

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

*Immunhistochemische Analyse der Psoriasis
palmoplantaris pustulosa*

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Universitätsmedizin der Johannes
Gutenberg Universität Mainz
vorgelegt von

Najib Assy
Brüssel - Belgien

Mainz, 2019

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung	7
1.1 Allgemeine Informationen	7
1.2 Ätiologie und Pathogenese	8
1.3 Das klinische Bild	12
1.4 Histologie	15
1.6 Differentialdiagnosen	19
1.7 Genetik.....	20
1.8 Therapie	22
2. Zielsetzung	25
3. Material	27
3.1 Herstellung der Paraffinschnitte	27
3.2 Immunhistochemische Färbungen.....	27
3.2.1 Material	27
3.2.2 Antikörper	28
3.3 Auswertung	30
4. Methoden	31
4.1 Patientengruppe	31
4.3 Herstellung der Paraffinschnitte	31
4.4 Immunhistochemische Verfahren.....	32
4.4.1 Antikörperproduktion	32
4.4.2 Polymerkonjugat-Methode	32
4.4.3.1 Deparaffinierung	34
4.4.3.2 Antigendemaskierung	34
4.4.3.3 Färbeprotokoll gemäß den Laborrichtlinien der Hautklinik und Histologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.....	35
4.5 Analyse der Biopsien	37
4.5.1 Bilddokumentationen	37
4.5.2.1 Bildbearbeitung mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler	38

4.5.2.2 Analyse mit ImageJ im Detail.....	38
5. Ergebnisse	41
5.1 Übersicht.....	41
5.2 Histologische Schnitte	42
Patient 1 (weiblich, 56 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	42
Patient 2 (weiblich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	43
Patient 3 (weiblich, 23 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	44
Patient 4 (männlich, 30 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	45
Patient 5 (männlich, 55 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	46
Patient 6 (weiblich, 31 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	47
Patient 7 (weiblich, 61 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	48
Patient 8 (weiblich, 54 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	49
Patient 9 (weiblich, 35 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	50
Patient 10 (weiblich, 48 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	51
Patient 11 (männlich, 36 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	52
Patient 12 (männlich, 62 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	53
Patient 13 (männlich, 41 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	54
Patient 14 (weiblich, 72 Jahre, Psoriasis palmplantaris):.....	55
Patient 15 (männlich, 64 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	56
Patient 16 (männlich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	57
Patient 17 (männlich, 53 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	58
Patient 18 (weiblich, 50 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	59
Patient 19 (männlich, 46 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	60
Patient 20 (weiblich, 43 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	61
Patient 21 (männlich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	62
Patient 22 (weiblich, 47 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	63
Patient 23 (weiblich , 31 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):.....	64
Patient 24 (weiblich, 33 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):	65
Patient 25 (männlich, 47 Jahre, Kontrollgruppe):.....	66
Patient 26 (männlich, 51 Jahre, Kontrollgruppe):.....	67
Patient 27 (männlich, 43 Jahre, Kontrollgruppe):.....	68

Patient 28 (weiblich, 44 Jahre, Kontrollgruppe):.....	69
Patient 29 (männlich, 39 Jahre, Kontrollgruppe):.....	70
Patient 30 (männlich, 63 Jahre, Kontrollgruppe):.....	71
5.3. Antikörperauszählung: Absolute Antikörper-Anzahl	72
6. Diskussion.....	75
6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	75
6.2 Diskussion der Methoden	76
7. Zusammenfassung	81
Quellenverzeichnis	84
Anhang histologische Übersichtsbilder; HE-Färbung	93
Danksagung.....	108

Abkürzungsverzeichnis

CXCR3	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 3, auch CD183 genannt
DAB	Diaminobenzidin
DCS	Dr. Christian Sartori, Innovative Diagnostik Systeme
dest.	Destillata, Destilliertes Wasser
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Fa.	Firma
FOX-P3	Forkhead-Box-Protein P3, auch Scurfin genannt
HCL	Chlorwasserstoff
HLA	Human Lekocyte Antigen
IL	Interleukin
IL36-G	Interleukin 36 Gamma
MHC	Major Histocompatibility Complex
min	Minute
ml	Milliliter
Ohg	Offene Handelsgesellschaft
PPP	Psoriasis palmoplantaris pustulosa
PSOR	Psoriasis susceptibility
Sek	Sekunde
SKALP	Skin-derived antileukoprotease, bekannt als Elafin
Th	T-Helferzellen
TNF	Tumor Nekrose Faktor
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethane

1. Einleitung

1.1 Allgemeine Informationen

Das Wort Psoriasis stammt aus dem Altgriechischen und wird von „psor“ hergeleitet, welches „kratzen“ bedeutet (6). Die Schuppenflechte (Psoriasis) ist eine häufige nicht infektiöse, chronisch sowie schubweise verlaufende, gutartige inflammatorische Hauterkrankung, die mit verstärkter Schuppung der Haut einhergeht. Sie gehört zum Kreis der pustulösen und erythemasquamösen Dermatosen (3).

Die Psoriasis ist mit einer geschätzten Prävalenz von 1-2% der deutschen Bevölkerung und 0,1 bis 3% der Bevölkerung weltweit, schätzungsweise 125 Millionen Menschen, eine der häufigsten Hauterkrankungen (3,12). Die Psoriasis kann grundsätzlich in jedem Lebensabschnitt auftreten und kommt genauso häufig bei Frauen wie bei Männern vor. Eine klare Geschlechterpräferenz ist nicht erkennbar. Frauen sind jedoch häufiger im früheren Lebensalter betroffen (8). Es gibt jedoch eine deutliche Alterspräferenzen. Der verbreitetere Typ 1 (Frühtyp) tritt überwiegend im 2. bis 3. Lebensjahrzehnt auf. Seltener ist der im 5. Lebensjahrzehnt auftretende Typ 2 (60).

Die Psoriasis kann sowohl durch endogene als auch exogene Faktoren ausgelöst werden. Zu den verschiedenen provozierenden Faktoren gehören Traumen (z.B. physikalische, chemische und entzündliche Hautreizungen), Infektionen, Stress (psychische und körperliche Belastungen), Alkohol, Sonnenlicht, Immunschwäche und bestimmte Arzneimittel wie Glucocorticoide, Lithium, Malaria- Medikamente, Interferon, Beta Blocker, Amiodaron sowie verschiedene Antibiotika. Außerdem spielen bei der Entstehung der Krankheit genetische Faktoren eine bedeutsame Rolle. Die Schuppenflechte ist nach heutigem Kenntnisstand vor allem genetisch veranlagt. Doch ein spezielles Psoriasis-Gen gibt es nicht. Patienten mit genetischer Disposition haben ein höheres Risiko an Psoriasis zu erkranken (7,6).

Sowohl die Anzahl als auch die Form der Läsionen können je nach Psoriasisform variieren. Es existieren verschiedene Psoriasisformen mit typischen topografischen Lokalisationen (1).

Eine der seltenen Psoriasis Formen ist die Psoriasis pustulosa palmaris et plantaris, kurz PPP. Rund fünf Prozent aller Psoriasis-Patienten leiden an dieser Sonderform. Obwohl viele Lehrbücher PPP zusammen mit Psoriasis beschreiben, hat es eine eigene Entität und ist weltweit verbreitet. Es ist ein seltener Zustand, aber die genaue Häufigkeit ist nicht bekannt. Frauen zeigen eine höhere Prävalenz als Männer mit einem Verhältnis von ungefähr 3:1. Der Ausbruch der Krankheit erfolgt meist im Alter zwischen 20 und 60 Jahren; selten tritt der Zustand nach dem sechsten Lebensjahrzehnt auf und bei 10% der Patienten liegt der Beginn vor dem zwanzigsten Lebensjahr. Als ein Auslöser der Psoriasis palmoplantaris pustulosa gilt Rauchen (60,61,73).

PPP ist eine chronisch verlaufende, inflammatorische Form der Psoriasis, die auf die Handflächen (Palma manus) und Fußsohlen (Planta pedis) begrenzt ist und mit der Bildung von Eiterbläschen einhergeht. Sie ist durch sterile Eiterbläschen gekennzeichnet, die sich auf den Schuppenflechte-Herden bilden. Diese Bläschen sind trotz Einlagerung von neutrophilen Granulozyten steril. Eine Infektion mit Krankheitserregern liegt also nicht vor. Die Einbeziehung von Handflächen und Fußsohlen hat einen großen Einfluss auf die Lebensqualität und die Arbeitsfähigkeit. Eine hohe Beständigkeit gegen Behandlung und eine hohe Rezidivrate sind charakteristisch. Die lokal begrenzte Psoriasis palmoplantaris pustulosa ist auch bekannt unter der Bezeichnung "Typ Königsbeck-Barber" (58, 59,60,61,73).

1.2 Ätiologie und Pathogenese

Bereits in den 70er Jahren beschäftigten sich Studien mit der potenziellen Rolle der Immunzellen bei Psoriasis (5). Das Vorkommen von verschiedenen Immunzellen, insbesondere von T-Zellen und dendritischen Zellen in den Hautläsionen bei Psoriasis-Patienten, verdeutlichte deren wichtige Rolle bei der Entstehung der Krankheit (13,14).

Früher vermutete man, dass die Immunreaktion des Körpers bei Psoriasis auf einem Antigen beruht, welches sowohl das angeborene als auch das erworbene

Immunsystem aktiviert. Obwohl es zur Aktivierung des Immunsystems kommt, wurde kein bestimmtes Antigen gefunden, das diese Aktivierung induziert (6).

Der Grund für die Entstehung der Psoriasis ist noch nicht vollständig geklärt, jedoch weiss man heute, dass es sich um eine T-Zell-vermittelte Autoimmunerkrankung handelt (4,19). Die Krankheit tritt meist familiär gehäuft auf und wird polygen bzw. multifaktoriell vererbt. Pathophysiologisch nimmt man an, dass eine Dysregulation von Immunzellen eine zentrale Rolle spielt (56).

Die Triggerfaktoren der Psoriasis führen zur Aktivierung des Immunsystems und zur Überproduktion von T-Zellen, die wiederum Entzündungsmediatoren aktivieren. Klinische Studien zeigten, dass es bei Psoriasis-Patienten zu einer vermehrten Stimulation von T-Helferzellen durch dendritische Zellen kommt. Die T-Helferzellen (Th17 und Th1) produzieren Zytokine wie IL17, IL22, IL23, TNF- α und IFN- γ , die Keratinozyten hochregulieren (11,1,56). Dadurch verkürzt sich der Zyklus der Hautzellen von 28 auf 5 Tage, sodass es zu einer gesteigerten Proliferation der Keratinozyten und Verdickung der Epidermisschicht kommt. Die Keratinozyten, die normalerweise ca. 28 Tage zur Reifung und Wanderung von der Basalschicht in die Hornschicht der Haut benötigen, tun dies bei der Psoriasis in nur ca. 5 Tagen. Die Produktion der epidermalen Zellen kann sogar bis aufs 30-fache erhöht sein, was zu einer rasanten Neubildung der Epidermis führt (2,57).

Die hochregulierten Keratinozyten aktivieren sowohl T-Zellen als auch dendritische Zellen, die wiederum andere Entzündungsmediatoren aktivieren, wie IL17, TNF-Alpha und IL20. Durch diese Aktivierung kommt es zur Produktion proinflammatorischer Zytokine und Chemokine wie IL1, IL6, TNF-Alpha und IL8 (16).

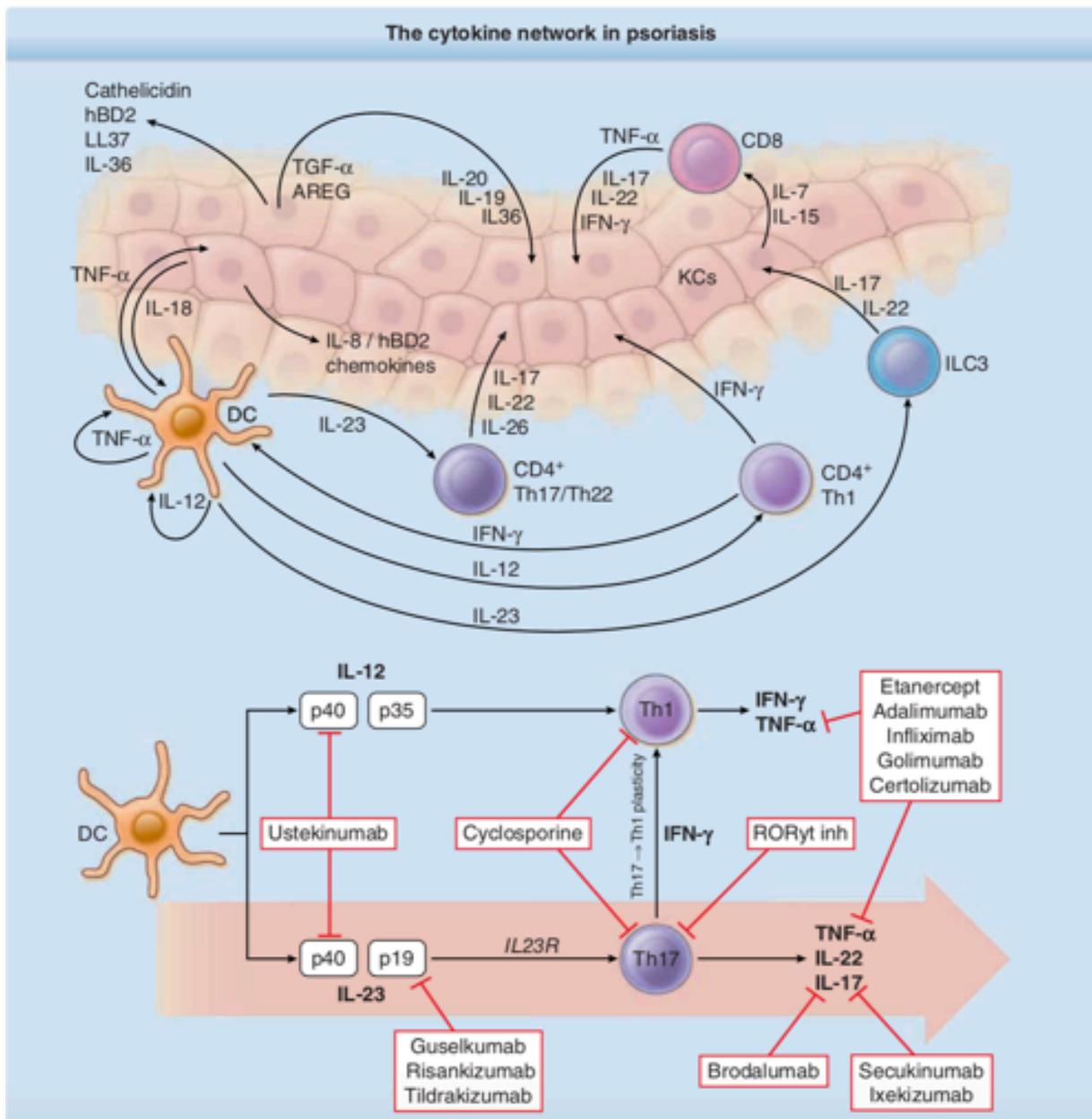


Abbildung 1: Das Zytokin-Netzwerk bei Psoriasis (62).

Bei der Psoriasis palmoplantaris pustulosa ist der exakte Pathomechanismus bislang (2019) unbekannt. Anders als bei anderen Formen der Schuppenflechte konnten bei den meisten Patienten mit Psoriasis pustulosa keine Anzeichen auf eine vererbte Veranlagung gefunden werden (60). Ein Ungleichgewicht des Protease / Antiprotease-Systems in der Haut, das aus einer verminderten Antileukoprotease (Elafin / SKALP) -Aktivität bei Pustelpsoriasis besteht, wurde als möglicher Mechanismus der Pustelbildung diskutiert (61).

In einer Langzeiterhebung aus Japan wurde festgestellt, dass die Inzidenz von PPP positiv mit starkem Rauchen (mehr als 20 Zigaretten pro Tag) korreliert. Die auffälligste Verbindung bei PPP ist das Rauchen. In zwei weiteren Umfragen waren 95% der PPP-Patienten Raucher, hier war die Raucherentwöhnung die wichtigste Maßnahme zur Behandlung der Erkrankung (67). IL-17A ist in den Handflächen und Fußsohlen von Patienten mit PPP im Vergleich zu gesunden Probanden stark exprimiert. Zudem wurde festgestellt, dass Rauchen mit weiterhin erhöhten IL-17-Spiegeln zusammenhängt, was zu einer Ausbreitung der Entzündung bei Patienten mit einer Prädisposition für PPP führte (73). Aus immunhistochemischen Studien geht hervor, dass Nikotinacetylcholinrezeptoren in der verletzten Haut von rauchenden PPP-Patienten moduliert sind im Vergleich zu krankheitsfreien Rauchern und gesunden Kontrollen, die auf eine abnormale Reaktion auf Nikotin bei PPP hindeuten (61,73).

Infektionen sind ein weiterer bekannter auslösender Faktor für PPP. Die am häufigsten genannte Infektion, die zu einem Ausbruch oder einer Verschlimmerung von PPP führt, ist die Tonsillitis. Laut Takahara führte die Tonsillektomie bei 94% der Patienten zu einer subjektiven Besserung der Erkrankung und bei 88% der Patienten mit PPP zu einer objektiven Besserung der Erkrankung (69,73).

Bei manchen Erkrankten konnten eine Mutation des IL36RN-Gens nachgewiesen werden (58,59). In den letzten Jahren konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass IL36, eine bedeutsame Schlüsselrolle für Psoriasis spielt (10). Die Bedeutung des IL36 hat besonders zugenommen, nachdem festgestellt wurde, dass es in den Hautläsionen der Psoriasis-Patienten, vor allem der Subtyp IL36 gamma, hoch exprimiert wird (15,18,21). In einer Studie führte eine Überexpression von IL-36 in der Haut von Mäusen zu einer Krankheit, die der menschlichen Plaque-Psoriasis sehr ähnlich ist und eine Hemmung von IL-36 in der menschlichen Psoriasis-Haut lindert die Entzündung. Der Verlust des natürlichen Antagonisten von IL-36 führt zu Pustelpsoriasis (10).

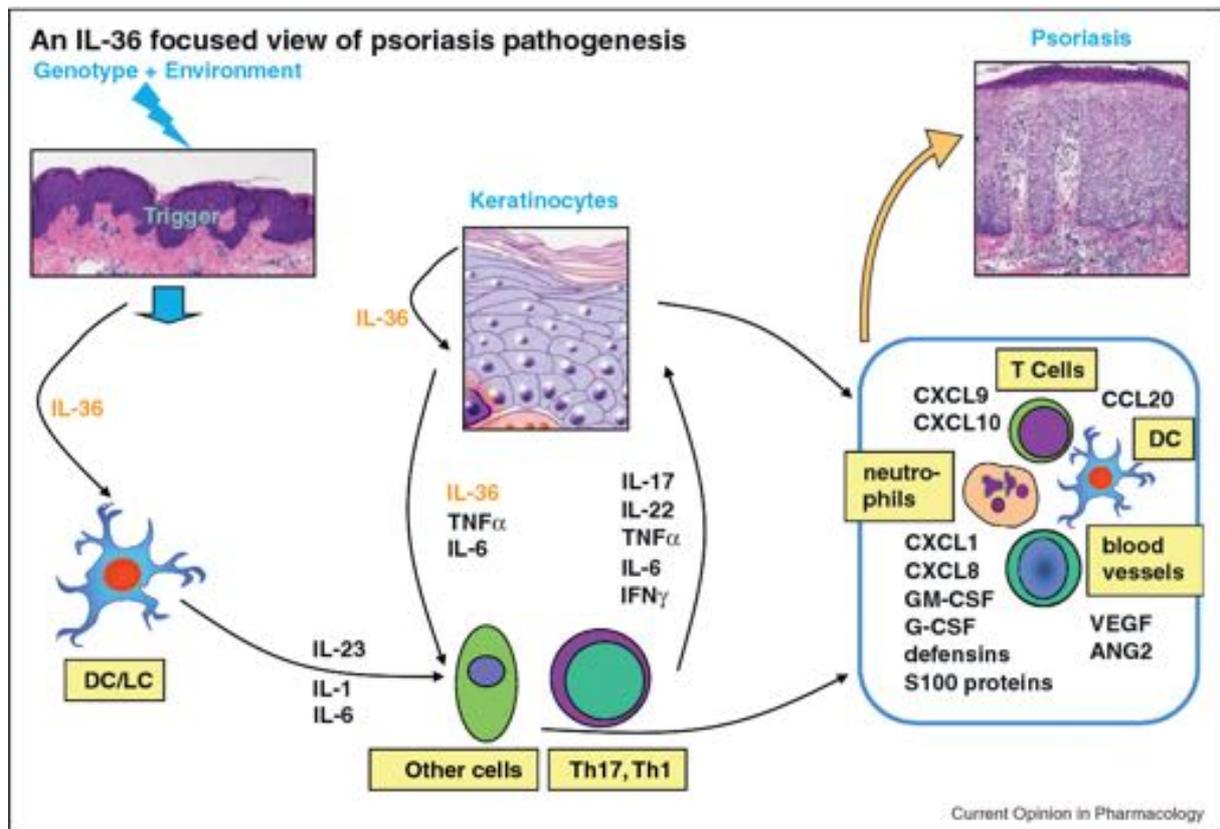


Abbildung 2: Rolle von IL36 in der Pathogenese von Psoriasis (10).

