Teleangiektasien. (14, 15)

Topische Behandlungen mit Corticosteroiden führt nach einem längeren Zeitraum zu einer Steroidrosazea. Das Absetzen der Corticosteroide führt zu einer schweren Exazerbation. Ein konsequenter Steroidentzug ist die einzige Möglichkeit, dieses schwer zu behandelnde Krankheitsbild unter Kontrolle zu bringen. (15)

### **Hautveränderungen durch Inhibitoren des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors**

Hautnebenwirkungen, die durch den Einsatz von Inhibitoren des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors (EGFR; „epidermal growth factor receptor“) beschrieben wurden. Studien beschreiben, dass es sich bei einem Teil dieser Fälle um Hautveränderungen handelt, die Rosazea- Manifestationen verschiedenen Grades ähnlich sind. Im Gegensatz zur Rosazea können sie das gesamte Integum betreffen und ekzemartige Veränderungen induzieren.

### **Okuläre Rosazea**

Circa 25% der Rosazea- Patienten haben okuläre Manifestationen, unabhängig vom Stadium und Schwere der Grunderkrankung. Es treten chronische Entzündungsvorgänge bis hin zu Ulzerationen und nodulären Infiltrationen am Auge auf, die ohne Behandlung zu einer Erblindung führen kann. (16, 17)



Abbildung 5: Okuläre Rosazea (61)



## 1.6 Differentialdiagnose

Klinische Manifestation	Differentialdiagnose
Rosazea-Diathese	<ul style="list-style-type: none"><li>• Karzinoid-Syndrom (z. B. durch neuroendokrine Tumore)</li><li>• Menopause-induzierte Spülung</li></ul>
Erythematotelangiektatische Rosazea	<ul style="list-style-type: none"><li>• Alterung der Fotos</li><li>• Polyzythämie vera</li><li>• Lupus erythematoses</li><li>• Dermatomyositis</li><li>• Andere gemischte Bindegewebskrankheiten</li><li>• Karzinoid-Syndrome (z. B. durch neuroendokrine Tumore)</li><li>• Mastozytose</li><li>• Allergische Kontaktdermatitis</li><li>• Arterieller Hypertonie</li><li>• UV-induzierter Gefäßschaden</li></ul>
Papulopustulöse Rosazea	<ul style="list-style-type: none"><li>• Akne papulopustulosa</li><li>• Periorale Dermatitis</li><li>• Allergische oder toxische Kontaktdermatitis</li><li>• Gramnegative Follikulitis</li><li>• Eosinophile Follikulitis</li><li>• Perifolliculitis capitis</li><li>• Demodikose</li></ul>
Rosacea glandula	<ul style="list-style-type: none"><li>• Lupus Pernio</li><li>• Sarkoidose</li><li>• Granuloma eosinophilicum faciei</li></ul>
Ocular Rosacea	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bakterielle, virale oder allergische Konjunktivitis</li><li>• Phlyctenuläre Keratokonjunktivitis</li><li>• Herpesinduzierte Konjunktivitis</li><li>• Trauma</li></ul>

Klinische Manifestation	Differenzialdiagnose
Rosacea conglobata	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Akne conglobata</li> <li>• Iododermie</li> <li>• Bromodermie</li> <li>• Conglobata-artige Demodikose (auch bekannt als Red Mange)</li> </ul>
Rosacea fulminans (aka. Pyoderma faciale )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Akne conglobata (meist Männer, längere Geschichte)</li> <li>• Akne fulminans (meist junge Männer, Beeinträchtigung des Wohlbefindens)</li> <li>• Bromodermie</li> <li>• Iododermie</li> <li>• Gramnegative Follikulitis</li> </ul>
Gramnegative Rosazea	Papulopustuläre Rosazea Gramnegative Follikulitis
Steroidinduzierte Rosazea	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Andere klinische Manifestationen von Rosazea</li> <li>• Akne vulgaris</li> <li>• Periorale Dermatitis</li> </ul>
Granulomatöse Rosazea	<ul style="list-style-type: none"> <li>• (Granulomatöse) periorale Dermatitis</li> <li>• Kleine Knoten-Sarkoidose</li> <li>• Lupus miliaris disseminatus faciei</li> </ul>
Morbihan-Krankheit	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Melkersson-Rosenthal-Syndrom</li> <li>• Festes Gesichtsödem bei Akne vulgaris</li> </ul>
Rosazea bei pädiatrischen Patienten	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Steroid Rosacea</li> <li>• Periorale Dermatitis</li> <li>• (Granulomatöse) periorale Dermatitis</li> <li>• Systemischer Lupus erythematodes</li> <li>• Demodikose unter Immunsuppression</li> <li>• Gianotti-Crosti-Syndrom</li> </ul>

(59)

## 1.7 Therapie

### **Topische Therapie**

In den ersten beiden Stadien ist eine topische Therapie meistens ausreichend. Diverse Cremes, Lotionen und Gels werden zur Behandlung empfohlen. Es gibt jedoch bislang wenige wissenschaftliche, evidenzbasierte Studien, die deren Wirksamkeit belegen.

Die Wirkstoffe Metronidazol und Azelainsäure besitzen die offizielle Zulassung als topische Medikamente für Rosazea. Für sie gibt es bisher auch die aussagekräftigsten Studien. (25, 26)

In randomisierten, prospektiven Studien wurde die Wirkung von Azelainsäure gegenüber Metronidazol bei Patienten mit papulopustulöser Rosazea untersucht. (27)

Beide Wirkstoffe zeigten eine gute Wirksamkeit, wobei Azelainsäure zu einer besseren Reduktion der Papulopusteln führte als Metronidazol. Metronidazol ist die am häufigsten verwendete Substanz mit der größten klinischen Erfahrung. (25, 26)

Die Wirksamkeit von Metronidazol bei Rosazea wird durch zahlreiche placebokontrollierte Studien belegt. (28, 3)

Eine Reduktion der Papeln und Pusteln um 50% kann bereits nach drei Wochen erzielt werden. Nach neun Wochen erlangt man im Durchschnitt den maximalen Effekt.

### **Systemische Therapie**

Die Systemtherapie der Rosazea ist den schwereren Formen vorbehalten.

**Orale Tetracykline** (Tetracyclinhydrochlorid, Oxytetracyclin) gelten seit etwa 40 Jahren als Standard in der oralen Therapie schwerer Rosazea-Formen. (2)

Eine drei- bis vierwöchige Therapie mit zweimal 250 mg/Tag kann die Haut- aber auch Augensymptome einer Rosazea gut unter Kontrolle bringen. Minozyklin und Doxycyclin, die zweite Tetracyclin-Generation, sind ähnlich effektiv, auch wenn gut kontrollierte Studien hierzu fehlen. Auf die Nebenwirkungen ist zu achten. So ist Doxycyclin phototoxisch wirksam und Minozyklin führt zu Verfärbungen von Haut und Schleimhäuten sowie anderen Geweben. Schwangerschaft stellt eine Kontraindikation für diese Substanzklasse dar.

**Makrolidantibiotika** sind eine Alternative zu den Tetrazyklinen.

Isotretinoin: Isotretinoin ist bei mittelschwerer und schwerer Rosazea teilweise gut wirksam, auch wenn keine offizielle Zulassung für diese Indikation besteht. (24)

Die anfänglich applizierten Dosen lagen bei 0,5 bis 1 mg/kg Körpergewicht, jedoch hat sich auch die zuletzt zunehmend propagierte und dokumentierte Niedrigdosistherapie (0,1 bis 0,2 mg/kg Körpergewicht) als gut wirksam erwiesen.

**Glucocorticosteroide:** Bei schwersten Formen der Rosazea, Rosazea conglobata und Rosazea fulminans, können anfänglich zur Reduktion der entzündlichen Komponente systemisch Glucocorticosteroide (0,5 bis 1 mg Prednisolon-Äquivalenzdosis/kg Körpergewicht) eingesetzt werden, die ansonsten bei der Rosazea-Therapie kontraindiziert sind. Nach Abklingen der Entzündungszeichen führt die Kombination mit Isotretinoin unter Ausschleichen der Glucocorticosteroide zu den besten Ergebnissen. (24)

**Sonstige pharmakologische Therapieoptionen:** Es wird auch über den erfolgreichen Einsatz von Dapson, Antimalariamitteln, Antimykotika, Cyproteronacetat, Spironolacton, Clonidin und Nadolol berichtet.

### **Operative Therapie der Rosazea**

Hauptsächlich das Rhinophym bei Rosazea kann operativ effektiv behandelt werden. Durch die systemische Gabe von Isotretinoin lässt sich das Rhinophym verkleinern, die wirksamste Therapie ist jedoch die operative Abtragung. Verschiedene Techniken sind in der Literatur beschrieben, wobei die Erfahrung des Operateurs für den Erfolg der einzelnen Methode am bedeutsamsten erscheint. Exzision und kryotherapeutische sowie elektrochirurgische Abtragung, Vaporisation mit dem CO<sub>2</sub>-Laser, Abtragung mit Erbium-Yag-Laser, Dermashaving mit einem Skalpell oder Dermabrasion sind wirksame Methoden. (2)

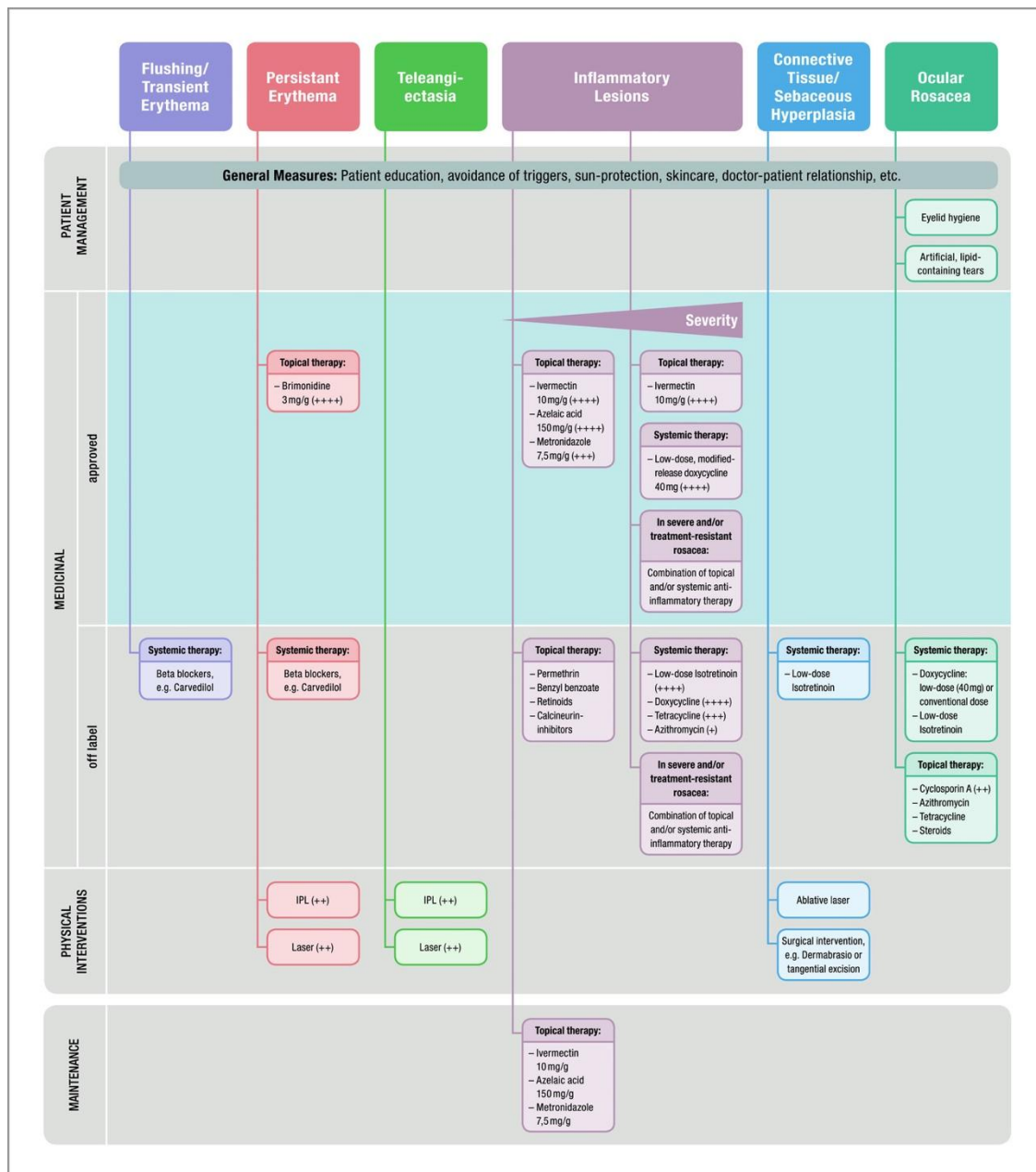


Abbildung 6: Rosacea Management: Allgemeine Maßnahmen und topische Therapieoptionen

Symptomorientierter Algorithmus für die Rosacea-Therapie. Zusammenfassung der Behandlungsoptionen für die wichtigsten Rosacea-Symptome. Bei überschneidenden Symptomen sollte eine Kombination der Therapie in Betracht gezogen werden.

Keine Berücksichtigung von speziellen Formen der Rosacea. (60)

## 2 Ziel und Fragestellung der Arbeit

Rosazea ist eine chronische, entzündliche Dermatose, die überwiegend im Bereich des Mittelgesichts auftritt. Die Ursache der Rosazea ist bislang noch nicht bekannt. Bei vorhandenen Prädispositionen können physikalische und chemische Reize erste Krankheitsmanifestationen induzieren und zu Exazerbationen einer bevorstehenden Rosazea führen.

Die Erkrankung kann bislang nicht geheilt werden, allgemein lässt sie sich jedoch gut kontrollieren.

Schätzungen ergeben, dass circa 2 bis 5 % der Erwachsenen in Deutschland an Rosazea erkrankt sind. In skandinavischen Ländern, in denen der hellhäutige, rothaarige keltische Hauttyp vorherrscht wird unter den Erwachsenen eine Prävalenz von ca. 10% erreicht.

Die Erkrankung beginnt meist im dritten oder vierten Lebensjahrzehnt und nimmt ihren Höhepunkt zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr ein. Selten sind Kinder betroffen.

Die Erforschung der an diesem Pathomechanismus beteiligten Zellen des Immunsystems soll Rückschlüsse über die Rolle dieser zulassen und Überlegungen über mögliche Angriffspunkte bei der Entwicklung von Pharmaka für die Behandlung von Rosazea anstoßen.

Hauptziel ist es neue Erkenntnisse zu gewinnen, die eine bessere Versorgung dieser Patienten gewährleisten und somit deren Hautsymptome vermindern und ihnen eine bessere Lebensqualität ermöglichen.

### Fragestellung:

1. Welche Entzündungszellen sind in den Biopsien der Patienten mit Rosazea am Häufigsten vertreten?
2. In welchem Verhältnis stehen diese Entzündungszellen zueinander?
3. Welche Rückschlüsse lassen sich aus dem Vergleich der Biopsien der Patienten mit Rosazea und den Biopsien der gesunden Patienten schließen?

### 3 Material

#### 3.1 Herstellung der Paraffinschnitte

- Tissue- Tek III Vakuum- Infiltrationsprozessor Vogel Gießen
- ROTI- Histofix 4,5% säurefrei mit pH 7 Phosphatpuffer Fa. Roth Karlsruhe
- Rotationsmikrotom MIKROTOM LEICA RM 2245
- Feather Microtom Blade A35
- Super- Frost® Plus Objektträger; Fa. Menzel, Braunschweig

#### 3.2 Immunhistochemische Färbungen

##### 3.2.1 Material

- Deckgläser Fa. Menzel, Braunschweig
- Alkohol (1): 70% Alkohopharm 70 Brüggemann Alcohol, Heilbronn
- Alkohol (2): 96% Ethanol vergällt Martin & Werner Mundo oHG, Mainz Kostheim
- Alkohol (3): 100% Isopropylalkohol Hedinger, Stuttgart
- Xylol AppliChem, Darmstadt
- Citrat- Puffer zur Dampfgerarbehandlung von Paraffinschnitten, Fa Medac PMB 1-250
- Tris- Pufferstammlösung: EnVision Flex Dako
- Tris- Puffer (-Spülung): EnVision Flex Dako- Spülpuffer
- Tris- Puffer- (Spülung): 1:10 Verdünnung der Stammlösung mit Auqua dest.
- EDTA- Puffer für Dampfgerarbehandlung von Paraffinschnitten (pH 8,0)
- Citrat- Puffer für Dampfgerarbehandlung von Parafinschnitten (pH 6,0)
- Antikörperverdünnungspuffer: Dako S2022 Innovative Diagnostik- System, Hamburg
- Detektionskit: Dako Real TM EnVision Detection System- K5007, Peroxidase/ DAB+, Rabbit/ Mouse

- Flasche A: Dako REAL™ EnVision™/ HRP, Rabbit/ Mouse  
Sekundärer (gebrauchsfertiger) Antikörper
- Flasche B: Dako REAL™ Substrate Puffer
- Flasche C: Dako REAL™ DAB+ Chromogen

- Gegenfärbung: Saures Hämalaun nach Meyer
- Dampfgerar (Fa. Braun)
- Sonstiges: Pipetten, Spritzen, Eppendorfggefäße, Färbeküvetten

### 3.2.2 Antikörper

- CD 1a  
 Monoclonal mouse antibody  
 Agilent; Produkt Code:m3571  
 Verdünnung: 1:100  
 Vorbehandlung: EDTA- Puffer im Dampfgerar
- Anti Human CD 3  
 Monoclonal mouse antibody  
 Leica; Produkt Code: NCL-L-CD3-565  
 Verdünnung: 1: 100  
 Vorbehandlung: EDTA- Puffer im Dampfgerar
- Anti Human CD 4  
 Monoclonal rabbit antibody  
 Cell Marque; Produkt Code: 104R-25  
 Verdünnung: 1:50  
 Vorbehandlung: EDTA- Puffer im Dampfgerar
- Anti Human CD 8  
 Monoclonal mouse antibody  
 Dako Cytomation; Produkt Code: M7103  
 Verdünnung: 1:100  
 Vorbehandlung: EDTA-Puffer in Dampfgerar



- Anti Human CD 207 (Langerin)  
Monoclonal mouse antibody  
Leica; Produkt Code: ncl-langerin  
Verdünnung: 1:100  
Vorbehandlung: EDTA- Puffer im Dampfgarer
  
- Anti Human CD 14  
Monoclonal rabbit antibody  
Cell Marque; Produkt Code: 114R-14  
Verdünnung: Gebrauchsfertig  
Vorbehandlung: EDTA- Puffer im Dampfgarer
  
- cAMP (CREB p)  
Monoclonal mouse antibody  
Antibody online; Produkt Code: ABIN 560461  
Verdünnung: 1:500  
Vorbehandlung: EDTA- Puffer im Dampfgarer
  
- IL 17  
Monoclonal mouse antibody  
Bioss Antibodies, Produkt Code: bs2140-R  
Verdünnung: 1:500  
Vorbehandlung: Citrat- Puffer im Dampfgarer
  
- IL 36 G IL 1F9 (gamma)  
Polyclonal rabbit antibody  
Antibody online, Produkt Code: ABIN 2856607  
Verdünnung: 1:250  
Vorbehandlung: Citrat-Puffer in Dampfgarer

### 3.3 Auswertung

- Lichtmikroskop Typ Leica DMIL
- Leica Application Suite Software
- Softwareversion V4.3
- Kameratyp Leica DFC295

## 4 Methode

### 4.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv umfasst insgesamt 18 Patienten:

- 12 Patienten, die an Rosazea erkrankt sind (im Alter von 36 bis 77 Jahren) sowie
- 6 Patienten, die nicht an Rosazea erkrankt sind.

Diese Patienten wurden in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz behandelt.

### 4.2 Probeentnahme

#### **Probeentnahme der Patienten mit Rosazea.**

Nach der klinischen Untersuchung erfolgte die Probeentnahme. Bei den zwölf an Rosazea erkrankten Patienten wurde je eine Stanzbiopsie aus dem Gesichtsbereich (Stirn, Wange, Nase) entnommen.

Die sechs Biopsien der Patienten, die nicht an Rosazea leiden wurden im Rahmen anderer Behandlungen des Universitätsklinikums entnommen und zur Forschung bereitgestellt.

### 4.3 Herstellung der Paraffinschnitte

- I. Fixierung der Biopsien in Formalin
- II. Entwässerung durch alkoholische Reihen mittels Tissue- Tek® Vaccum Infiltrationsprozessor
- III. Behandlung mit Xylol
- IV. Paraffinierung
- V. Einbettung im Tissue- Tek® Tissue Embedding Console System
- VI. Kühlung der Blöcke
- VII. Zuschnitt der Biopsien mittels Mikrotom Leica 2245  
(Schnittbreite: 2 Mikrometer)
- VIII. Wasserbad GFL 1052 zum Strecken
- IX. Aufbringen der Schnitte auf adhäsive Objektträger (Super Frost Plus)
- X. Auflegen der Objektträger auf Wärmeplatte (Medax) zur Vermeidung von Schrumpfarmartefakten
- XI. Trocknen der Schnitte (Brutschrank, 60 min, 60 Grad Celsius)

## 4.4 Immunhistochemische Verfahren

### 4.4.1 Produktion der Antikörper

Für die Untersuchungen wurden sowohl monoklonale als auch polyklonale Antikörper verwendet.

#### **Monoklonale Antikörper.**

Monoklonale Antikörper sind das Produkt eines einzelnen Klon von Plasmazellen und reagieren nur mit einem bestimmten Epitop des Antigens. Abbildung 7 (a)

Sie haben in der Immunhistologie bestimmte Vorteile gegenüber polyklonalen Antikörpern: hohe Homogenität, wesentlich empfindlicher gegenüber jeglichen Veränderungen, das Fehlen unspezifischer Antikörper und geringe chargenabhängigen Qualitätsschwankungen. Abbildung 7 (b)

Zur Herstellung monoklonaler Antikörper werden hauptsächlich Mäuse herangezogen.

#### **Polyklonale Antikörper.**

Polyklonale Antikörper werden von verschiedenen Zellen gebildet und reagieren mit verschiedenen Epitopen des Antigens. Sie sind folglich immunchemisch verschieden.

Zur Herstellung dieser Antikörper werden hauptsächlich Kaninchen herangezogen.

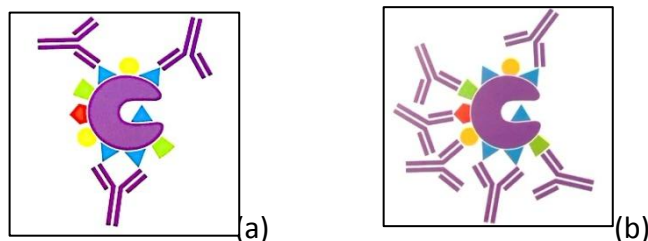


Abbildung 7 (a) Schematische Darstellung eines monoklonalen Antikörpers

(b) Schematische Darstellung eines polyklonalen Antikörpers

## 4.4.2 Polymerkonjugat-Methode

Diese Methode ermöglicht den indirekten Nachweis von monoklonalen und polyklonalen Antikörpern. Man spricht von einer zwei- Schritt indirekten Methode. Sie basiert auf der Bildung eines Antigen- Antikörper- Komplexes.

### Schritt 1

Inkubation des zu untersuchenden Gewebes mit einem Primärantikörper.

Es bildet sich ein Antigen- Primär- Antikörperkomplex.

### Schritt 2

Inkubation des gebildeten Antigen- Primär- Antikörperkomplex mit einem Polymer, welches den Sekundärantikörper und Peroxidas- Enzym enthält. Es kommt zur Bindung des Primärantikörpers an den Sekundärantikörper (indirekter Nachweis).

Um die Reaktion sichtbar zu machen wird eine DAB- Chromogen- Lösung hinzugezogen.

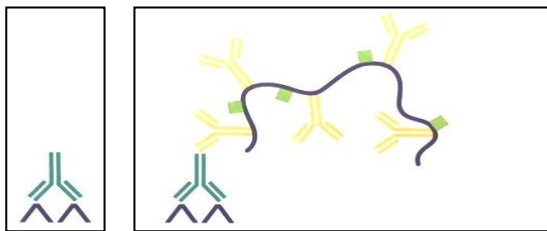


Abbildung 8 Polymerkonjugat-Methode: Indirekter Nachweis eines Antikörpers;

links Schritt 1, rechts Schritt 2

### Legende



### 4.4.3 Färbeverfahren

#### 4.4.3.1 Deparaffinierung

Nach dem Schneiden wird das Paraffin mit Xylol aus den Schnitten entfernt (Deparaffinierung). Im nächsten Schritt erfolgt die Wässerung der Schnitte über eine absteigende Alkoholreihe (jeweils 5 min). Nach der Wässerung sind die Schnitte fertig für die Färbung.

1. Xylol
2. Xylol
3. 100 % Alkohol
4. 100% Alkohol
5. 96% Alkohol
6. 70% Alkohol
7. Aqua dest.

#### 4.4.3.2 Antigendemaskierung

Durch die Fixierung in Formalin geht die Immunreaktivität vieler Antigene verloren. Es entstehen formalininduzierte chemische Quervernetzungen, die zur Änderung der Struktur der Epitope führt.

Die Antigenmaskierung macht die genannten Veränderungen rückgängig und führt zur Wiederherstellung der Immunreaktivität.

In dieser Studie wurde die hitzeinduzierte Antigendemaskierung verwendet.

- Behandlung mit Citratpuffer im Dampfgarer (40 min)
- Abkühlung bei Raumtemperatur (20 min)
- Spülen mit Leitungswasser
- Behandlung mit TRIS- Puffer- Lösung

#### 4.4.3.3 Färbeprotokoll

Das Färbeprotokoll entspricht den Laborrichtlinien der Hautklinik und Poliklinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberguniversität Mainz

- Entparaffinierung
- Antigendemaskierung
- TRIS- Puffer (3 min)
- Ermittlung des Verhältnisses von Primärantikörper und Antikörperverdünnungspuffer der Firma Dako (60 min)
- Spülen mit TRIS- Puffer
- Inkubation mit Sekundärantikörper (30 min):  
Dako REAL EnVision™ / HRP, Rabbit/ Mouse (Flasche A)
- Spülen mit TRIS- Puffer
- Vorbereiten der DAB und Chromogenlösung:  
Dako REAL™ Substrate Puffer 1ml (Flasche B)  
Dako REAL™ DAB+ Chromogen 1 Tropfen (Flasche C)
- Färbung mit DAB- Chromogenlösung (7 min)
- Spülen mit Leitungswasser (5 min)
- Spülen mit Aqua dest. (30 sek)
- Hämatoxylin Gegenfärbung (30 sek)
- Spülen mit Leitungswasser
- Spülen mit Aqua dest. (30 Sekunden)
- Schwenken in aufsteigender Alkoholreihe zur Entwässerung (je 10 Sekunden)
- 1 mal 96% iger Alkohol
- 2 mal 100% iger Alkohol
- Xylol
- Eindecken mit Eukitt Sigma 03989

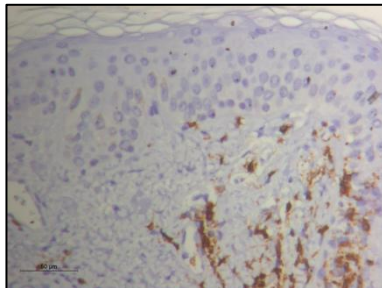
## 4.5 Analyse der Biopsien

Zur automatisierten Analyse der Biopsien wurde das Programm *ImageJ* verwendet.

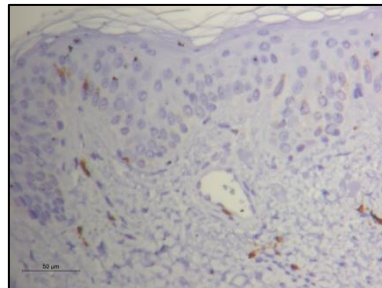
### 4.5.1 Bilddokumentationen

Die Gewebeschnitte wurden mittels digitalem Farbkamerasystem (Leica DFC 295) abfotografiert. Pro Antikörper-Färbung und Patient wurden hierzu fünf Zonen mit der größten Menge an Antikörpern gewählt. Alle Bilder wurden bei 20-facher Vergrößerung aufgenommen.

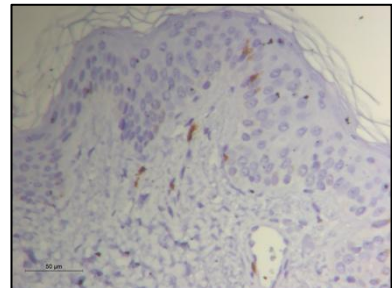
CD3 45-17-1



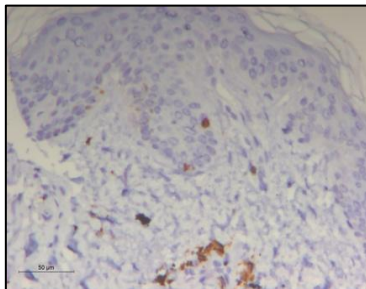
CD3 45-17-2



CD3 45-17-3



CD3 45-17-4



CD3 45-17-5

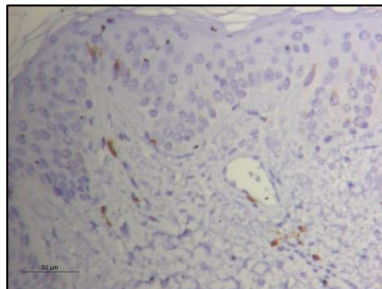


Abbildung 9 Fünf ausgewählte Areale (20-fache Vergrößerung)

### 4.5.2 Bildanalyse

Die Analyse der Biopsien erfolgte in zwei Schritten:

1. Vorbereitung der Bilder mit dem ImageJ Plugin – IHC Profiler

(<https://sourceforge.net/projects/ihcprofiler/>)

2. Analyse der Bilder mit ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>)



Nach der automatisierten Bildanalyse wurde das analysierte Bild mit dem Originalbild direkt verglichen, um sicherzustellen, dass keine Fehler bei der Bildanalyse aufgetreten sind. Bei Abweichungen vom Originalbild wurde das analysierte Bild nochmal manuell bearbeitet, um Fehler zu reduzieren. Danach wurden die gefärbten Antikörper stichprobenartig manuell ausgezählt. Die Ergebnisse der automatisierten Bildanalyse konnten hierbei bestätigt werden.

#### 4.5.2.1 Bildbearbeitung mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler

Im ersten Schritt wurden die Bilder mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler bearbeitet. Durch die Bearbeitung werden die Antikörper durch Bearbeitung der Farben besser zu erkennen. Bearbeitungsprotokoll:

1. ImageJ starten
2. Bild in Image J öffnen („File“ ->„Open“ ->Datei vom Speicherort auswählen ->„Open“)
3. Plugins auswählen ->IHC Profiler ->Nuclear Stained Image ->Vector „H DAB“  
CD 4 Areal 3 Bearbeitetes Bild: CD 4 Areal 3

Abbildung 17: Farbenbearbeitung mit ImageJ – IHC Profiler

#### 4.5.2.2 Analyse mit ImageJ im Detail

Im zweiten Schritt erfolgte die Zellanalyse mit Hilfe von ImageJ. Um genauere Ergebnisse bei der automatisierten Auszählung zu erreichen, wurden eigene Makrobefehle pro Antikörper eingesetzt. Bearbeitungsprotokoll:

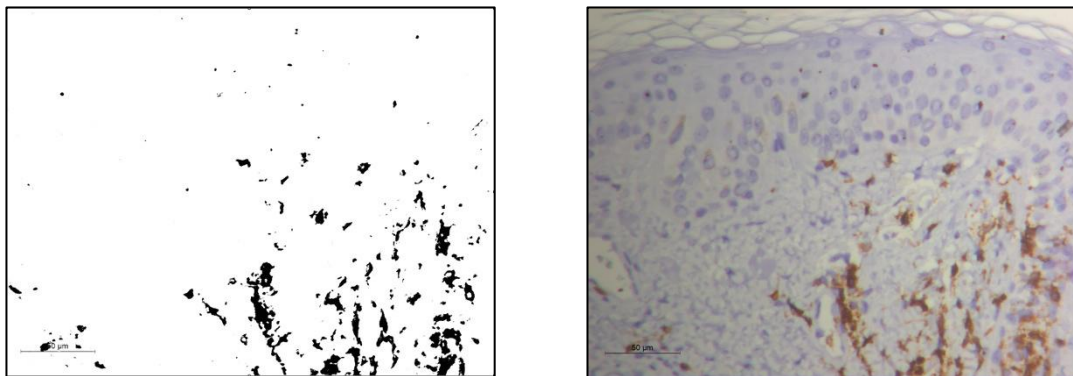


Abbildung 10 Farbenbearbeitung mit ImageJ- IHC Profiler

Bildanalyse mit folgenden Makrobefehlen:

CD1a

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

CD3

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

CD4

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

CD8

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

CD14

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

CD207

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

IL- 17

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

IL36G IL 1F9 (gamma)