Die immunhistochemische Färbung der verschiedenen Antikörpern, die in dieser Arbeit durchgeführt wurde, hilft uns deren Rolle bei den unterschiedlichen Patientengruppen besser zu verstehen.

1.3 Das klinische Bild

Das klinische Bild der Psoriasis palmoplantaris pustulosa kann je nach Individuum stark variieren. Die Schwere der Ausprägung hängt von verschiedenen Faktoren ab, wie zum Beispiel das Rauchen. Zudem können Patienten durch verschiedene Persönlichkeitsfaktoren (Stress, Emotionen) und saisonalen Faktoren wie hoher Luftfeuchtigkeit und hohen Temperaturen beeinträchtigt werden (21,61).

Die Psoriasis palmoplantaris pustulosa ist eine seltene Form der Psoriasis mit Ausbildung von eitergefüllten Pusteln auf den psoriatischen Schuppungen, die sich nur auf die Handinnenflächen und Fußsohlen beschränken. Die flüssigkeitsgefüllten

Pusteln treten bei dieser eher seltenen Schuppenflechte-Form mitunter anstelle von Schuppen auf. Oft ist die Schuppenbildung jedoch lediglich reduziert. Neuere Pusteln sind gelblich gefärbt, ältere aufgrund von Krustenbildung und Austrocknung eher bräunlich. Die Beteiligung ist in der Regel symmetrisch, es ist jedoch eine einseitige Lage auf den Handflächen und / oder Fußsohlen zu erkennen. In den Bläschen befindet sich Eiter, der keimfrei (steril) ist. Die Erkrankung ist also nicht infektiös (7,60,61).



Abbildung 3: *Psoriasis palmoplantaris pustulosa* (60).



Abbildung 4: Psoriasis palmoplantaris pustulosa (60).

Die Psoriasis palmoplantaris pustulosa tritt in 2 Varianten auf:

Pustulöser Typ: weiß bis leicht gelb eingetrübte, sterile Pusteln auf scharf abgegrenzten Erythemen bzw. roten nicht schuppenden Plaques.

Gemischt-pustulöser-hyperkeratotischer Typ: polymorphes Nebeneinander von Erythemen, dyshidrotischen Vesikeln, Pusteln und schuppenden Papeln oder Plaques.

Zu den Symptomen zählen Juckreiz oder ein brennendes Gefühl, das neuen Läsionen vorausgehen kann. Bei schweren Ausbrüchen können jedoch Schmerzen und die Unfähigkeit, zu stehen, zu gehen oder Handarbeit zu leisten, die Lebensqualität erheblich beeinträchtigen (61).



Abbildung 5: *Psoriasis palmoplantaris pustulosa* (61).

1.4 Histologie

Histologisch kann man die Psoriasis in zwei Stadien einteilen:

In frühen Stadien kommt es zur Migration von mononukleären Zellen und Granulozyten in die Dermis und anschließend in die Epidermis. Außerdem kommt es zur Dilatation der Blutgefäße und man erkennt eine leichte Verdickung der Epidermis

(Akanthose) und einige regelmäßige Reteleisten. Das Stratum granulosum kann sich verschmälern oder komplett fehlen (22).

Im Spätstadium bilden sich tiefausgezogene, elongierte Reteleisten und kolbenförmige Papillarkörper. Aufgrund der hohen profilierenden, wenig differenzierten Keratinozyten kommt es zum Verlust des Stratum granulosum und zur Verdickung des Stratum spinosum (Parakertose). Kennzeichnend sind auch die Ansammlung von neutrophilen Granulozyten, die als subkorneale Munro-Mikroabszesse bezeichnet werden (26,3).

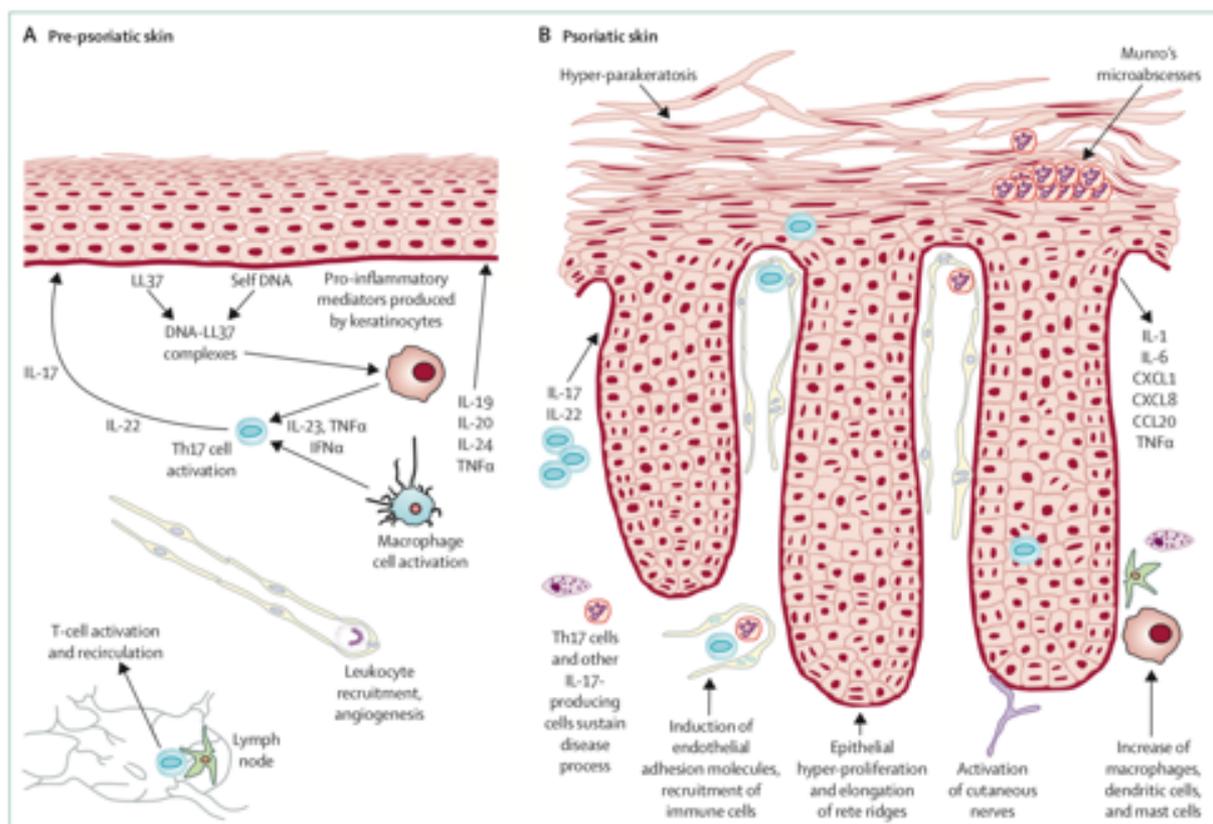


Abbildung 6: Immunpathogenese der Psoriasis (63).

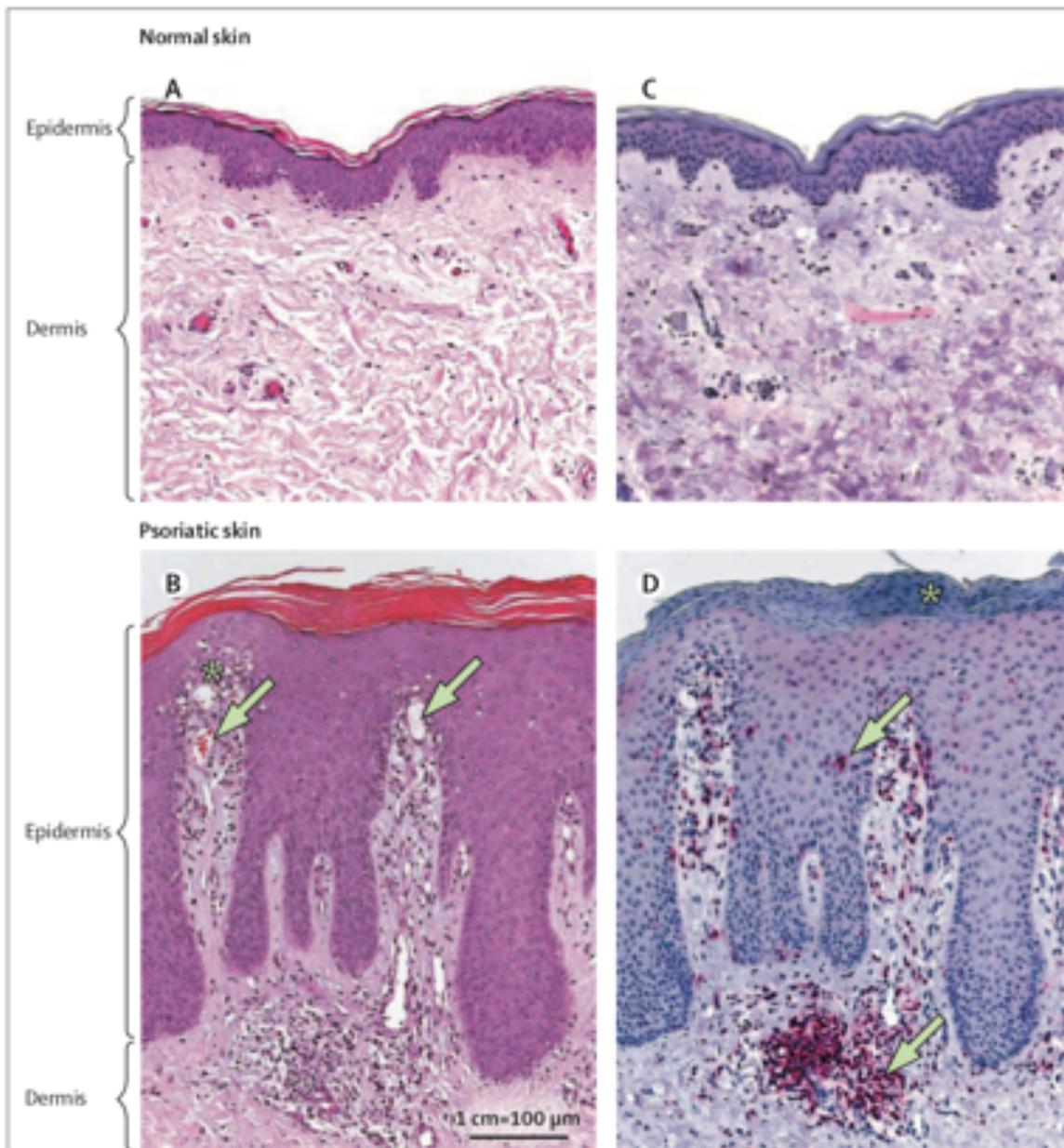


Abbildung 7: Histopathologische Merkmale der Psoriasis (63).

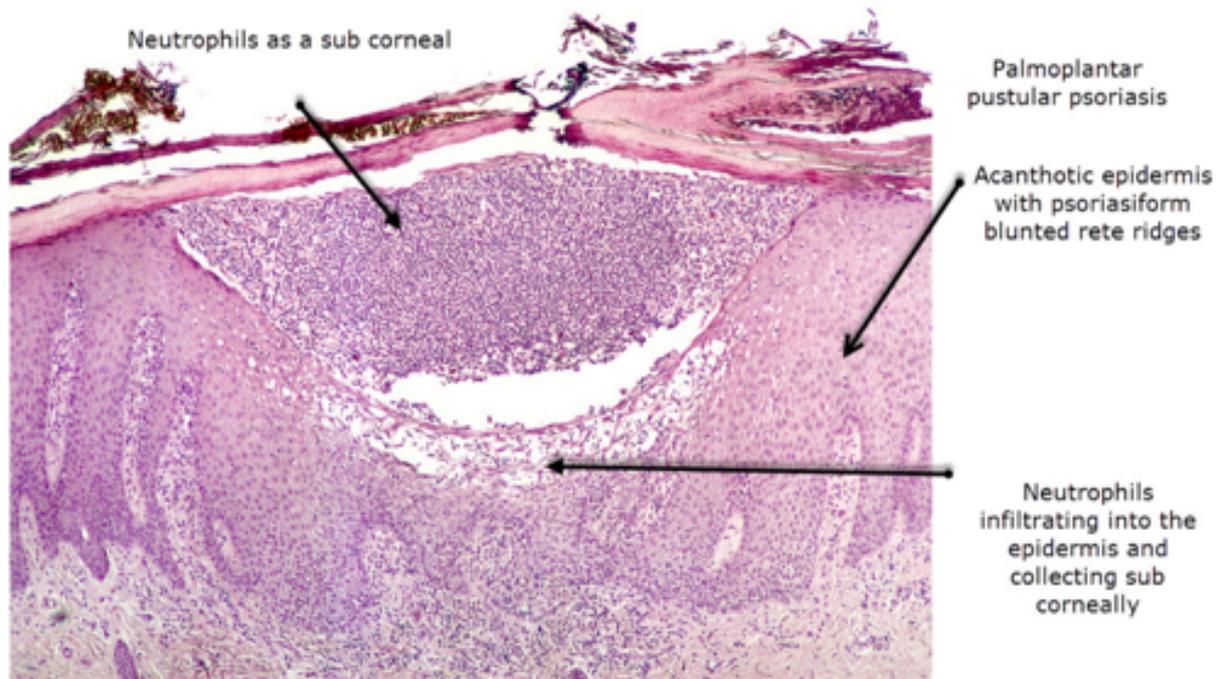


Abbildung 8: Histologie Psoriasis palmoplantaris pustulosa (64).

Bei der PPP zeigt sich neben den psoriatischen Merkmalen wie Akanthose und Hyperparakeratose eine Dermatitis mit infiltrierter Epidermis sowie unilokulären Pusteln in der oberen Epidermis.

PPP ist histologisch gekennzeichnet durch intraepidermale Vesikel, die mit Neutrophilen gefüllt sind, die mit spongiformen Veränderungen in der umgebenden Epidermis assoziiert sind. Eosinophile und Mastzellen sind in PPP-Biopsien aus Hautläsionen in erhöhter Zahl vorhanden (61).

1.5 Diagnostik

Die klinische Blickdiagnose spielt die bedeutsamste Rolle. Außer dem histologischen Nachweis anhand von Hautbiopsien, gibt es keine biochemischen oder serologischen Tests, die Psoriasis mit Sicherheit nachweisen können. Deshalb ist die ausführliche Anamnese und die klinische Inspektion außerordentlich wichtig für die Diagnosestellung der Psoriasis (28,34,41,65).

1.6 Differentialdiagnosen

Von Psoriasis lassen sich viele Hauterkrankungen unterscheiden. Anhand der klinischen Blickdiagnose, Hautbiopsien und das Psoriasis spezifische Befallmuster lässt sie sich von anderen Hauterkrankungen gut differenzieren.

Die nachfolgende Tabelle stellt mögliche Differenzialdiagnosen zur Psoriasis dar:

Disease entity	Differentiating signs/ symptoms	Differentiating tests
Lupus erythematosus, subacute (SLE)	Sub-acute SLE may have clinical signs that mimic psoriasis; however, plaques are less scaly and not lamellar	Skin biopsy, including direct and indirect immunofluorescent tests, is normally employed to confirm SLE.
Ptyriasis rosea	Lesions normally show features of guttate psoriasis but are in a characteristic Christmas tree-shaped distribution. Lesions normally subside within 8 weeks.	Clinical diagnosis is usually adequate.
Seborrhoeic dermatitis	Scaly eruptions normally limited to scalp eyebrows, paranasal region, ears and chest. Scales normally appear as fine and not lamellar in shape.	Skin biopsy shows dermatitis instead of psoriasis.
Mycosis fungoides	Lesions are highly itchy and scaly; mostly seen on scalp or ears. Lesions are not found on nails/ joints.	Skin biopsy shows atypical lymphocytes and Pautrier abscess.
Diaper dermatitis	Lesions are oozy, weepy and itchy in nature. Only seen in diaper regions.	Clinical diagnosis is usually sufficient.
Onychomycosis	This condition only involves nails.	Culture of the nail shows fungal growth.
Squamous cell carcinoma/actinic keratosis	Often not very scaly or fine scales may be present in case of actinic keratosis. Squamous cell cancer is limited to few lesions only.	Skin biopsy shows atypical squamous cells.
Eczema	Lesions are normally very itchy, mostly oozy, crusted with numerous scratch marks.	Skin biopsy shows dermatitis instead of psoriasis.
Lichen planus	Limited to wrists and limbs. Compared with psoriasis oral mucosa is more likely to be involved. Lesions are thick and without a scaly or desquamated appearance	Skin biopsy shows lichenoid lymphocyte infiltrates under epidermis.

Lichen simplex chronicus	Usually limited to a few areas easily reached by hands. Lesions are normally thick without scaly or desquamated appearance.	Skin biopsy reveals chronic dermatitis with epidermal acanthosis.
Subcorneal pustular dermatosis	Pustular lesions are subcorneal and in annular or serpiginous forms. Lesions normally present on stomach axillae and groin regions.	Skin biopsy reveals no bacteria. It shows predominantly neutrophilic perivascular infiltration with minimal spongiosis.

Abbildung 9: Differentialdiagnosen der Psoriasis (65).

Differential Diagnosis of Palmoplantar pustulosis (61):

- Dyshidrotic eczema with secondary bacterial infection
- Pustular tinea of palms and soles
- Keratoderma blenorrhagicum in Reiter disease
- Involvement of palms and soles in generalized pustular psoriasis
- Infected scabies with pustulation
- Vesicopustular mycosis fungoides of palms and soles
- Localized pustular vasculitis

1.7 Genetik

Die genetische Prädisposition stellt einen wichtigen Triggerfaktor für Psoriasis dar (27). Das exakte Vererbungsmuster ist bislang nicht bekannt, Studien zeigen aber, dass Verwandte ersten und zweiten Grades im Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung eine höhere Inzidenz haben. In weiteren Studien wurde beobachtet, dass eineiige Zwillinge eine zwei- bis dreifach höhere Konkordanzrate für Psoriasis im Vergleich zu zweieiigen Zwillingen haben (23,24,31,32).

Die Gene für das Human Leukocyte Antigen-System werden von dem sogenannten Major Histocompatibility Complex kodiert, der sich auf Chromosom sechs befindet. Bestimmte HLA-Typen wie HLA-Cw6, HLA-Bw57, HLA-B17, HLA-DR4 und HLA-B13 sind mit Psoriasis assoziiert (36). In multiplen Studien wurde gezeigt, dass mindestens neun Gene, die sich auf dem Chromosom sechs befinden, stark mit Psoriasis assoziiert sind. Diese Gene werden PSOR1 bis PSOR9 (Psoriasis susceptibility 1-9) genannt. Der mit Psoriasis am stärksten verbunden und für ca.

35-50% der Erbllichkeit der Psoriasis verantwortlich ist, ist der PSOR1 Gen (43,45,48).

Anhand von genetischen Analysen hat man festgestellt, dass die oben genannten Gene eine bedeutsame Rolle bei der Produktion von verschiedenen Zytokinen spielen. Einige dieser Zytokine wie zum Beispiel IL23, IL2 und IL23R sind in der Pathogenese von Bedeutung und somit als Indikatoren für ein erhöhtes Risiko an Psoriasis zu erkranken (29,47).

Psoriasis ist mit verschiedenen Genen assoziiert, es erkranken jedoch nur 20-30% der homozygoten HLA-Cw6-Träger an Psoriasis, dies bedeutet, dass die genetische Disposition von Psoriasis multifaktoriell ist (40).

Die HLA-Typisierung von Patienten mit PPP zeigt keine erhöhte Häufigkeit von keinem der bekannten Psoriasis-verknüpften Alloantigene. Im direkten Vergleich zwischen chronische Psoriasis vulgaris, Psoriasis guttata und PPP, die drei Hauptkandidatengene in der PSORS1-Region [(1) HLA-Cw*6, (2) HCR*WWCC und (3) CDSN*5] zeigten eine hohe Assoziation zur guttaten und chronischen Psoriasis vulgaris, jedoch nicht zu PPP (61,66,73).

Studien aus Japan lieferten Hinweise für die phänotypische und genetische Heterogenität von PPP gemäß derer Assoziation/Provokation mit Tonsillitis. Bei Patienten, bei denen PPP nicht mit Tonsillitis assoziiert war, war die Phänotypfrequenz des TNF- β -Allels des TNF- β -Gens und des Allels B des TNF- α -Gens im Vergleich zu den Kontrollen signifikant höher (61,69). Außerdem zeigten genetische Assoziationsstudien in einer kaukasischen Kohorte, dass Gene, die für Zytokine der IL-10-Familie kodieren, nämlich IL-19, IL-20 und IL-24, Haplotypen mit erhöhtem Risiko für PPP zeigen (61).

Diese Daten begründen weiterhin die Vorstellung, dass PPP und Psoriasis unterschiedliche Entitäten repräsentieren (61).

1.8 Therapie

Die Therapie der Psoriasis lässt sich allgemein in drei Gruppen einteilen: Die topische Therapie, die Phototherapie und die systemische Therapie.

Die Entscheidung welche Therapie man einsetzt hängt von vielen Faktoren ab. Zu diesen Faktoren gehört zum Beispiel das klinische Bild, die anatomische Lokalisation der Läsionen, der Schweregrad der Psoriasis, die Lebensqualität, Triggerfaktoren und Komorbidität (psoriatische Arthritis, Morbus Crohn, metabolisches Syndrom). Deshalb wird für jeden Patient ein individuelles Therapieschema gewählt (35,71).

First Line Therapie: Bei leichten bis mäßigen Verläufen ist die topische Therapie mit lokalen Glucocorticoiden, Vitamin-D-Analoga, synthetischen Teerderivaten, Teerpräparaten und Retinoiden indiziert. Zudem wird die Phototherapie in diesem Stadium eingesetzt (1,71). Bei mäßigen bis schweren Verläufen ist eine systemische Therapie mit Immunsuppressiva wie z.B Methothrexat und Ciclosporin A einzuleiten. Außerdem werden Medikamente wie Retinoide, Fumarsäure und Phototherapie verwendet (1,37,68,71).

Second Line Therapie: Bei mäßigen bis schweren Verläufen wird eine systemische Therapie mit Biologicals wie z.B. TNF-Alpha Inhibitoren angewendet (1,59).

Bei chronischer Plaque-Psoriasis und generalisierter Psoriasis pustulosa erwies sich der monoklonale Anti-TNF- α -Antikörper Infliximab als hochwirksam, jedoch nicht bei PPP. Hier kam es zu einer paradoxen Reaktion mit Verschlechterung der Hautsymptome bei PPP (61,73).

Psoriasis palmoplantaris pustulosa ist bekanntermaßen schwierig zu behandeln bis therapieresistent und spricht häufig nicht auf Behandlungen der chronischen Plaque-Psoriasis an (62,73). Unsicherheiten in Bezug auf die Pathophysiologie von PPP führen zu einem Mangel an biogenetischem Verständnis für die Entwicklung neuer pharmakologischer Therapien (73). Im Gegenteil zu anderen Formen der Psoriasis fehlen bei PPP, aufgrund ihrer Seltenheit, qualitativ hochwertige randomisierte und kontrollierte Studiendaten zu Behandlungsmöglichkeiten und Wirksamkeiten (62,73).

Die gemeldeten Behandlungen weisen eine hohe Rezidivrate auf. Phototherapie, Cyclosporin und topische Steroide unter Okklusivverband sind die Behandlungen mit der am besten dokumentierten Wirksamkeit (61,62,68,71,73). Die topische Behandlung führt jedoch gelegentlich nicht zu einer Remission, sodass eine systemische Therapie Eskalation mit Acitretin, Cyclosporin und Biologicals häufig erforderlich ist (73).

Die Tonsillektomie wurde zur Behandlung von Psoriasis pustulosa palmaris et plantaris angewendet. Bei einer Kohorte von 116 japanischen Patienten wurde eine klinische Besserung bei 109 (94%) festgestellt (62,69). Insbesondere aufgrund des starken Zusammenhangs mit dem Rauchen führt die Raucherentwöhnung zu einer erheblichen klinischen Verbesserung (62,70,71,72).

In Studien wurde beobachtet, dass Biologicals wie Anti-Interleukin-17-Agents, Ustekinumab (IL12/23-Antibody) und Phosphodiesterase Typ-4 Inhibitoren, bei der langfristigen Bekämpfung von refraktären und ausgedehnten Befunden, vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung von Psoriasis palmoplantaris pustulosa gezeigt haben (71,73,74).

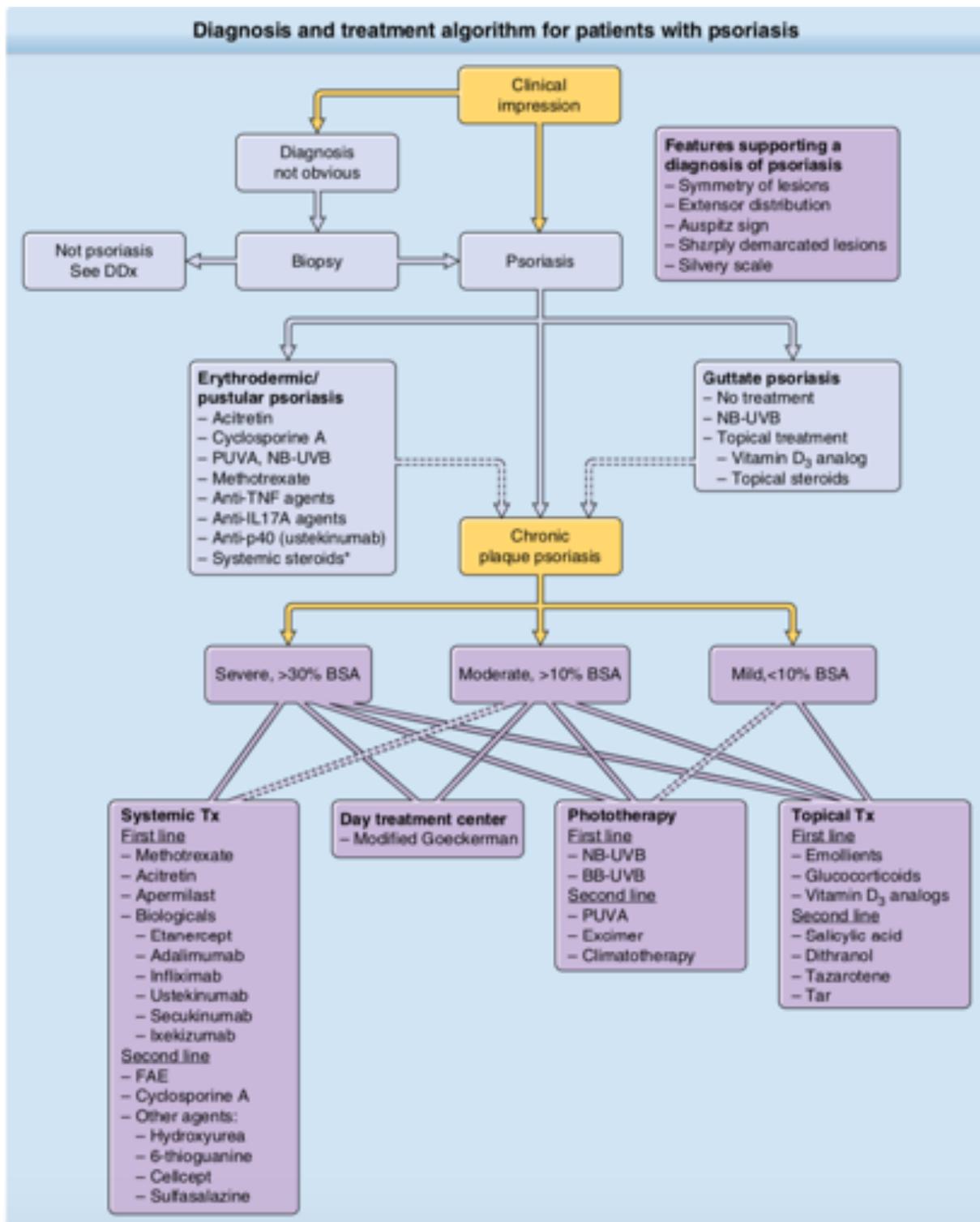


Abbildung 10: Diagnose- und Behandlungsalgorithmus für Patienten mit Psoriasis (62).

2. Zielsetzung

Das Ziel dieser Arbeit ist, die Rolle der ausgesuchten Antikörper bei der Psoriasis palmoplantaris pustulosa besser zu verstehen. Es wird eine Immunhistochemische Analyse der Psoriasis palmoplantaris pustulosa mit neun verschiedenen Antikörpern durchgeführt.

Durch die immunhistochemische Färbung der fertiggestellten Antikörper kann die Häufigkeit der Antikörper in den verschiedenen Patientengruppen nachgewiesen werden und somit die Expression der verschiedenen Antikörpern bei PPP-Patienten verglichen werden. Des Weiteren wird untersucht, ob einen Zusammenhang zwischen der höchsten Expression mit der höchsten Wirkung nach aktueller Studienlage besteht.

Dafür wurden Hautbiopsien von 30 Patienten entnommen, wobei die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt wurden. Die erste Gruppe besteht aus vierundzwanzig Patienten mit Psoriasis palmoplantaris pustulosa. Bei dieser Gruppe wurden Hautbiopsien aus betroffener Haut entnommen. Bei der zweiten Gruppe handelt es sich um sechs Patienten, die nicht an Psoriasis palmoplantaris pustulosa erkrankt sind und eine normale Haut aufweisen.

In dieser Arbeit wird die Häufigkeit der ausgesuchten Antikörper (IL17/17A, IL17F, IL36 gamma, IL8, IL23, Phosphodiesterase 4B, CXCR3 (CD183), HLA-DR, FOX-P3) bei Patienten mit Psoriasis palmoplantaris pustulosa und bei den gesunden Patienten, den Kontrollgruppen, analysiert.

Die Erforschung der an diesem Pathomechanismus beteiligten Antikörper soll Rückschlüsse über die Rolle dieser zulassen und Überlegungen über mögliche Angriffspunkte bei der Entwicklung von Pharmaka für die Behandlung von Psoriasis palmoplantaris pustulosa anstoßen.

Außerdem kann der Nachweis unterschiedlicher Ausprägung der verschiedenen Antikörper dazu beitragen deren Rolle im Pathomechanismus der Psoriasis palmoplantaris pustulosa besser zu verstehen. Dies könnte die Möglichkeit eröffnen,

langfristig genauer und gezielter im Immunsystem anzugreifen, bessere Ergebnisse bei der Behandlung zu erzielen und Nebenwirkungen zu lindern.

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.

Fragestellungen:

1. Wie häufig kommen diese Zytokine/Proteine in der Psoriasis palmoplantaris pustulosa vor und In welchem Verhältnis stehen die zueinander?
2. Besteht ein Zusammenhang zwischen der höchsten Expression mit der höchsten Wirkung nach aktueller Studienlage? Wenn ja, kann Anhand dessen eine First Line Therapie Empfehlung erfolgen?
3. Wie häufig sind diese Zytokine/Proteine in der normalen Haut exprimiert, im Vergleich zu der erkrankten Haut?
4. Welche Rückschlüsse lassen sich aus dem Vergleich der Biopsien der Patienten mit PPP 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 pH7 phosphatpuffat Fa. Roth Karlsruhe
- Rotationsmikrotom MIKRTOM LEICA RM 2245
- Feather Microtome Blade A35
- SuperFrost® 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 PMB1-250
- Tris-Pufferstammlösung: EnVision Flex Dako. Tris-Puffer-(Spülung): EnVision Flex Dako-Spülpuffer.
- Tris-Puffer-(Spülung): 1:10 Verdünnung der Stammlösung mit Aqua dest
- EDTA- Puffer für Dampfgerarbehandlung von Paraffinschnitten (pH 8,0)
- Citrat-Puffer für Dampfgerarbehandlung von Paraffinschnitten (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 TM DAB+ Chromogen
 - Flasche B: Dako Real TM Substrate Buffer
 - Flasche C: Dako Real TM EnVision TM/HRP, Rabbit/Mouse Sekundärer (gebrauchsfertiger) Antikörper

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

3.2.2 Antikörper

- **CXCR3 (CD183)**
 - Monoklonal Mouse Antibody
 - BD Pharmingen 557183
 - Verdünnung 1:100
 - Vorbehandlung: Citrat
- **FOX-P3**
 - Monoklonal Mouse Antibody
 - abcam ab20034
 - Verdünnung 1:250
 - Vorbehandlung: EDTA
- **IL8**
 - Polyklonal Rabbit Antibody
 - Antibodies-online ABIN 957728
 - Verdünnung 1:300
 - Vorbehandlung: Citrat
- **IL17(A)**
 - Polyklonal Rabbit Antibody
 - Bioss Antibodies bs2140-R

- Verdünnung 1:500
- Vorbehandlung: Citrat

- **IL17F**
 - Monoklonal Mouse Antibody
 - Antibodies-online ABIN 4324740
 - Verdünnung 1:2500
 - Vorbehandlung: Citrat

- **IL23**
 - Polyklonal Rabbit Antibody
 - Antibodies-online ABIN 614363
 - Verdünnung 1:25
 - Vorbehandlung: Citrat

- **IL36-Gamma IL1f9 (gamma)**
 - Polyklonal Rabbit Antibody
 - Antibodies-online ABIN 2856607
 - Verdünnung 1:250
 - Vorbehandlung: Citrat

- **Phosphodiesterase 4B**
 - Monoklonal Mouse Antibody
 - Antibodies-online ABIN 4344431
 - Verdünnung 1:200

- Vorbehandlung: Citrat

- **HLA-DP, DQ, DR-Antigen**
- Monoclonal Mouse Antibody
- Agilent Dako M0775
- Verdünnung 1:100
- Vorbehandlung: Keine

3.3 Auswertung

- Leica Application Suite Software
- Softwareversion V4.3
- Lichtmikroskop Typ Leica DMIL
- Fotoapparat Typ Nikon D7000 (16 Megapixel); Nikon D100
- Kameratyp Leica DFC295

4. Methoden

4.1 Patientengruppe

Es werden insgesamt 30 Patienten in dieser immunhistochemischen Analyse mit einbezogen, die in den Jahren 2000 bis 2017 in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz behandelt wurden. Diese werden in zwei Gruppen eingeteilt: Die erste Gruppe besteht aus vierundzwanzig Patienten mit Psoriasis palmoplantaris pustulosa. Die zweite Gruppe dient als Kontrollgruppe und umfasst sechs Patienten, die nicht an PPP erkrankt sind.

4.2 Probeentnahme

Nach Aufklärung der Patienten wird unter Lokalanästhesie die Probenentnahme im Rahmen der Behandlung in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Die sechs Biopsien der Patienten, die nicht an PPP leiden wurden im Rahmen anderer Behandlungen des Universitätsklinikums entnommen und zur Forschung bereitgestellt.

4.3 Herstellung der Paraffinschnitte

1. Fixierung der Biopsien in Formalin
2. Entwässerung durch alkoholische Reihen mittels Tissue-Tek®Vakuum-Infiltrationsprozessor
3. Einbettung im Tissue-Tek® Tissue Embedding Console System
4. Kühlung der Blöcke
5. Zuschnitt der Biopsien mittels Mikrotom Leica 2245 (Schnittbreite: 2-2.5 Mikrometer)
6. Wasserbad GFL 1052 zum Strecken
7. Aufbringen der Schnitte auf adhäsive Objektträger (Super Frost Plus)

8. Auflegen der Objektträger auf Wärmeplatte zur Vermeidung von Schrumpfarmartefakten

9. Trocknen der Schnitte (Brutschrank; 60 Minuten, 60 Grad Celsius)

4.4 Immunhistochemische Verfahren

4.4.1 Antikörperproduktion

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl monoklonale als auch polyklonale Antikörper verwendet, die aus Kaninchen und Mäuse gewonnen wurden.

Monoklonale Antikörper: Monoklonale Antikörper sind das Produkt eines einzelnen Klons von Plasmazellen und reagieren nur mit einem bestimmten Epitop des Antigens. 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. 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.

4.4.2 Polymerkonjugat-Methode

Anhand der Polymerkonjugat-Methode besteht die Möglichkeit monoklonale und polyklonale Antikörper indirekt nachzuweisen. Die Durchführung dieser Methode erfolgt in zwei Schritten ab und basiert auf der Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen.

Schritt 1: Inkubation des zu untersuchenden Gewebes mit dem Primärantikörper. Dadurch kommt es zur Bildung des Antigen-Primär-Antikörperkomplexes.

Schritt 2: Inkubation des gebildeten Antigen-Primär-Antikörperkomplexes mit einem Polymer, welches den Sekundärantikörper und Peroxidase-Enzyme enthält. Dadurch kommt es zur Bindung des Primärantikörpers an den Sekundärantikörper, was man als indirekten Nachweis bezeichnet. Um diese Reaktion sichtbar zu machen, wird eine DAB-Chromogen-Lösung hinzugefügt.

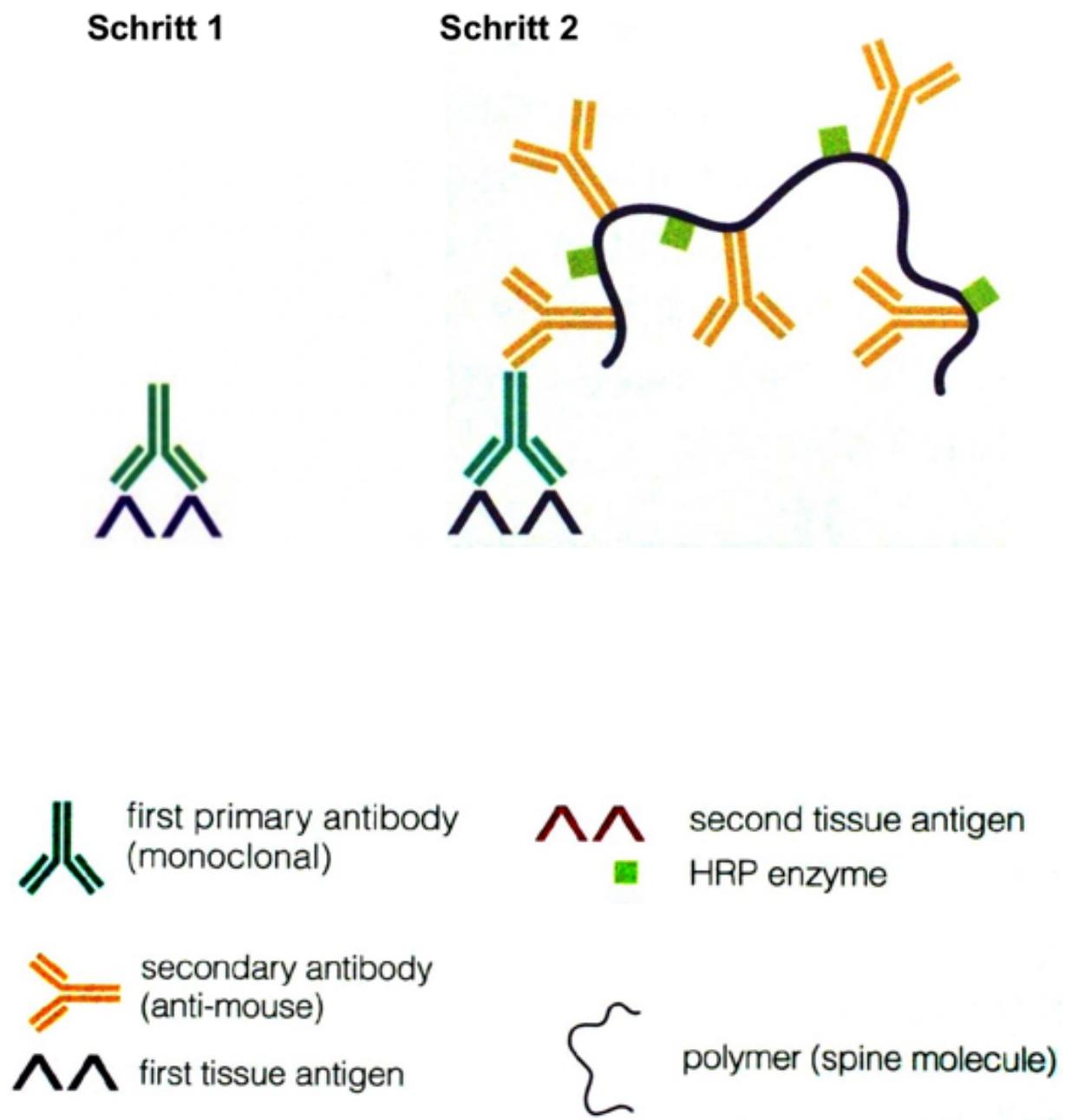


Abbildung 11: Polymerkonjugat-Methode: Indirekter Nachweis eines Antikörpers (53).