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

cAMP (CREB p)

```
"setThreshold(0, 100) run("Analyze Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

Analysiertes Bild: CD3 45-17-1

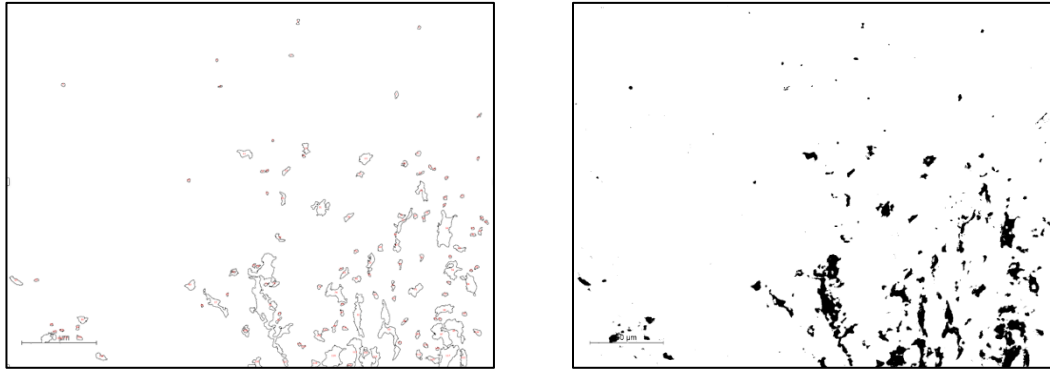


Abbildung 11 Bildanalyse mit ImageJ

Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean
Pat1-CD3-45-17-1.tif-(DAB Stain)	128	107050	836.328	3.411	80.598

Abbildung 12:Auswertung mit ImageJ

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Übersicht

Die Analyse mit Hilfe von ImageJ ermöglicht die Auszählung der Antikörper pro Gesichtsfeld. Ein Gesichtsfeld entspricht hierbei dem vollständigen vom Mikroskop erfassten Bildausschnitt und beträgt 82364 Quadratzentimeter (0.082364 Quadratmillimeter).

#### **Antikörperlegende**

CD1a

CD3

CD4

CD8

CD14

CD207

IL17

IL36G

cAMP

## Antikörper: Zelltypen und Funktion

Antikörper	Zelltypen	Funktion des Proteins
<b>CD1a</b>	Thymozyten, dendritischen Zellen	<p>Antigenpräsentation</p> <p>Strukturelle Ähnlichkeit mit MHC-Klasse-I- Antigen und spielt eine Rolle bei der Antigenpräsentation.</p> <p>Das CD1-Molekül bindet und präsentiert exogene Lipid-Antigene verschiedener Lipidklassen, damit sie von T-Zell-Rezeptoren erkannt werden.</p> <p>Mykobakterielle Lipide werden bevorzugt von CD1a-CD1c prozessiert und präsentiert.</p>
<b>CD3</b>	Frühe T- Lymphozyten	<p>Signaltransduktion, T-Zell-Rezeptor</p> <p>T- Zell- Marker, sein Auftreten ist vermutlich eines der frühesten Zeichen einer Festlegung auf die T-Zell-Reihe.</p>
<b>CD4</b>	T- Helferzelle/ regulatorischen T-Zellen, Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen	<p>Bindung von MHC-II</p> <p>Dient der Beurteilung lymphoproliferativer Erkrankungen zur Beurteilung von Tumoren mit anormalen CD4- Expressionen.</p>
<b>CD8</b>	Zytotoxische T-Lymphozyten, NK-Zelluntergruppe	<p>Bindung von MHC-I</p> <p>Identifizierung dieser Zellen und ihrer neoplastischen Gegenstücke und dient beispielsweise der Differenzierung zwischen Mykosefungoiden und</p>

		kutanen Entzündungsprozessen.
<b>CD14</b>	Monozyten, Makrophagen, Langerhans-Zellen, dendritische Zellen; auch B-Zellen und Neutrophile.	Bindung von Lipopolysacchariden
<b>CD207</b>	Synonym: Langerin (Transmembranprotein)  Protein das von Langerhans-Zellen, CD207-positiven dendritischen Zellen der Haut und CD8-positiven dendritischen Zellen der Milz exprimiert wird.	Langerin wird an der Zelloberfläche exprimiert und kann beispielsweise durch Phagozytose, Pinozytose, Endozytose aufgenommen werden und kumuliert intrazellulär in Birbeck-Granula.  Diese Eigenschaften lassen vermuten, dass Langerin eine Rolle bei der Aufnahme und bei der Prozessierung von Antigenen spielt. Über Langerin können Langerhans-Zellen Lipidantigene in den CD1-Präsentationsweg einschleusen.
<b>IL17</b>	Signalzytokin Synonym: Cytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Antigen	IL-17 scheint an der Vermittlung des Entzündungsgeschehens an Fibroblasten beteiligt zu sein.  Ihm wird eine Rolle in der Neutrophilenrekrutierung zugesprochen.  Ein Hauptproduzent für Interleukin-17 sind die nach diesem Interleukin benannten TH17-Zellen.

<b>IL36G</b>	Mitglied der Interleukin-1-Zytokinfamilie.	Es wird berichtet, dass Interferon-gamma, Tumornekrosefaktor-alpha und Interleukin 1, beta (IL1B) die Expression dieses Cytokins in Keratinozyten stimulieren. Die Expression dieses Cytokins in Keratinozyten kann auch durch eine Kontakt-Überempfindlichkeitsreaktion oder eine Herpes-Simplex-Virusinfektion induziert werden.
<b>cAMP</b>	cAMP-Responsive-Element-Bindungsprotein 1  TLR-Signalweg, Fc-epsilon Rezeptor Signalübertragung, EGFR-Signalweg, Neurotrophin-Signalübertragung, Thyroidhormon-Synthese,	Aktivierung der angeborenen Immunreaktion, Entspannung und Kontraktion von Myometrien, Regulation der Zellgröße, Toll-like-Rezeptoren-Kaskaden, G-Protein-vermittelte Ereignisse, Interaktion von EGFR mit Phospholipase C-gamma, Positive Regulation der Fettzellendifferenzierung

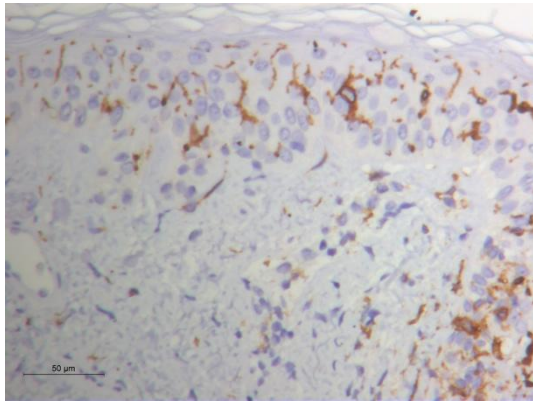
## 5.2 Histologische Schnitte

### 5.2.1 Patient 1 (männlich)

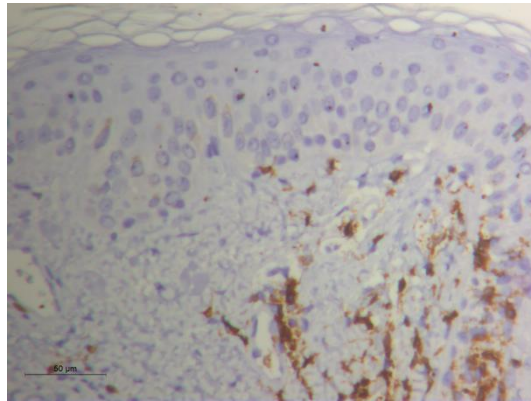
Journal- Nr.: 0045-2017

Alter bei Studierenerhebung: 43 Jahre

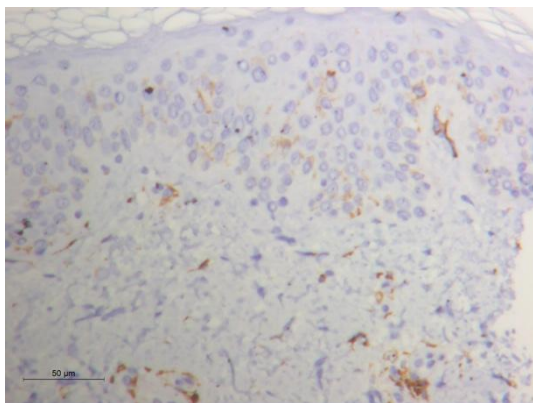
Lokalisation: Hals



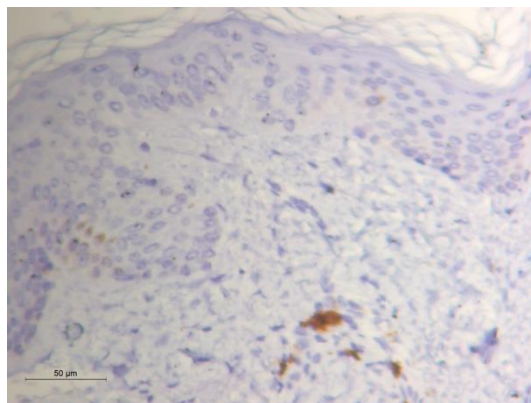
CD 1a



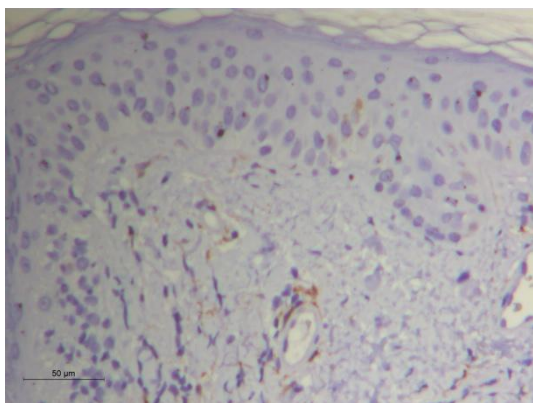
CD3



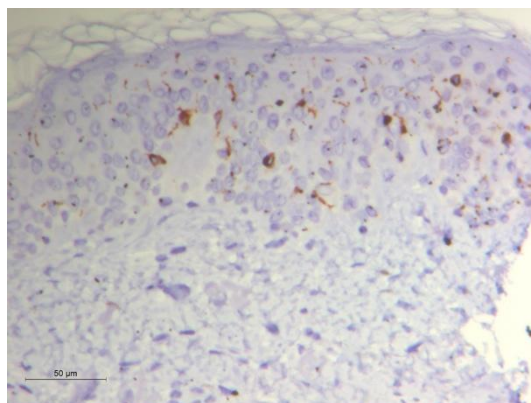
CD4



CD8

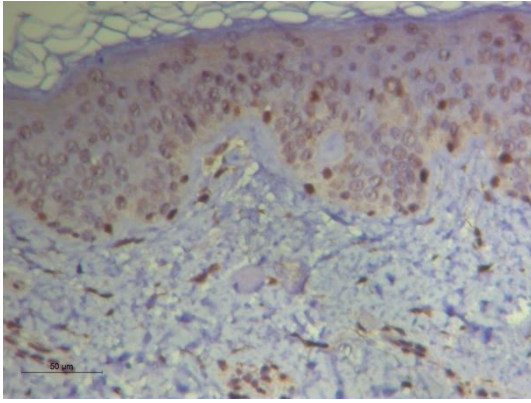


CD14

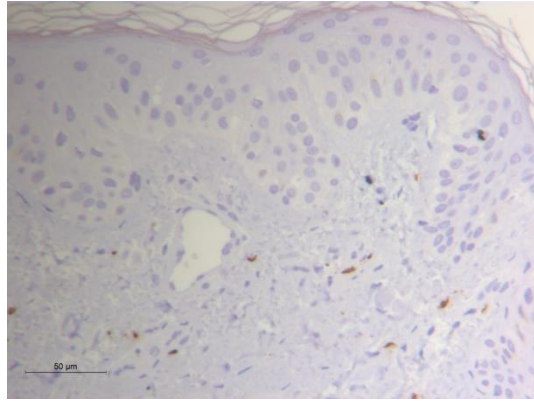


CD 207

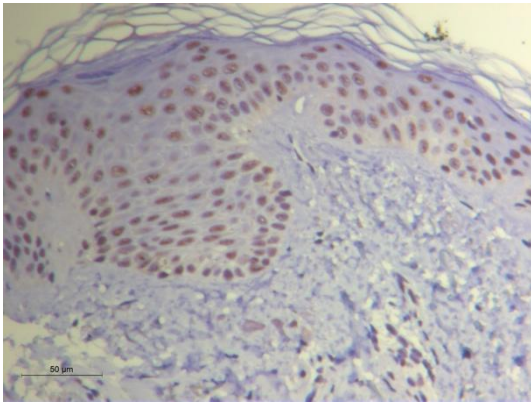




cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung Patient 1

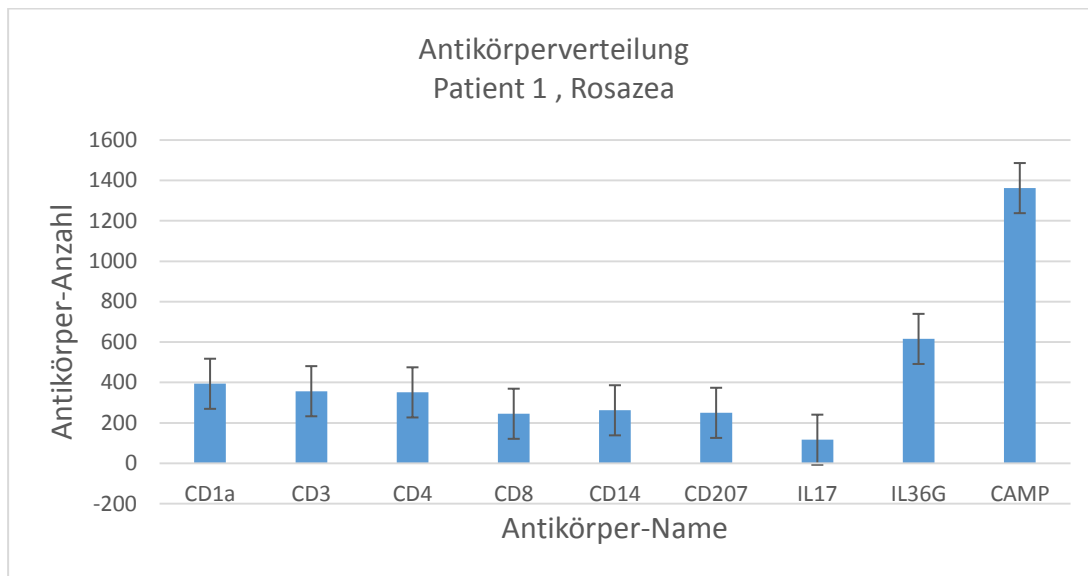


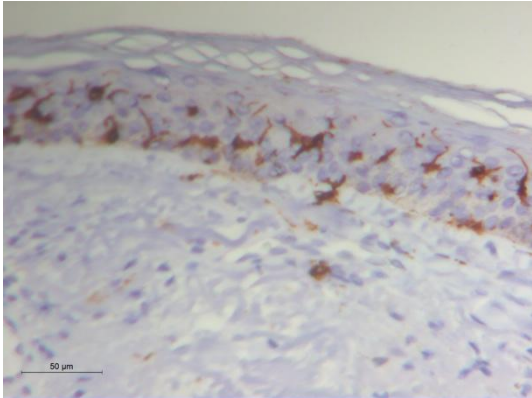
Abbildung 13: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 1 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.2 Patient 2 (männlich)

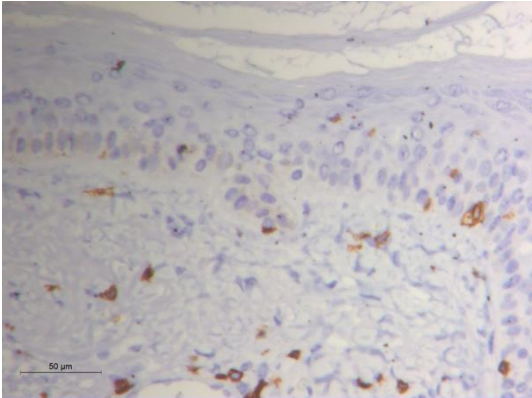
Journal- Nr.: 0468II-2017

Alter bei Studienerhebung: 77 Jahre

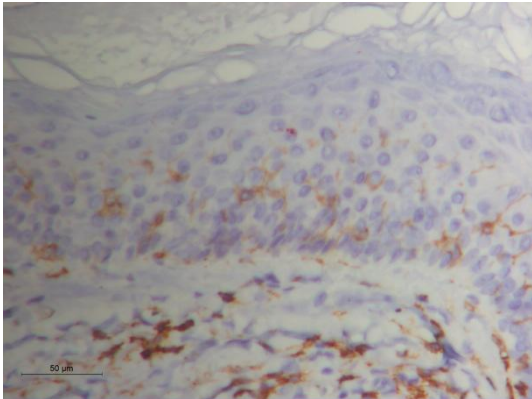
Lokalisation: Nase



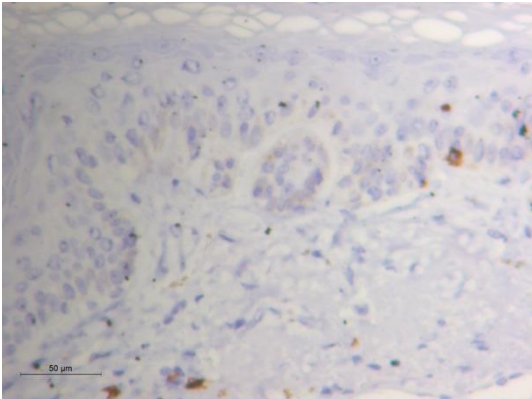
CD 1a



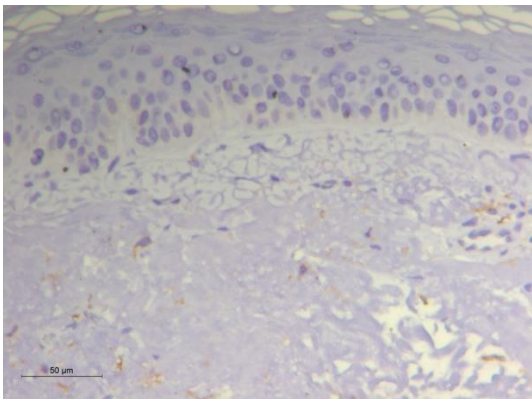
CD3



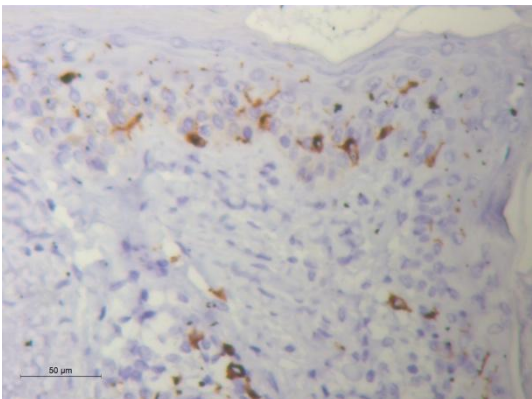
CD4



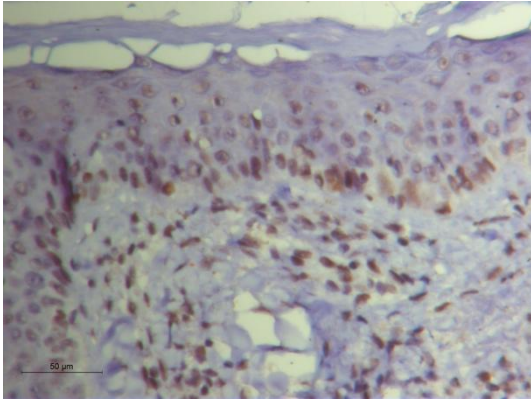
CD8



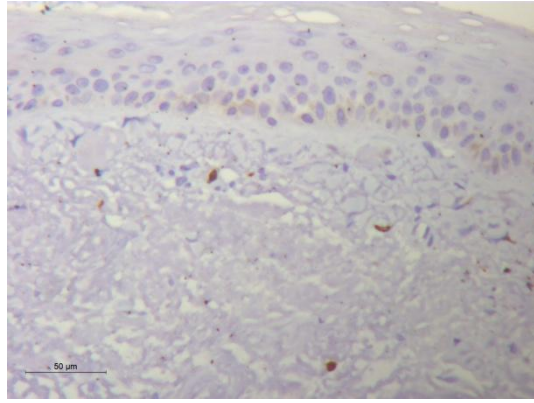
CD14



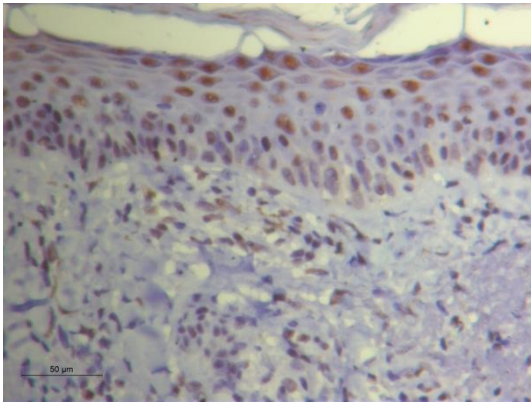
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 2

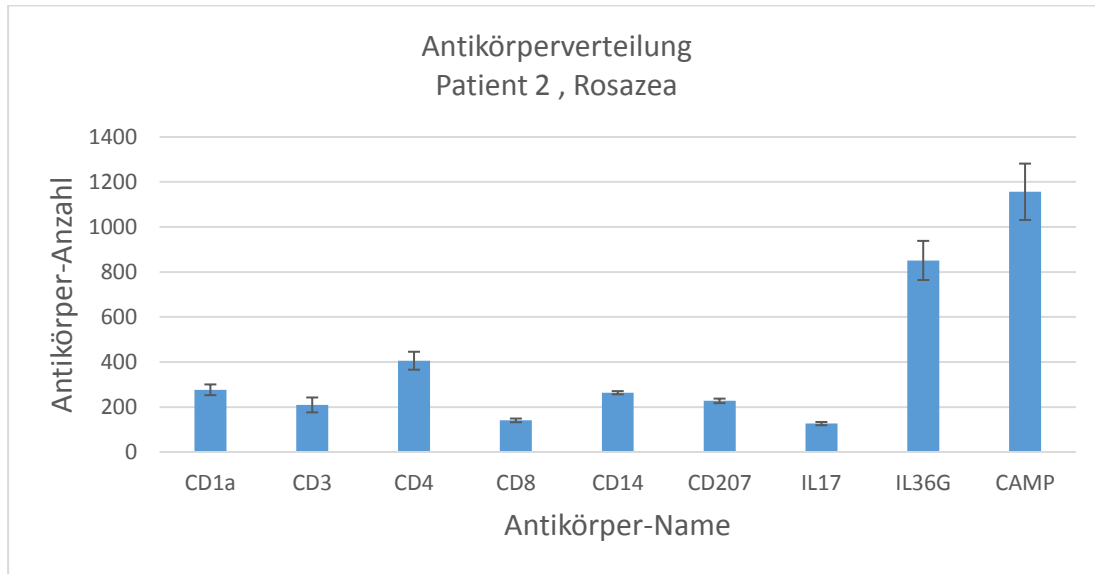


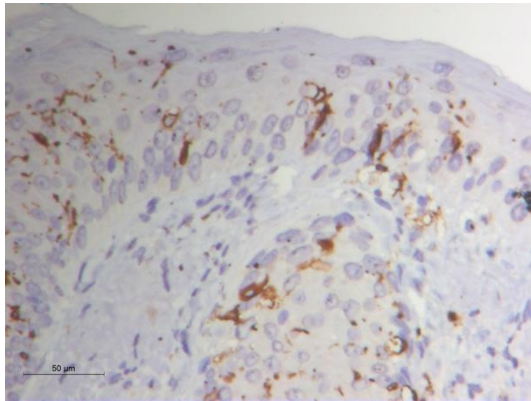
Abbildung 14: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 2 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.3 Patient 3 (weiblich)

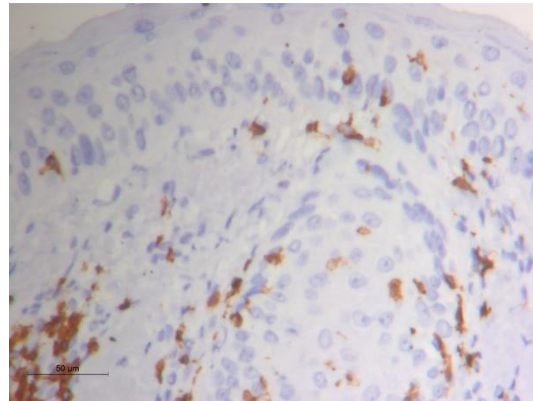
Journal-Nr.:0546-2017

Alter bei Studienerhebung: 66 Jahre

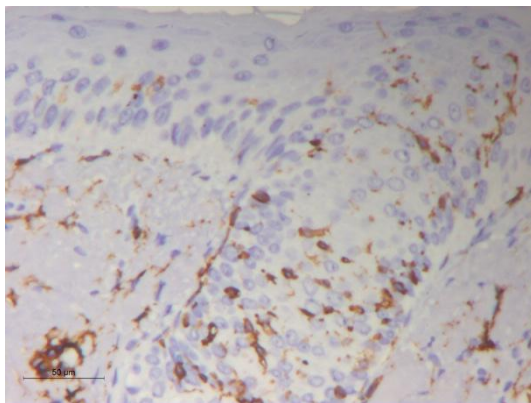
Lokalisation: Gesicht



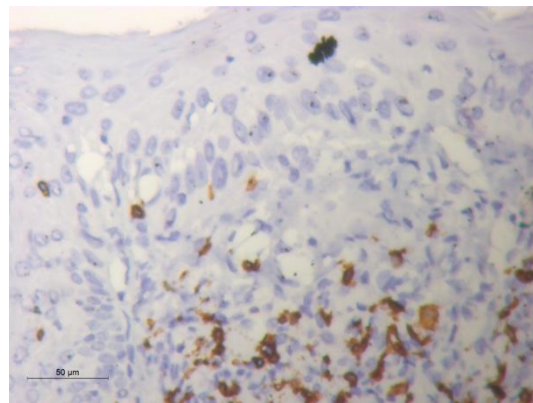
CD 1a



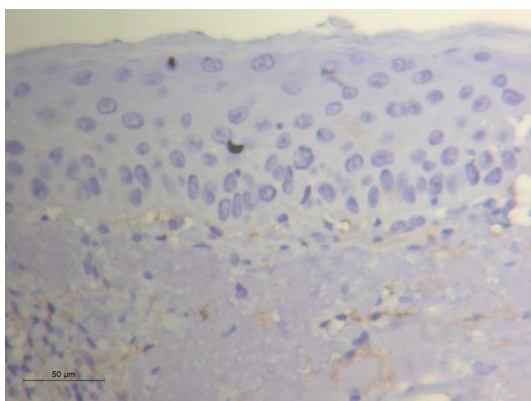
CD3



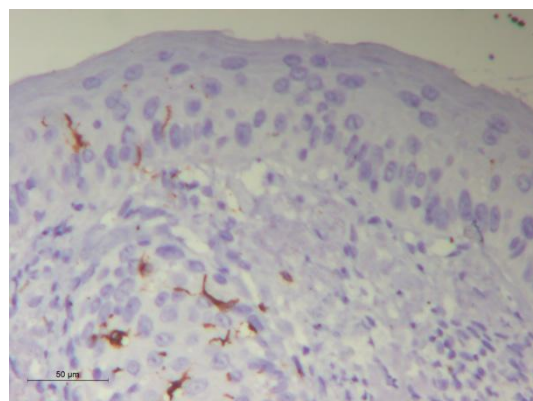
CD4



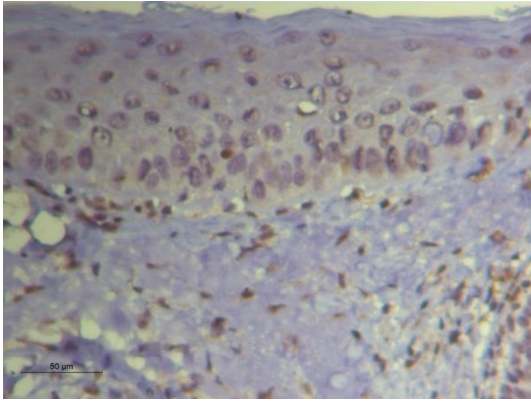
CD8



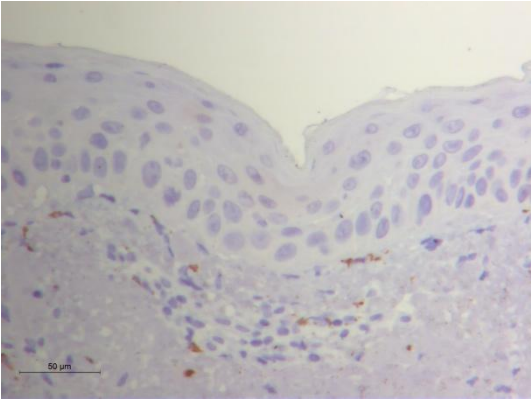
CD14



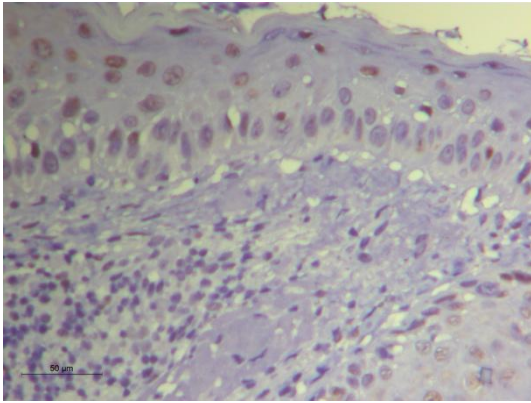
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

### Antikörperverteilung: Patient 3

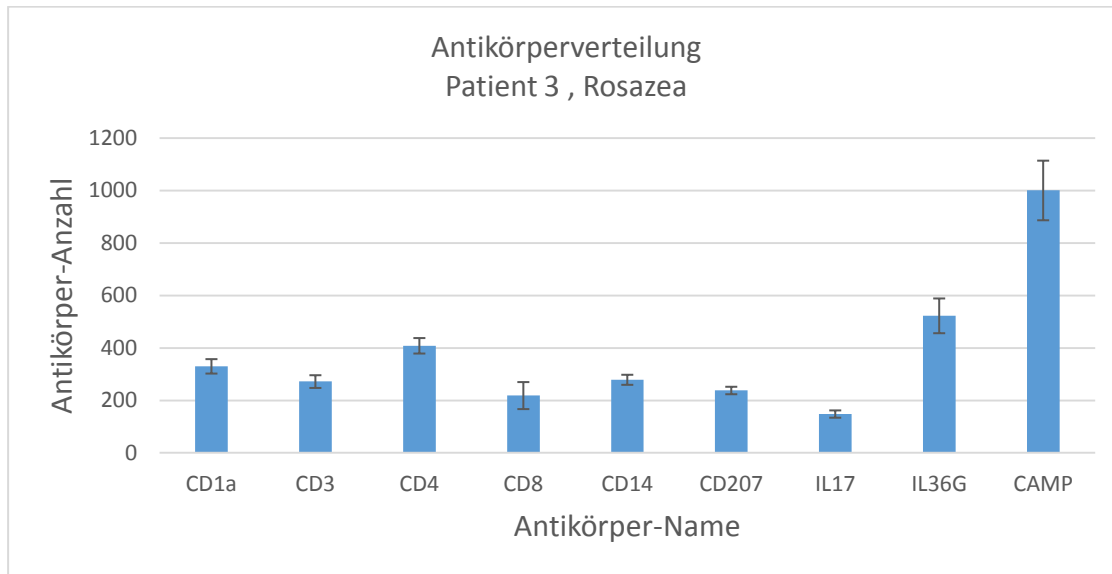


Abbildung 15: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 3 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

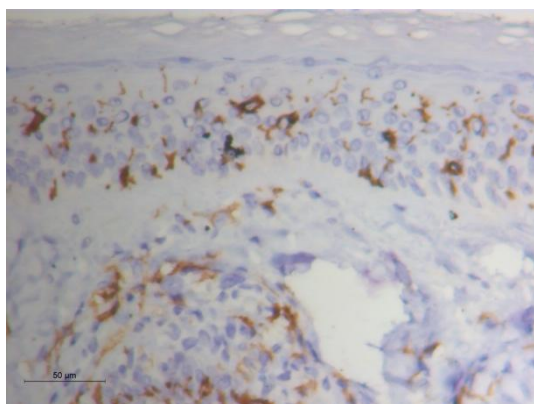


5.2.4 Patient 4 (weiblich)

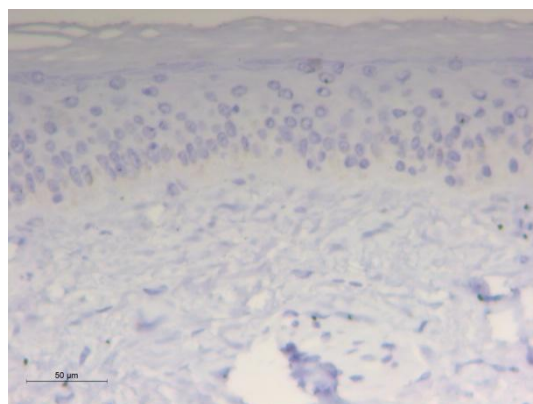
Journal-Nr.: 0774-2017

Alter bei Studienerhebung: 52 Jahre

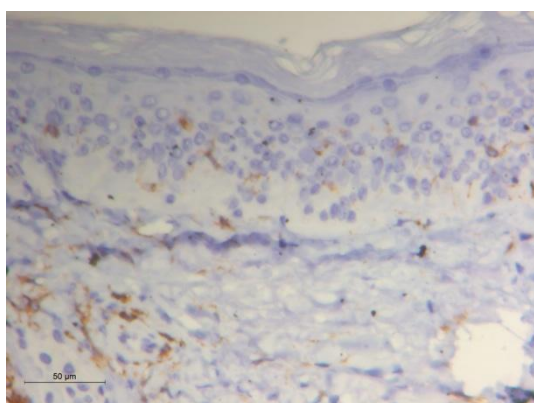
Lokalisation: Linker Nasenflügel



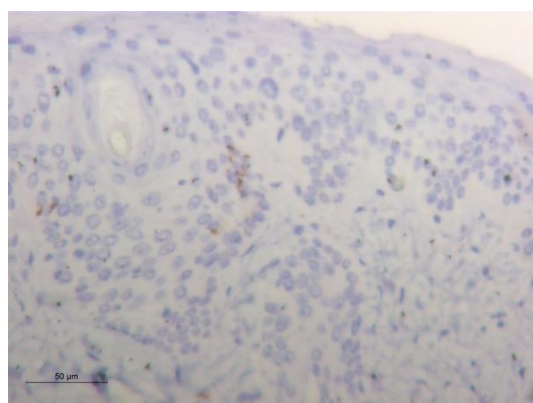
CD 1a



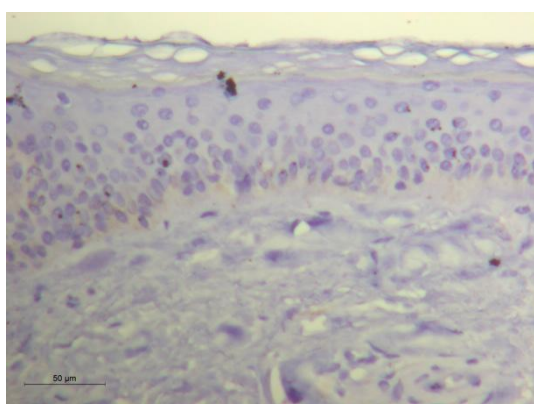
CD3



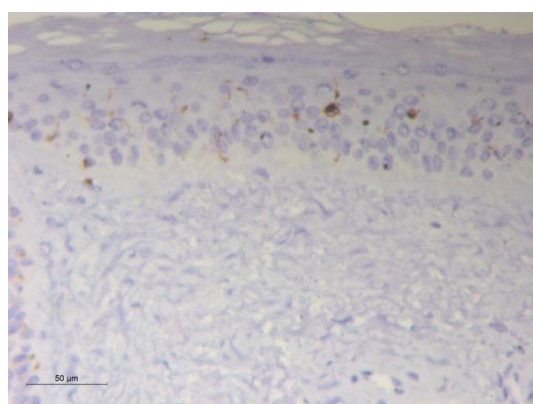
CD4



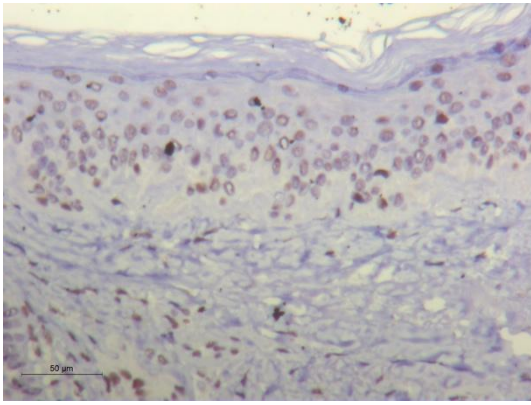
CD8



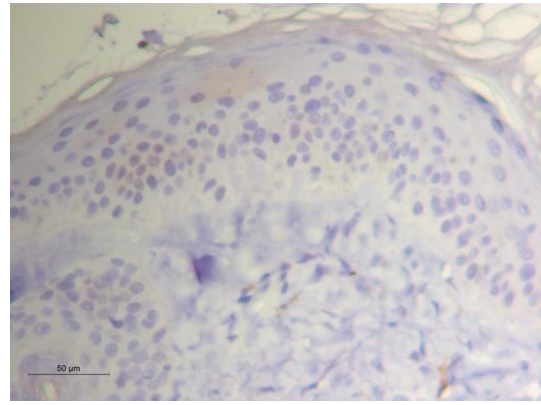
CD14



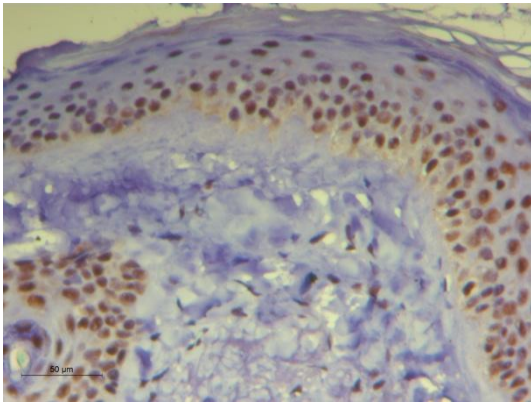
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

### Antikörperverteilung: Patient 4

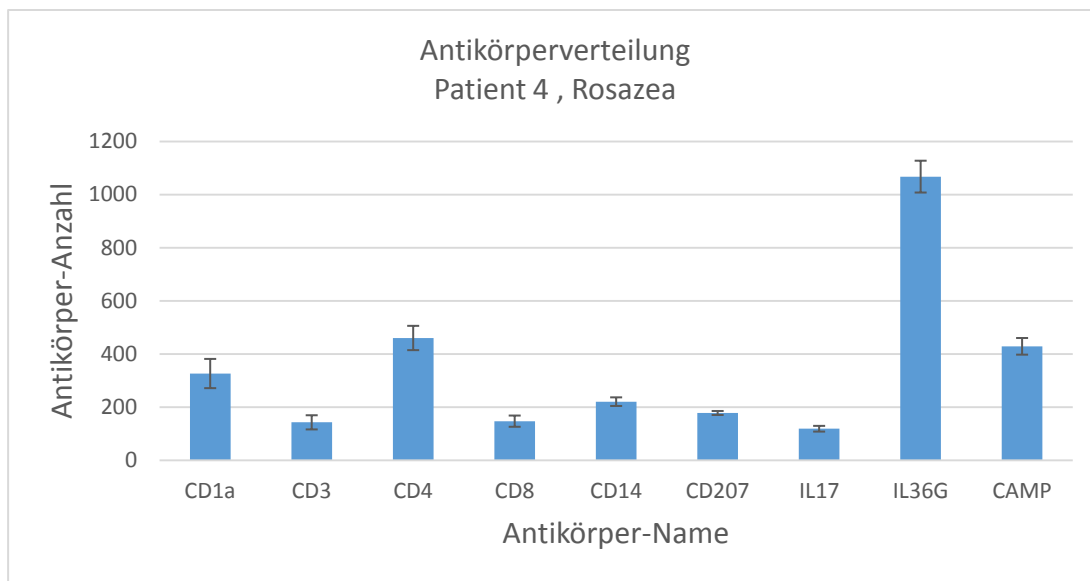


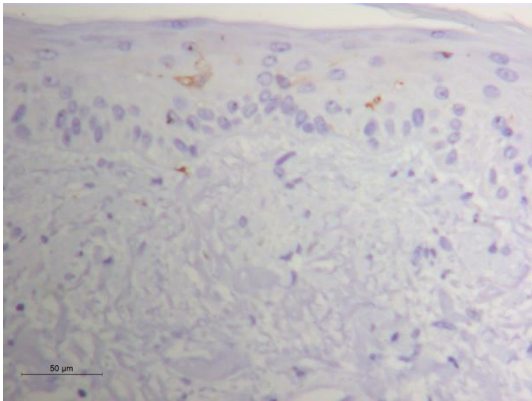
Abbildung 16: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 4 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.5 Patient 5 (männlich)

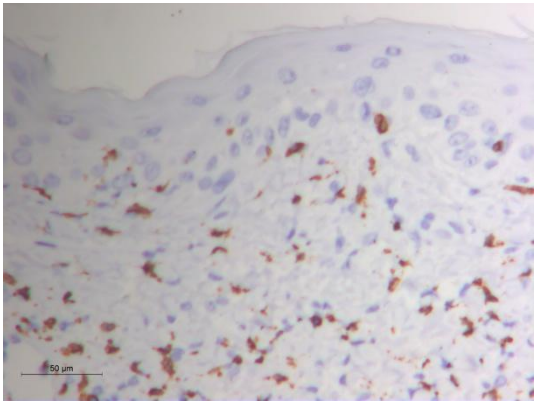
Journal-Nr.: 0997-2017

Alter bei Studienerhebung: 73 Jahre

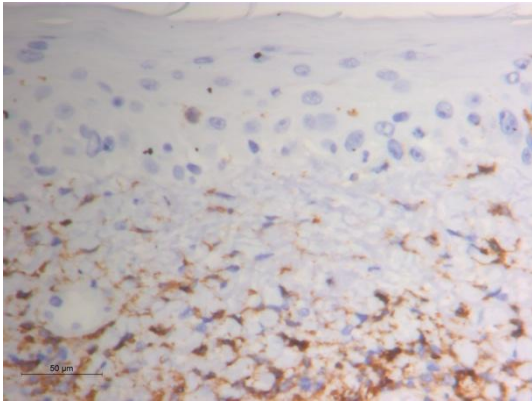
Lokalisation: Nase



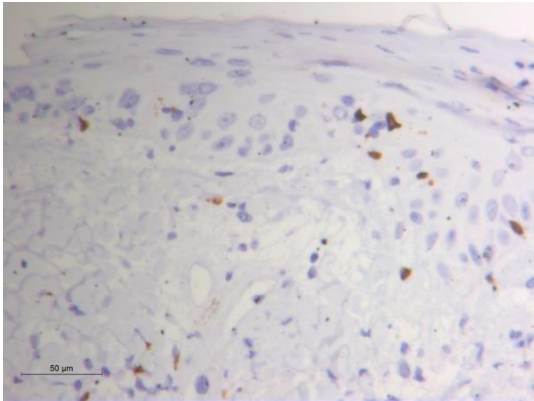
CD 1a



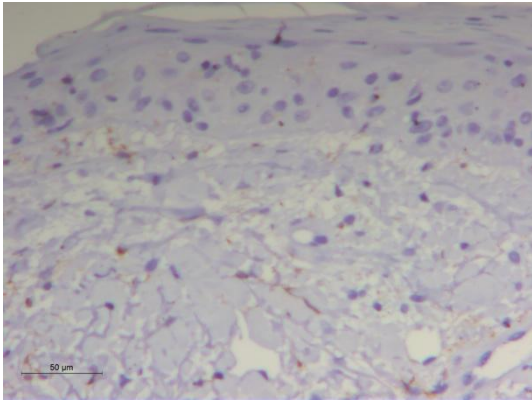
CD3



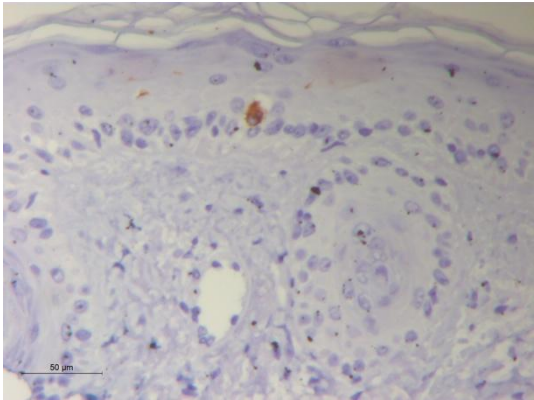
CD4



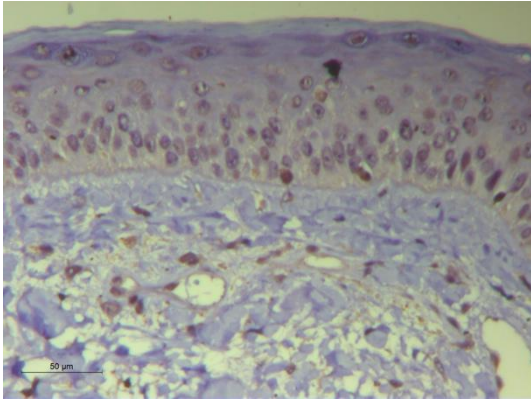
CD8



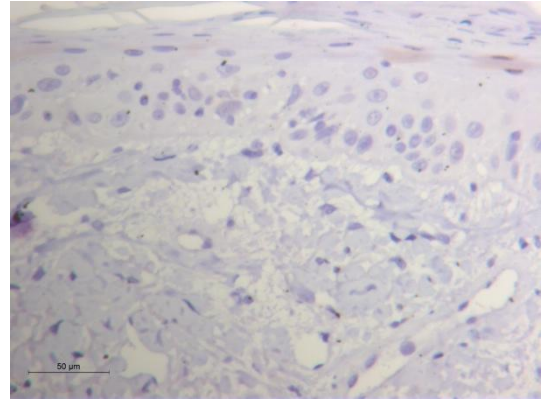
CD14



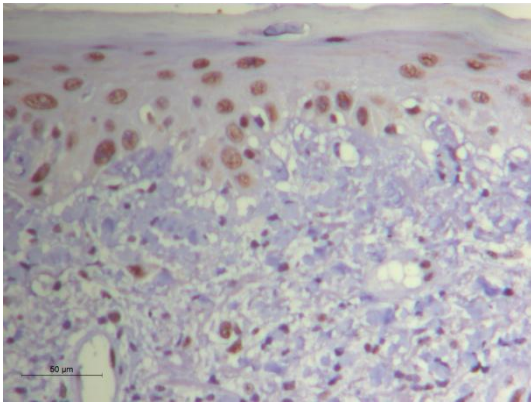
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 5

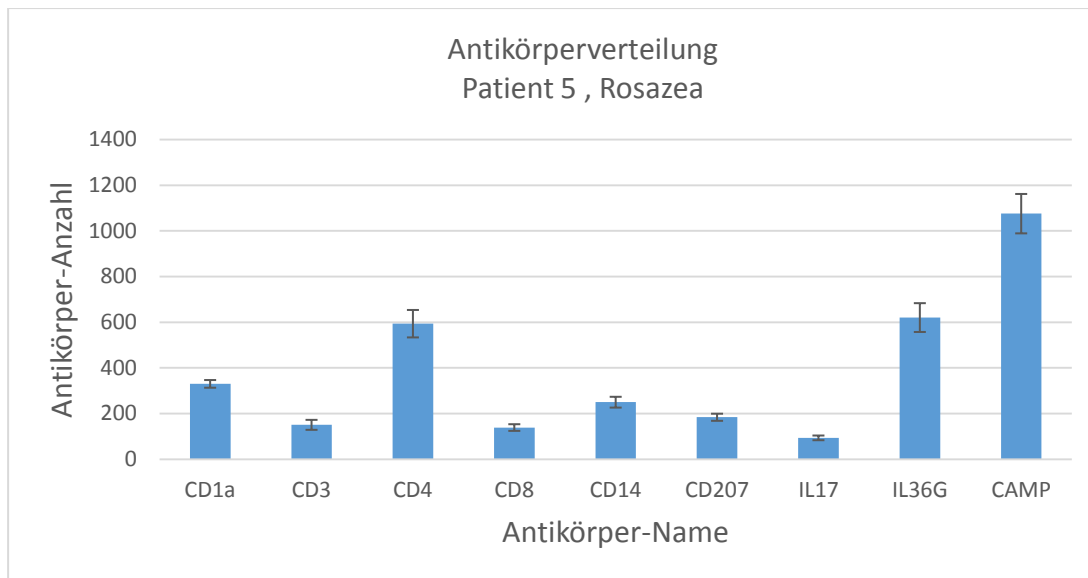


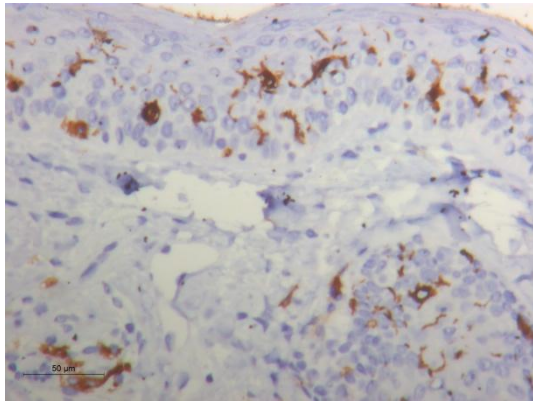
Abbildung 17: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 5 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.6 Patient 6 (männlich)

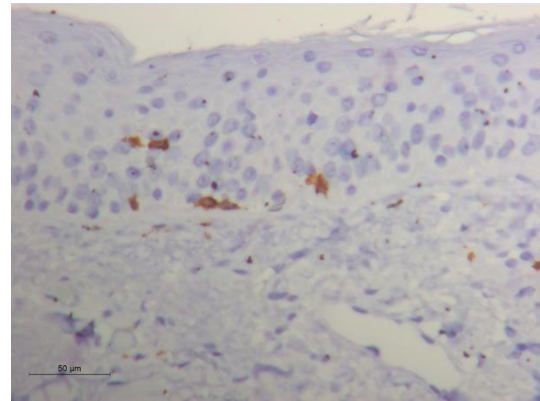
Journal-Nr.: 1088-2017

Alter bei Studienerhebung: 57 Jahre

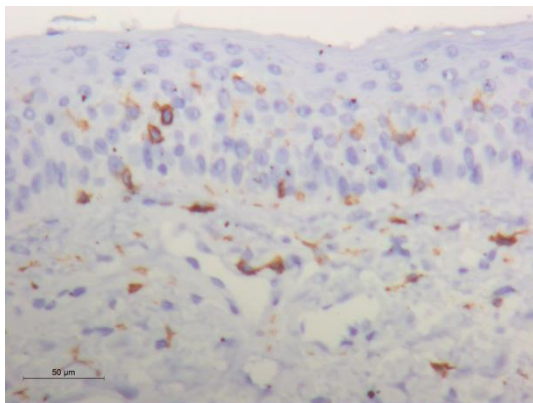
Lokalisation: Gesicht



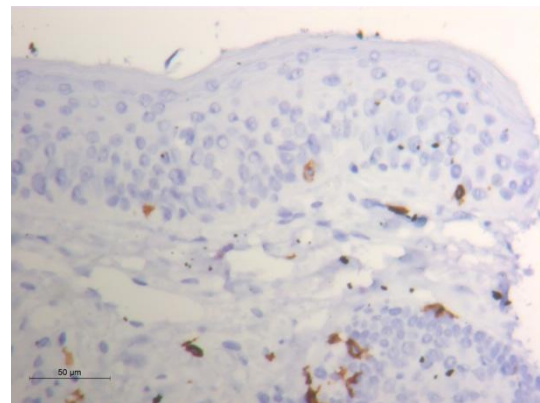
CD 1a



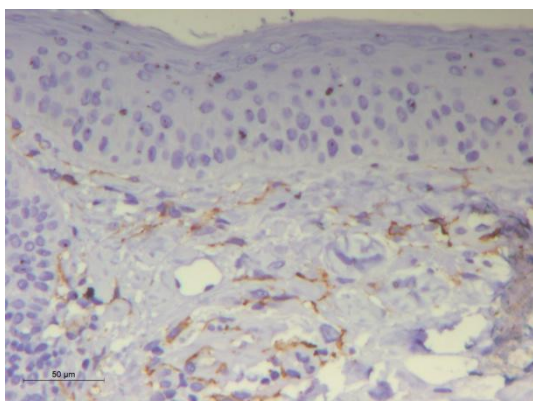
CD3



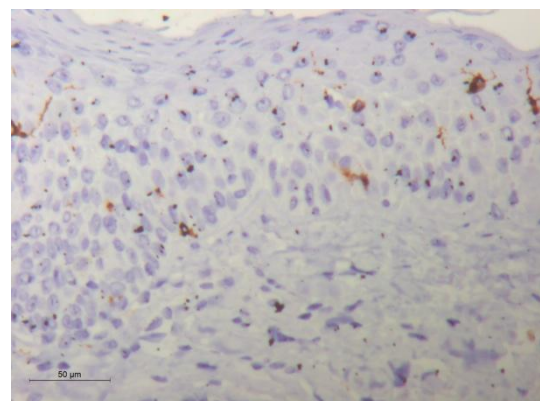
CD4



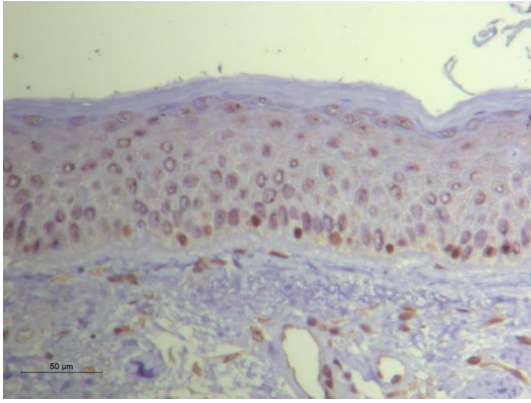