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

Die Formalinfixierung ermöglicht den Erhalt der Morphologie des Gewebes, jedoch bilden sich chemische Quervernetzungen (Cross-Links) zwischen verschiedenen Proteinen. Diese führen zur Änderung der Struktur mancher Epitope. Das Ergebnis kann ein partieller oder vollständiger Verlust der Immunreaktivität des Antigens sein. Man spricht von einer „Maskierung“ des Antigens.

Durch die Antigendemaskierungsmethoden oder Antigen- Retrieval kann zum großen Teil die verlorene Sekundär- und Tertiärstruktur der Proteine wieder hergestellt werden. Die Epitopdemaskierung (=Antigen retrieval) soll die Bindungsstellen für den Primärantikörper möglichst freilegen. Meist wird ein thermisches Verfahren, wie in dieser Arbeit mit Dampfgerät gewählt. Der Erfolg der Antigenfreilegung hängt allerdings nicht nur von der Erhitzungsmodalität ab, auch die Dauer der Erhitzung kann sich stark auf den Erfolg der Färbung auswirken. Außerdem spielt die Auswahl der Pufferlösung und ihr pH-Wert beim Erhitzen eine Rolle, für diese Studie kamen Citrat-Puffer pH 6,0 und EDTA-Puffer pH 8,0 zum Einsatz.

Um die verlorene Immunreaktivität wiederherzustellen, wurde die Methode der hitzeinduzierten Antigendemaskierung mit Citrat und EDTA verwendet:

Behandlung mit Citrat:

- Behandlung mit Citrat-Pufferlösung (PH 6,0) im Dampfgarer (40 min)
- Abkühlen bei Raumtemperatur (20 Minuten)
- Spülen mit Leitungswasser
- Behandlung mit Tris-Puffer-Lösung

Behandlung mit EDTA:

- Behandlung mit EDTA-Pufferlösung (PH 8,0) im Dampfgarer (30 min)
- Abkühlen bei Raumtemperatur (20 Minuten)
- Spülen mit Leitungswasser
- Behandlung mit Tris-Puffer-Lösung

4.4.3.3 Färbeprotokoll gemäß den Laborrichtlinien der Hautklinik und Histologie der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

- Entparaffinierung
- Antigendemaskierung
- Tris-Puffer (3 min)
- Ermittlung des Verhältnisses von Primärantikörper und Antikörperverdünnungspuffer
- Inkubation des Primärantikörpers mit einem Antikörperverdünnungspuffer der Firma DAKO (60 min)
- Spülen mit Tris-Puffer (2x4 min)
- Inkubation mit Sekundärantikörper (30 min): Dako Real EnVision -K5007 TM/ HRP, Rabbit/Mouse Flasche A
- Spülen mit Tris Puffer (2x4 min)

- Vorbereiten der DAB + Chromogenlösung: Flasche B (Dako REAL TM Substrate Buffer; 1 ml) + Flasche C (Dako Real TM DAB+Chromogen 1 Tropfen)
- Färbung mit DAB-Chromogen-Lösung (7 min)
- Spülen mit Leitungswasser (5 min)
- Spülen mit Aqua dest. (30 sek.)
- Hämatoxylin-Gegenfärbung (30 sek)
- Spülen mit Leitungswasser (10 min)
- Spülen mit Aqua dest. (30 sek.)
- Schwenken in aufsteigender Alkoholreihe zur Entwässerung (je 10 Sek.)
 - 1x 96% iger Alkohol
 - 2x 100% iger Alkohol
 - Xylol
- Eindecken mit Eukitt Sigma 03989 – 500 ml

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 fünf Zonen mit der größten Menge an Antikörpern ausgesucht. Alle Bilder wurden bei 20-facher Vergrößerung abfotografiert.

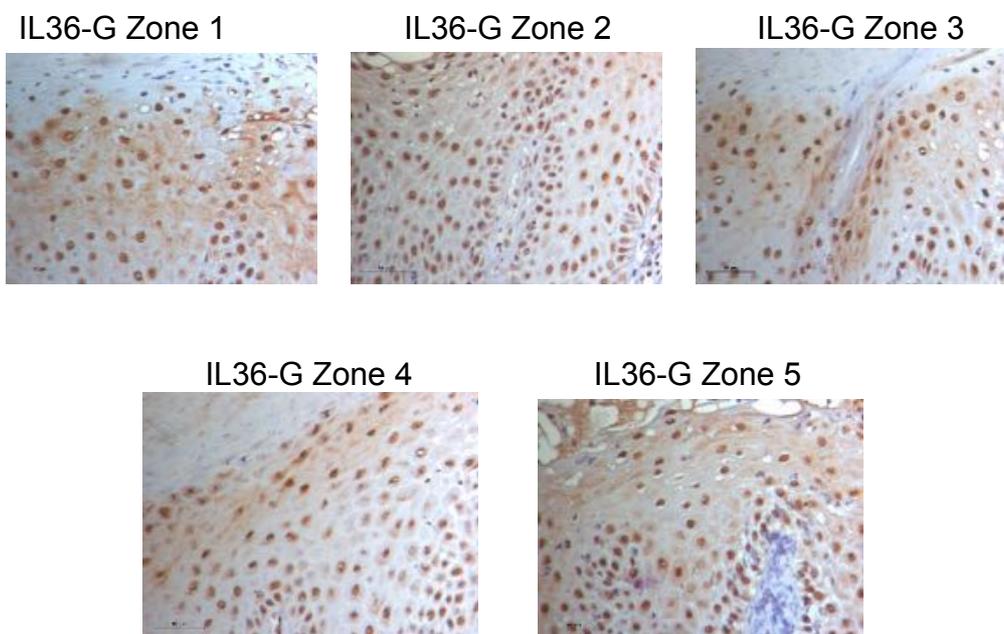


Abbildung 12: Beispiel von fünf verschiedenen Zonen bei 20X Vergrößerung

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. Um Fehler zu minimieren wurde bei Abweichungen vom Originalbild

das analysierte Bild nochmal manuell bearbeitet. Anschließend wurden die gefärbten Antikörper stichprobenartig manuell ausgezählt. Die Ergebnisse der automatisierten Bildanalyse konnten hiermit bestätigt werden.

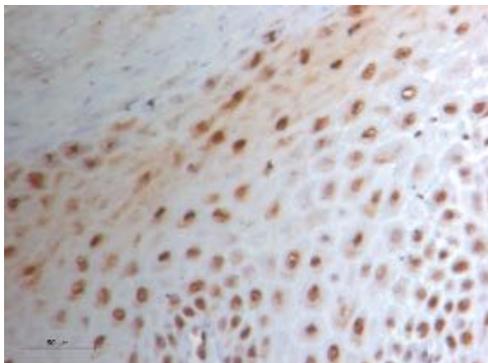
4.5.2.1 Bildbearbeitung mit dem *ImageJ Plugin- IHC Profiler*

Als erstes wurden die Bilder mit dem *ImageJ Plugin- IHC Profiler* bearbeitet. Durch die Bearbeitung werden die Antikörper nach Bearbeitung der Farben besser erkennbar.

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“

IL36-G Zone 4



Bearbeitetes Bild: IL36-G Zone 4



Abbildung 13: Beispiel einer Farbenbearbeitung mit *ImageJ – IHC Profiler*

4.5.2.2 Analyse mit *ImageJ* im Detail

Als nächstes erfolgte die Zellanalyse mit Hilfe von *ImageJ*. Um genauere Ergebnisse bei der automatisierten Auszählung zu erzielen, wurden eigene Makrobefehle pro Antikörper eingesetzt.

Bearbeitungsprotokoll:

Bildanalyse nach den folgenden Makrobefehlen:

CXCR3 (CD183):

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

FOX-P3:

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

IL8:

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

IL17(A):

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

IL17(F):

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

IL23:

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

IL36-Gamma:

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

Phosphodiesterase 4B:

```
“setThreshold(0, 100)
```

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

HLA-DR:

```
“setThreshold(0, 100)
```

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

Bearbeitetes Bild: IL36-G Zone 4



Analysiertes Bild: IL36-G Zone 4

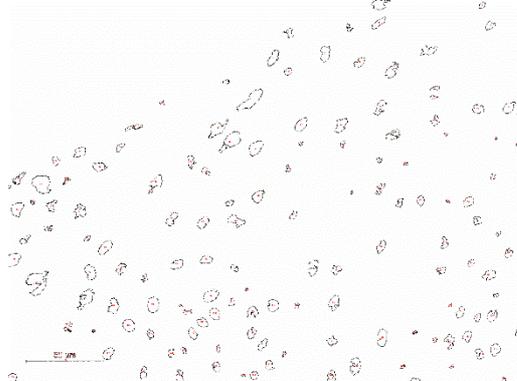


Abbildung 14: Beispiel einer Bildanalyse mit ImageJ

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 Quadratmikrometer (0.082364 Quadratmillimeter).

Antikörper Legende:

CXCR3 (CD183)

FOX-P3

IL8

IL17(A)

IL17F

IL23

IL36-Gamma, IL1f9 (gamma)

Phosphodiesterase 4B

HLA-DP, DQ, DR-Antigen

5.2 Histologische Schnitte

Patient 1 (weiblich, 56 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

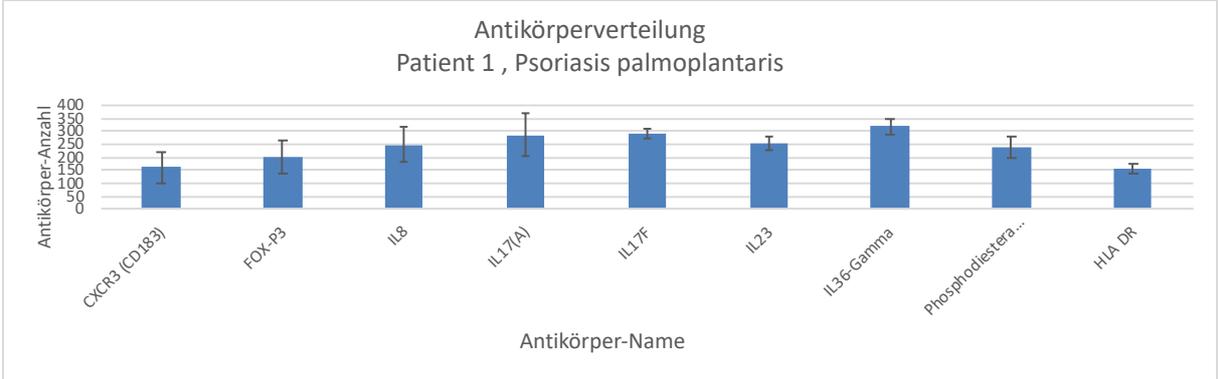
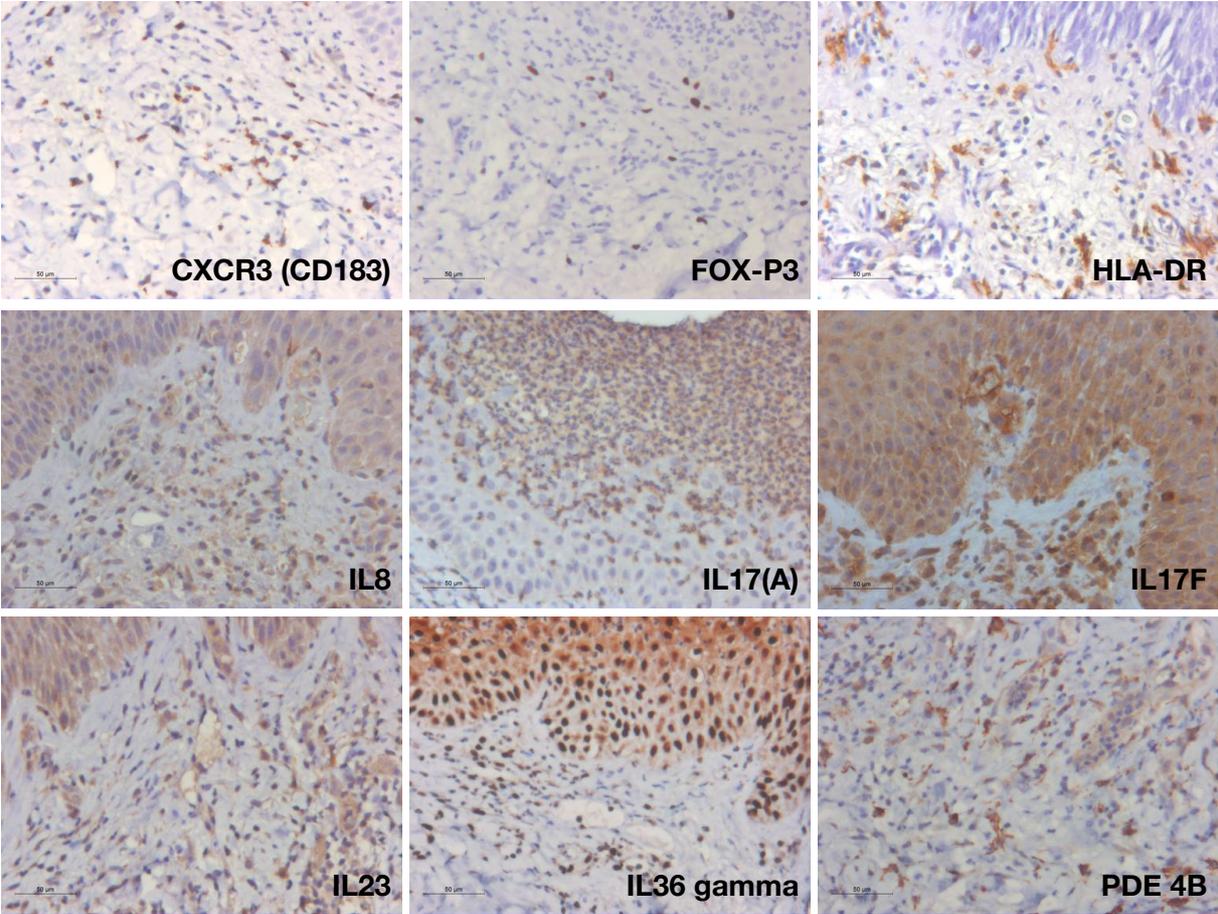


Abbildung 15: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 2 (weiblich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

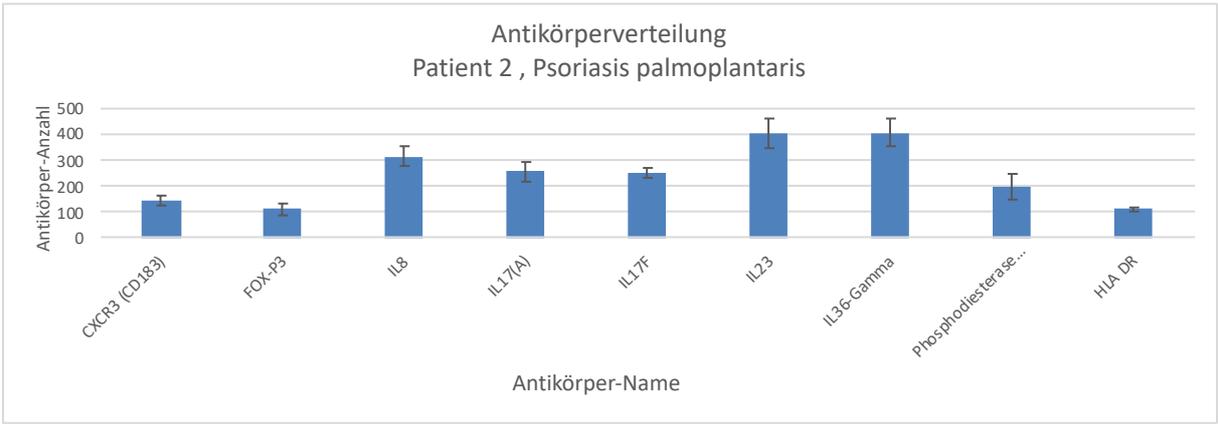
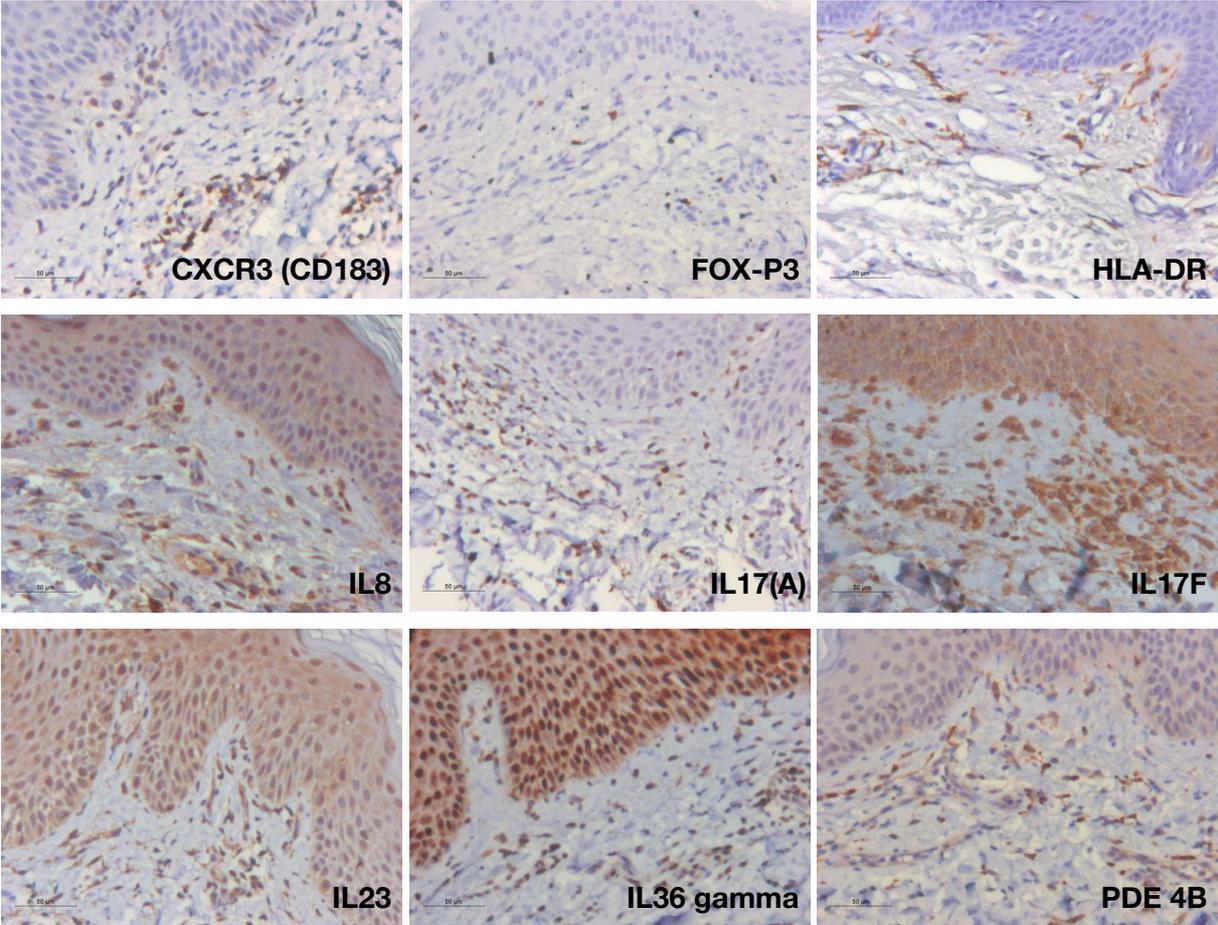


Abbildung 16: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 3 (weiblich, 23 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