CD8



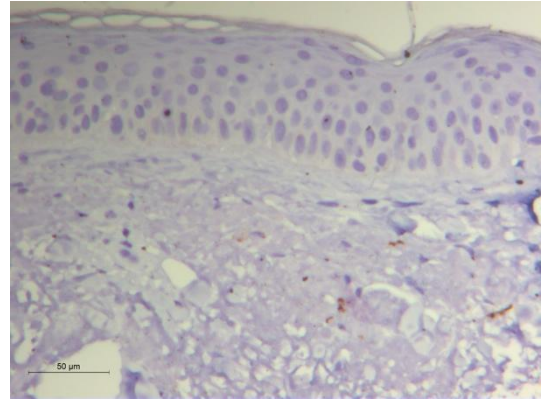
CD14



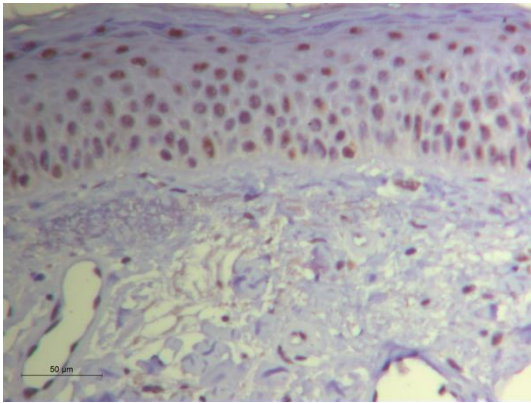
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G



## Antikörperverteilung: Patient 6

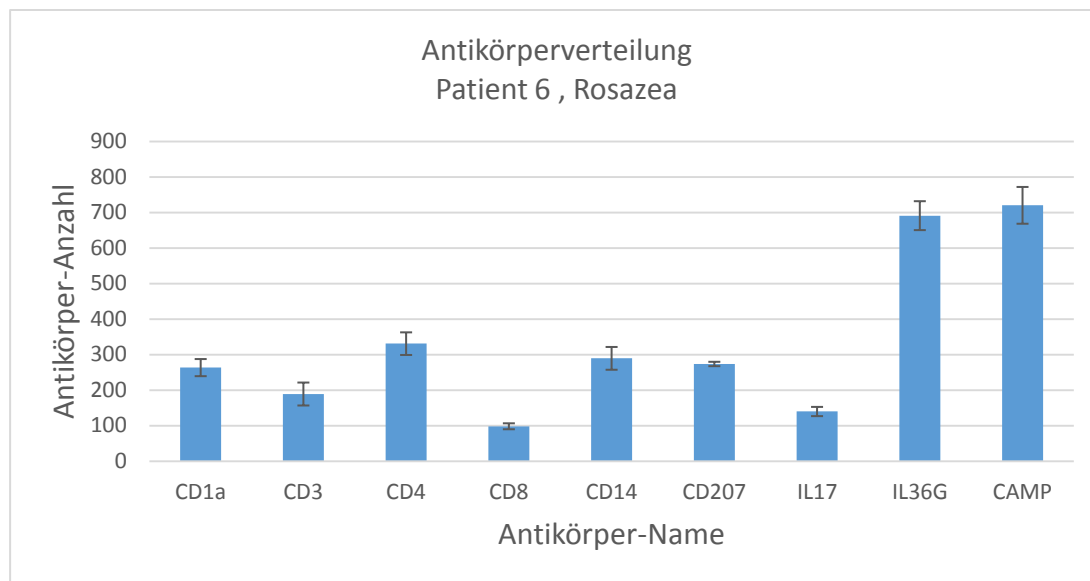


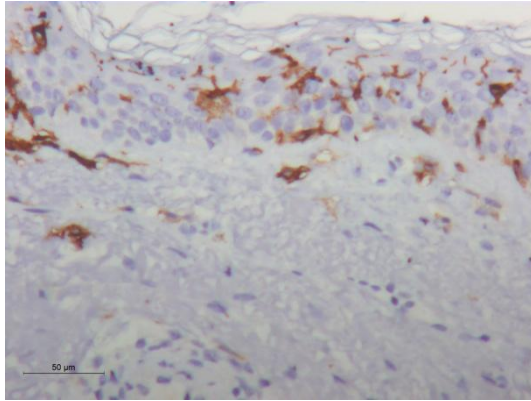
Abbildung 18: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 6 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.7 Patient 7 (männlich)

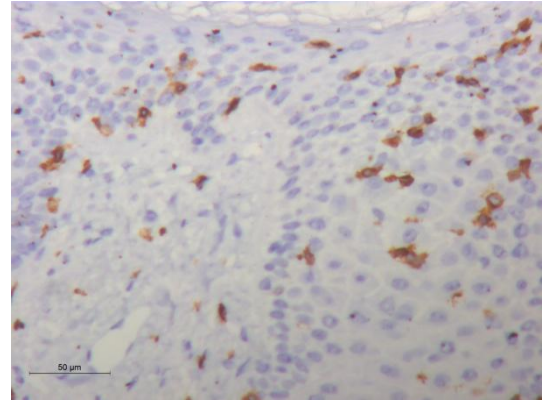
Journal-Nr.: 1944-2017

Alter bei Studienerhebung: 56 Jahre

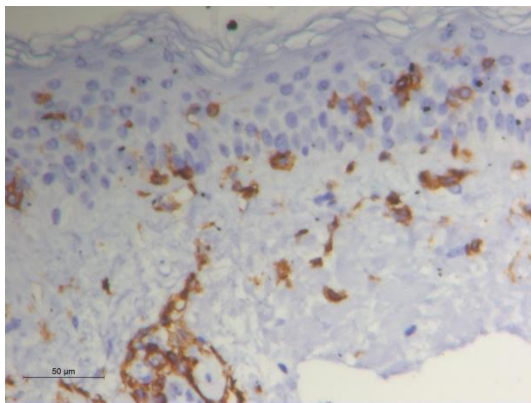
Lokalisation: Nase



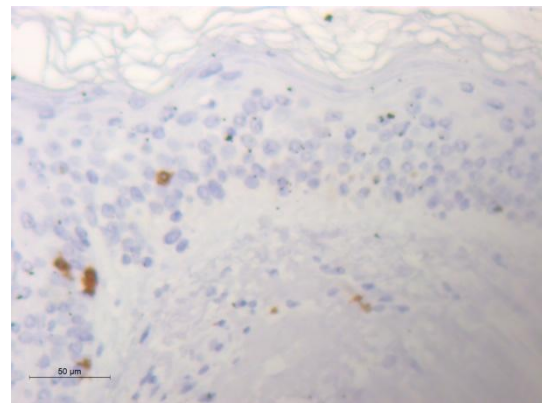
CD 1a



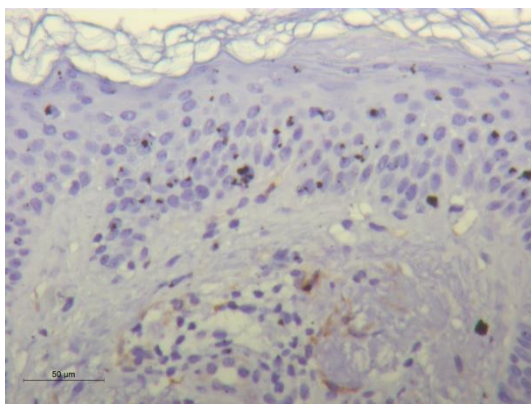
CD3



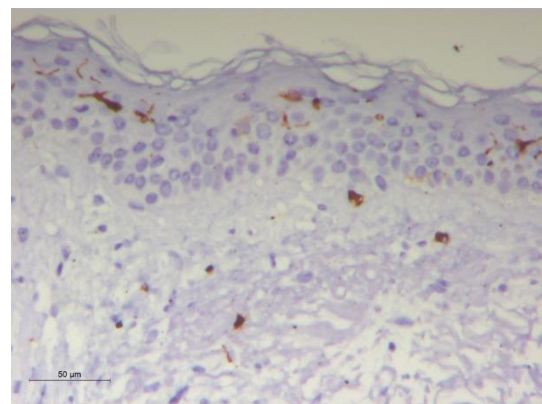
CD4



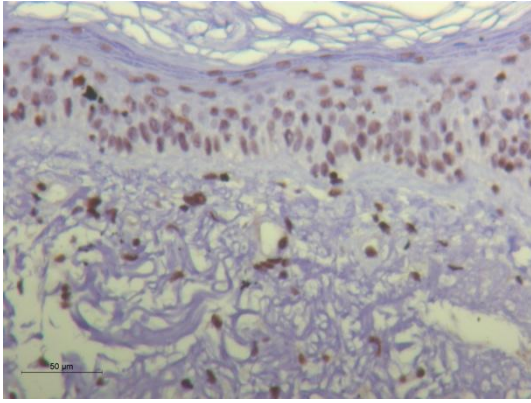
CD8



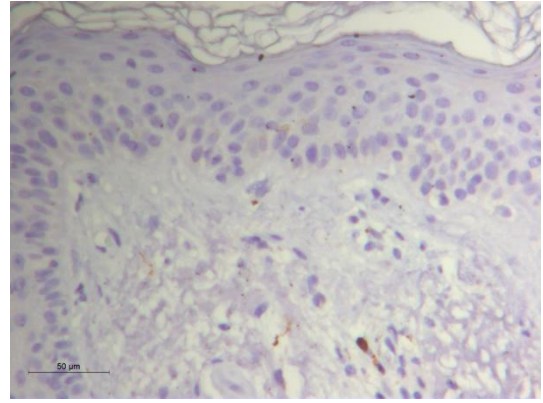
CD14



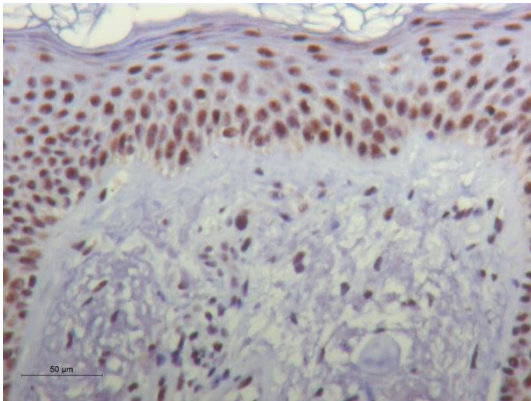
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 7

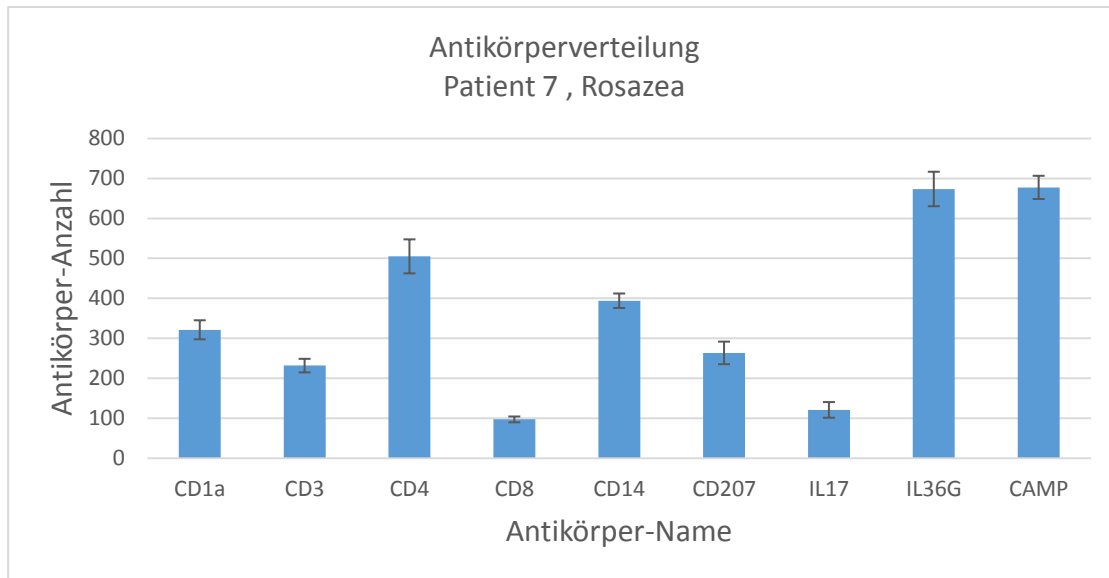


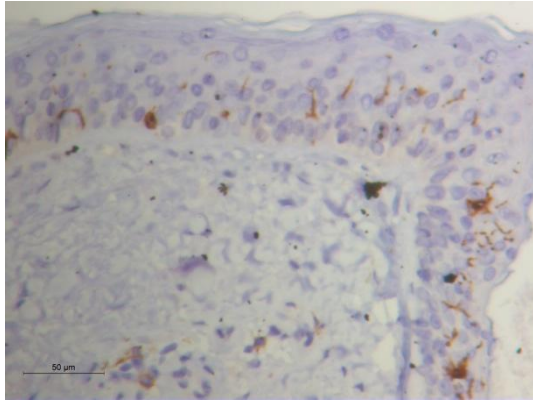
Abbildung 19: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 7 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.8 Patient 8 (weiblich)

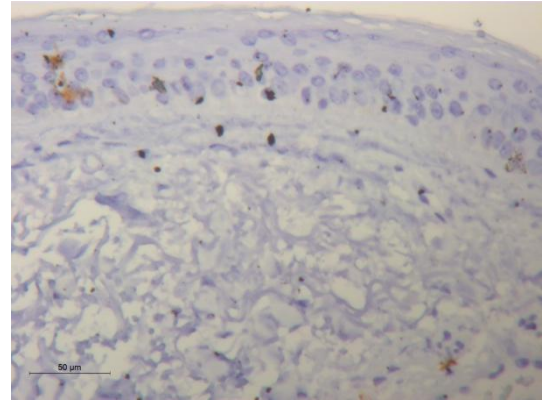
Journal-Nr.: 2284-2017

Alter bei Studienerhebung: 58 Jahre

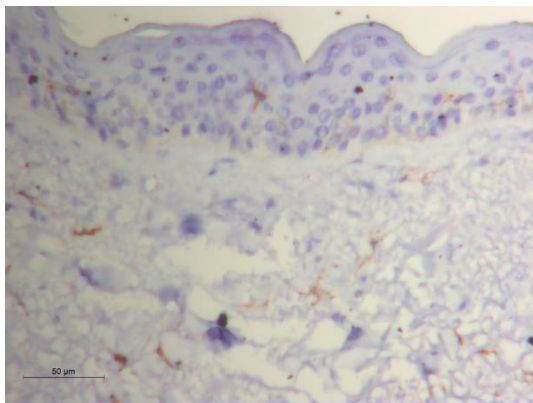
Lokalisation: Gesicht



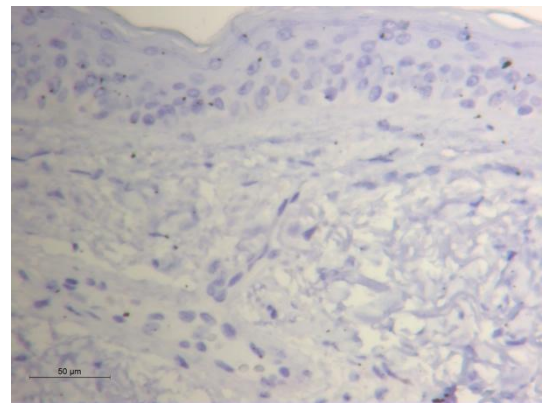
CD 1a



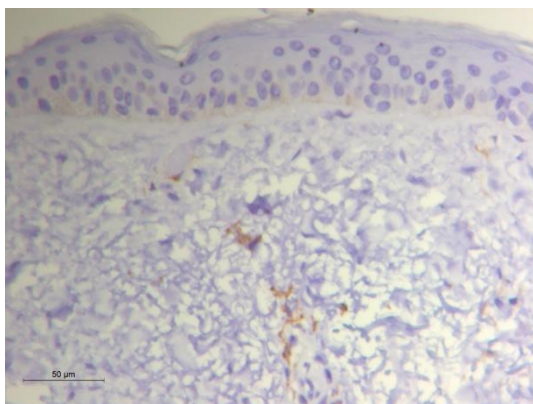
CD3



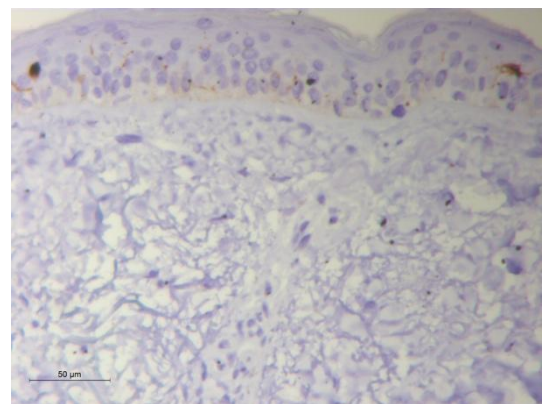
CD4



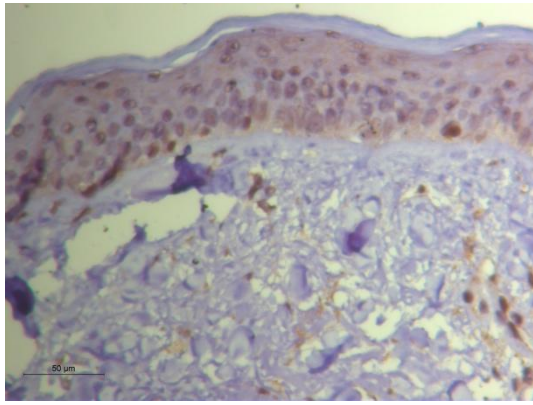
CD8



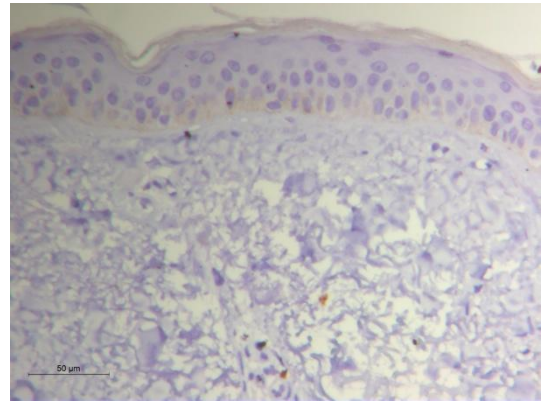
CD14



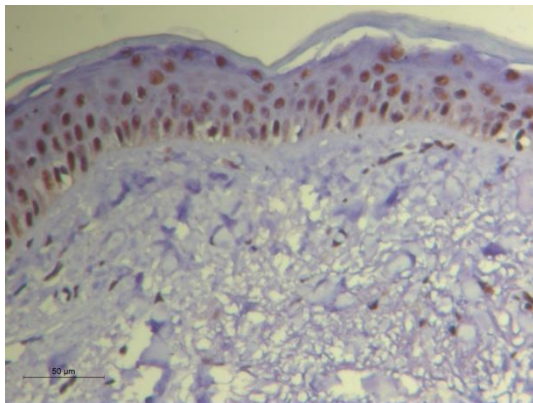
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 8

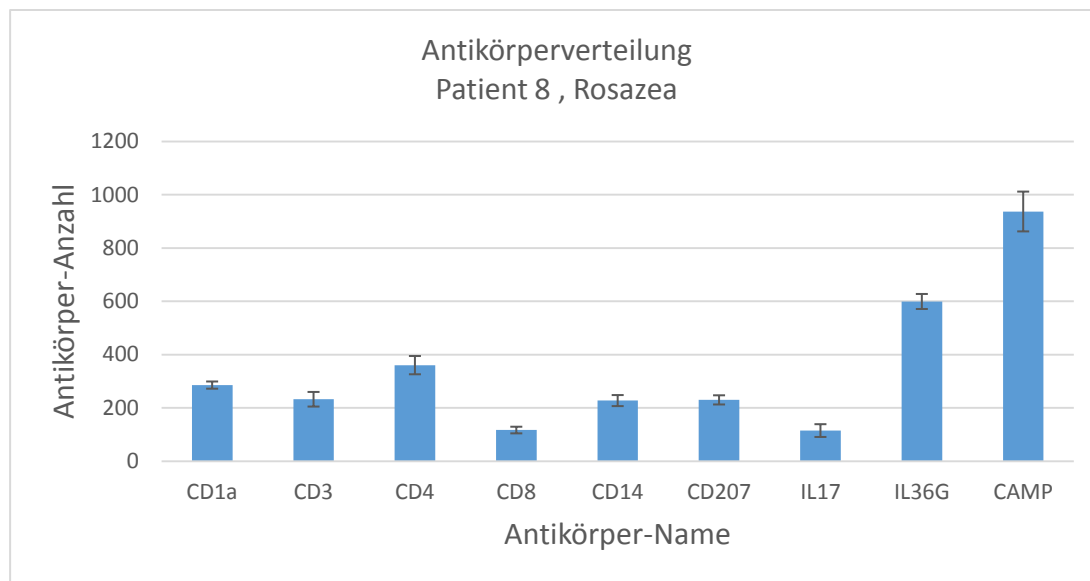


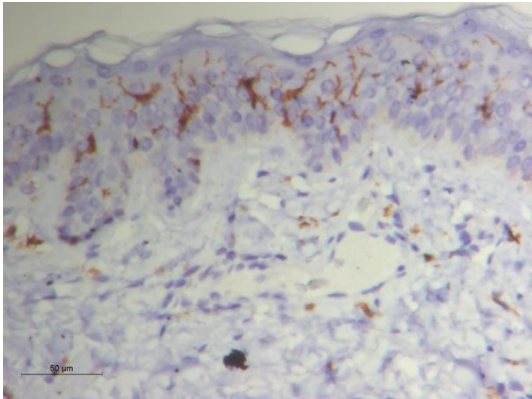
Abbildung 20: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 8 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.9 Patient 9 (weiblich)

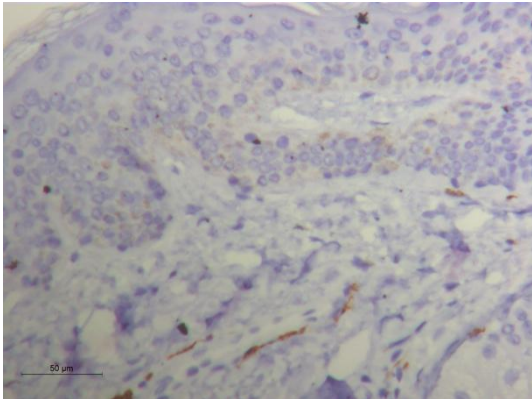
Journal-Nr.: 2438-2017

Alter bei Studienerhebung: 45 Jahre

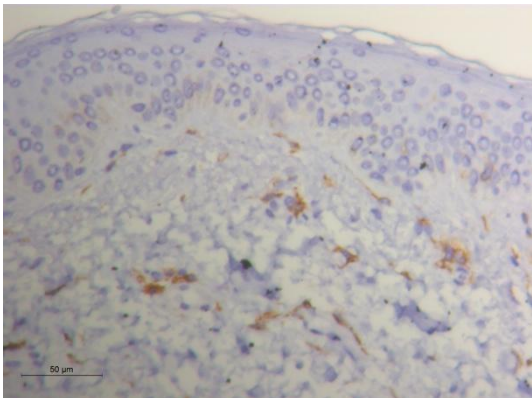
Lokalisation: Wange



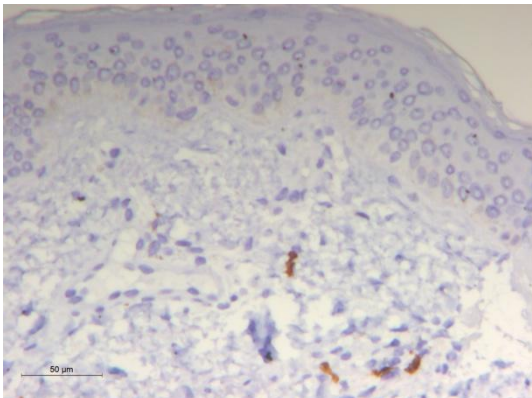
CD 1a



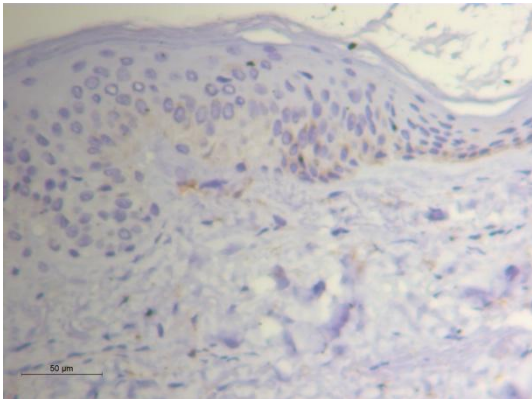
CD3



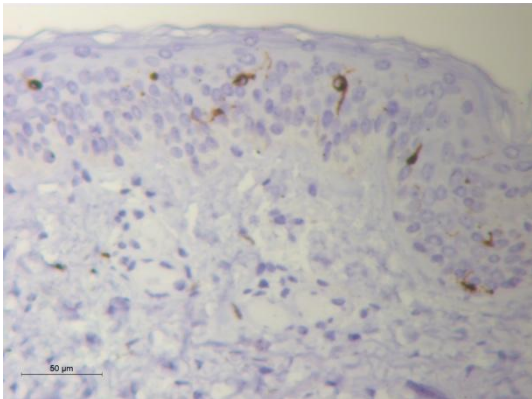
CD4



CD8

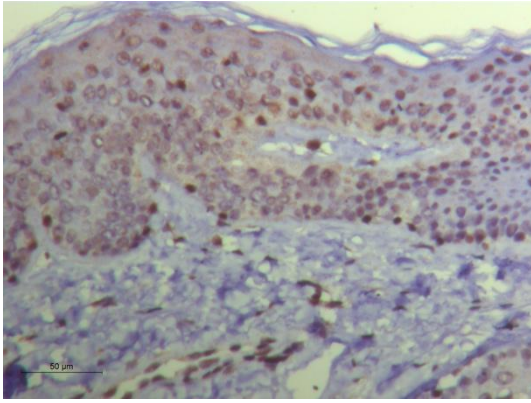


CD14

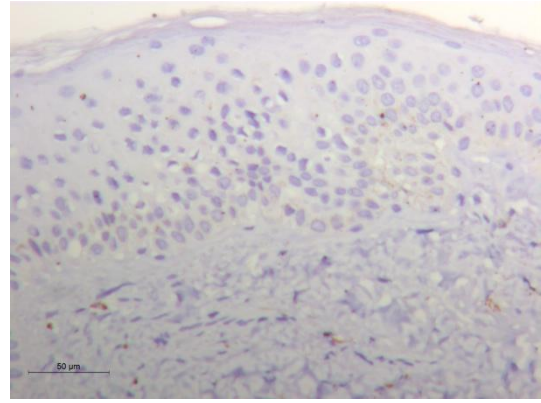


CD 207

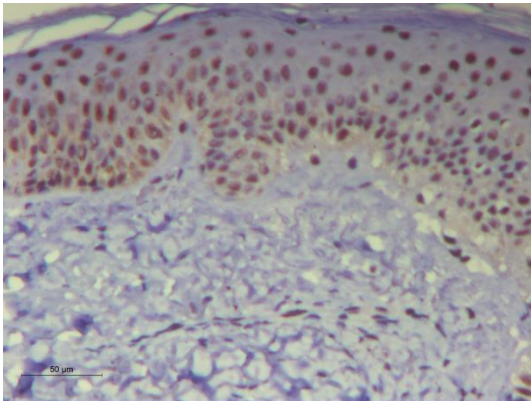




cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 9

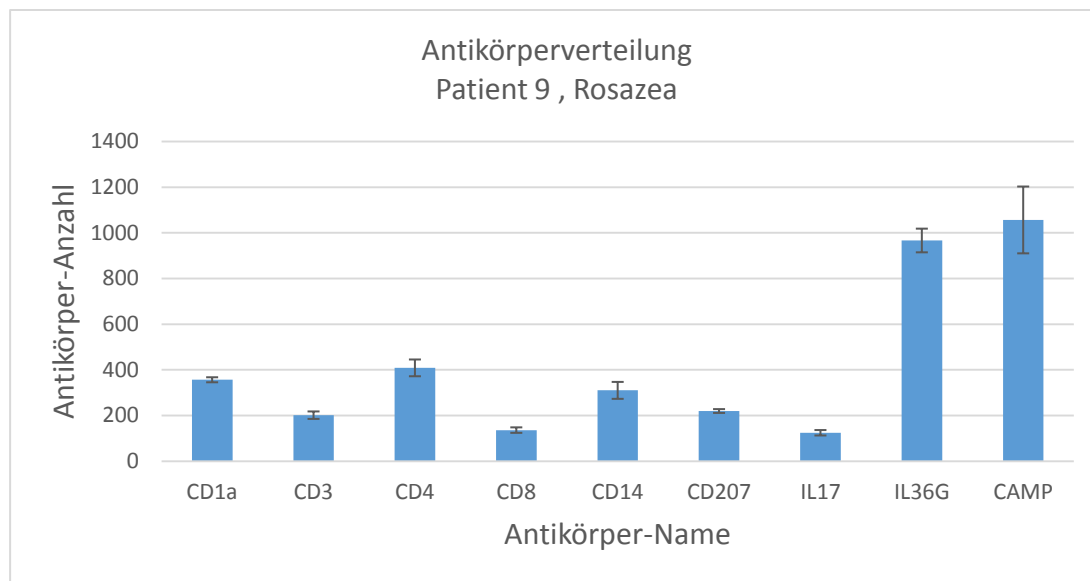


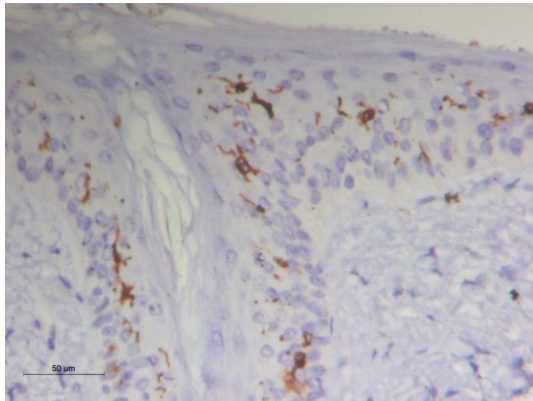
Abbildung 21: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 9 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.10 Patient 10 (weiblich)

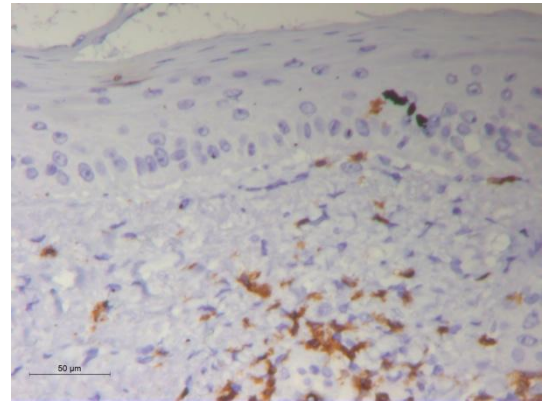
Journal-Nr.:2674-2017

Alter bei Studienerhebung: 36 Jahre

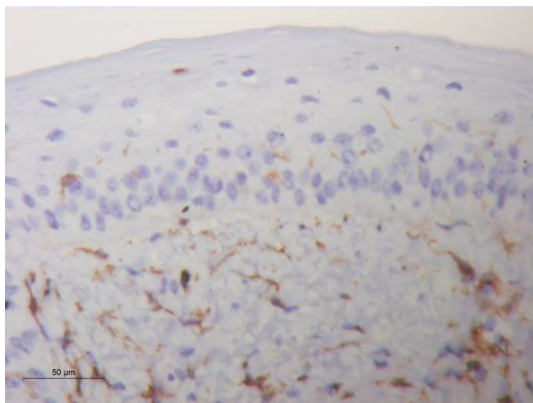
Lokalisation: Nase



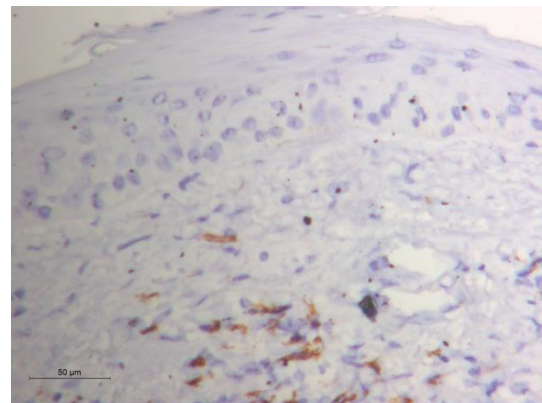
CD 1a



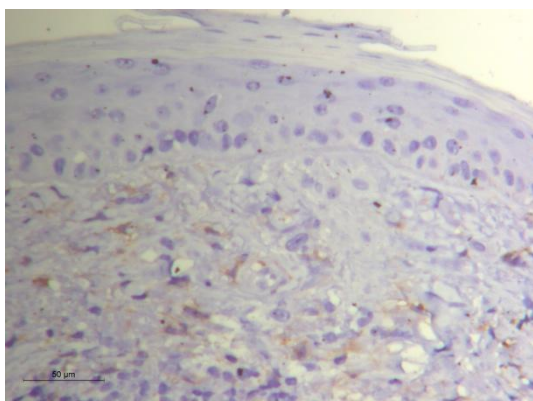
CD3



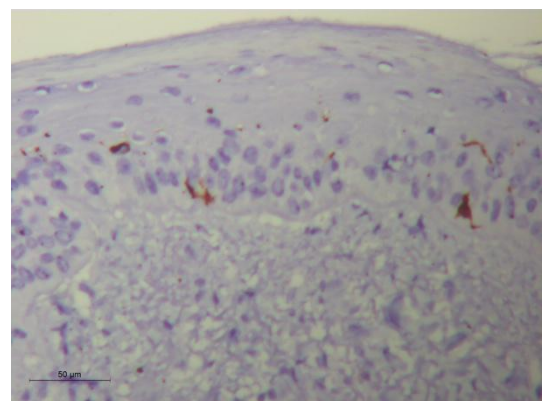
CD4



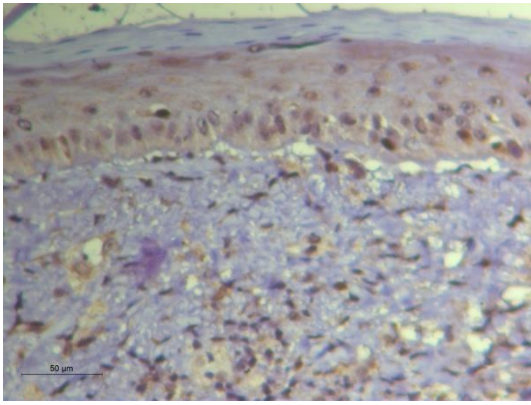
CD8



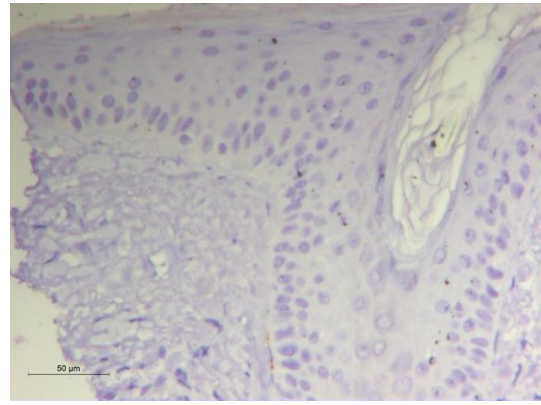
CD14



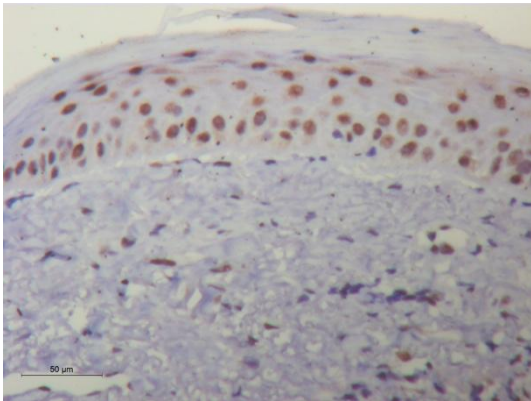
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 10

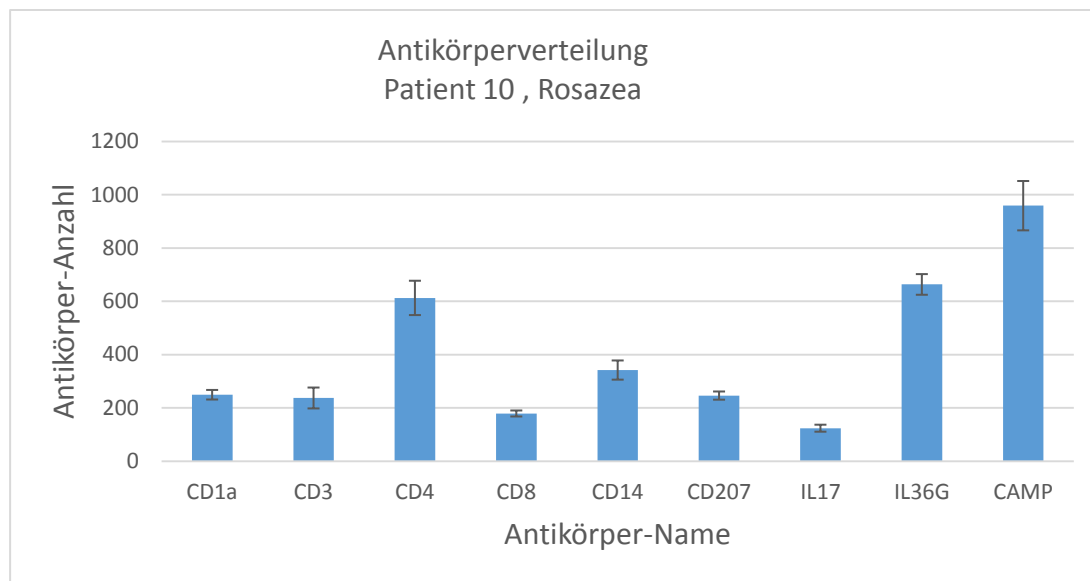


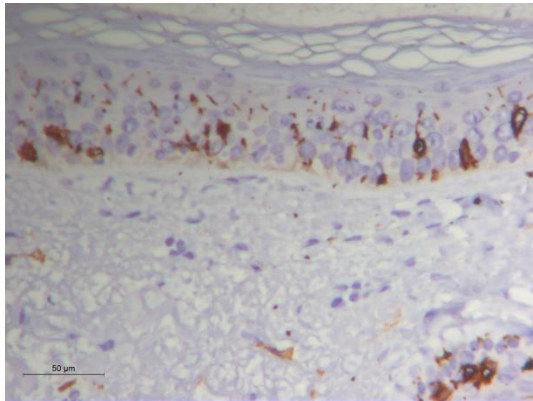
Abbildung 22: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 10 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.11 Patient 11 (weiblich)

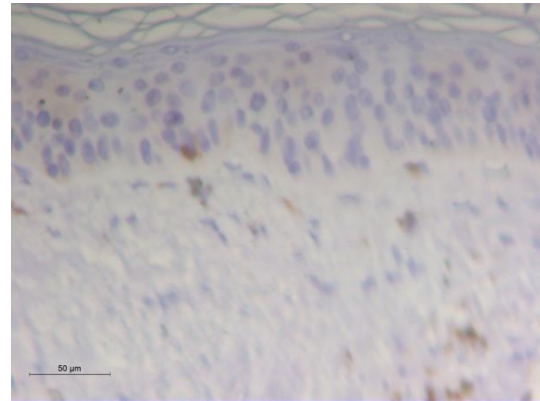
Journal-Nr.:2798-2017

Alter bei Studienerhebung: 66 Jahre

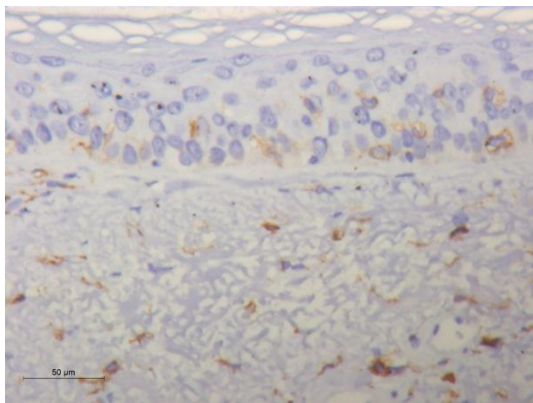
Lokalisation: Nasenrücken



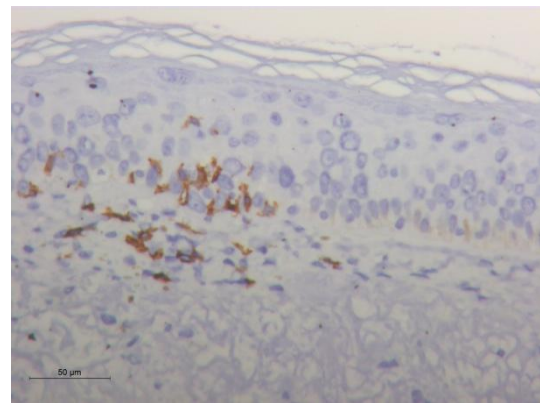
CD 1a



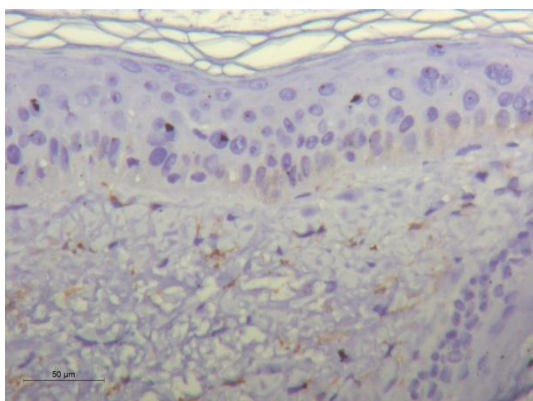
CD3



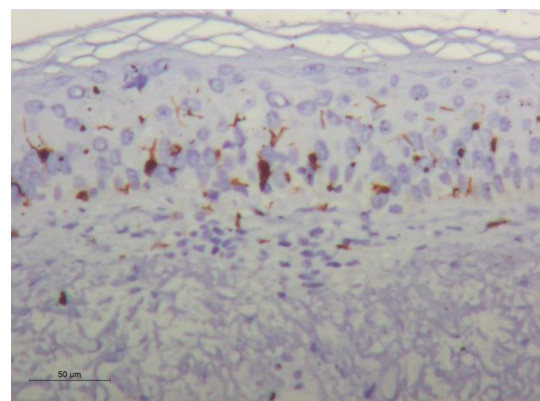
CD4



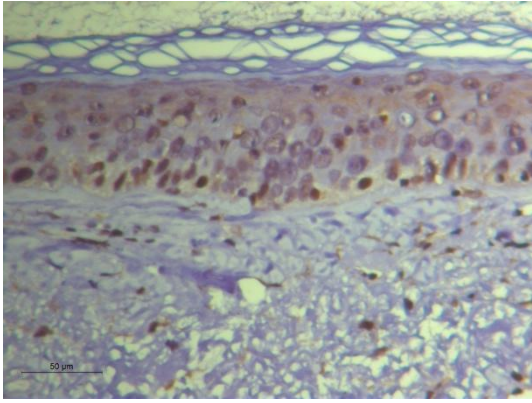
CD8



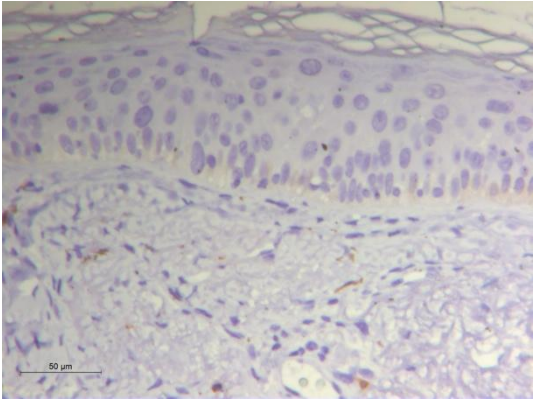
CD14



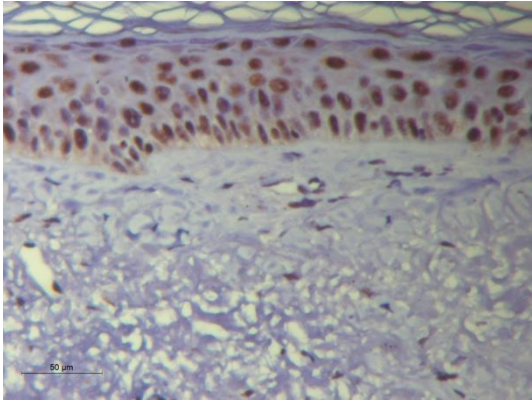
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 11

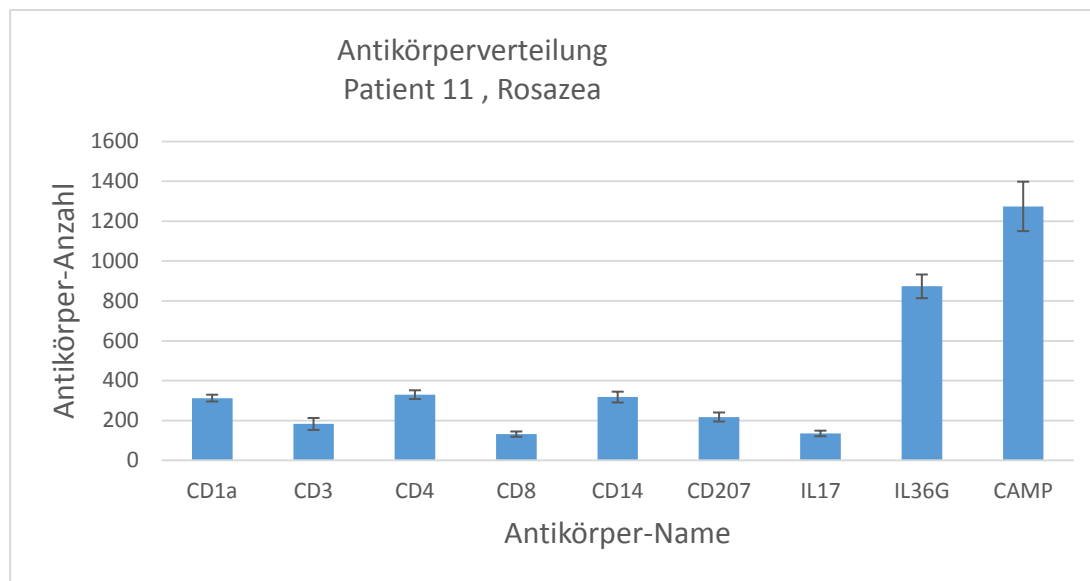


Abbildung 23: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 11 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

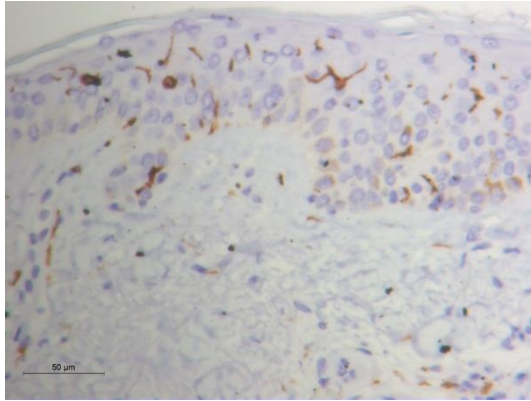


5.2.12 Patient 12 (weiblich)

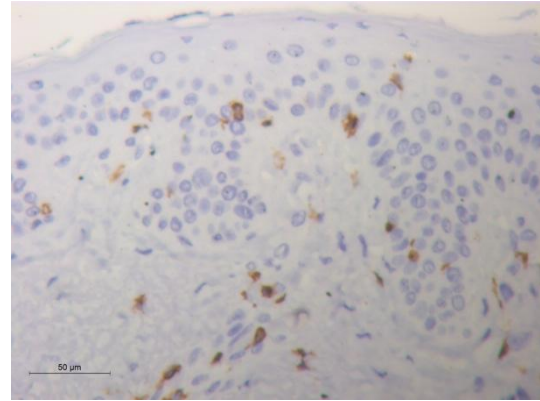
Journal-Nr.:3838-2017

Alter bei Studienerhebung: 58 Jahre

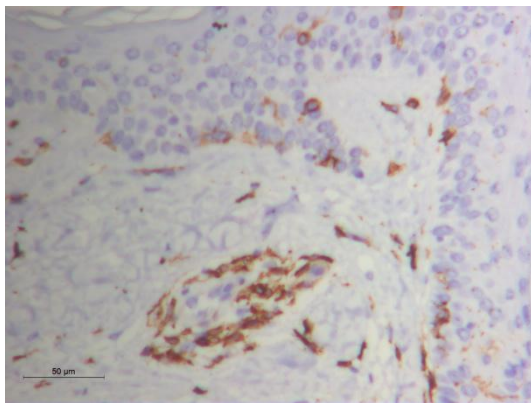
Lokalisation: Schläfe



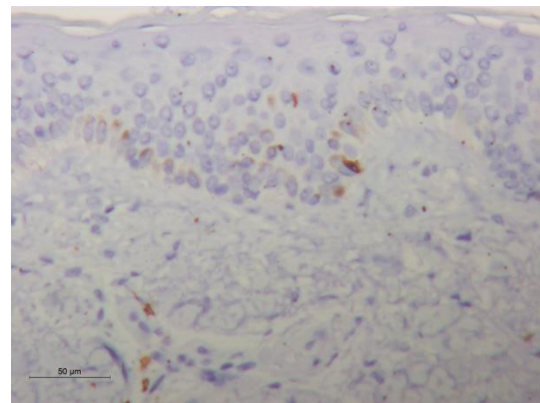
CD 1a



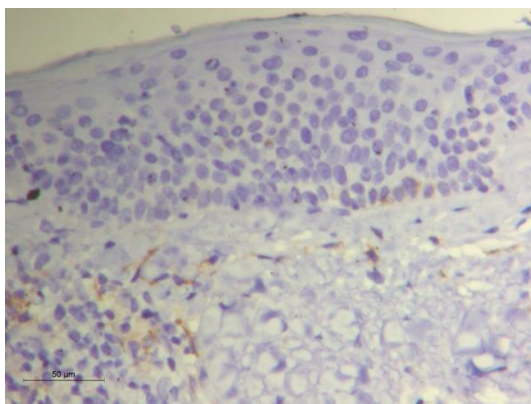
CD3



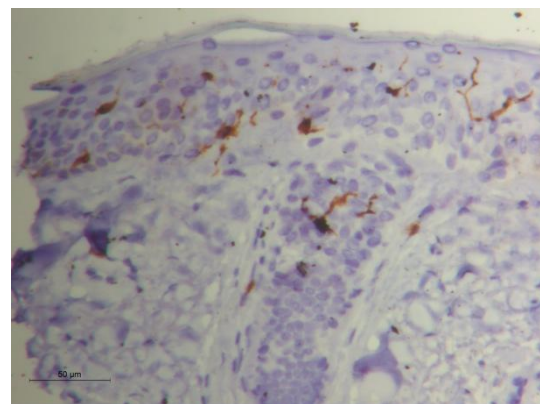
CD4



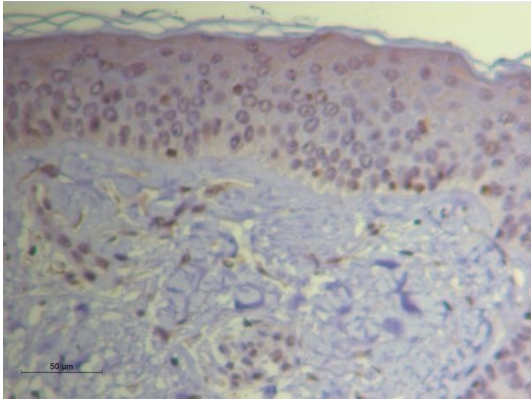
CD8



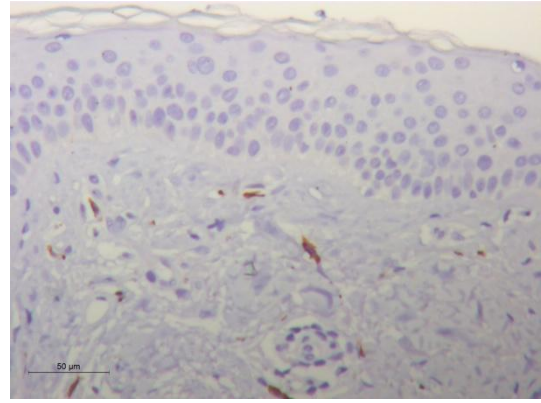
CD14



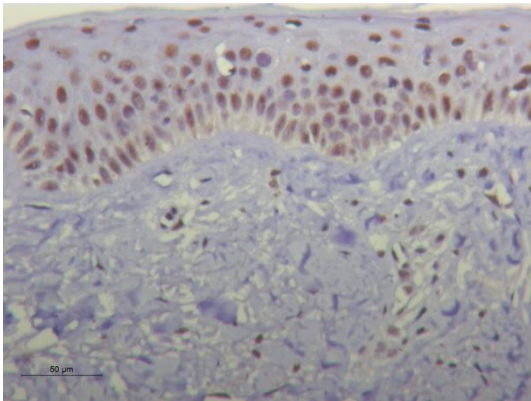
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 12

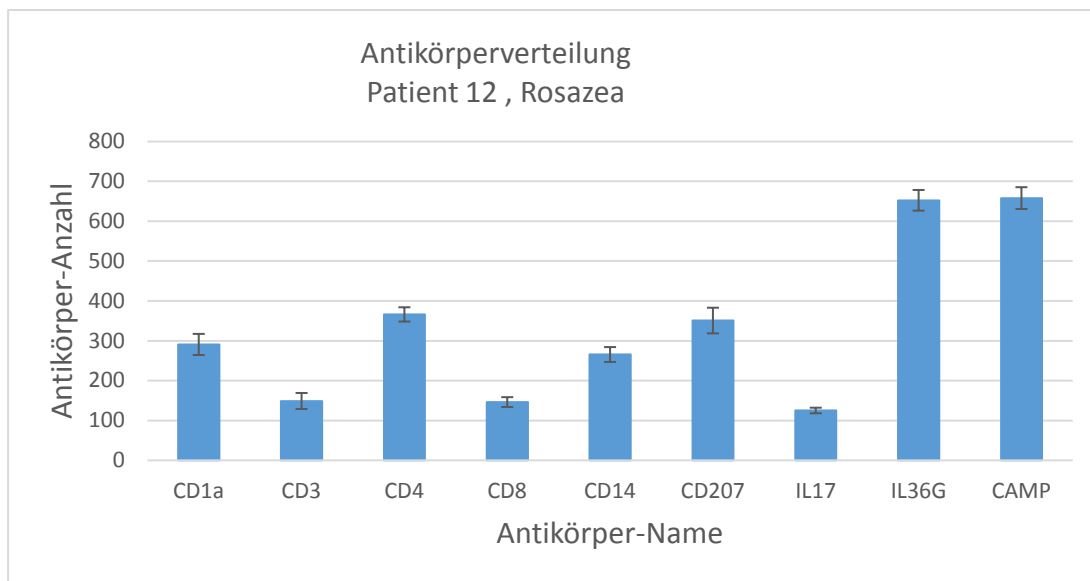


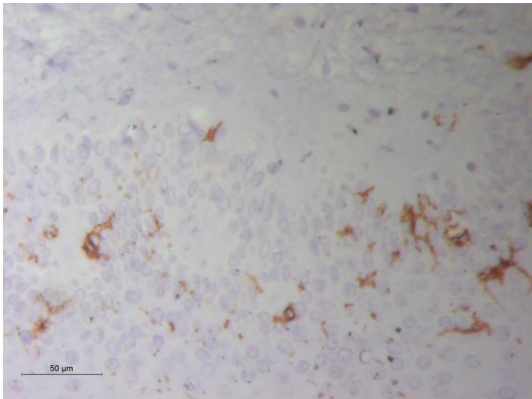
Abbildung 24: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 12 mit Rosazea, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.13 Patient 13 (weiblich)

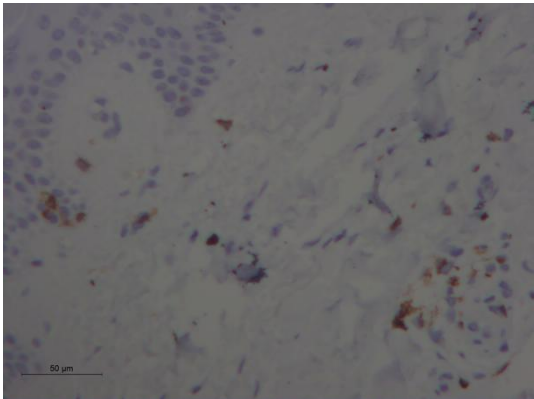
Journal-Nr.: 5775-2015

Alter bei Studienerhebung: 82 Jahre

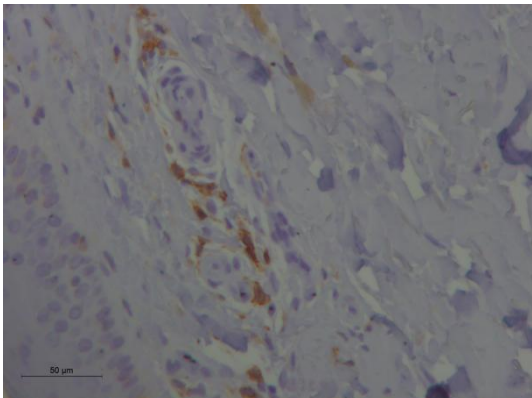
Kontrollgruppe



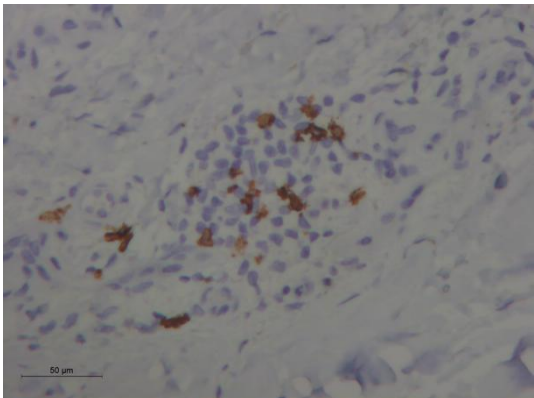
CD 1a



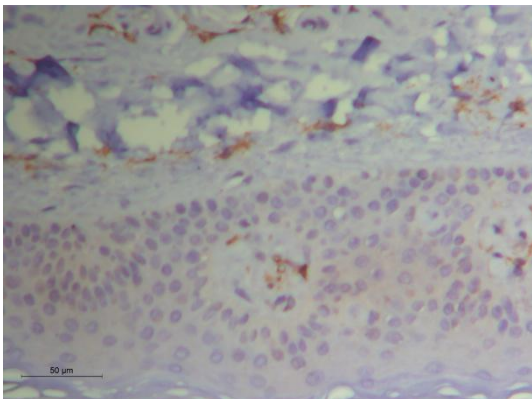
CD3



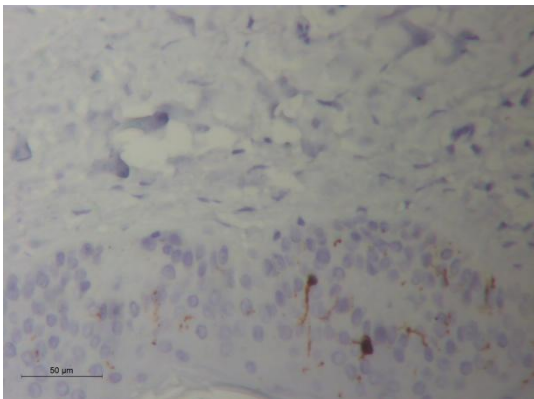
CD4



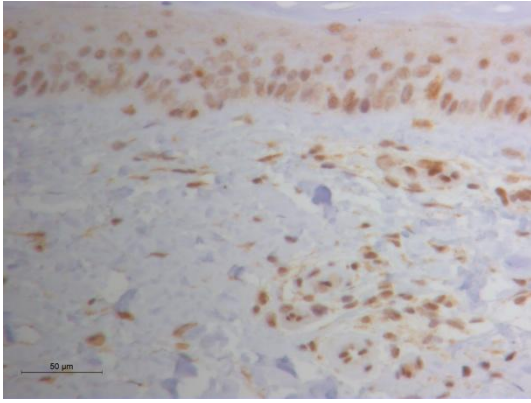
CD8



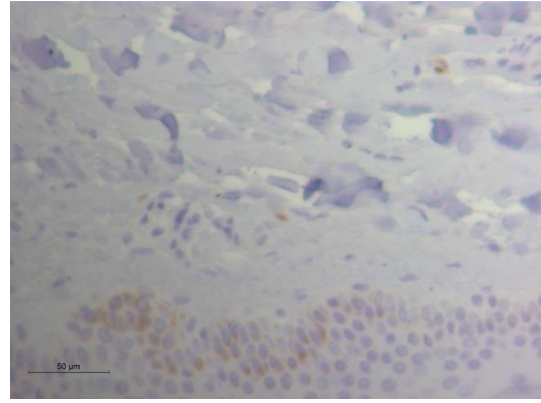
CD14



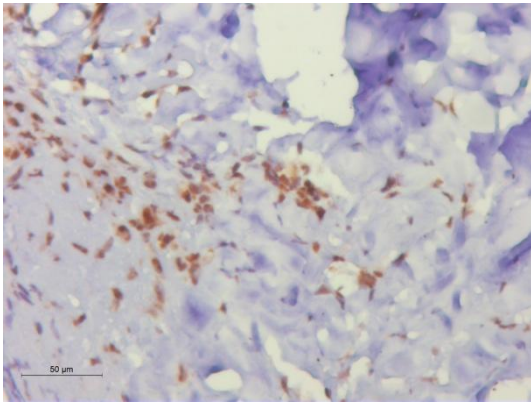
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

### Antikörperverteilung: Patient 13

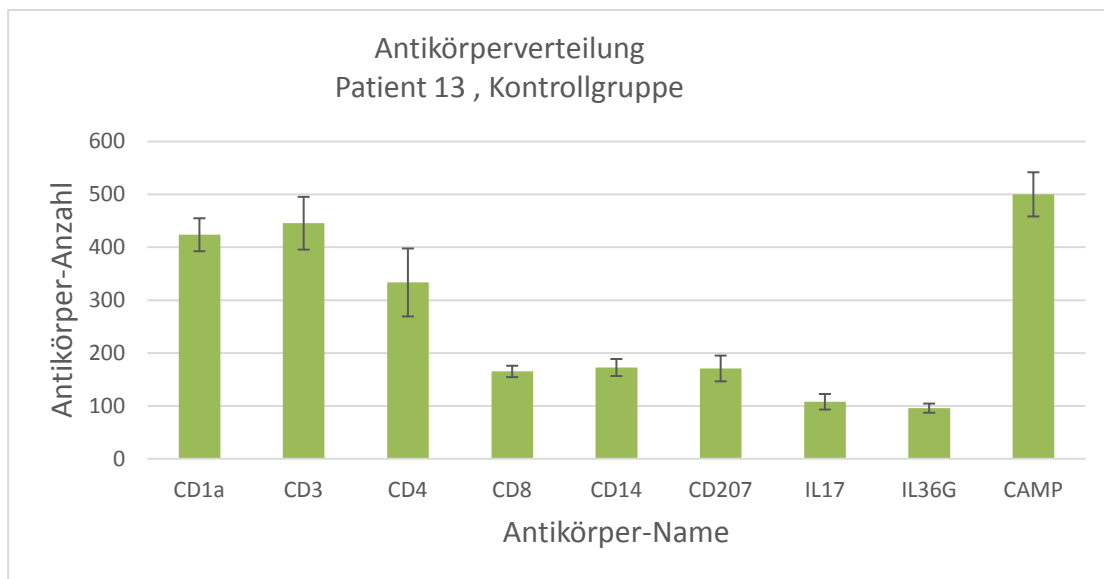


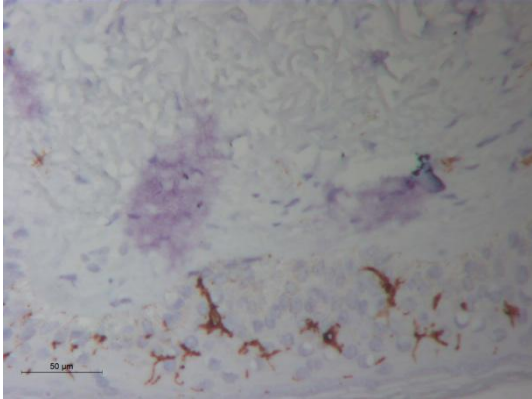
Abbildung 25: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 13 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.14 Patient 14 (weiblich)

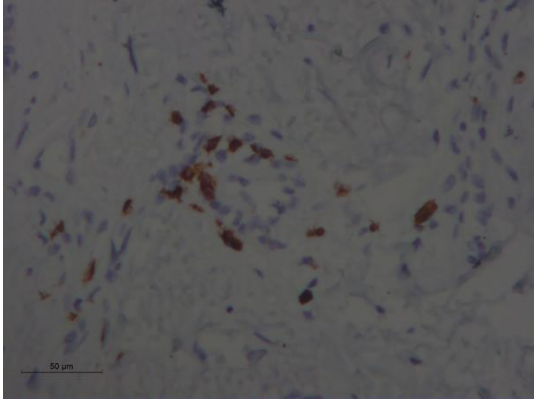
Journalnr.:4510-2015

Alter bei Studienerhebung: 80 Jahre

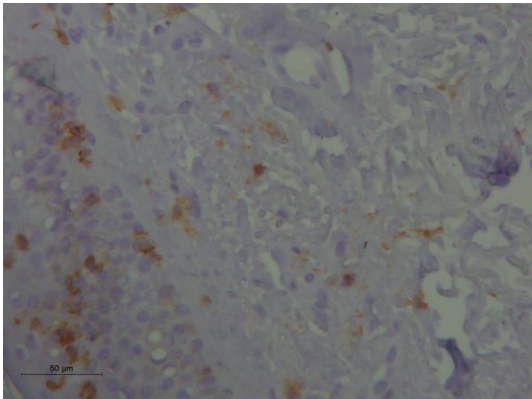
Kontrollgruppe



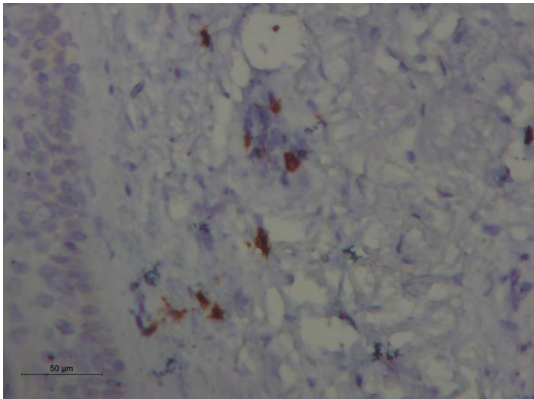
CD 1a



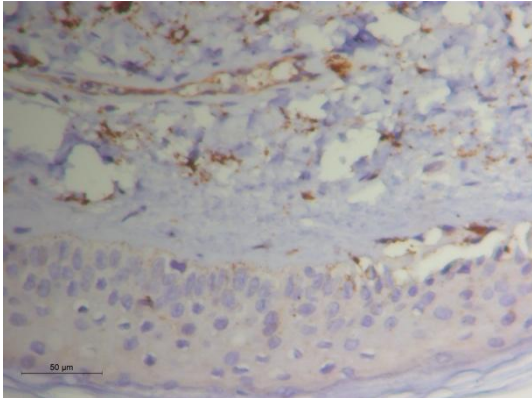
CD3



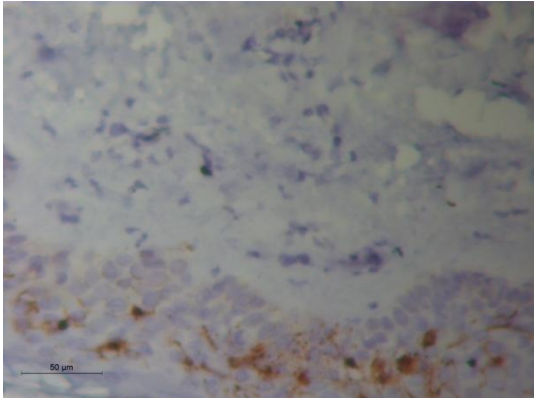
CD4



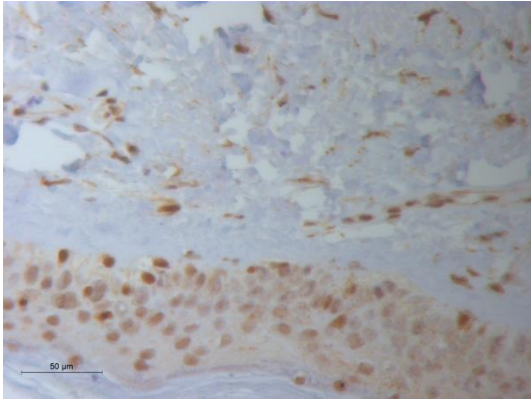
CD8



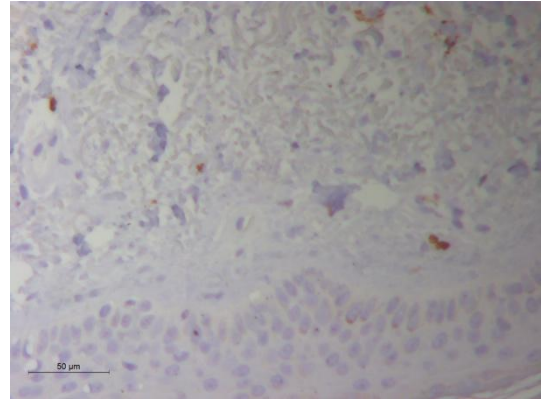
CD14



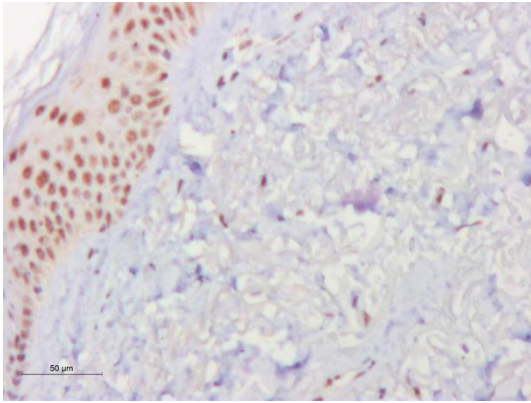
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G



## Antikörperverteilung: Patient 14

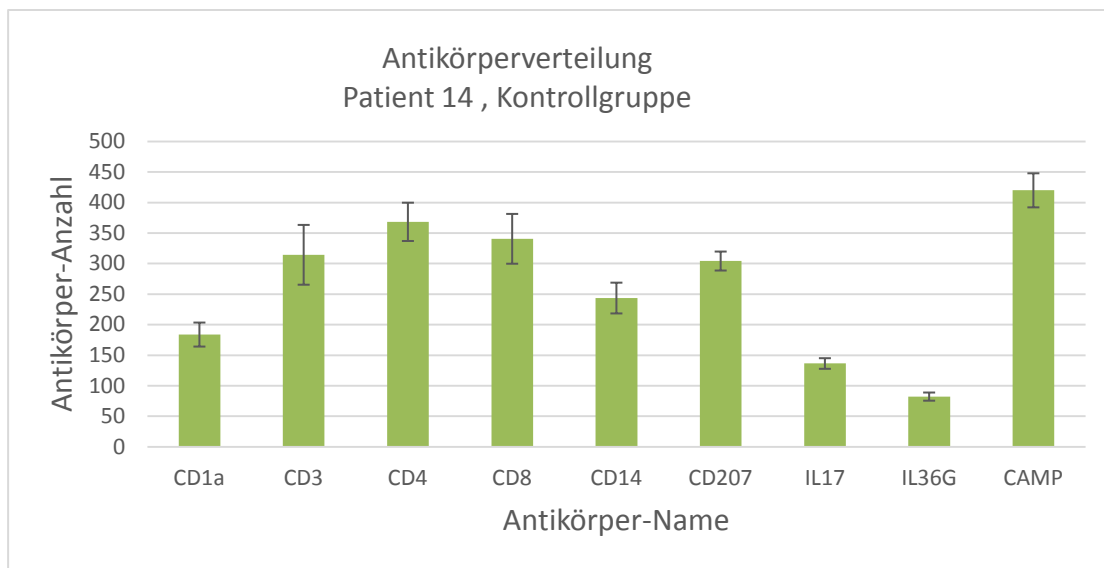


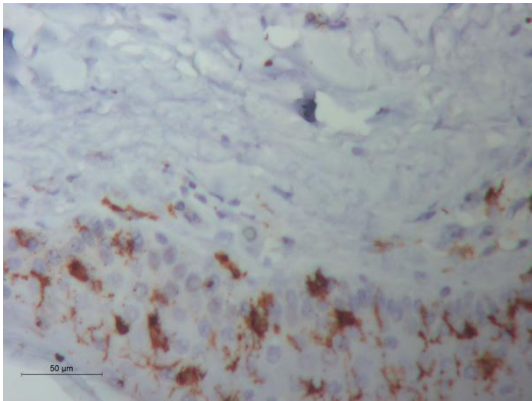
Abbildung 26: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 15 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.15 Patient 15 (männlich)

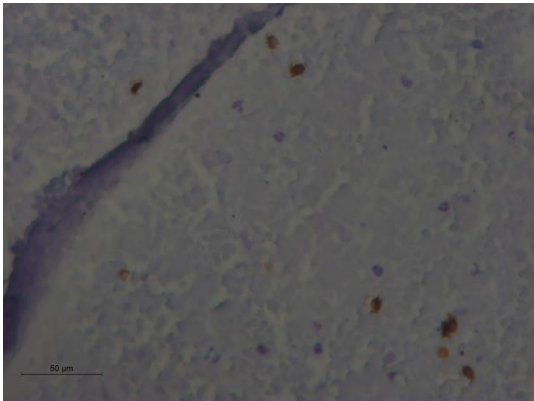
Journal-Nr.: 2548-2016

Alter bei Studienerhebung: 74 Jahre

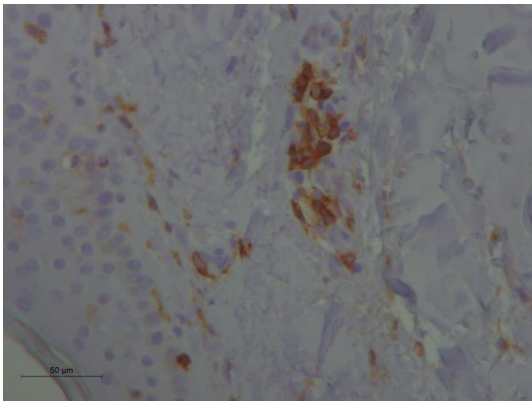
Kontrollgruppe



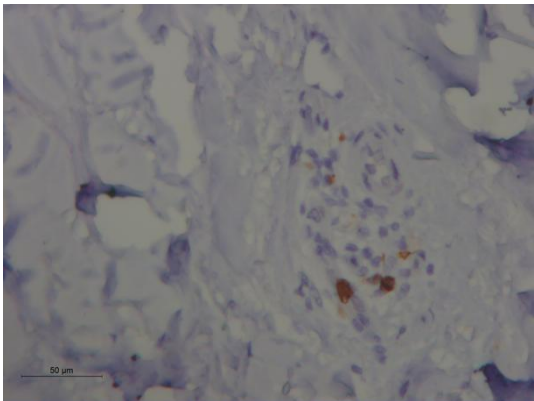
CD 1a



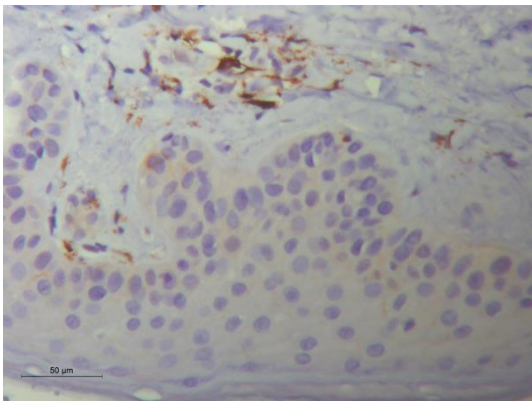
CD3



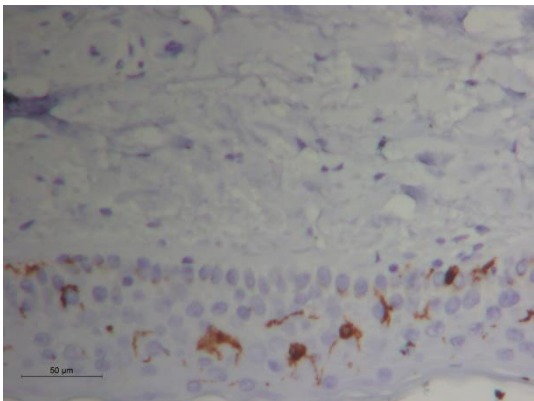
CD4



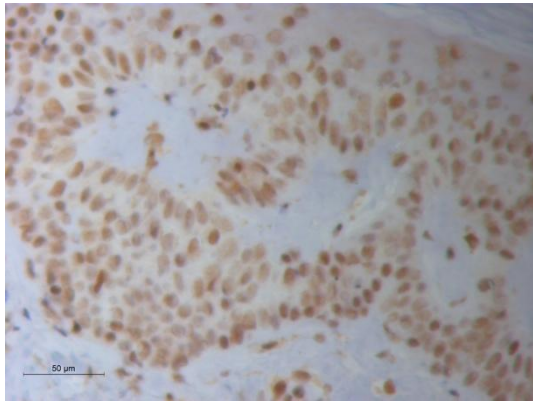
CD8



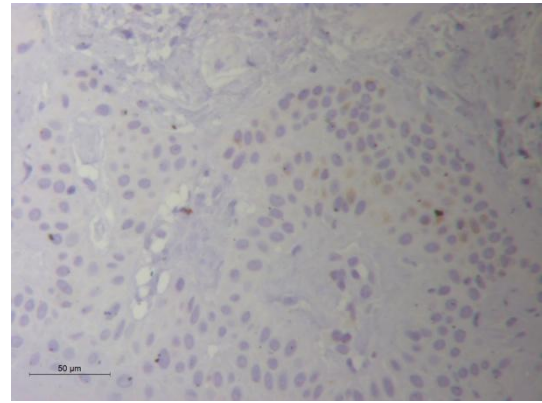
CD14



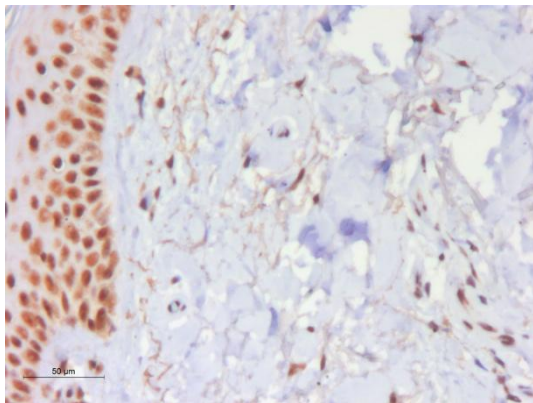
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 15

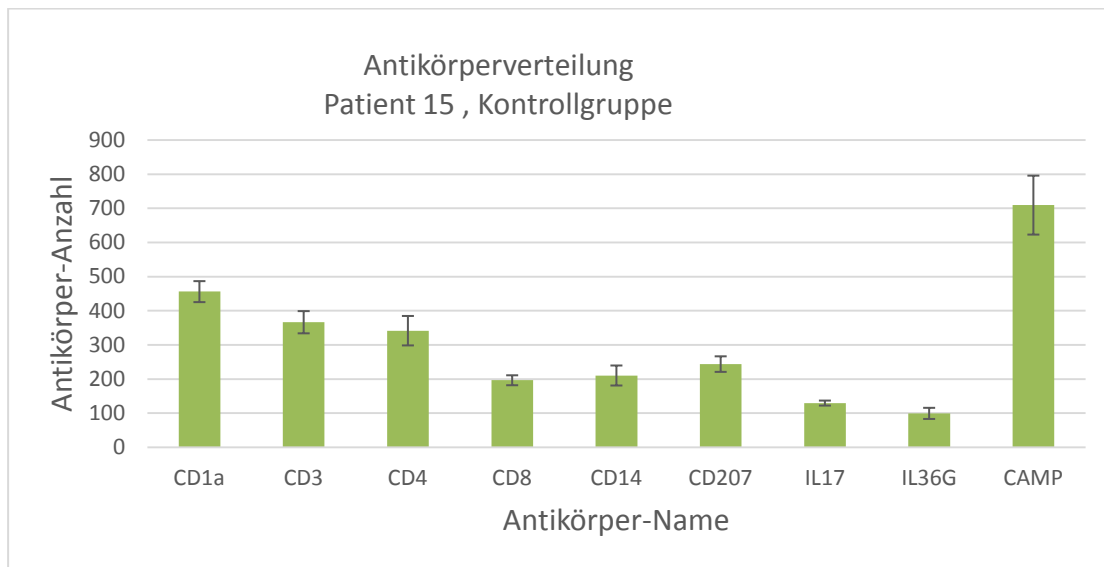
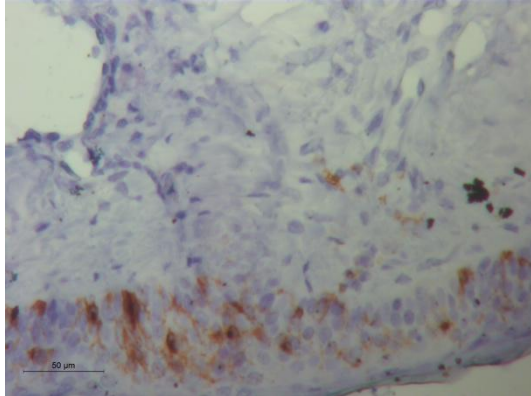
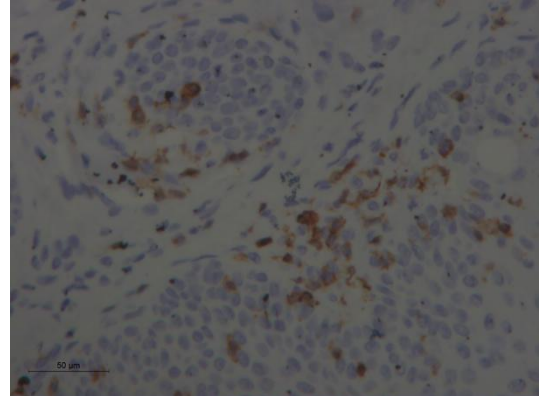


Abbildung 27: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 15 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.

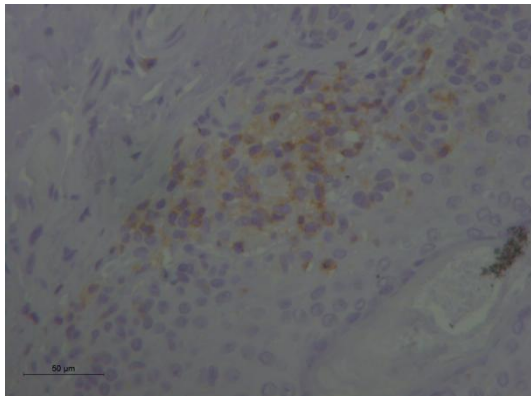
Alter bei Studienerhebung: 76 Jahre  
Kontrollgruppe



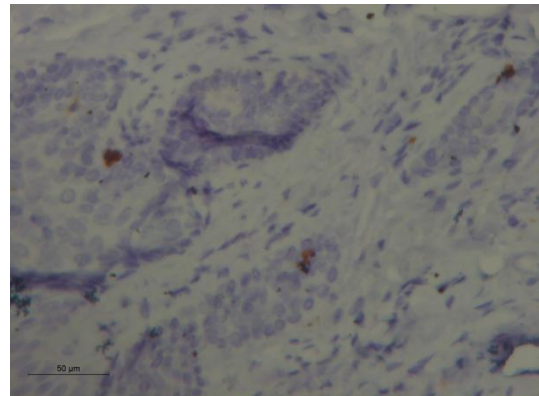
CD1a



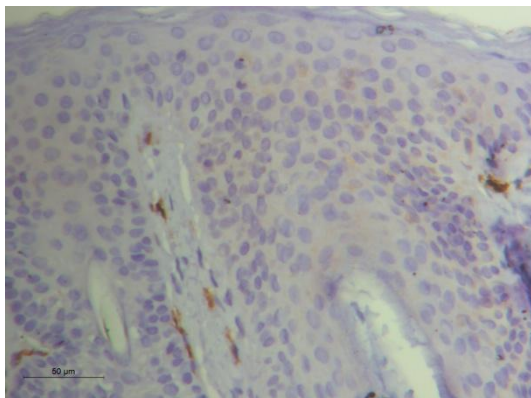
CD3



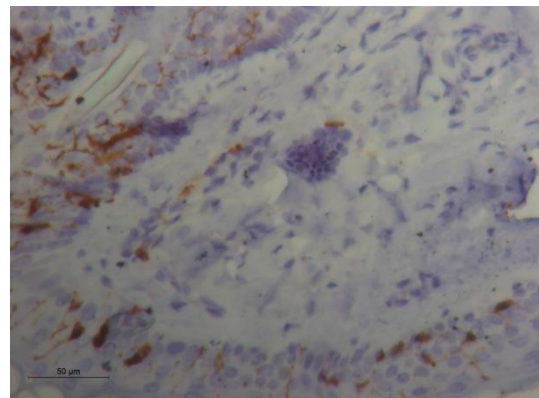
CD4



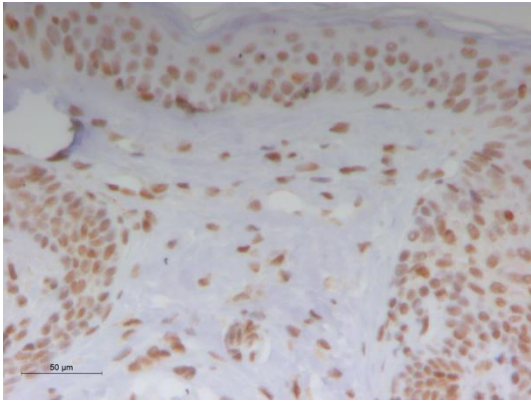
CD8



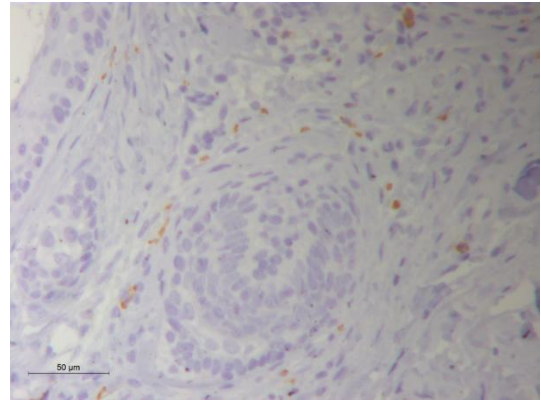
CD14



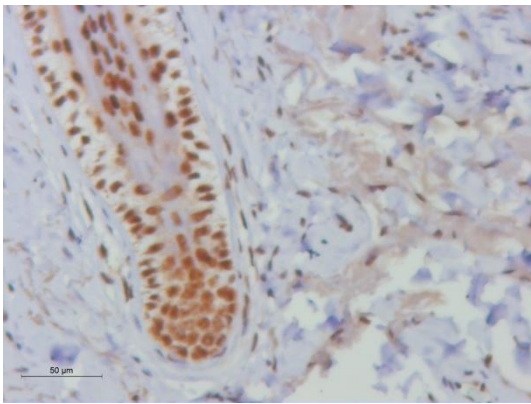
CD207



cAMP



IL17



IL36G

## Antikörperverteilung: Patient 16

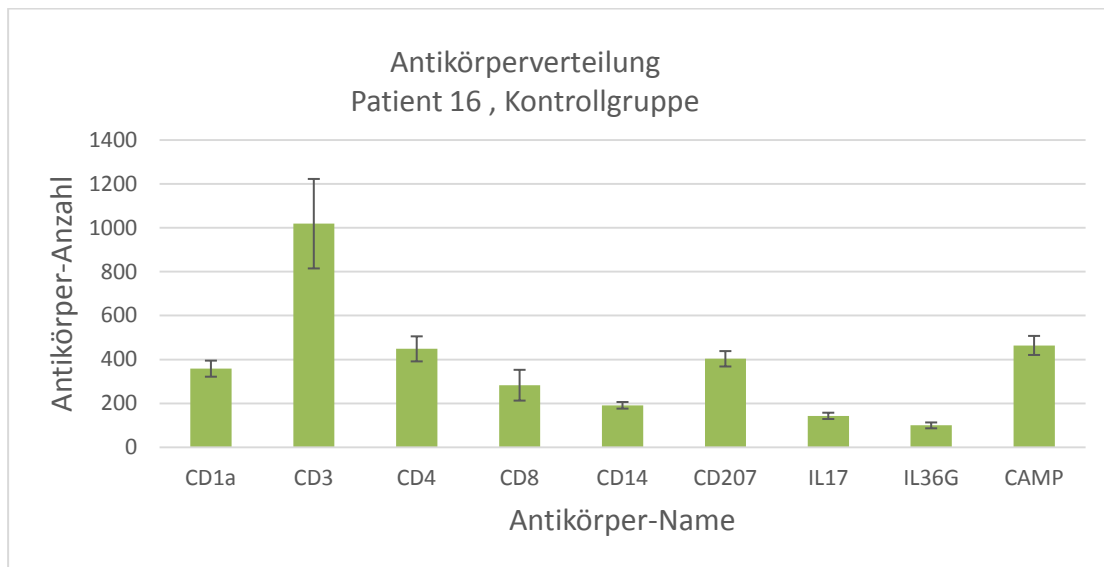


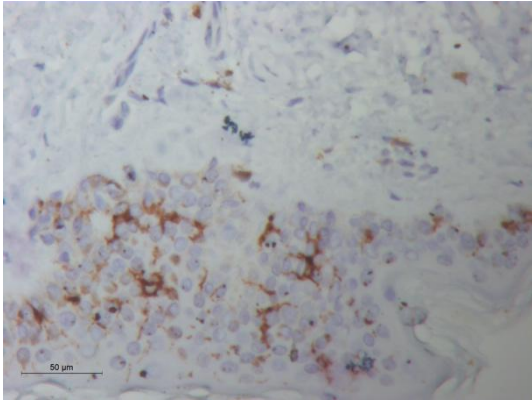
Abbildung 28: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 16 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.17 Patient 17 (weiblich)

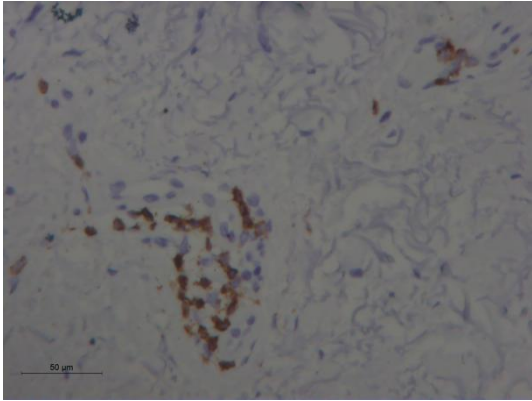
Journal-Nr.: 5811-2015

Alter bei Studienerhebung: 77 Jahre

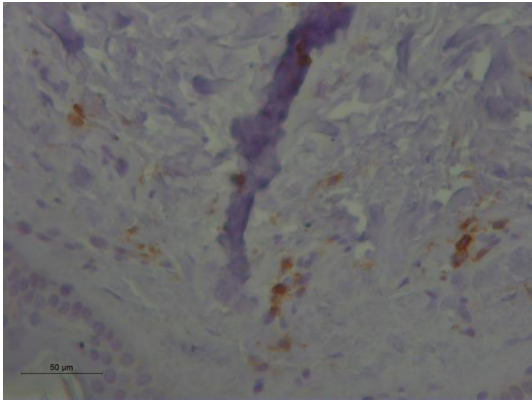
Gruppe: Kontrollgruppe



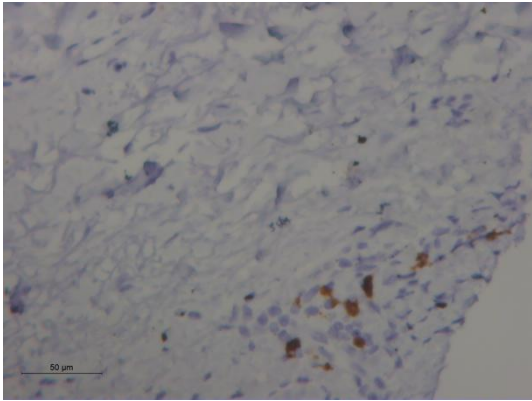
CD 1a



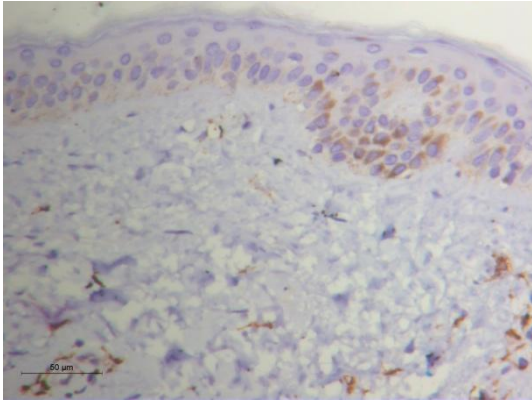
CD3



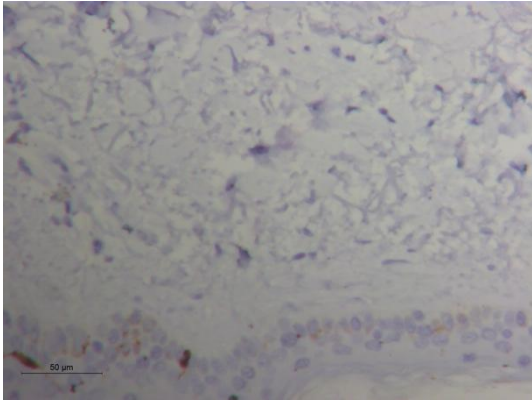
CD4



CD8

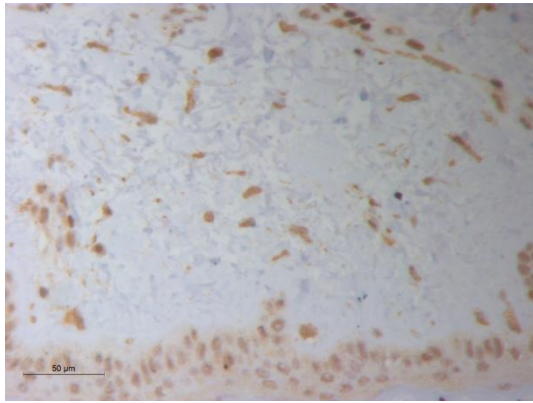


CD14

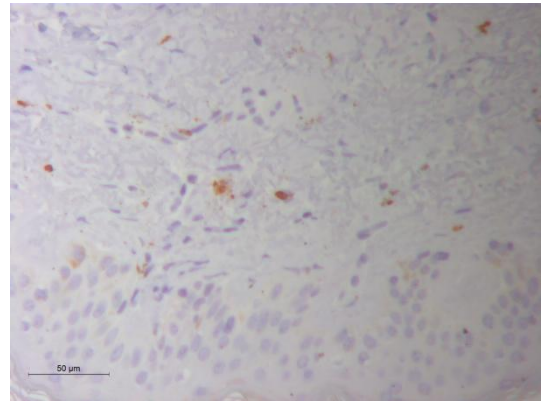


CD 207

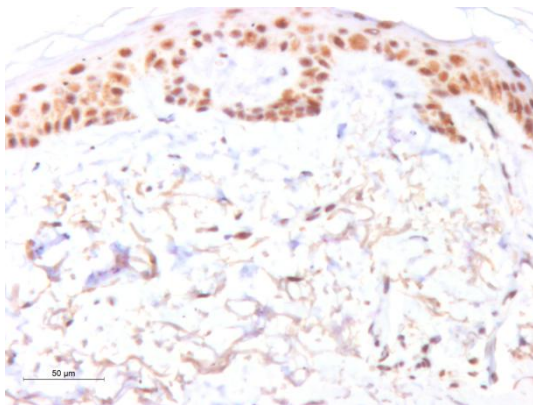




cAMP



IL17



IL 36G

## Antikörperverteilung: Patient 17

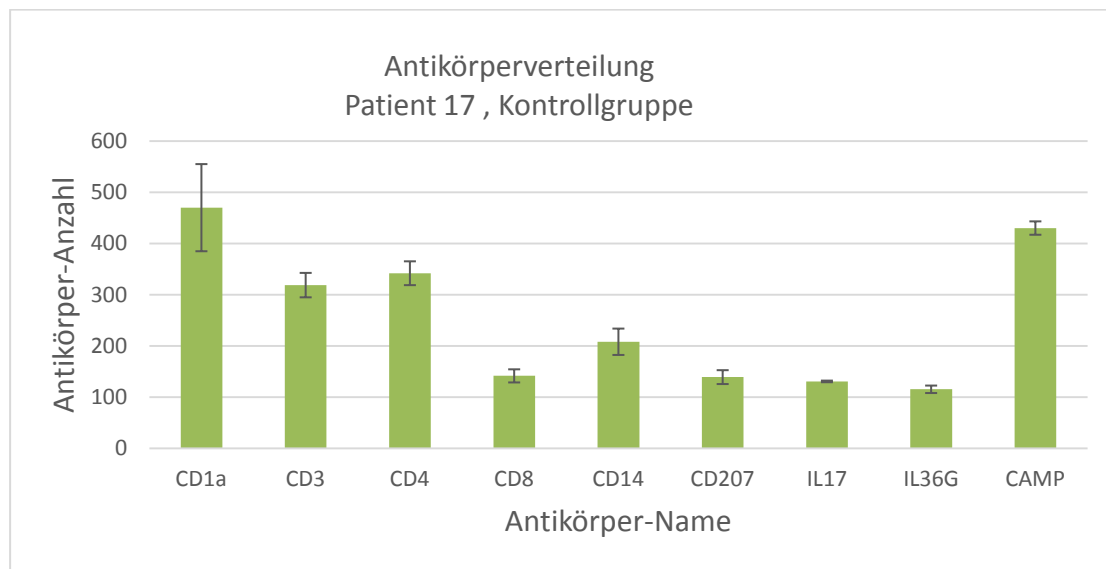


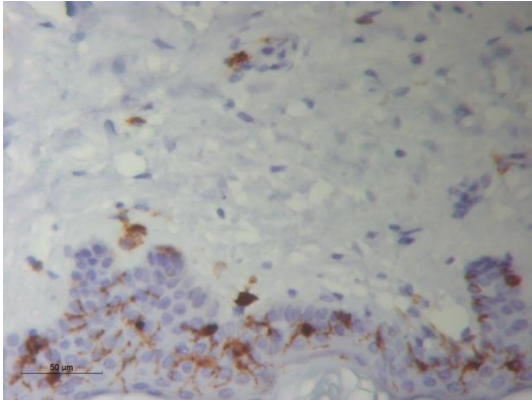
Abbildung 29: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 17 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.

5.2.18 Patient 18 (männlich)

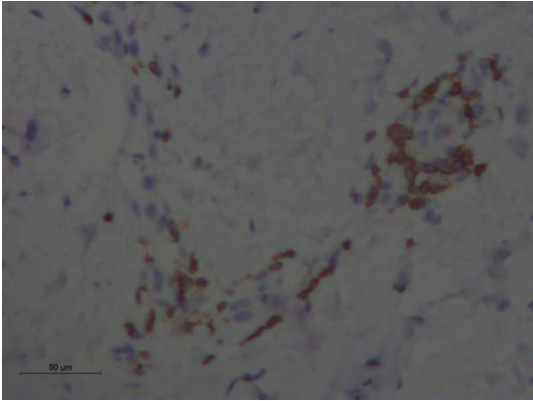
Journal-Nr.: Kröber 20015

Alter bei Studienerhebung: 29 Jahre

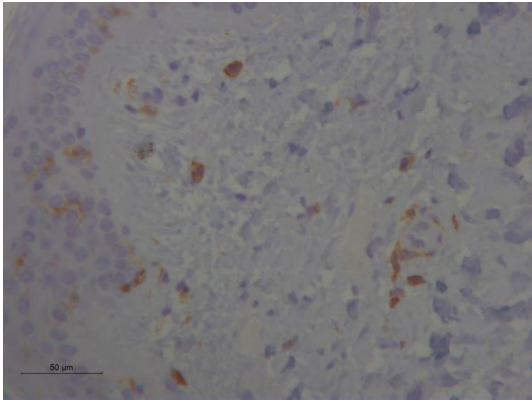
Kontrollgruppe



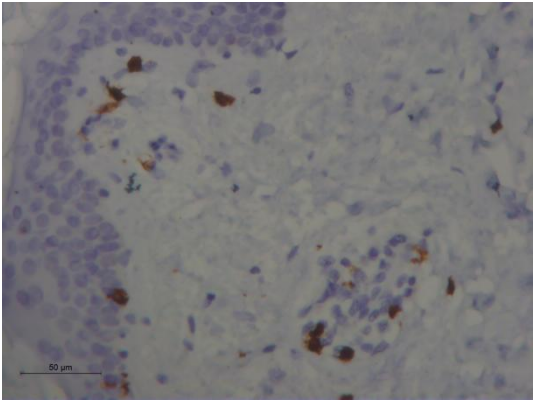
CD1a



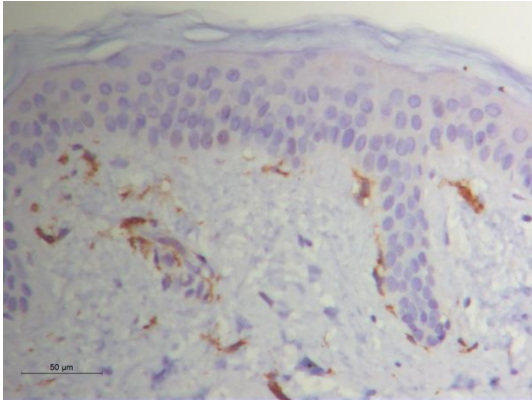
CD3



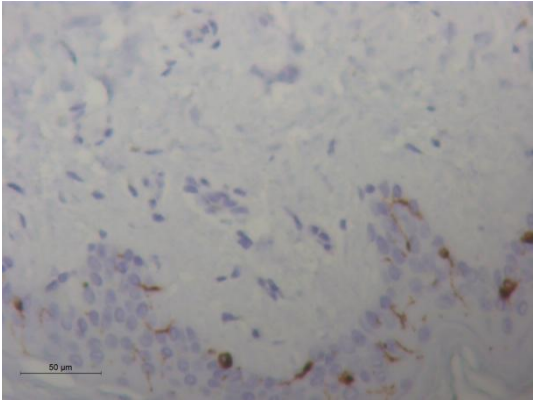
CD4



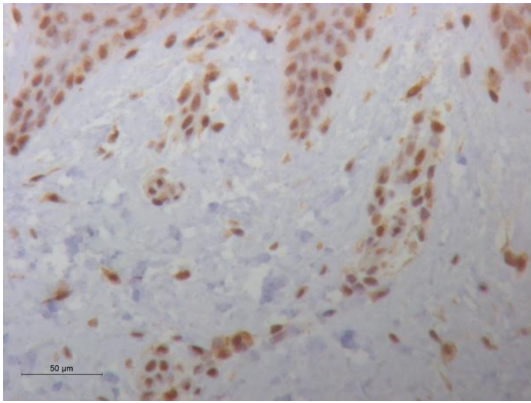
CD8



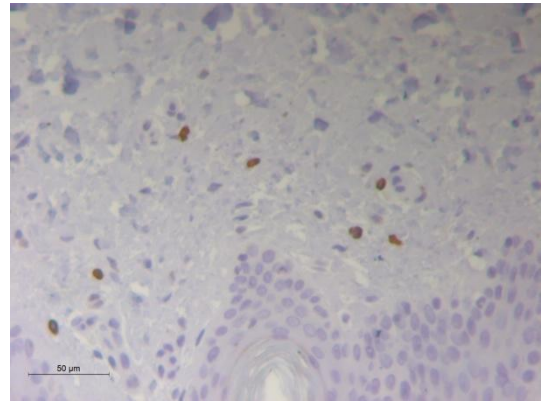
CD14



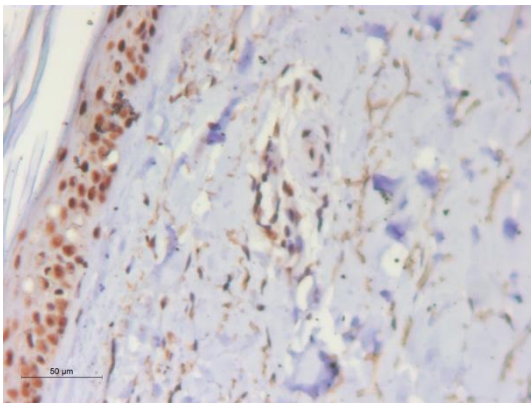
CD 207



cAMP



IL17



IL 36G

**Antikörperverteilung: Patient 18**

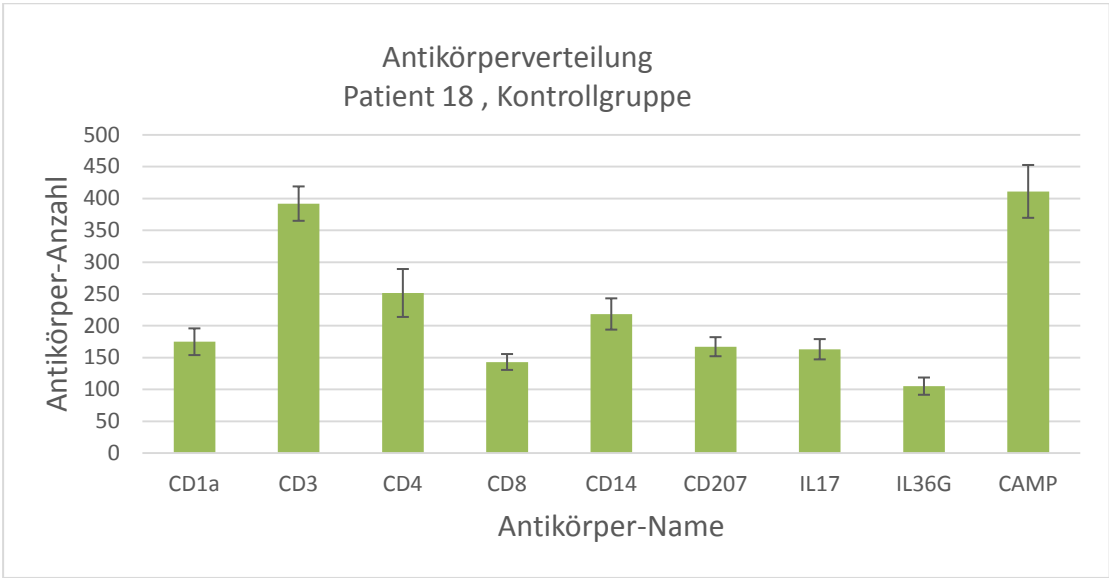


Abbildung 30: Mittelwerte der Antikörper bei Patient 18 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler.

### 5.3 Antikörperauszählung

#### Antikörperverteilung bei allen Patienten mit Rosazea im Überblick

Übersicht der Mittelwerte der Antikörperauszählungen

	CD1a	CD3	CD4	CD8	CD14
Patient 1	393,60	356,80	351,00	245,20	262,40
Patient 2	276,80	209,60	406,00	141,00	263,80
Patient 3	330,20	272,20	408,60	218,80	279,00
Patient 4	326,80	143,20	460,60	147,60	221,00
Patient 5	330,00	150,60	593,60	138,80	249,80
Patient 6	263,40	189,00	330,80	98,20	289,20
Patient 7	321,20	231,60	505,00	97,00	394,00
Patient 8	285,60	232,40	360,40	116,80	227,40
Patient 9	356,40	201,40	408,60	136,00	310,00
Patient 10	249,40	237,20	612,80	179,00	342,00
Patient 11	312,60	182,80	329,80	131,80	317,60
Patient 12	290,80	149,00	366,20	146,20	256,60
<b>Mittelwert</b>	<b>311,40</b>	<b>212,98</b>	<b>427,78</b>	<b>149,70</b>	<b>284,40</b>

	CD207	IL17	IL36G	CAMP
Patient 1	249,80	116,80	615,60	1362,00
Patient 2	227,60	126,60	851,40	1156,40
Patient 3	238,20	148,40	522,80	1000,60
Patient 4	178,40	119,20	1067,80	429,20
Patient 5	183,80	93,60	620,40	1075,40
Patient 6	273,60	139,80	691,20	720,20
Patient 7	263,40	120,80	673,60	677,60
Patient 8	230,00	114,80	599,40	937,20
Patient 9	219,60	124,40	966,40	1056,40
Patient 10	246,20	123,80	663,40	959,00
Patient 11	217,80	135,20	873,40	1274,20
Patient 12	350,80	125,20	652,40	658,00
<b>Mittelwert</b>	<b>239,93</b>	<b>124,05</b>	<b>733,15</b>	<b>942,18</b>

Abbildung 31: Mittelwerte der Antikörperauszählung im Überblick. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Rosazea.

**Graphische Darstellung: Antikörperverteilung Rosazea**

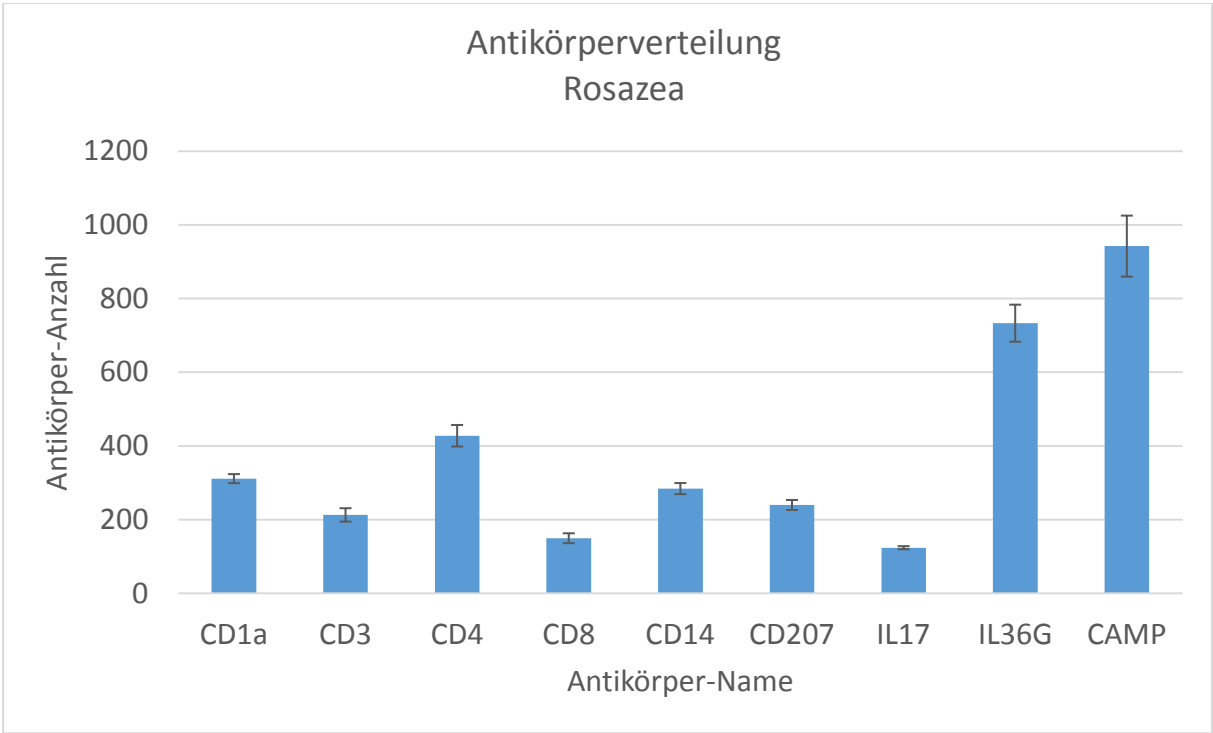


Abbildung 32: Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Rosazea; Fehlerindikator: Standardfehler.

## Antikörperverteilung bei allen Patienten mit gesunder Haut (Kontrollgruppe)

Übersicht der Mittelwerte der Antikörperauszählungen

	<b>CD1a</b>	<b>CD3</b>	<b>CD4</b>	<b>CD8</b>	<b>CD14</b>
Patient 13	423,6	445,4	333,4	165,2	172,6
Patient 14	183,8	314,4	368,4	340,6	243,6
Patient 15	456	366,4	341,6	196,4	210,4
Patient 16	358,4	1018,8	448,6	283	191
Patient 17	470	318,8	342	141,6	208,2
Patient 18	174,8	391,8	251,4	143	218,4
<b>Mittelwert</b>	<b>378,36</b>	<b>492,76</b>	<b>366,80</b>	<b>225,36</b>	<b>205,16</b>

	<b>CD207</b>	<b>IL17</b>	<b>IL36G</b>	<b>cAMP</b>
Patient 13	170,8	107,8	95,8	500
Patient 14	304,2	136,4	82,2	420
Patient 15	243,8	129,6	99,4	709,4
Patient 16	403,4	143,4	100	464,2
Patient 17	139,2	130,8	115,4	430,2
Patient 18	167	163	105	411
<b>Mittelwert</b>	<b>252,28</b>	<b>129,60</b>	<b>98,56</b>	<b>504,76</b>

Abbildung 33: Mittelwerte der Antikörperauszählung im Überblick. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen gesunden Patienten.



**Graphische Darstellung: Antikörperverteilung Kontrollgruppe**

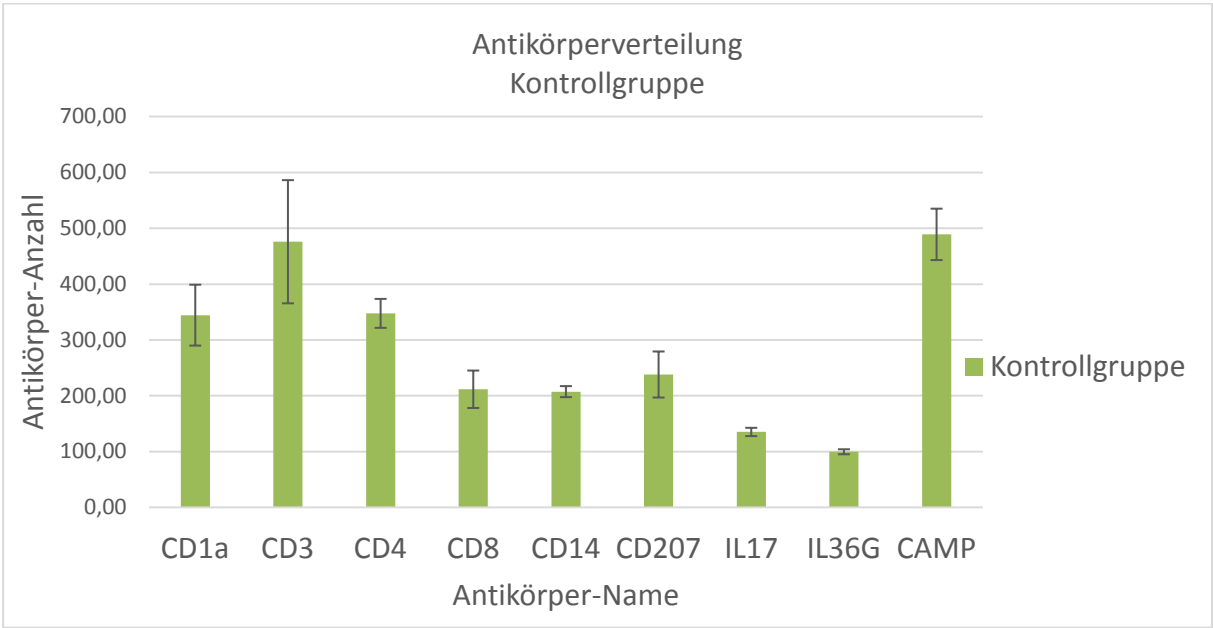


Abbildung 34: Anzahl der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten der Kontrollgruppe (gesunde Haut), Fehlerindikator: Standardfehler

## Gegenüberstellung der Auszählungen: Rosazea vs. Kontrollgruppe

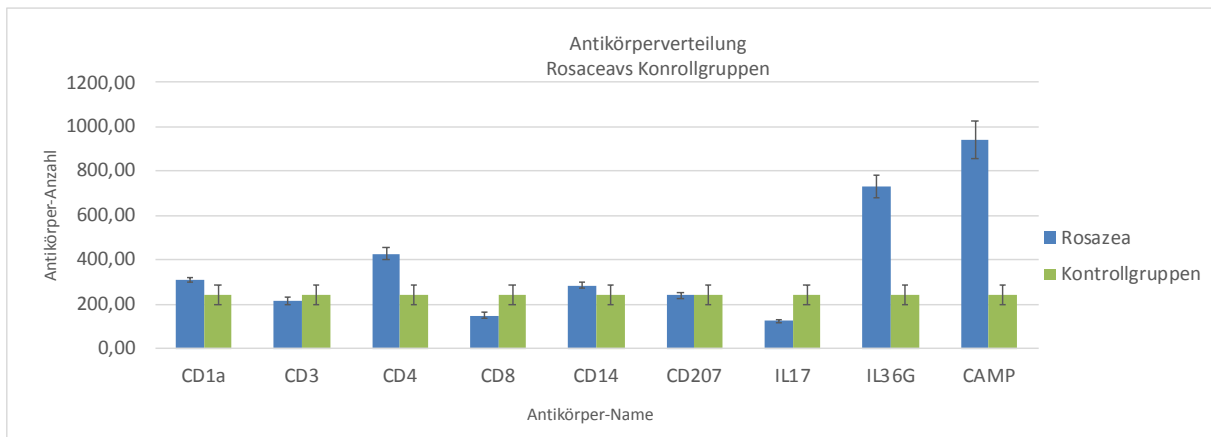


Abbildung 35: Antikörperauszählung. Gegenübergestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Rosazea und allen gesunden Patienten, Fehlerindikator: Standardfehler.

### T- Test: Rosazea vs gesunde Haut

Antikörper-Name	p- Value	Ergebnis
CD1a	0,5774674382	kein signifikanter Unterschied
CD3	0,0628574060	kein signifikanter Unterschied
CD4	0,0533026562	kein signifikanter Unterschied
CD8	0,1315092443	kein signifikanter Unterschied
CD14	<b>0,0004315206</b>	<b>signifikanter Unterschied</b>
CD207	0,9663975661	kein signifikanter Unterschied
IL17	<b>0,0277879404</b>	<b>signifikanter Unterschied</b>
IL36G	<b>0,0000000387</b>	<b>signifikanter Unterschied</b>
cAMP	<b>0,0001548630</b>	<b>signifikanter Unterschied</b>

Abbildung 36: T- Test (Signifikanz der Unterschiede bei Patienten mit Rosazea und gesunden Patienten)

## 6 Diskussion

### 6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden Biopsien von zwei Patientengruppen entnommen. Die erste Gruppe besteht aus zwölf Patienten, die an Rosazea erkrankten und die zweite aus sechs gesunden Patienten, die keinerlei Hautveränderungen aufweisen.

Es wurden Antikörperfärbungen mit neun verschiedenen Antikörpern durchgeführt und die Anzahl, der an der Immunreaktion beteiligten Zellen ausgezählt. Zur Auswertung wurden die Mittelwerte der Antikörperauszählungen beider Patientengruppen ermittelt und miteinander verglichen.

Die Biopsien der erkrankten Patienten wurden im Gesichtsbereich der entnommen. Die gesunden Proben wurden an unterschiedlichen Hautregionen im Rahmen anderer Erkrankungen in der Dermatologie der Uniklinik Mainz entnommen.

Die immunhistologische Färbung der Gewebeschnitte mit den ausgewählten Antikörpern ermöglichte die farbliche Darstellung, der an der Immunreaktion beteiligten Zellen und somit deren Auszählung mittels computergestütztem Programm.

Die Auszählung der ersten Patientengruppe (Rosazea) ergab nachstehende Reihenfolge:

CAMP> IL36G> CD4> CD1a> CD14> CD207> CD3> CD8> IL17

Die Auszählung der zweiten Patientengruppe (Kontrollgruppe) ergab nachstehende Reihenfolge:

CAMP> CD3> CD1a> CD4> CD207> CD8> CD14> IL17> IL36G

Der Vergleich beider Gruppen zeigt einen signifikanten Unterschied bei vier Antikörpern: IL36G, CAMP, CD14, IL17. Alle weiteren untersuchten Antikörper weisen keine Signifikanz auf.

## 6.2 Diskussion der Methoden

Im Rahmen dieser wissenschaftlichen Arbeit wurden Biopsien von zwei Patientengruppen entnommen. Die erste Gruppe besteht aus 12 Patienten mit Rosazea, die zweite aus 6 Patienten mit normaler Haut. Die Proben der Rosazea-Patienten wurden im Gesichtsbereich (Nase, Wange, etc.) entnommen alle weiteren Proben der gesunden Patienten wurden an unterschiedlichen Regionen, im Rahmen anderer Behandlungen in der Dermatologie, entnommen.

Vor der Probeentnahme erfolgte die mündliche und schriftliche Aufklärung der Patienten über die Risiken/ Begleiterscheinungen einer Stanzbiopsie. Die Probeentnahme wurde ordnungsgemäß mittels einer 5 mm Stanze durchgeführt. Es wurde darauf geachtet, dass die Stanze unter einer leichter Drehbewegung bis in die vorgesehene Tiefe (5 mm) vordringt, um nicht nur oberflächliche Hautschichten zu durchtrennen sondern auch eine Analyse tieferer Hautschichten zu ermöglichen. Ein Augenmerk wurde zudem auf eine schonende Herangehensweise gelegt, bei der das Gewebe ohne Quetschungen in ein dafür vorgesehenes Röhrchen mit Formalin gelegt wurde. Dieses dient dem Schutz vor Sauerstoff und der Austrocknung des Gewebes.

Die Immunhistochemische Färbung erfolgte unter vorgegeben Handlungsabläufen. Die durch die Hersteller angegebenen Zeiten für die einzelnen Arbeitsabläufe/ Einwirkzeiten wurden streng eingehalten und anhand von Zeittafeln und Stoppuhren kontrolliert. Personenbezogene Fehler, die durch Unaufmerksamkeit, Ermüdung, Stress etc. hervorgerufen werden können wurden ebenfalls durch entsprechende Vorbereitung minimiert.

Hierzu wurde das Arbeitsumfeld bereits vor der Färbung durch Vorbereitung und Bereitstellung der benötigten Utensilien so strukturiert, dass auch in diesem Bereich Fehler vermieden werden konnten.