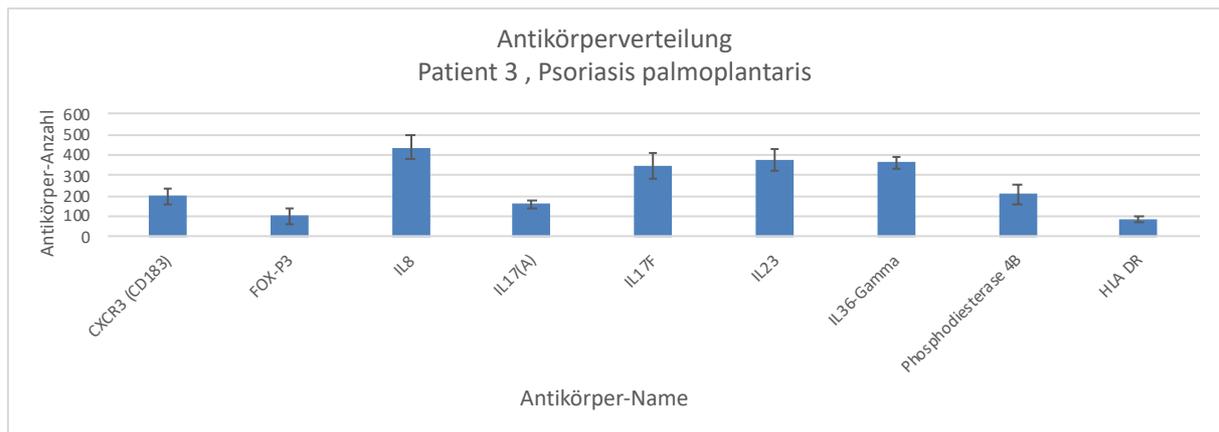
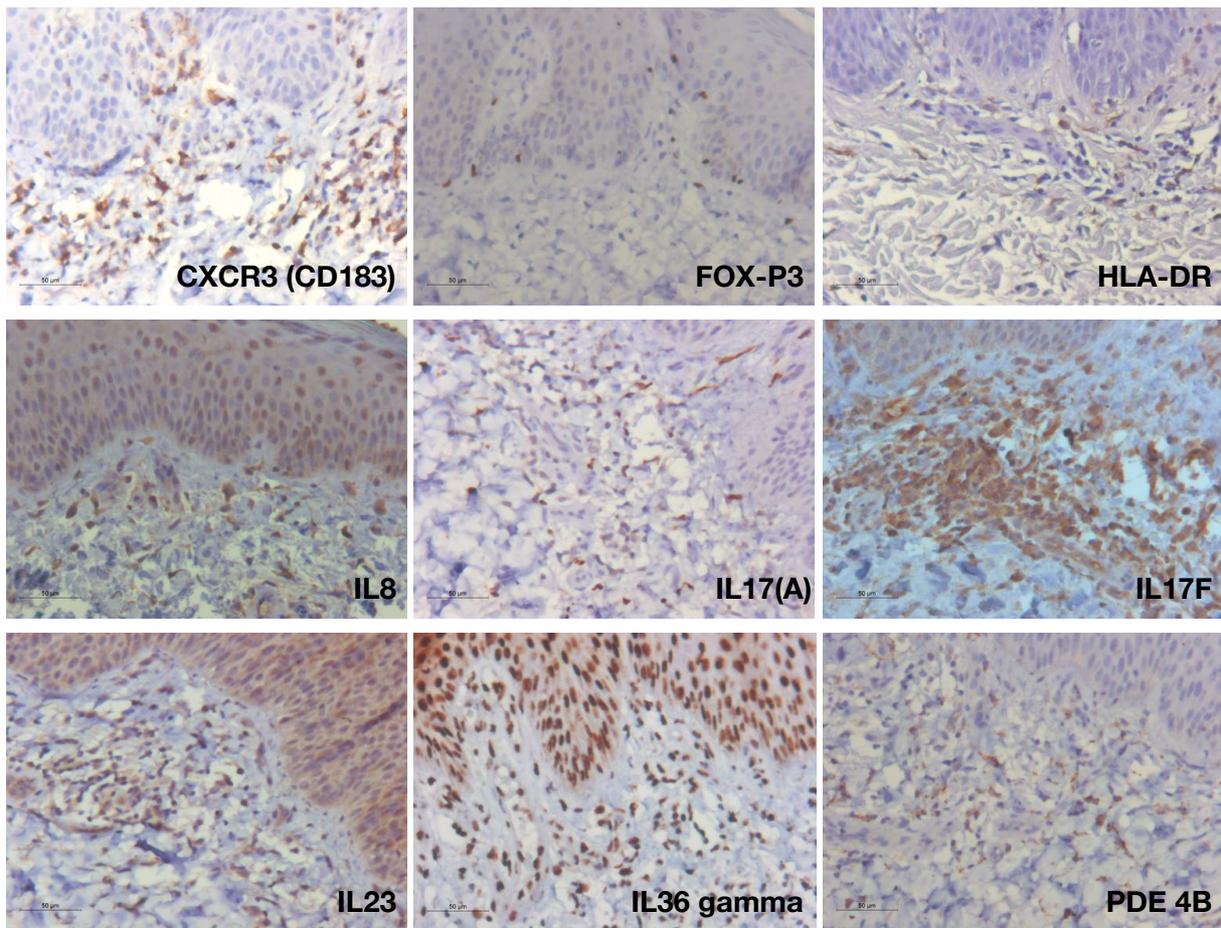


Abbildung 17: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 4 (männlich, 30 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

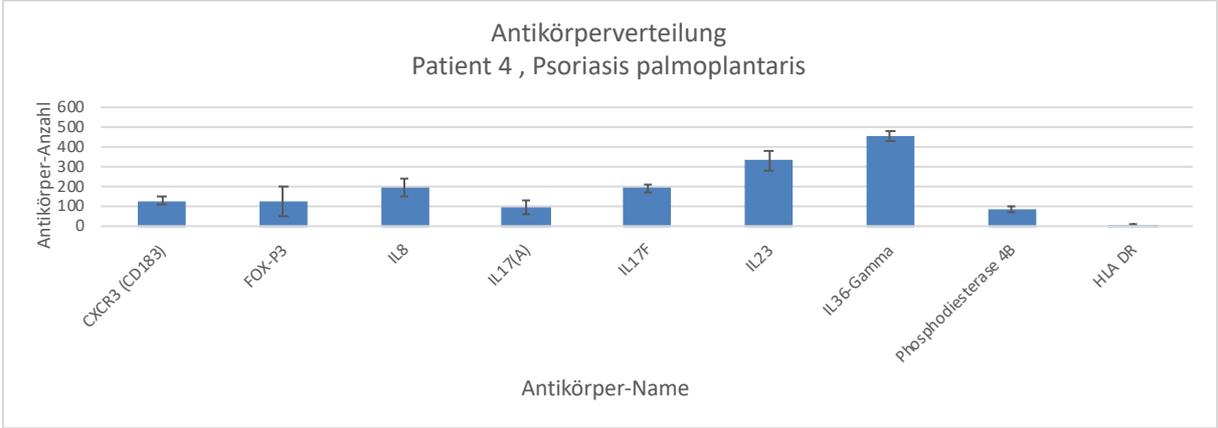
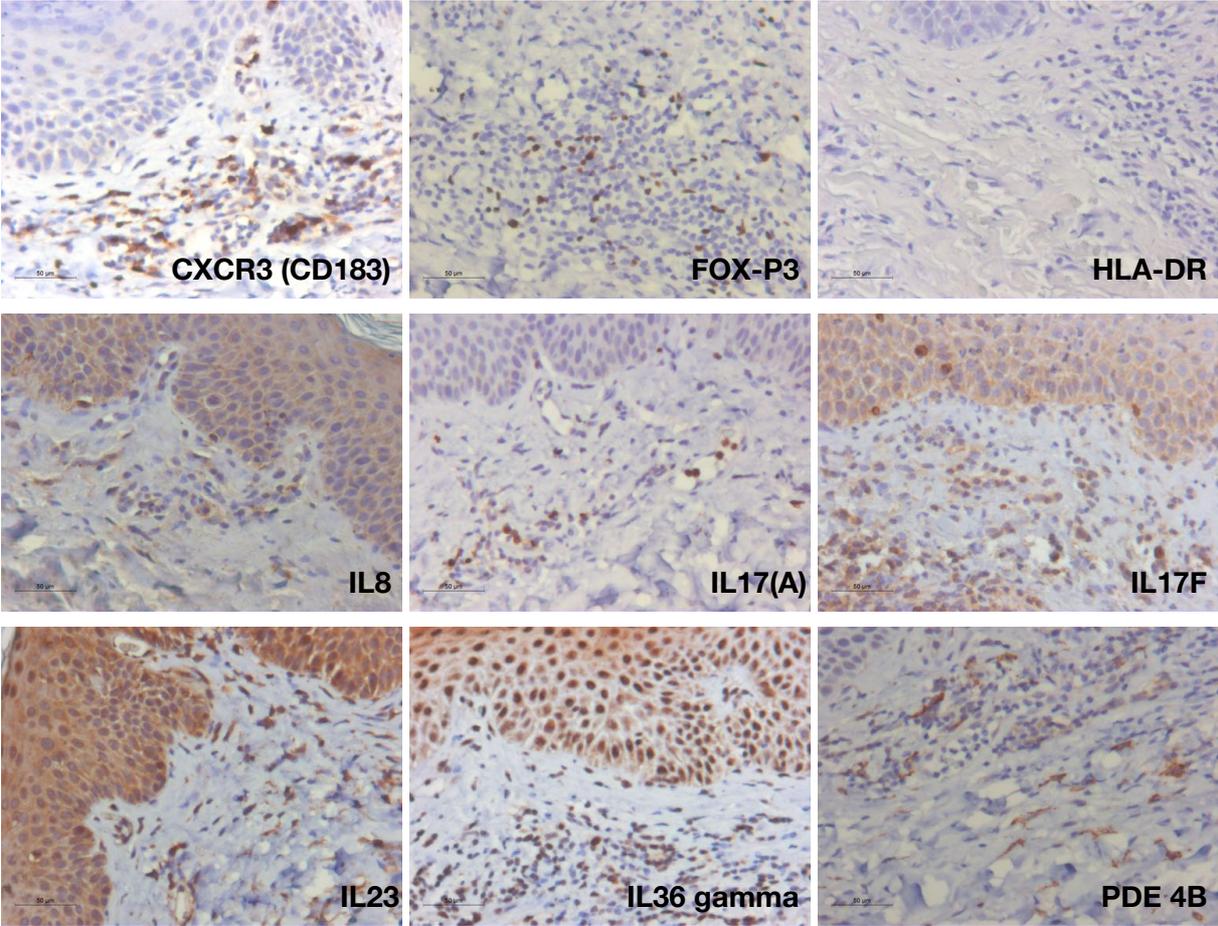


Abbildung 18: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 5 (männlich, 55 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

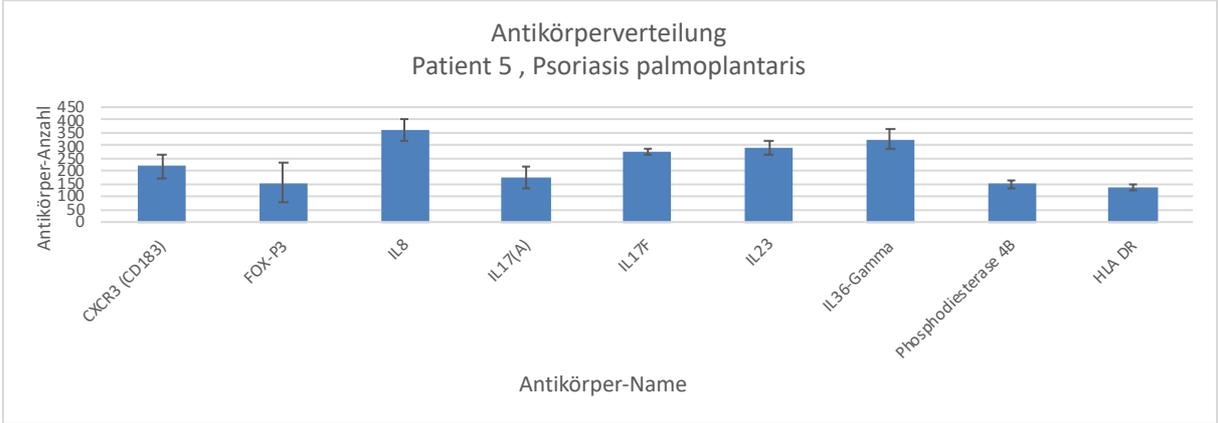
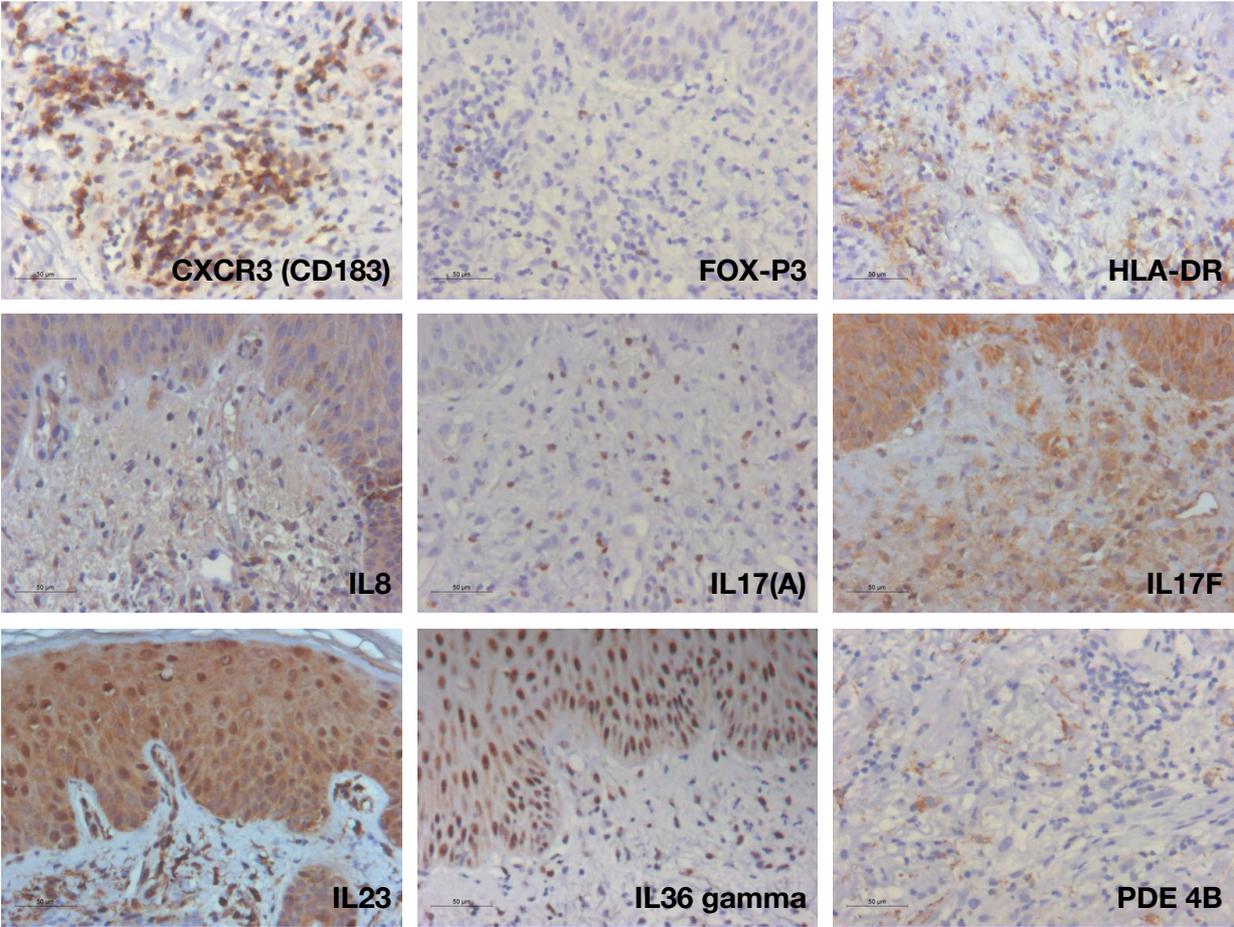


Abbildung 19: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 6 (weiblich, 31 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

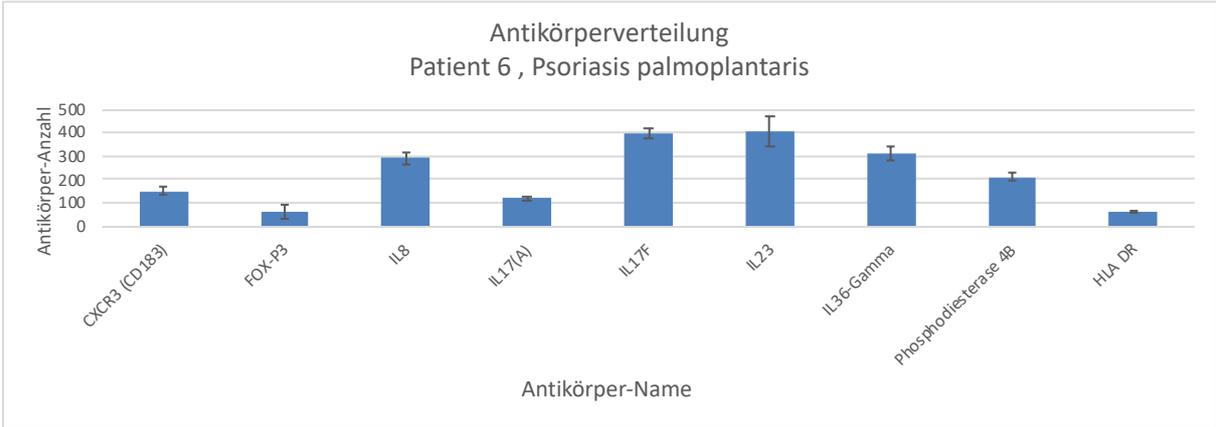
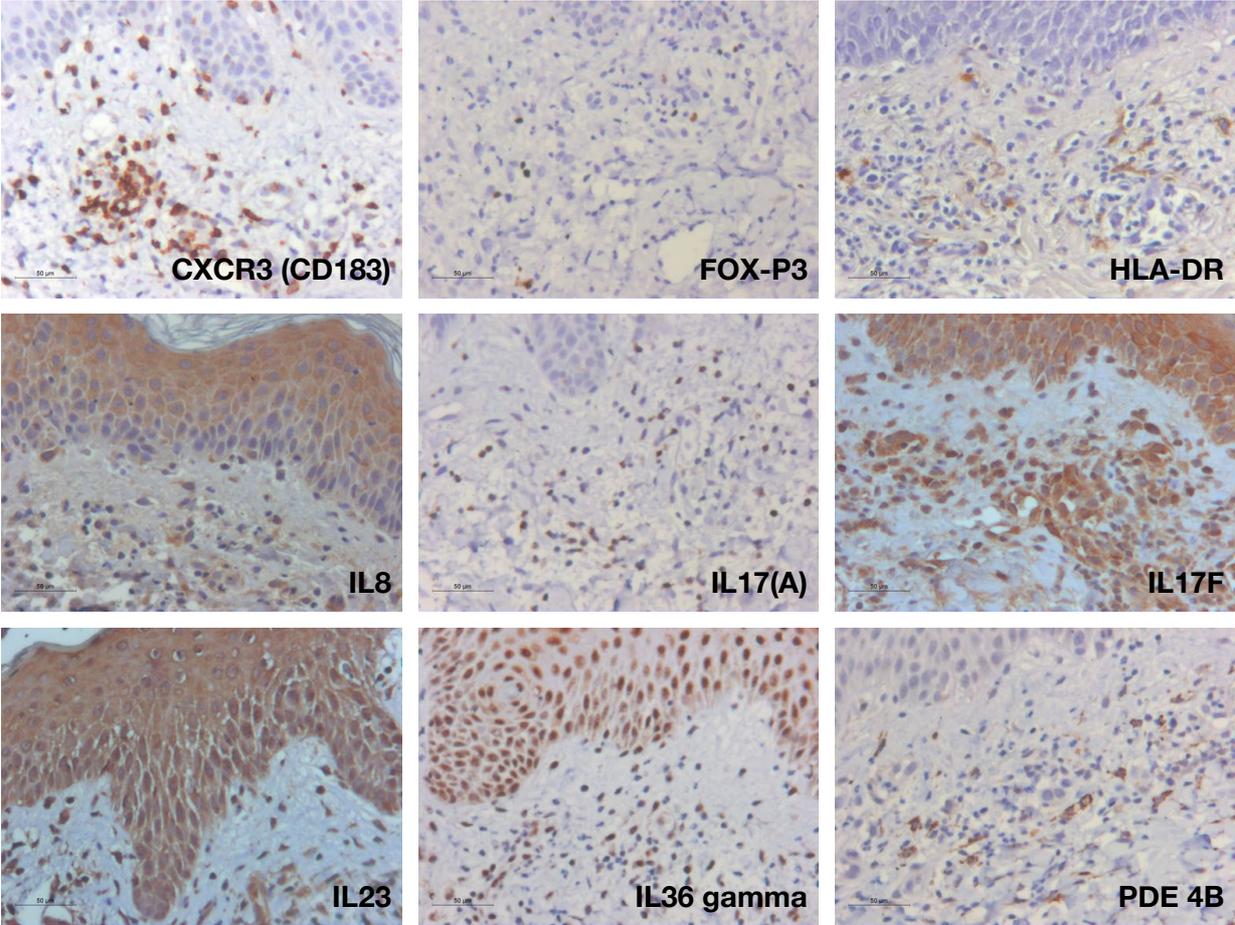