Die eingedeckten Objektträger der gefärbten Gewebeproben wurden nun mikroskopisch ausgewertet. Er wurden pro Objektträger fünf Bereiche fotografiert, die nach subjektiver Empfindung die am stärksten gefärbten Areale darstellen. Diese wurden nun mit einer „Negativ- Färbung“ verglichen, um eine Selektion vorzunehmen. Die in diesen „Negativ-Färbungen“ angefärbten Bereiche wurden nicht mit in die Auswertung aufgenommen.

Fehlerquellen bei dieser Art der Recherche können durch unterschiedliche Ansichten über die am stärksten gefärbten Bereiche sowie fehlerhafte Filterung von nicht relevanten angefärbten Bereichen (Gefäße sind sehr deutlich gefärbt, dienen jedoch nicht der Datenerhebung) entstehen.

Die Auszählung der gefärbten Biopsien wurde mittels computergestütztem Verfahren (ImageJ Plugin ICH- Profiler und ImageJ) ermöglicht. Ein Vorteil dieser Herangehensweise ist ein deutlicher Zeitgewinn, da so eine manuelle Auszählung umgangen werden kann. Ebenfalls von Vorteil ist, dass so menschliche Fehler (Unaufmerksamkeit, Ermüdung, etc.) umgangen werden können.

Ein Nachteil in der computergestützten Auswertung liegt darin, dass der Computer Farbbereiche, die ineinander fallen nicht getrennt betrachten kann. Liegen mehrere Zellen zu nah beieinander, kann es sein, dass es zu Ungenauigkeiten wegen mangelnder Differenzierung kommt. Durch Veränderungen der Farbeinstellungen können diese Fehler jedoch minimiert werden. Zudem wird vor der Auswertung ein Farbabgleich zwischen dem Originalbild und dem zu analysierenden Bild durchgeführt und gegebenenfalls eine Anpassung durchgeführt.

Ein weiterer Nachteil dieser Methodik ist die begrenzte Anzahl der Bilder. Pro gefärbtem Antikörper wurden lediglich 5 Areale ausgewählt und ausgewertet, die repräsentativ für die gesamte Probe stehen. Damit ist eine exakte Auszählung der Antikörper eines Objektträgers nicht möglich.

Um eine genauere Auswertung zu ermöglichen müsste die gesamte, gefärbte Probe in die Auswertung einbezogen werden.

Die computergestützte Auswertung hat letztendlich den großen Vorteil, dass sie Analysen von Biopsien mit einer großen Anzahl von Antikörpern deutlich vereinfacht und eine sehr viel schnellere Auszählung ermöglicht, um somit in der Forschung schneller zu Ergebnissen führen zu können.

## 6.3 Diskussion der Ergebnisse

### Angeborenes Immunsystem

Zytokine.

Zytokine umfassen eine Gruppe von inhomogenen regulatorischen Proteinen, die eine wichtige Rolle im Immunsystem einnehmen. Sie werden von Makrophagen, B- Lymphozyten, T- Lymphozyten, natürlichen Killerzellen, Fibroblasten sowie Keratinozyten gebildet und dienen der Signalübertragung zwischen Zellen und steuern somit deren Zellaktivierung, Proliferation, Differenzierung und die Migration von Leukozyten und vielen anderen Zelltypen. Leukozyten spielen eine entscheidende Rolle bei der Zytokinexpression wobei auch signifikante Mengen an Zytokinen durch Mitglieder der IL-1- Familie durch menschliche Keratinozyten produziert werden können. (32)

Anhand struktureller Aspekte wird das breite Spektrum der Zytokine in Unterfamilien gegliedert. Die IL-1-Unterfamilie (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1-Rezeptorantagonist (RA), IL-18, IL-1F7, IL-1F10, IL-33, IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\beta$ , IL-36 $\gamma$  und IL-36RA) spielt eine entscheidende Rolle bei angeborenen Immunreaktionen. (33)

Die vorliegende Studie verdeutlicht durch die Signifikanz von IL-36 $\gamma$  und IL17a die bedeutende Rolle dieser regulatorischen Proteine in der Pathogenese von Rosazea.

Die IL-17-Unterfamilie stellt ebenfalls sezernierte Proteine dar und umfasst: IL-17, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25) und IL-17F. T-Zellen sind eine Hauptquelle für IL-17 und verwenden dieses Zytokin zur Interaktion mit einem breiten Spektrum von Zelltypen. (34)

Insbesondere wurde gezeigt, dass IL-17 durch aktivierte CD4 + T-Zellen ausgeschieden wird. (36) Diese Erkenntnis führte zur Unterscheidung von IL-17 produzierenden TH17- Zellen aus TH1 oder TH2- Zellen. Interessanterweise wurde gezeigt, dass TH17- Zellen eine entscheidende Rolle bei der Autoimmunität und neutrophilen Entzündung spielen. (36, 37)

Des Weiteren gewann man die Erkenntnis, dass IL-17 die Induktion von vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF) in Fibroblasten in vitro vermittelt, was auf eine potentielle Rolle dieses Zytokins bei der rosazeaassoziierten Angiogenese hinweist. (46, 47)

Dendritische Zellen.

Langerhans- Zellen repräsentieren einen speziellen Anteil dendritischer Zellen, die die Epidermis besiedeln. Obwohl CD1a und Langerin (CD207) als spezifische Marker zur

Unterscheidung der Langerhans- Zellen von anderen dendritischen-Untergruppen verwendet werden, sind ihre immunologischen Funktionen größtenteils unbekannt. CD1a vermittelt die Präsentation von Nichtpeptid-Antigenen in T-Zellen, während Langerin die Aufnahme von mikrobiellen Fragmenten (mittels spezieller endozytischer Strukturen oder Makropinozytose) erleichtert. (55)

Eine als „Langerhans- Zell- Paradigma“ beschriebene Theorie besagt, dass Langerhans- Zellen bei inflammatorischen Prozessen Antigene in der Peripherie aufnehmen und diese zum Haut drainierenden Lymphknoten transportiert, um dort antigenspezifische T- Zellen zu aktivieren. (57)

Ein weiteres, dieser These zustimmendes Konzept beschreibt, dass Langerhans- Zellen nach einer Applikation von einem Allergen (Hapten) auf die Haut eine adaptive T- Zellantwort induziert, die als Kontakthypersensitivitätsreaktion bezeichnet wird. (58)

## Überleitung zum adaptiven Immunsystem

Die Datenerhebung des antimikrobiellen Peptids Cathelicidin (cAMP) weist ebenfalls auf eine signifikante Erhöhung hin. Dies lässt sich dadurch erklären, dass AMPs einen wichtigen Effekt auf viele entzündliche Hauterkrankungen wie atopische Dermatitis, Akne, Psoriasis und Rosazea haben. Sie dienen als erste Abwehrmechanismen gegen verschiedene Organismen und bilden eine Überleitung zum adaptiven Immunsystem. (38)

Bereits erhobene Studien beschreiben eine erhöhte Expression von Cathelicidin in der Epidermis sowie eine erhöhte CAMP- RNA- und Proteinexpression bei Patienten mit Rosazea im Vergleich zu gesunden Patienten. (38, 39, 40)

Darüber hinaus wurde die funktionelle Bedeutung dieser Beobachtungen an einem Mausmodell demonstriert, wobei die Injektion des LL-37-Peptids (Cathelicidin, CAMP) in BALB / c-Mäuse zur Darstellung klinischer Merkmale (Teleangiektasie, Erythem und Entzündungen) von Rosazea führte. (42)

Neben einer antimikrobiellen Aktivität besitzt LL-37 weitere Funktionen, die verschiedene Prozesse beeinflussen. Darunter fallen die Modulation des Immunsystems, die Chemotaxis

für neutrophile Granulozyten und die Induktion der Freisetzung von Zytokinen und Chemokinen aus Mastzellen. (42, 43, 44)

Außerdem beeinflusst LL-37 die Angiogenese, indem es die Proliferation von Endothelzellen verstärkt. (40)

Unter den verschiedenen Funktionen von LL-37 könnten daher die vasoaktiven und proinflammatorischen Kapazitäten dieses Peptids deutlich zur Pathophysiologie von Rosazea im Gegensatz zu anderen kutanen Entzündungsstörungen beitragen.

## Adaptives Immunsystem

Chemokine und Zytokine kommunizieren miteinander, um eine TH1-, TH17- polarisierte adaptive Immunantwort zu erzeugen.

T- Zellvermittelte Antwort.

Die vorliegende Auswertung zeigt eine höhere Zellpopulation von CD8+ T Zellen bei gesunden Patienten. Diese Erkenntnis lässt vermuten, dass es durch den Ausbruch der Erkrankung zu einer Herunterregulierung von CD8+ T- Zellen kommt. Eine vorangegangene Studie zeigt bereits einen Anstieg von CD4+ T- Zellen gegenüber CD8+ T- Zellen und weist eine Aufregulierung von Th1- und Th17- Zellen auf. (30)

Zudem wurde eine Aufregulierung von IFN- $\gamma$  (in der Literatur als starker Aktivator von Makrophagen beschrieben), IL22 und IL-17a bei Rosazea identifiziert. (30)

Weitere Forschungen führten ferner zu der Erkenntnis, dass IL17a und IL22 zur einer Induktion von LL37 (Cathelicidin, cAMP) führen, welches neben Th1- und TH17-Zellen die Aktivierung von IL8 bewirken sollen. (52)

Es wird die Vermutung aufgestellt, dass es eine Kommunikation zwischen dem angeborenen Immunsystem und CD4+ T Zellen gibt. (53)

*Die Literatur* beschreibt eine geringe Dichte von zytotoxischen CD8 + T-Zellen in Rosazea. (49, 50, 51) IL-18, ein Schlüsselregulator für die Aktivierung von CD8 + T-Zellen, wird in Rosazea herunterreguliert. (51)

Eine Studie erfasst des Weiteren den Gehalt an regulatorischen T-Zellen bei Rosazea. Dazu wurde der mittlere Prozentsatz von CD4 + CD25 + regulatorischen T-Zellen untersucht und



mit Auswertungen von Patienten mit Lupus erythematoses verglichen. Interessanter Weise wurde ein höherer Gehalt der regulatorischen Zellen bei Rosazea ermittelt, was zu der Annahme führt, dass die infiltrierenden Zellen bei Rosazea ihre immunologische Toleranz besser als bei anderen Autoimmunerkrankungen aufrechterhalten. (31)

Eine signifikante Erhöhung der Zellzahlen in den Biopsien der Erkrankten wird bei CD14 deutlich. Eine immunpathologische Studie beschreibt bei Okularer Rosazea die Histologie von epibulbären Biopsien der Konjunktiva und vergleicht diese mit Biopsien von Normalpersonen. Nachgewiesen wurde eine Infiltration des Bindegewebes durch Entzündungszellen (hauptsächlich CD4+ T- Zellen), phagozytierenden Zellen und Antigen-präsentierende Zellen (CD14, Mac-1). Interessanter Weise wurde eine Veränderung des Verhältnisses der CD4+ / CD8+ T-Zellen deutlich. In gesunder Haut betrug das Verhältnis CD4/CD8=0,85. In den Proben der Erkrankten hingegen CD4/CD8=1,6. Es ergab sich zudem eine 3,5-fache Erhöhung des CD4/CD8- Verhältnisses im Bindehautstroma der Rosazea-Patienten. Es wurden Vergleiche mit einer Überempfindlichkeitsreaktion Typ IV gezogen. (54)

## 7 Zusammenfassung

Rosazea ist eine chronische, entzündliche Hauterkrankung, die charakteristischer Weise im Mittelgesicht auf Wange, Stirn, Kinn und Nase auftritt. Weder Ätiologie, Genetik noch die pathophysiologischen Grundlagen der vaskulären, inflammatorischen und fibrösen Veränderungen sind bislang hinreichend geklärt. Es wird angenommen, dass immunologische Prozesse sowie neurovaskulären Dysregulationen eine bedeutende Rolle bei der Auslösung und Verstärkung der klinischen Manifestation spielen.

In der vorliegenden Studie werden Zellpopulationen untersucht, die Rückschlüsse auf deren quantitative Beteiligung am pathophysiologischen Mechanismus von Rosazea ermöglichen.

Hierzu wurden Biopsien von zwei Gruppen (Gruppe 1: Rosazea- Patienten/ Gruppe 2: Kontrollgruppe) miteinander verglichen. Die erste Gruppe besteht aus 12 zufällig ausgewählten Patienten mit Rosazea und die zweite Gruppe aus 6 gesunden Patienten. Nach einer immunhistochemischen Vorbehandlung der Proben mit neun verschiedenen Antikörpern (cAMP, IL17, IL36G, CD1a, CD3, CD4, CD8, CD14, CD207) erfolgte eine computergestützte Auszählung der angefärbten Immunzellen.

Die direkte Gegenüberstellung beider Auszählungen (CD1a=0,5774, CD3=0,0628, CD4=0,0533, CD8=0,1315, CD14=0,0004, CD207=0,9663, IL17=0,0277, IL36G=0,0000, cAMP=0,0001) zeigt bei vier der neun getesteten Antikörpern einen signifikanten Unterschied: IL36G ( $p=0,0000000387$ ), cAMP ( $p=0,0001548630$ ), CD14 ( $p=0,0004315206$ ), IL 17 ( $p=0,0277879404$ ).

Zusammenfassend legen die Ergebnisse nahe, in welchem Umfang die aufgeführten Immunzellen an der Entzündungsreaktion, die mit der Pathogenese von Rosazea einhergehen, beteiligt sind. Diese Erkenntnisse können wegweisend für spezifischere Forschungen bei der Entwicklung innovativer Therapieansätze herangezogen werden.

## Quellenverzeichnis

- (1) Lehmann P: Rosazea. Klinik, Pathogenese, Therapie. Hautarzt 2005; 56: 871–87.
- (2) Schöfer H: Rosazea: Klinik und aktuelle Therapie. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 2003.
- (3) Dahl MV, Katz I, Krueger GG et al.: Topical metronidazole maintains remissions of rosacea. Arch Dermatol 1998; 134: 679–83.
- (4) Berg M, Liden S: An epidemiological study of rosacea. Acta Derm Venereol 1989; 69: 419–23.
- (5) Brinnet H, Friedel J, Caputa M, Cabanac M, Grosshans E: Rosacea: disturbed defense against brain overheating. Arch Dermatol 1989; Res 281: 66–72.
- (6) Lehmann P: Rosazea. Klinik, Pathogenese, Therapie. Hautarzt 2005; 56: 871–87.
- (7) Wilkin JK: Rosacea: pathophysiology and treatment. Arch Dermatol 1994; 130: 359–62.
- (8) Crawford GH, Pelle MT, James WD: Rosacea. I. Etiology, pathogenesis, and subtype classification. J Am Acad Dermatol 2004; 51: 327–41.
- (9) Wilkin J, Dahl M, Detmar M, Drake L, Feinstein A, Odom R et al.: Standard classification of rosacea: report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. J Am Acad Dermatol 2002; 445: 584–7.
- (10) Lehmann P, Arens A: Rosacea fulminans. In: Dermatologie an der Schwelle zum neuen Jahrtausend (Hrsg. A. Plettenberg, W.N. Meigel, I. Moll). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag 2000; 257–9.
- (11) Plewig G, Jansen T, Kligman AM: Pyoderma faciale – a review and report of 20 additional cases: Is it rosacea? Arch Dermatol 1992; 128: 1611–7.
- (12) Hülzle E, Jansen T, Plewig G: Morbus Morbihan – Chronisch persistierendes Ödem des Gesichtes. Hautarzt 1995; 46: 796–8.
- (13) Wohlrab J, Lueftl M, Marsch WC: Persistent erythema and edema of the midthird and upper aspect of the face (morbus morbihan): evidence of hidden immunologic contact urticaria and impaired lymphatic drainage. J Am Acad Dermatol 2005; 52: 595–602.
- (14) Jansen T, Melnik B, Plewig G: Gramnegative Follikulitis als Begleitkomplikation bei Rosazea. Akt Dermatol 1994; 20: 381–4.
- (15) Leyden JJ, Thew M, Kligman AM: Steroid rosacea. Arch Dermatol 1974; 111: 619–22.

- (16) Plewig G, Kligman AM: Acne and Rosacea. Berlin, Heidelberg: Springer, 3rd edition, 2000; 365.
- (17) Schüfer H: Rosazea: Klinik und aktuelle Therapie. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 2003.
- (18) Aroni K, Tsagrioni E, Lazaris AC, et al. Rosacea: a clinicopathological approach. *Dermatology*. 2004; 209: 177-82.
- (19) Marks R, Harcourt-Webster JN. Histopathology of rosacea. *Arch Dermatol*. 1969; 100: 683-91
- (20) Aloï F, Tomasini C, Soro E, Pippione M. The clinicopathologic spectrum of rhinophyma. *J Am Acad Dermatol*. 2000; 42: 468-72
- (21) Helm KF, Menz J, Gibson LE, Dicken CH. A clinical and histopathologic study of granulomatous rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 1991; 25: 1038-43
- (22) Jansen T, Plewig G, Kligman AM. Diagnosis and treatment of rosacea fulminans. *Dermatology*. 1994; 188: 251-4
- (23) Jansen T, Regele D, Schirren CG, et al. [Persistent erythema and edema of the face associated with rosacea and lymph vessel dysplasia]. *Hautarzt*. 1998; 49: 932-5
- (24) Wilkin J, Dahl M, Detmar M, et al. Standard classification of rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *J Am Acad Dermatol*. 2002; 46: 584-7
- (25) Van Zuuren EJ, Graber MA, Hollis S, Chaudrdhry M, Gupta AK, Gover M: Interventions for rosacea. *Cochrane database syst Rev* 2004; (1): CD00326.
- (26) Lehmann P: Klinische Studien zur topischen Therapie mit Metronidazol bei Rosazea. In: Rosazea – Klinik und aktuelle Therapie. Schüfer) H (ed.), Stuttgart: Georg Thieme Verlag 2003; 41–50.
- (27) Czernielewski J, Liu Y: Comparison of 15% azelaic acid gel and 0,75 % metronidazole gel for the topical treatment of papulopustular rosacea. *Arch Dermatol* 2004; 140: 1282–3
- (28) Bleicher PA, Charles JH, Sober AJ: Topical metronidazole therapy for rosacea. *Arch Dermatol* 1987; 123: 609–14.
- (29) Erdoan FG, Yurtsever P, Aksoy D, Eskioglu F: Efficacy of low-dose isotretinoin in patients with treatment-resistant rosacea. *Arch Dermatol* 1998; 134: 884–5.
- (30) Buhl T., Sulk M., Nowak P., Buddenkotte J., McDonald I., Aubert J., Carlavan I., Deret S., Reiniche P., Rivier M., et al. Die molekulare und morphologische Charakterisierung

- von Entzündungsinfiltraten in Rosazea zeigt die Aktivierung von Th1 / Th17-Signalwegen. *J. Investig. Dermatol.* 2015; 135 : 2198–2208. Doi: 10.1038 / jid.2015.141.
- (31) Brown TT, Choi E.-YK, Thomas DG, AC Hristov, Chan MP Vergleichende Analyse von Rosacea und kutanem Lupus erythematoses: Histopathologische Merkmale, T-Zell-Untergruppen und plasmazytoide dendritische Zellen. *Marmelade. Acad. Dermatol.* 2014; 71 : 100–107. Doi: 10.1016 / j.jaad.2014.01.892.