Abbildung 20: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 6 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 7 (weiblich, 61 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

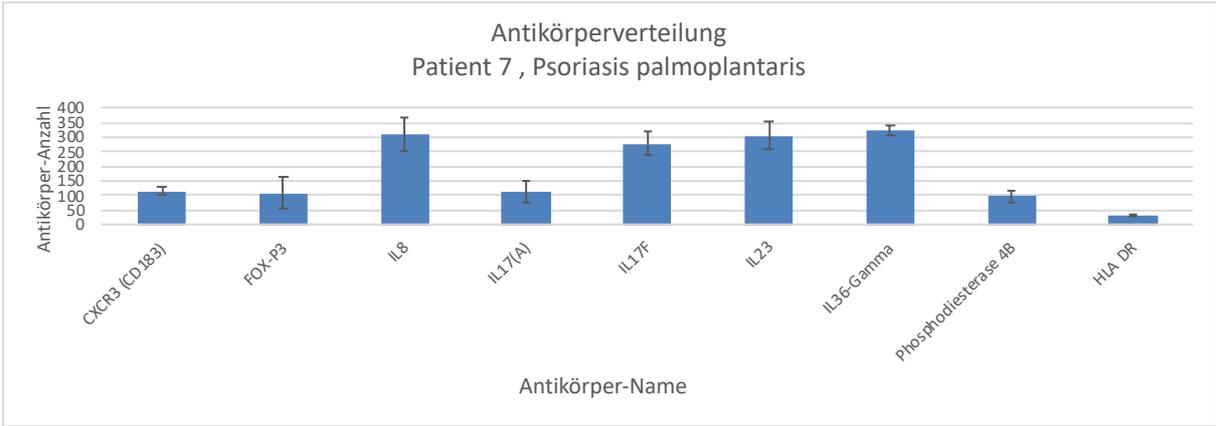
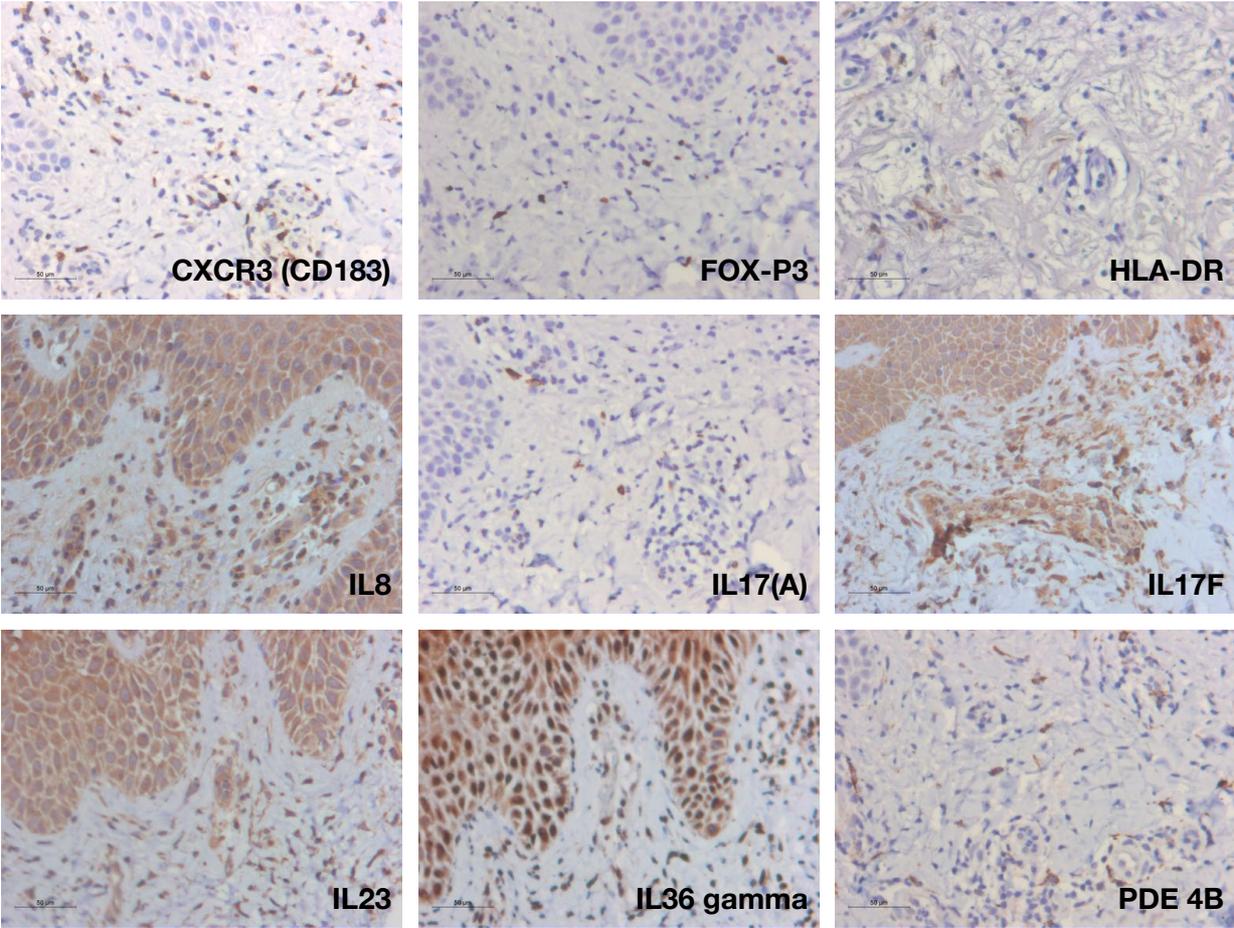


Abbildung 21: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 7 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 8 (weiblich, 54 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

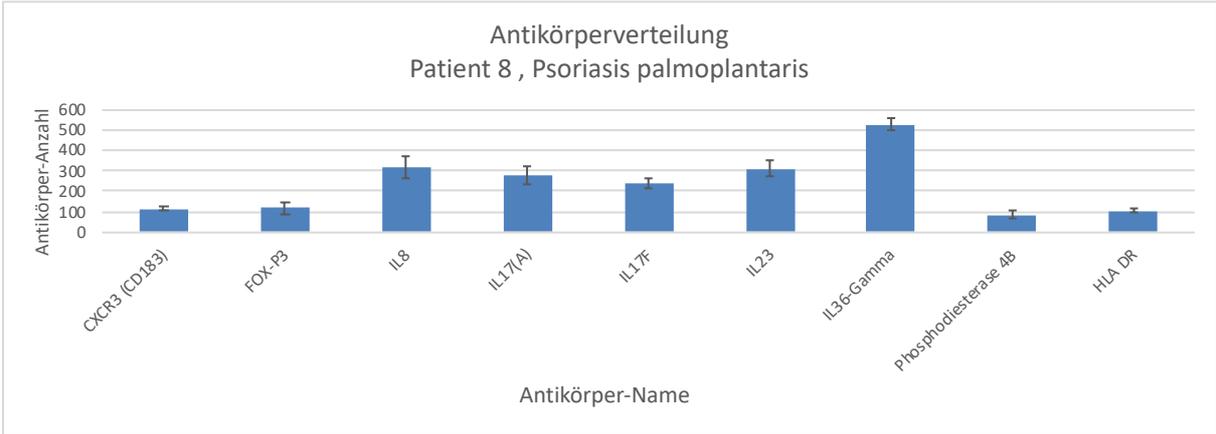
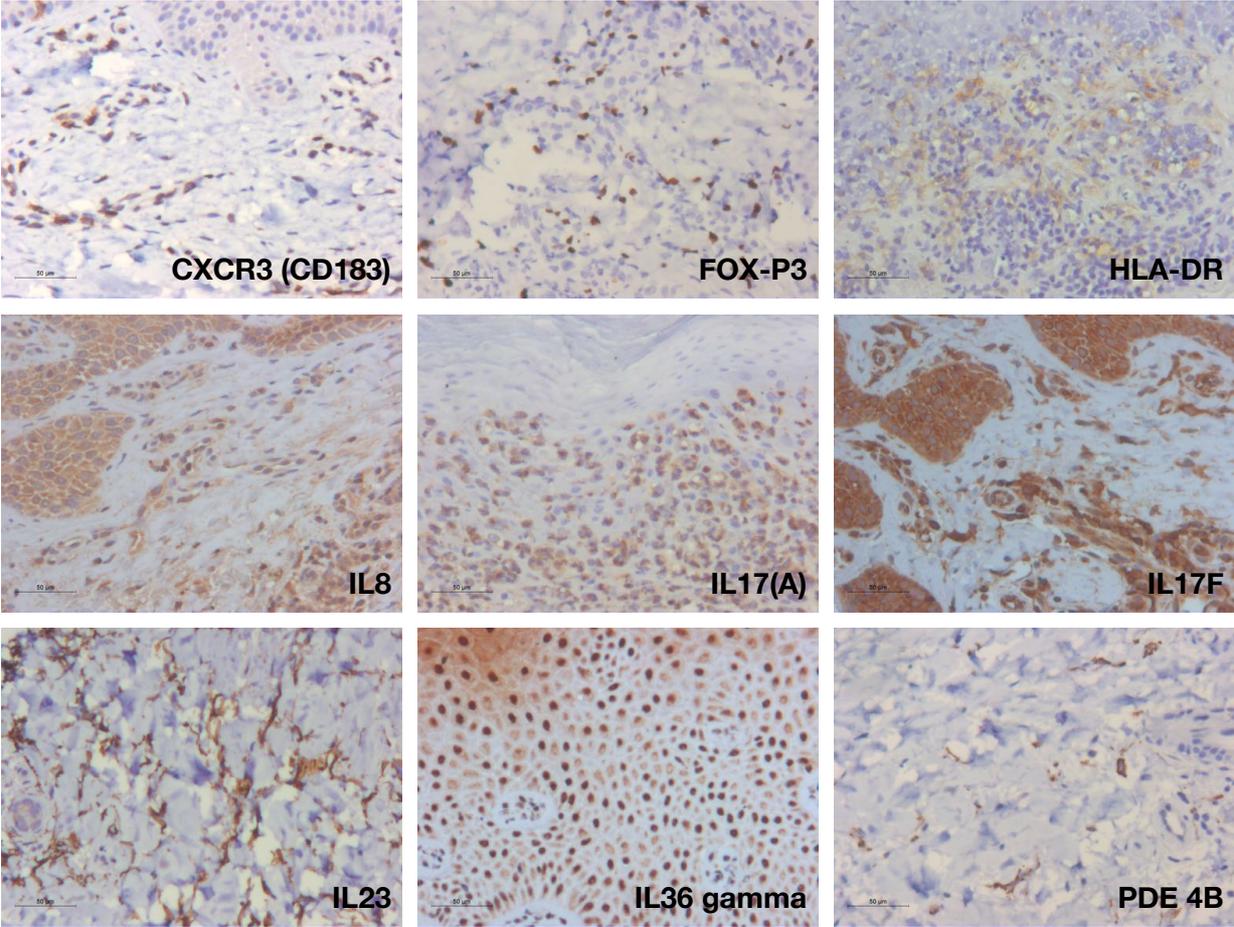


Abbildung 22: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 8 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 9 (weiblich, 35 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

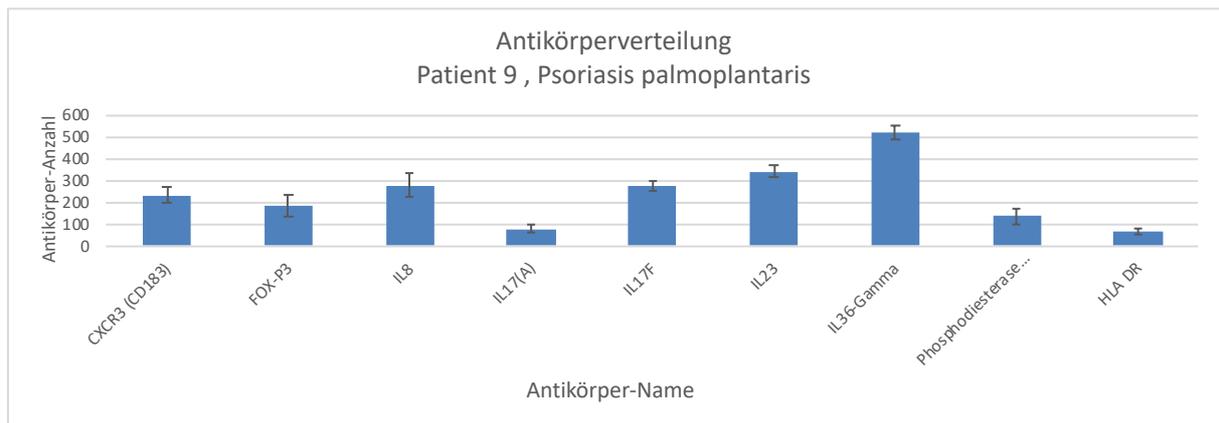
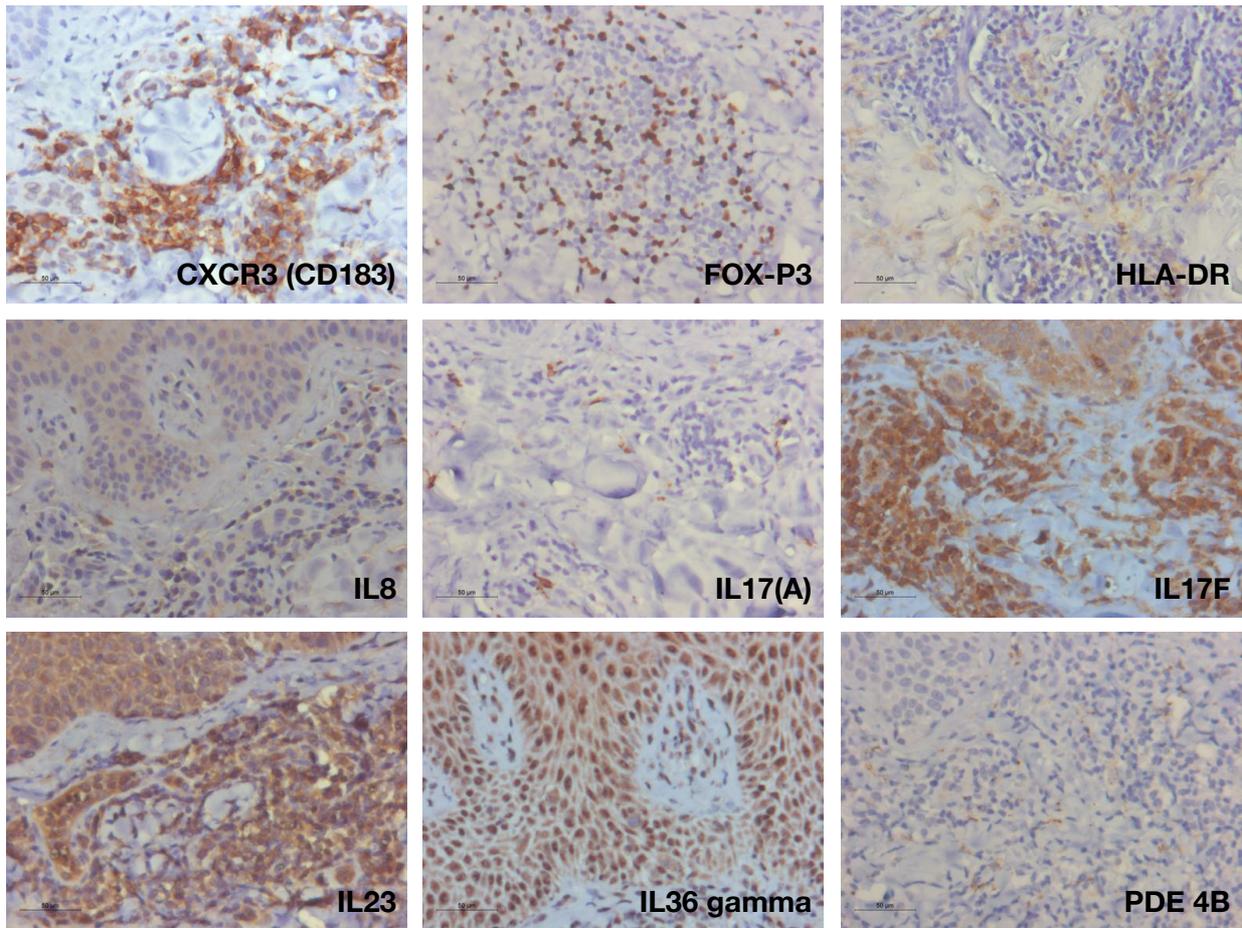


Abbildung 23: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 9 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 10 (weiblich, 48 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

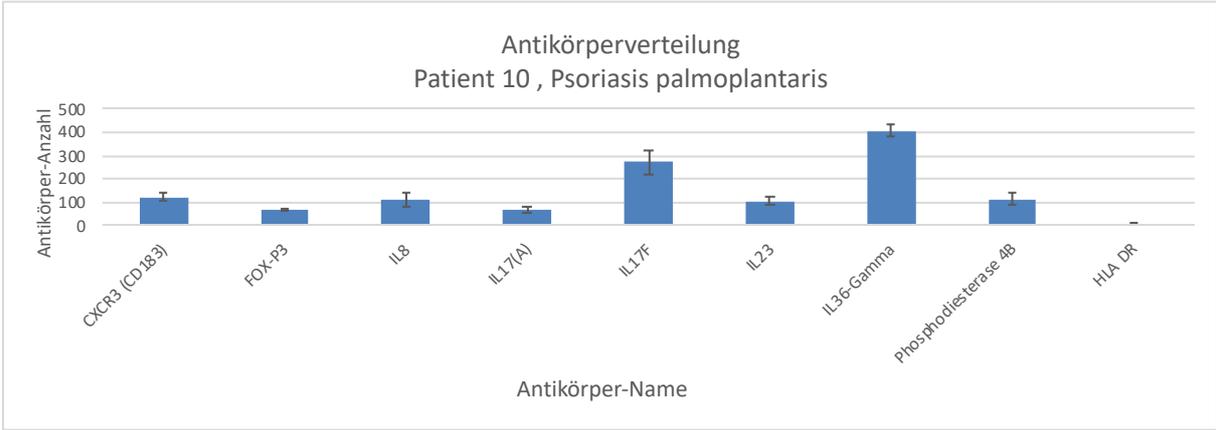
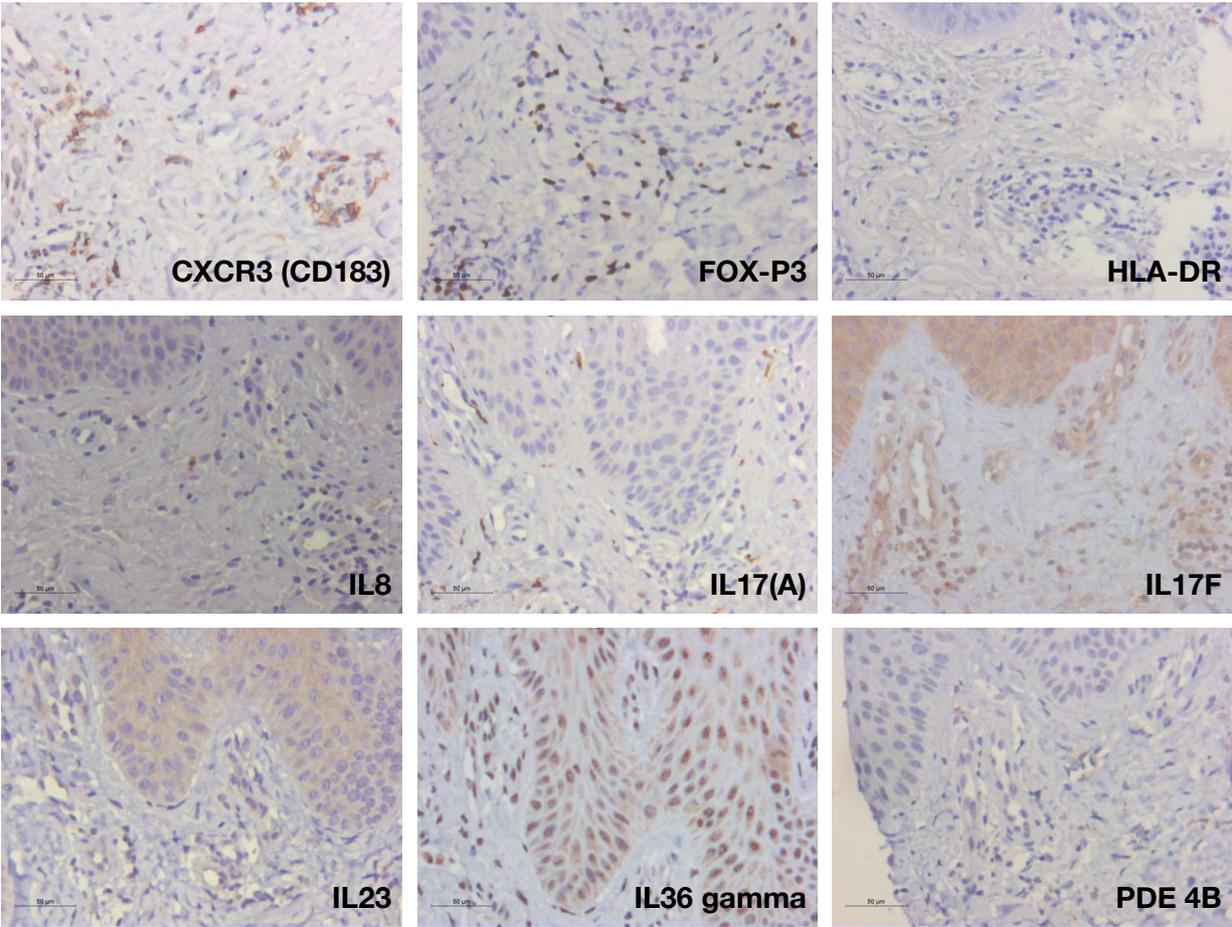