- (32) Marionnet AV, Chardonnet Y, Viac J, et al. Unterschiede in der Reaktion der Produktion von Interleukin-1 und des Tumor-Nekrose-Faktors alpha auf Cyclosporin-A- und Ultraviolett-B-Bestrahlung durch normale und transformierte Keratinozytenkulturen. *Exp Dermatol.* 1997; 6 : 22–8.
- (33) Dinarello CA. Immunologische und entzündliche Funktionen der Interleukin-1-Familie. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27 : 519–50.
- (34) Weaver CT, RD Hatton, RR Mangan, Harginton LE. Cytokine der IL-17-Familie und die wachsende Vielfalt von Effektor-T-Zelllinien. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25 : 821–52.
- (35) Harrington LE, Hatton RD, PR Mangan et al. Interleukin 17-produzierende CD4 + -Effektor-T-Zellen entwickeln sich über eine Linie, die sich von den T-Helfer-Typ-1- und -2-Linien unterscheidet. *Nat Immunol.* 2005; 6: 1123–32.
- (36) Alcorn JF, Crowe CR, Kolls JK. TH17-Zellen bei Asthma und COPD. *Annu Rev Physiol.* 2010; 72: 495–516.
- (37) Marzano AV, Cugno M., Trevisan V, et al. Rolle von Entzündungszellen, Zytokinen und Matrix-Metalloproteinasen bei durch Neutrophilen vermittelten Hauterkrankungen. *Clin Exp Immunol.* 2010; 162: 100–7.
- (38) Marcinkiewicz M., Majewski S. Die Rolle antimikrobieller Peptide bei chronisch entzündlichen Hauterkrankungen. *Postep. Dermatol. Alergol.* 2016; 33 : 6–12. Doi: 10.5114 / pdia.2015.48066
- (39) K. Yamasaki, A. Nardo, A. Bardan, M. Murakami, T. Ohtake, A. Coda, RA RADschner, C. C. Bonnard, P. Descargues, A. Hovnanian et al. Erhöhte Serinprotease-Aktivität und Cathelicidin fördern die Hautentzündung bei Rosazea. *Nat. Med.* 2007; 13 : 975–980. doi: 10.1038 / nm1616.
- (40) Schwab VD, Sulk M., Seeliger S., Nowak P., Aubert J., Mess C., Rivier M., Carlavan I., Rossio P., Metze D., et al. Neurovaskuläre und neuroimmune Aspekte in der

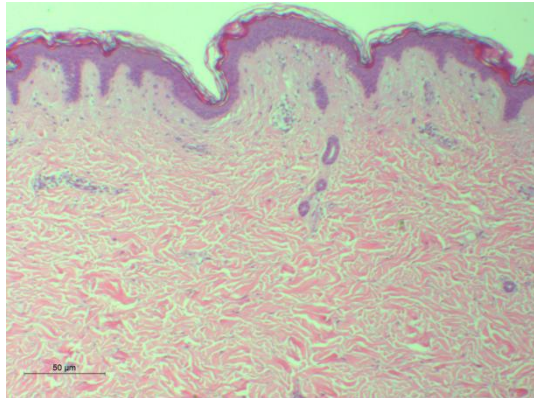
- Pathophysiologie von Rosazea. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2011; 15 : 53–62.  
Doi: 10.1038 / jidsymp.2011.6
- (41) Kim M., Kim KE, Jung HY, Jo H., Jeong SW, Lee J., Kim CH, Kim H., Cho D., Park HJ Der rekombinante Erythroid-Differenzierungsregulator 1 hemmt sowohl die Entzündung als auch die Angiogenese in einem Mausmodell von Rosazea. *Exp. Dermatol.* 2015; 24: 680–685. doi: 10.1111 / exd.12745
- (42) Yamasaki K., Gallo RL Rosacea als Krankheit von Cathelicidinen und Hautimmunität. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2011; 15 : 12–15. Doi: 10.1038 / Jidsymp.2011.4.
- (43) Zheng Y., Niyonsaba F., Ushio H., Nagaoka I., Ikeda S., Okumura K., Ogawa H. Cathelicidin LL-37 induziert die Erzeugung von reaktiven Sauerstoffspezies und die Freisetzung von humanen  $\alpha$ -Defensinen aus Neutrophilen. *Br. J. Dermatol.* 2007; 157 : 1124–1131. Doi: 10.1111 / J.1365-2133.2007.08196.x
- (44) Bals R., Wilson JM Cathelicidine - Eine Familie multifunktionaler antimikrobieller Peptide. *Zelle. Mol. Life Sci.* 2003; 60 : 711–720. doi: 10.1007 / s00018-003-2186-9
- (45) *Dermatol Reports.* 2016 Jun 15; 8(1): 6387. Published online 2016 Jun 23. doi: [10.4081/dr.2016.6387]. PMID: 27942368, Rosacea: a Clinical Review, Carsten Sauer Mikkelsen et. al.
- (46) Numasaki M, Fukushi J, Ono M, Narula SK, Zavodny PJ, Kudo T, Robbins PD, Tahara H, Lotze MT Blood. Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth.. 2003 Apr 1; 101(7): 2620-7.
- (47) Tartour E et. al., Angiogenesis and immunity: a bidirectional link potentially relevant for the monitoring of antiangiogenic therapy and the development of novel therapeutic combination with immunotherapy, *Cancer Metastasis Rev.* 2011 Mar; 30(1): 83-95.
- (48) Buhl T S M, Nowak P, Buddenkotte J, et al. *J Invest Dermatol.* 2015;135:2198–2208. *J Invest Dermatol*, 2015
- (49) Steinhoff M, Buddenkotte J, Aubert J, et al. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 2011;15:2–11. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 2011
- (50) Brown TT, Choi EY, Thomas DG, et al. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71:100–107. *J Am Acad Dermatol*, 2014
- (51) Casas C, Paul C, Lahfa M, et al. *Exp Dermatol.* 2012;21:906–910. *Exp Dermatol*, 2012
- (52) 49. Chen X, Takai T, Xie Y, et al. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;433:532–537.
- (53) Ding W, Manni M, Stohl LL, et al. *Eur J Immunol.* 2012;42:901–911.

- (54) Hoang-Xuan T, Rodriguez A, Zaltas MM, Reis BA, Foster CS.J. Augenheilkunde. 1990 Nov; 97 (11): 1468–75. Ocular Rosacea. Eine histologische und immunopathologische Studie. Clin Invest . 2004 1. März; 113 (5): 658–660.
- (55) Mizumoto N, Takashima A. CD1a und langerin: Mehr als Langerhans-Zellmarker; J Clin Invest . 2004 1. März; 113 (5): 658–660.
- (56) Valladeau J et. al. Immunity. 2000 Jan;12(1):71-81. Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules.
- (57) Schuler, G., und Steinman, R. M. (1985). Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro. J Exp Med 161, 526-546.
- (58) Moll, H. (1993). Epidermal Langerhans cells are critical for immunoregulation of cutaneous leishmaniasis. Immunol Today 14, 383-387
- (59) M Reinholz et. al. Pathogenese und klinische Darstellung von Rosazea als Schlüssel für eine symptomorientierte Therapie. Internetseite: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ddg.13139> (Stand 10.11.2018)
- (60) Schaller M. et. al. Rosacea Management: Update on general measures and topical treatment options. Deutsche Dermatologische Gesellschaft (DDG). Published by John Wiley & Sons Ltd. 1610-0379/2016/14 (Suppl. 6) 17–27
- (61) Lehmann, Percy Mario. Rosacea: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Presentation and Treatment. Dtsch. Ärzteblatt 2007; 104 (24): A-1741/ B-1536/ C-1475

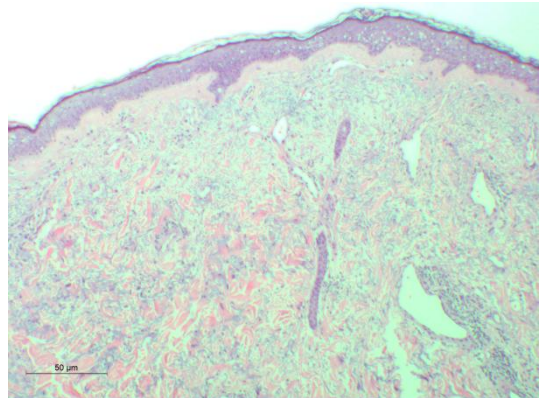
## Anhang histologische Übersichtsbilder; HE

### Kontrollgruppe

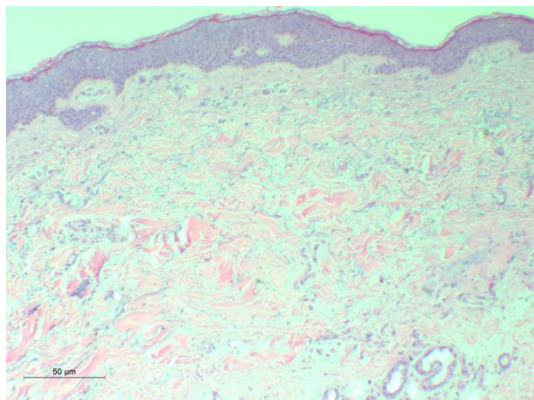
**Patient 1 (weiblich, 82 Jahre)**



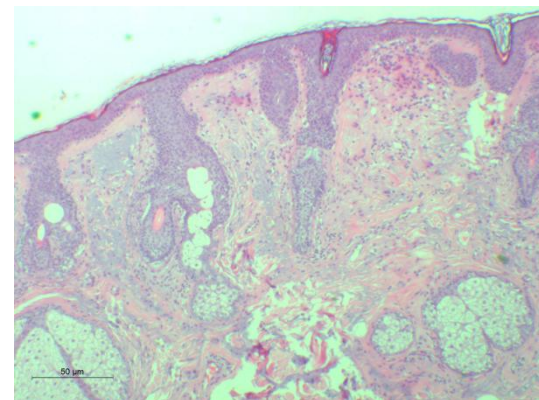
**Patient 2 (weiblich, 80 Jahre)**



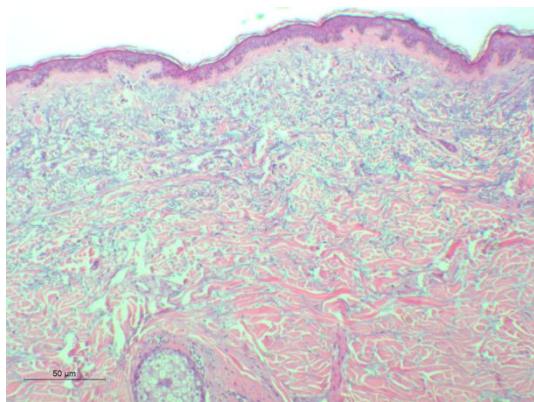
**Patient 3 (männlich, 74 Jahre)**



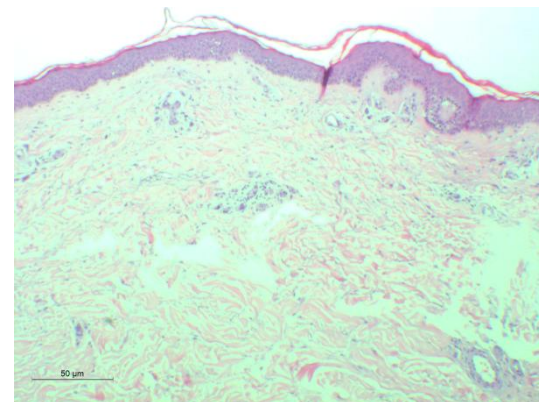
**Patient 4 (männlich, 76 Jahre)**



**Patient 5 (weiblich, 77 Jahre)**



**Patient 6 (männlich, 29 Jahre)**

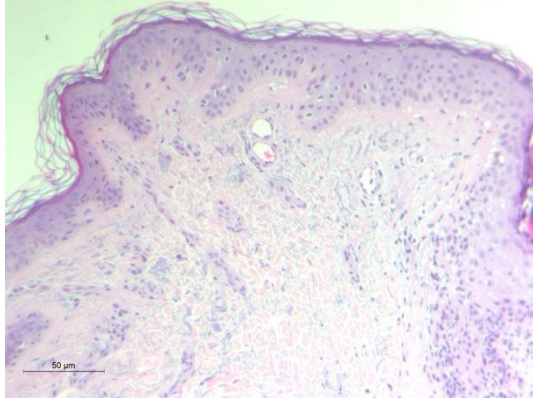




## Rosacea

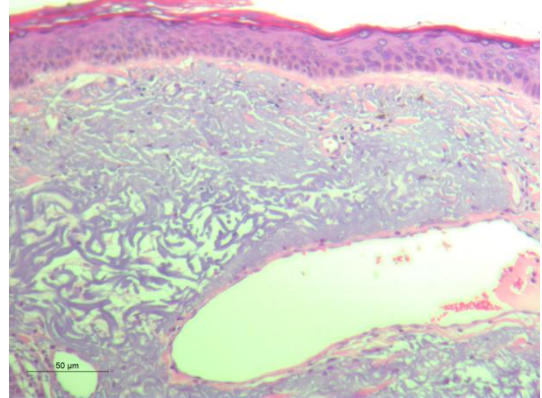
**Patient 1** (männlich, 43 Jahre)

Lokalisation: Hals



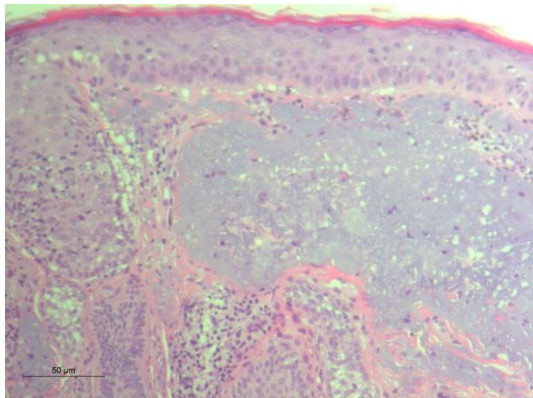
**Patient 2** (männlich, 77 Jahre)

Lokalisation: Nase



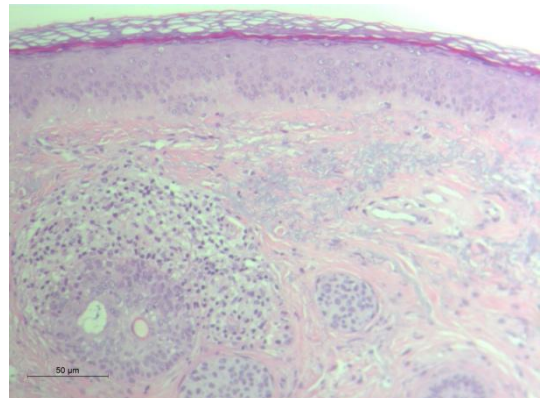
**Patient 3** (weiblich, 66 Jahre)

Lokalisation: Gesicht



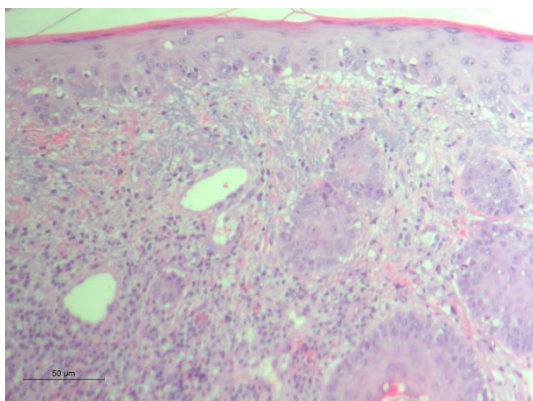
**Patient 4** (weiblich, 52 Jahre)

Lokalisation: Linker Nasenflügel



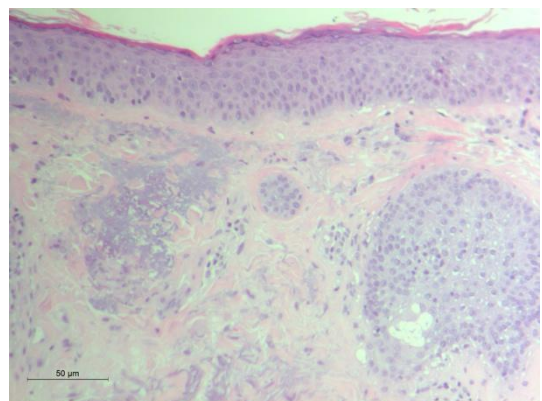
**Patient 5** (männlich, 73 Jahre)

Lokalisation: Nase



**Patient 6** (männlich, 57 Jahre)

Lokalisation: Gesicht



**Patient 7** (männlich, 56 Jahre)

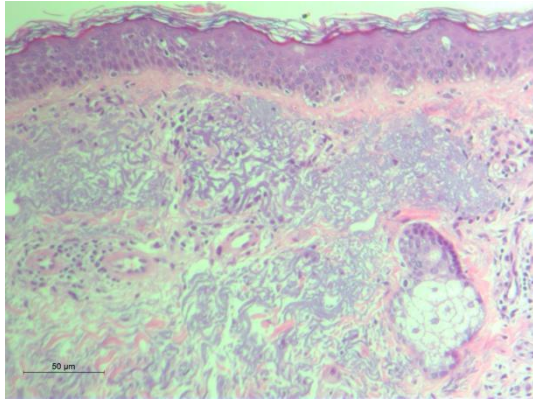
Lokalisation: Nase



**Patient 8** (weiblich, 58 Jahre)

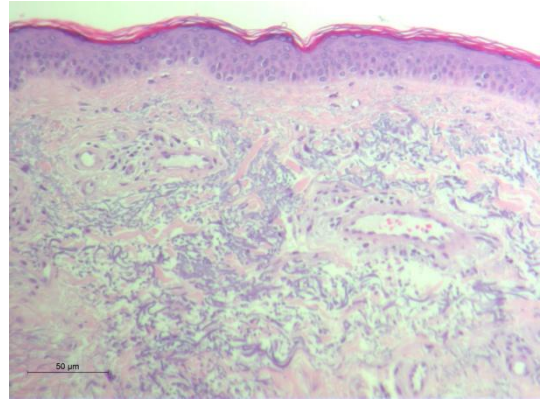
Lokalisation: Gesicht





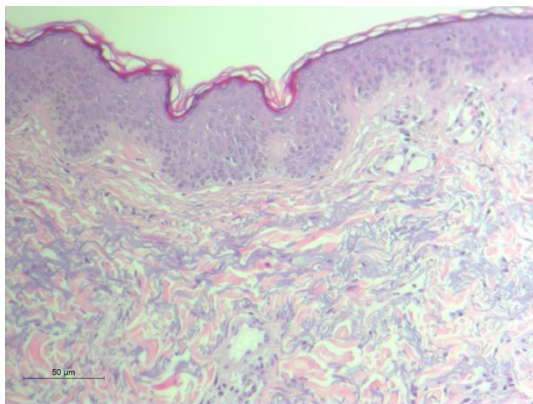
**Patient 9** (weiblich, 45 Jahre)

Lokalisation: Wange



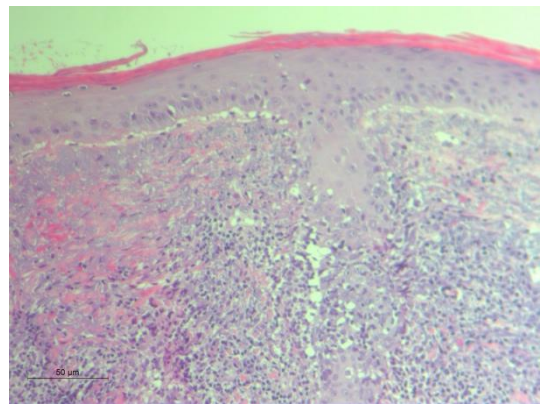
**Patient 10** (weiblich, 36 Jahre)

Lokalisation: Nase



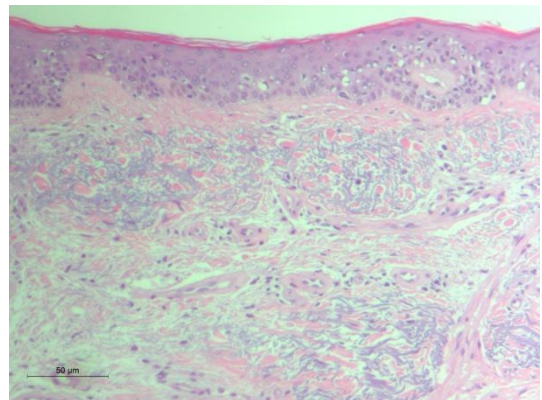
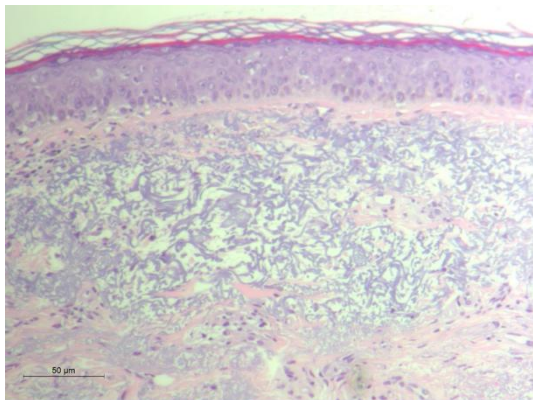
**Patient 11** (weiblich, 66 Jahre)

Lokalisation: Nasenrücken



**Patient 12** (weiblich, 58 Jahre)

Lokalisation: Schläfe



## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich nachstehenden Personen, ohne deren Unterstützung und Hilfe die Anfertigung dieser Promotionsschrift nicht zustande gekommen wäre, meinen besonderen Dank aussprechen:

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater für die Betreuung dieser Arbeit, die freundliche Hilfe und die vielfältige Ideengebung.

Ferner danke ich dem Team der Dermatologie. Sie kümmerten sich mit sehr viel Hingabe um die Erstellung der Untersuchungsmaterialien und die Färbung der Antikörper.

Einen besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle gerne an meine Familie und insbesondere meine Eltern aussprechen, die mich bei meinem Lebensweg immer motiviert und unterstützt haben.

Tief verbunden und dankbar bin ich meiner Freundin und meiner Schwester, die mich immer verständnisvoll unterstützt haben und jederzeit für mich da waren.

**Curriculum vitae**