Abbildung 24: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 10 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 11 (männlich, 36 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

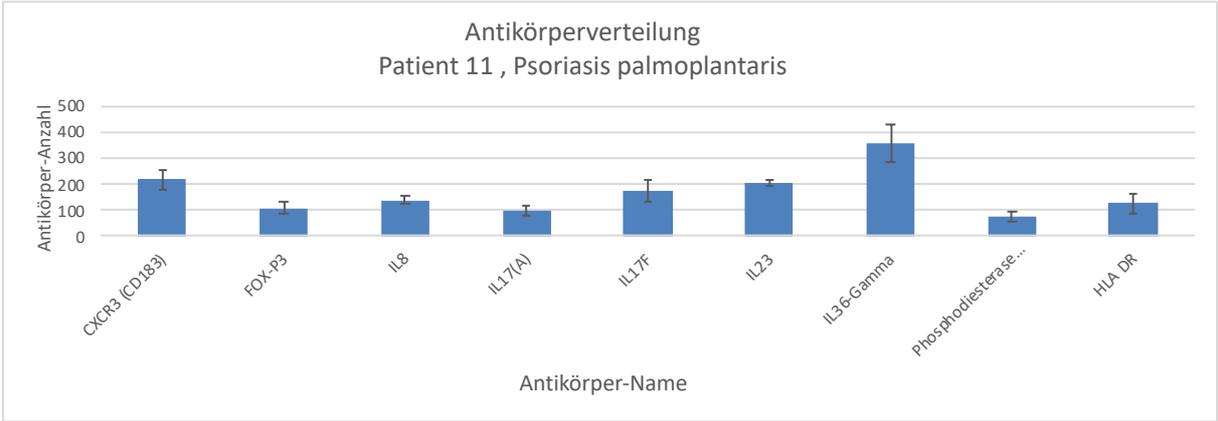
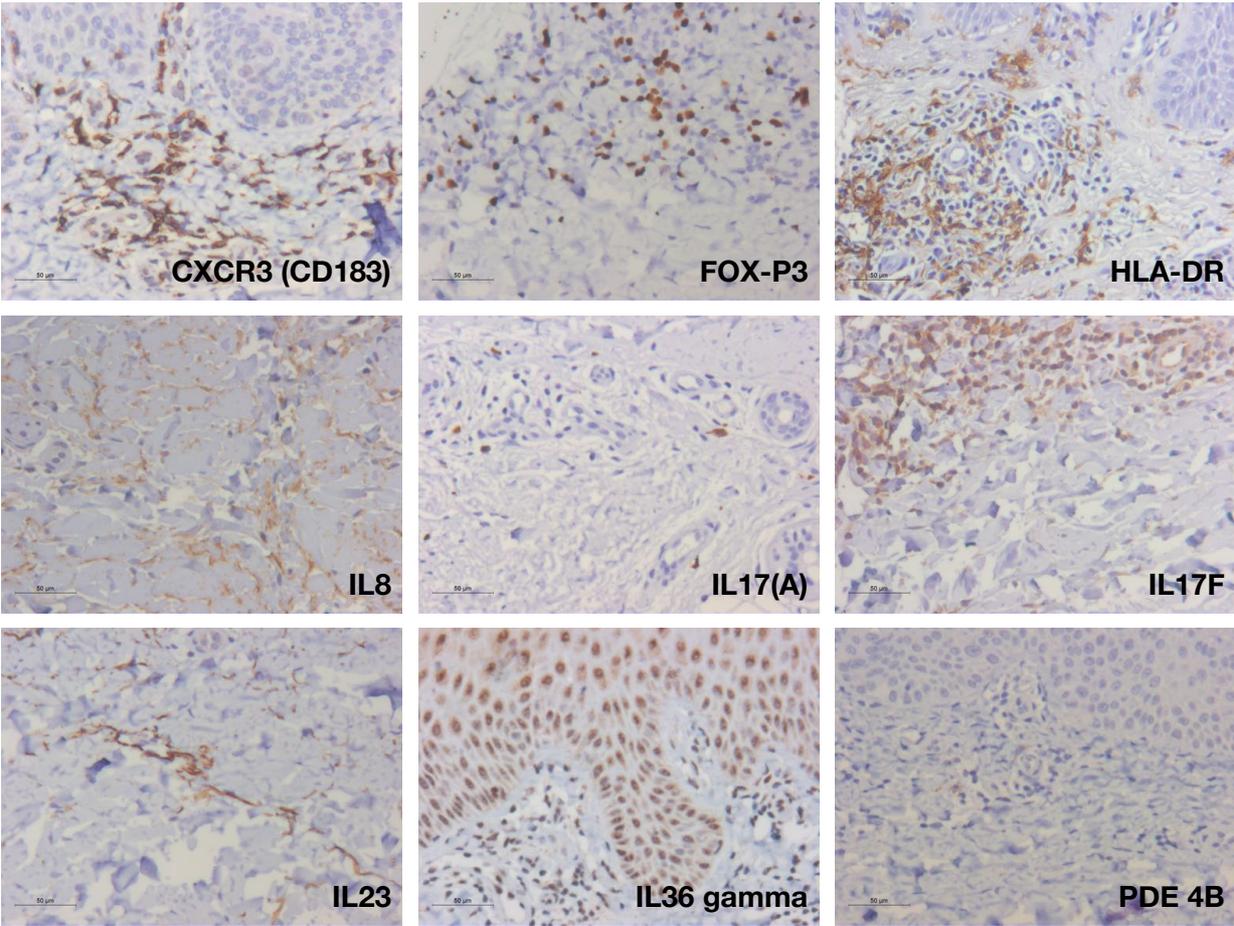


Abbildung 25: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 11 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 12 (männlich, 62 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

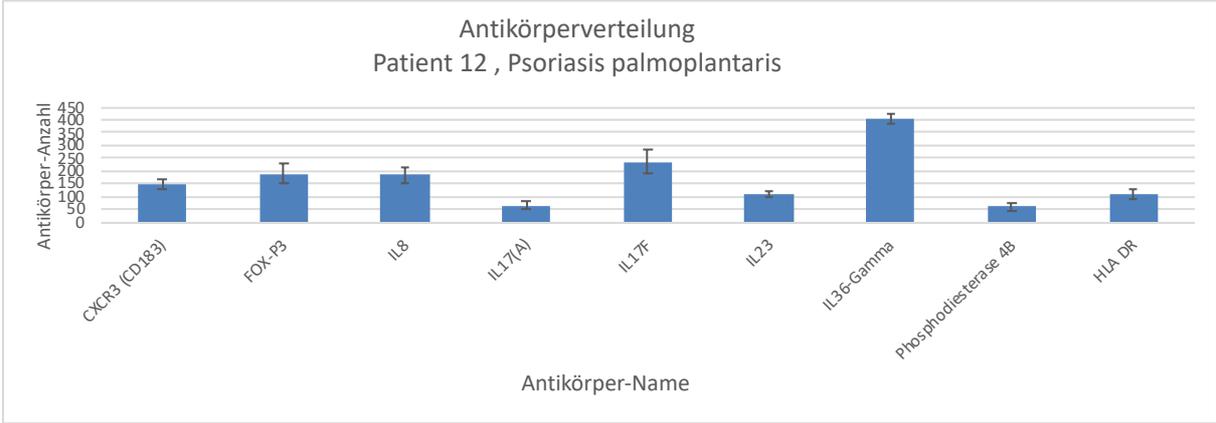
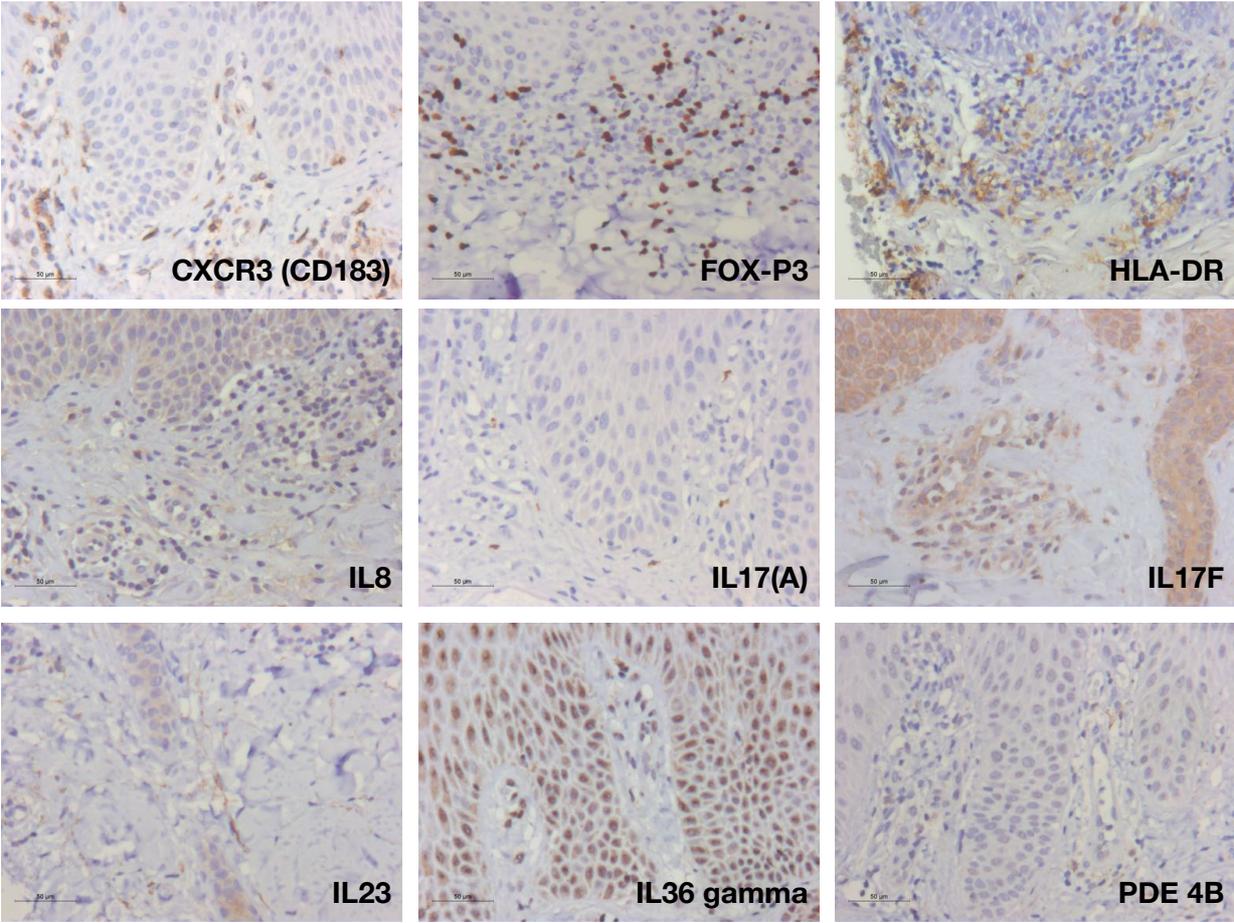


Abbildung 26: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 12 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 13 (männlich, 41 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

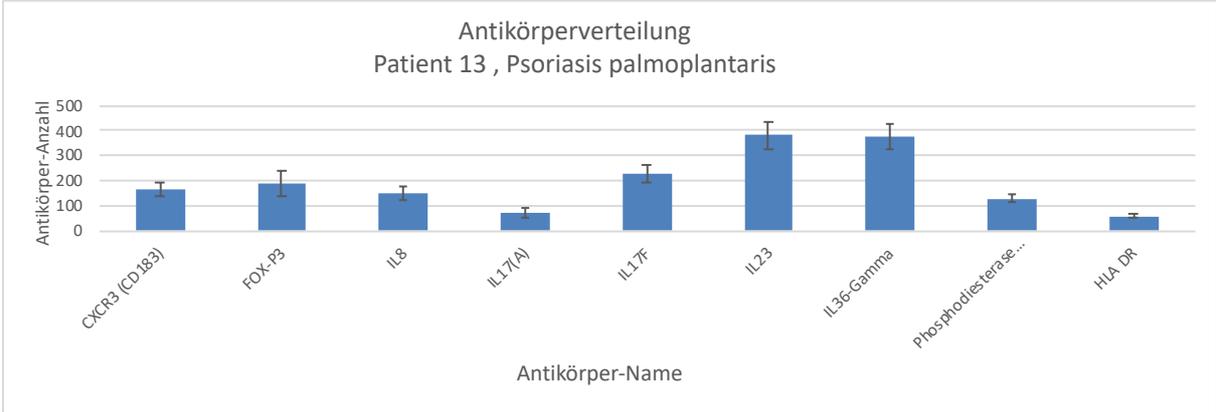
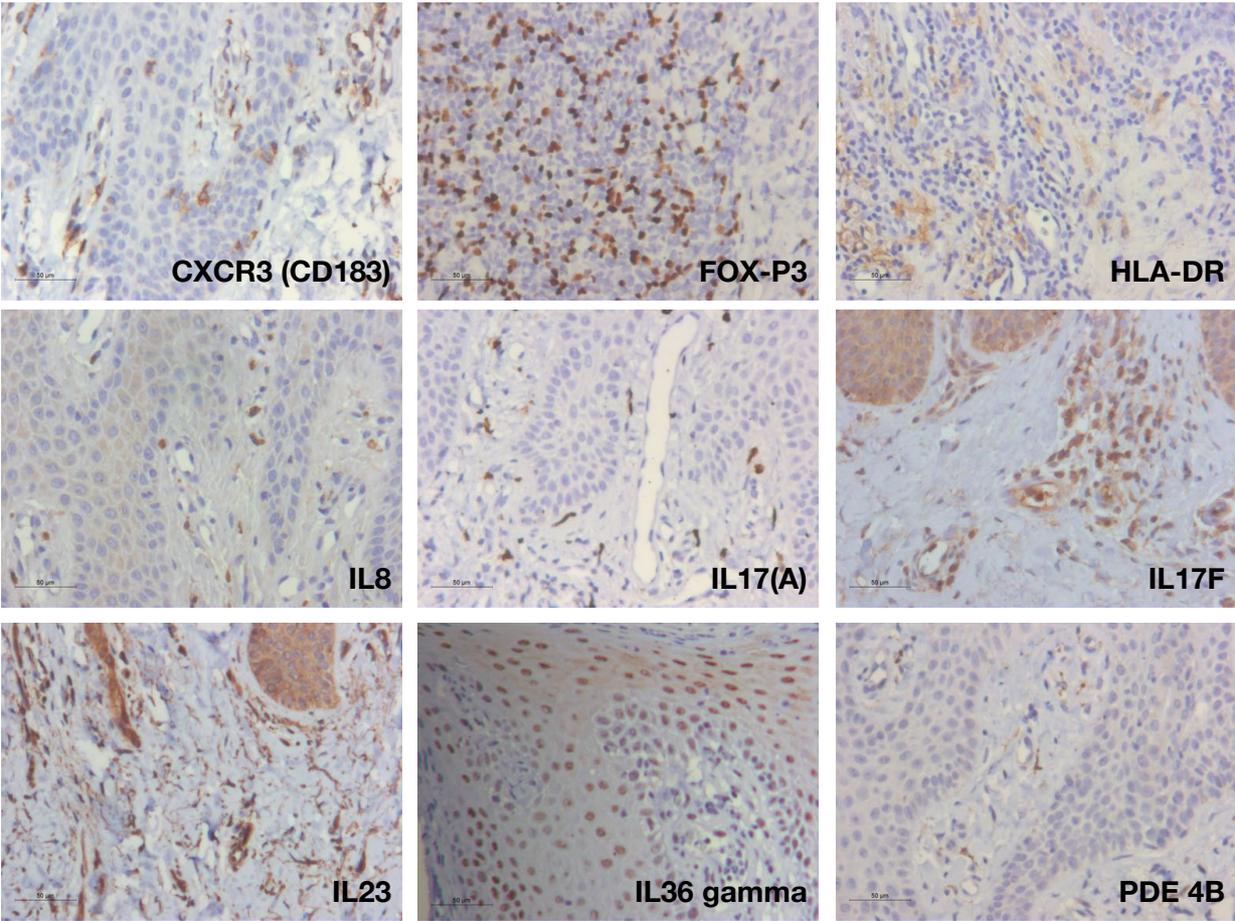


Abbildung 27: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 13 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 14 (weiblich, 72 Jahre, Psoriasis palmplantaris):

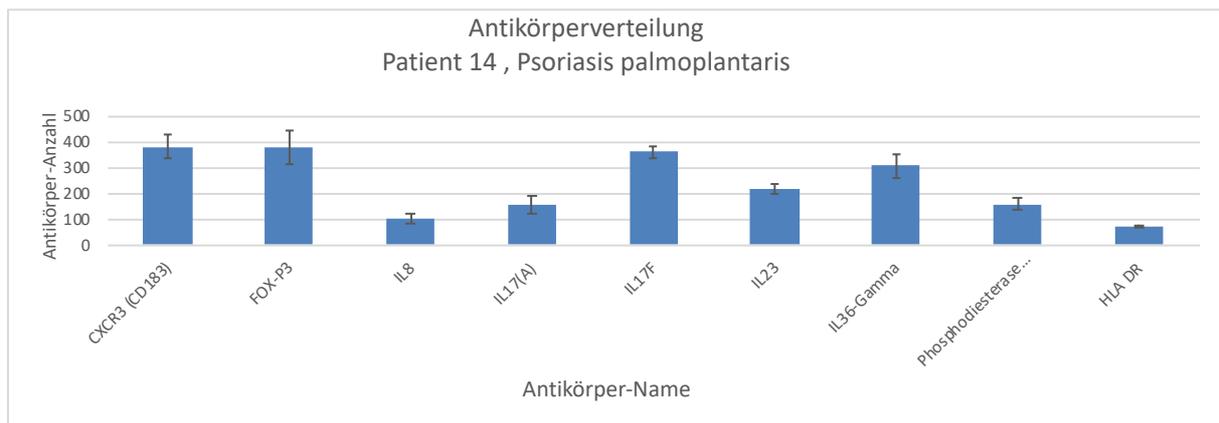
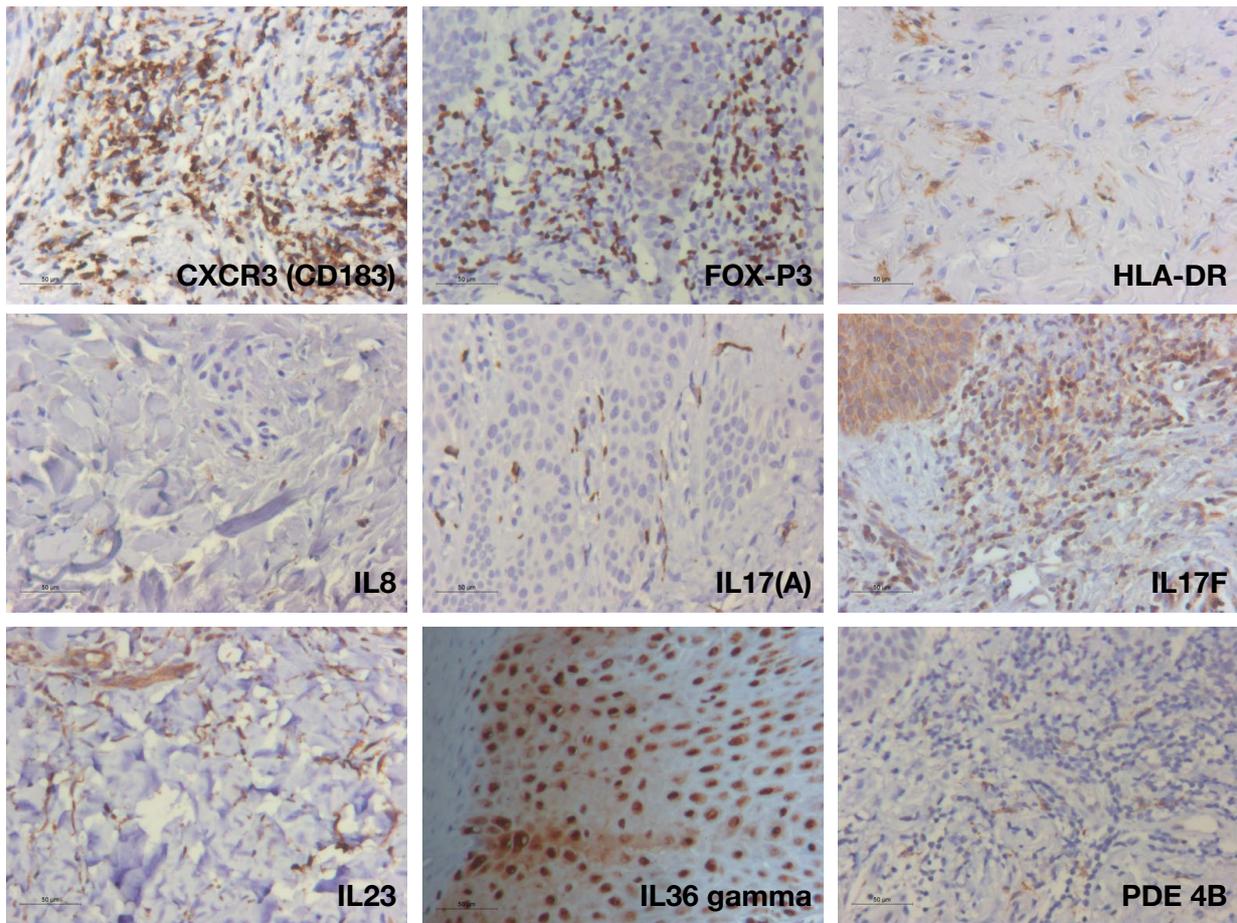


Abbildung 28: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 14 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 15 (männlich, 64 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

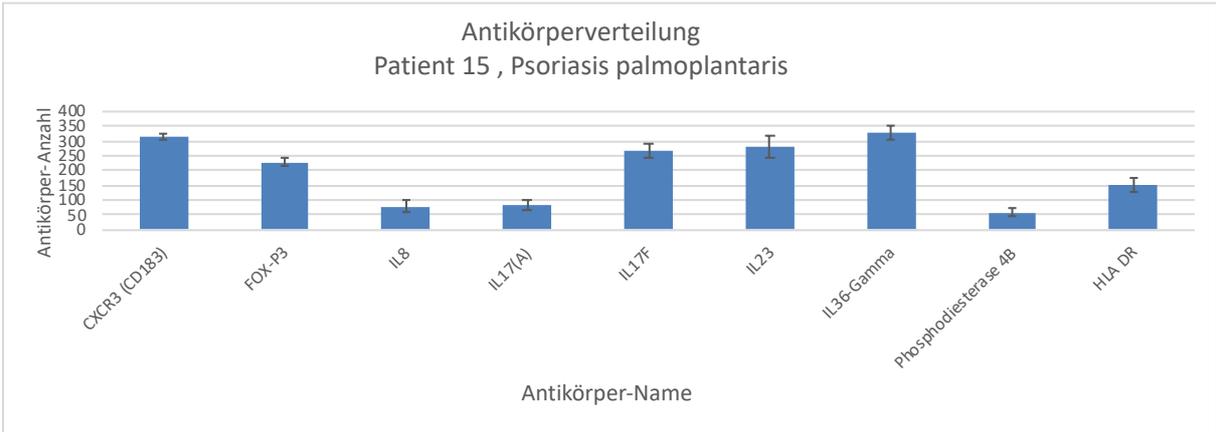
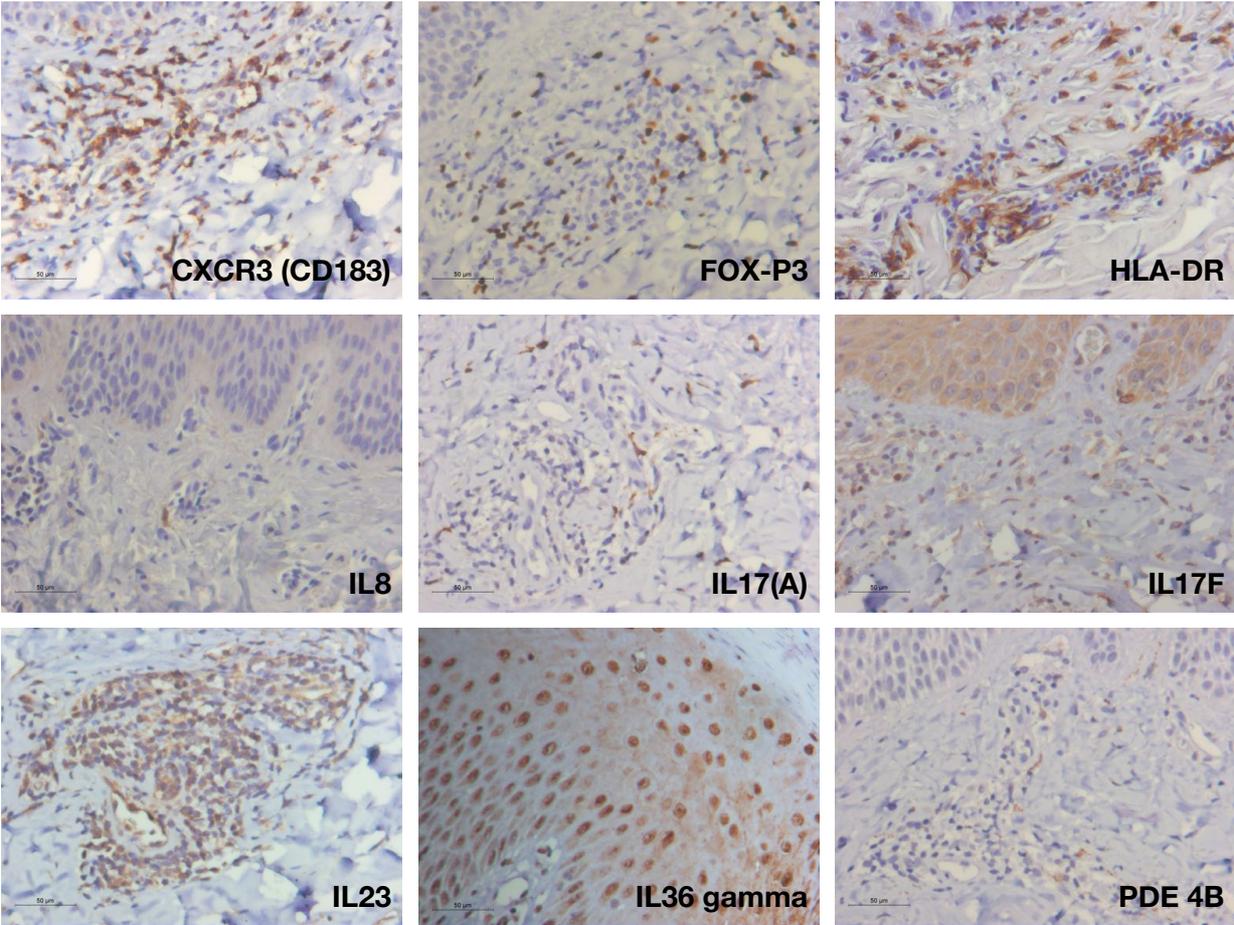


Abbildung 29: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 15 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 16 (männlich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

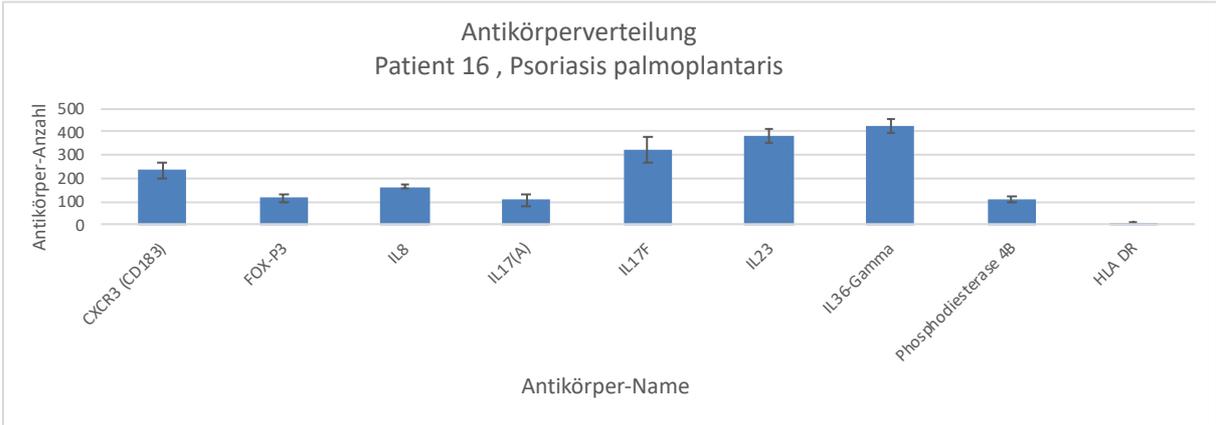
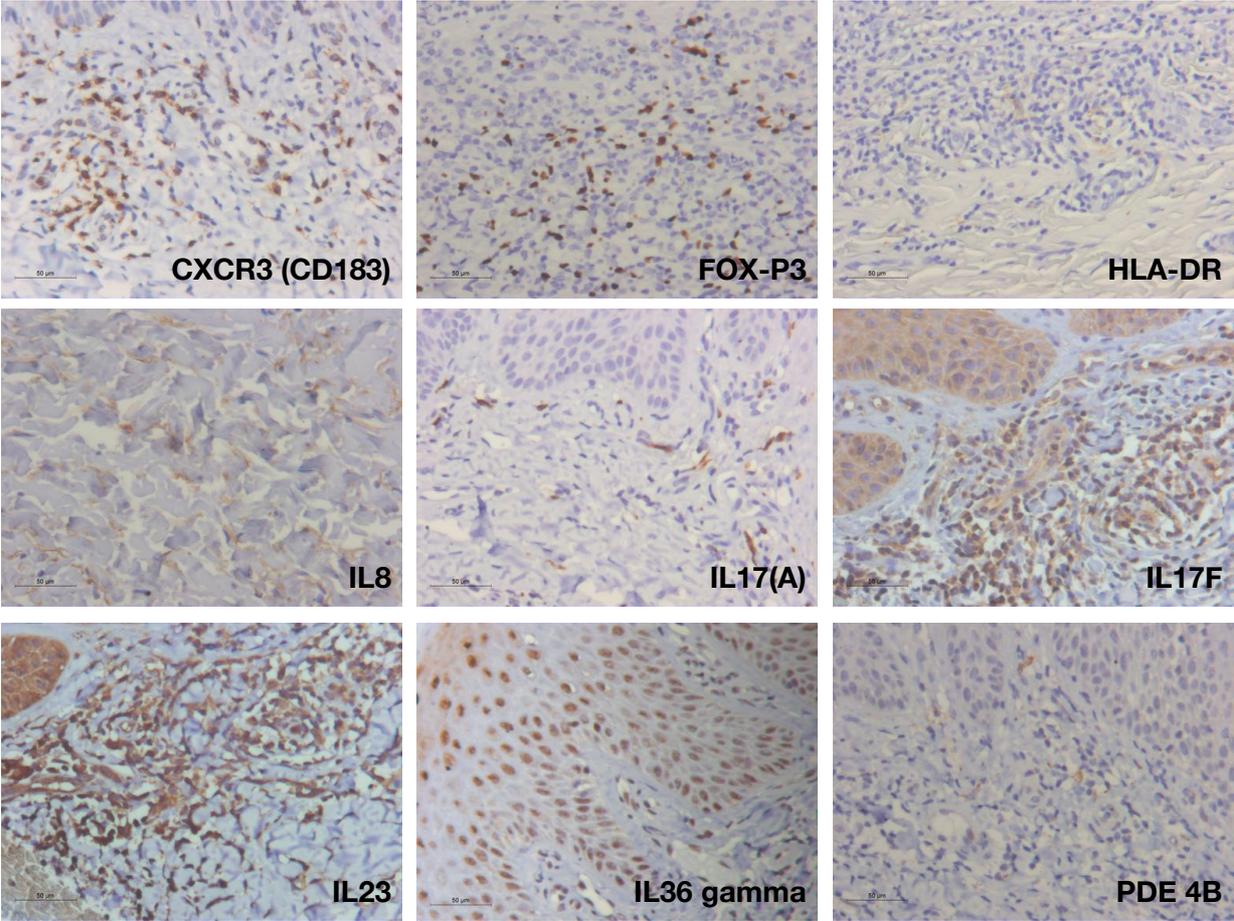


Abbildung 30: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 16 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 17 (männlich, 53 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

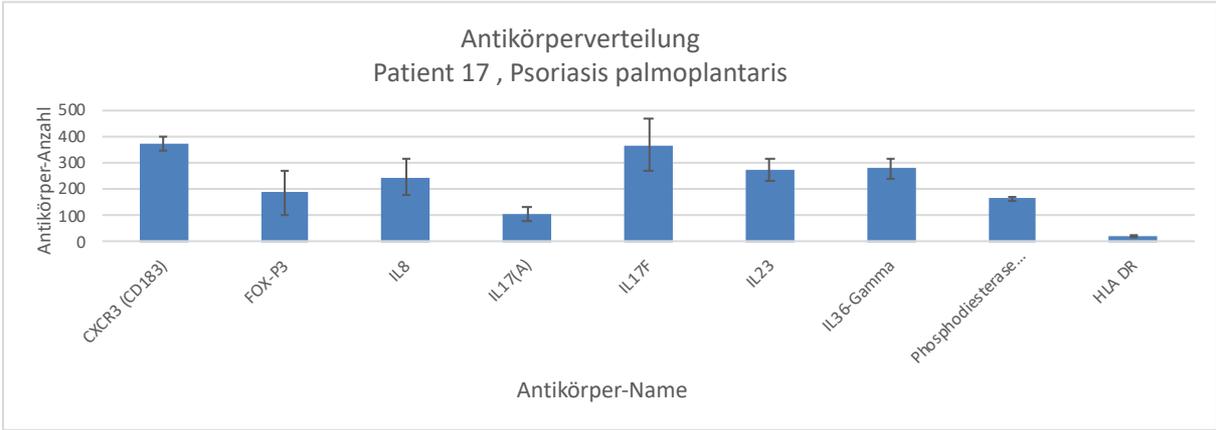
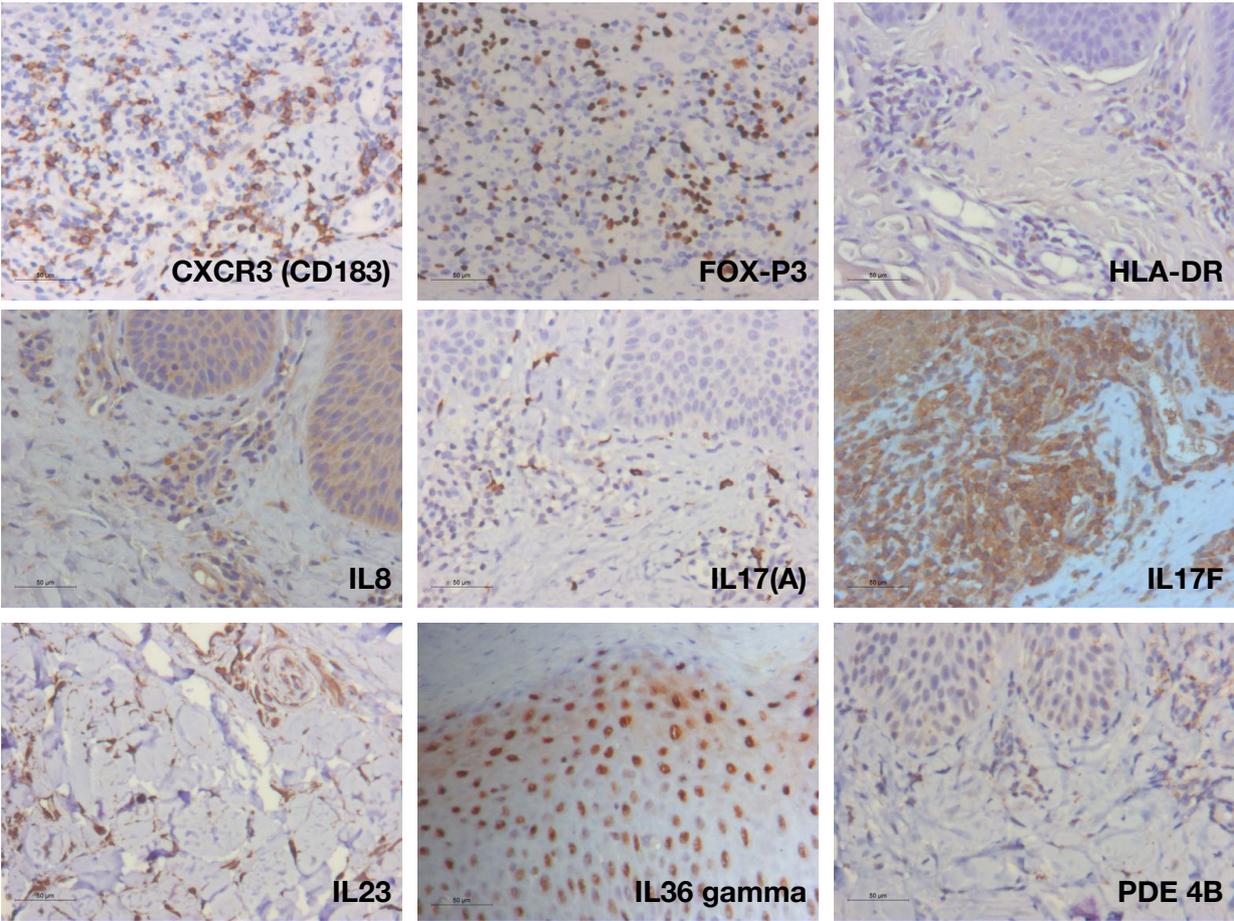


Abbildung 31: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 17 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 18 (weiblich, 50 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

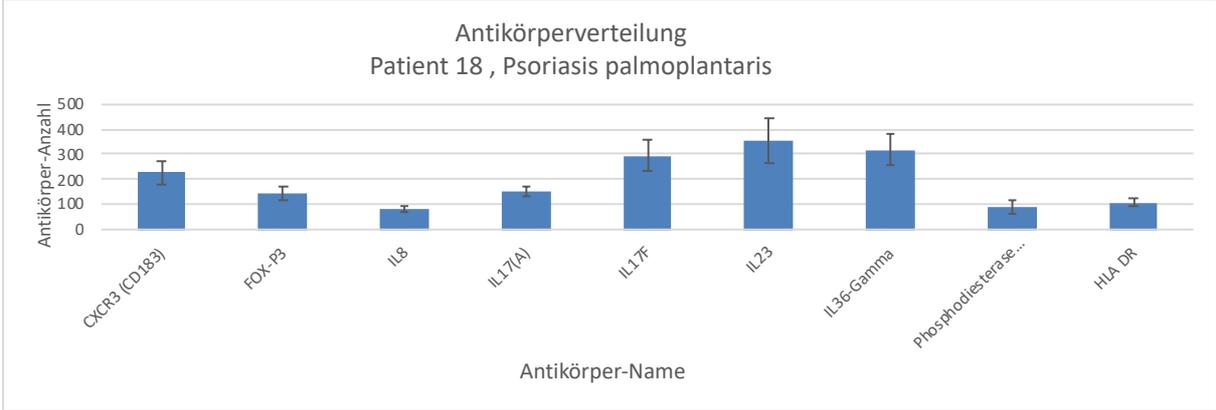
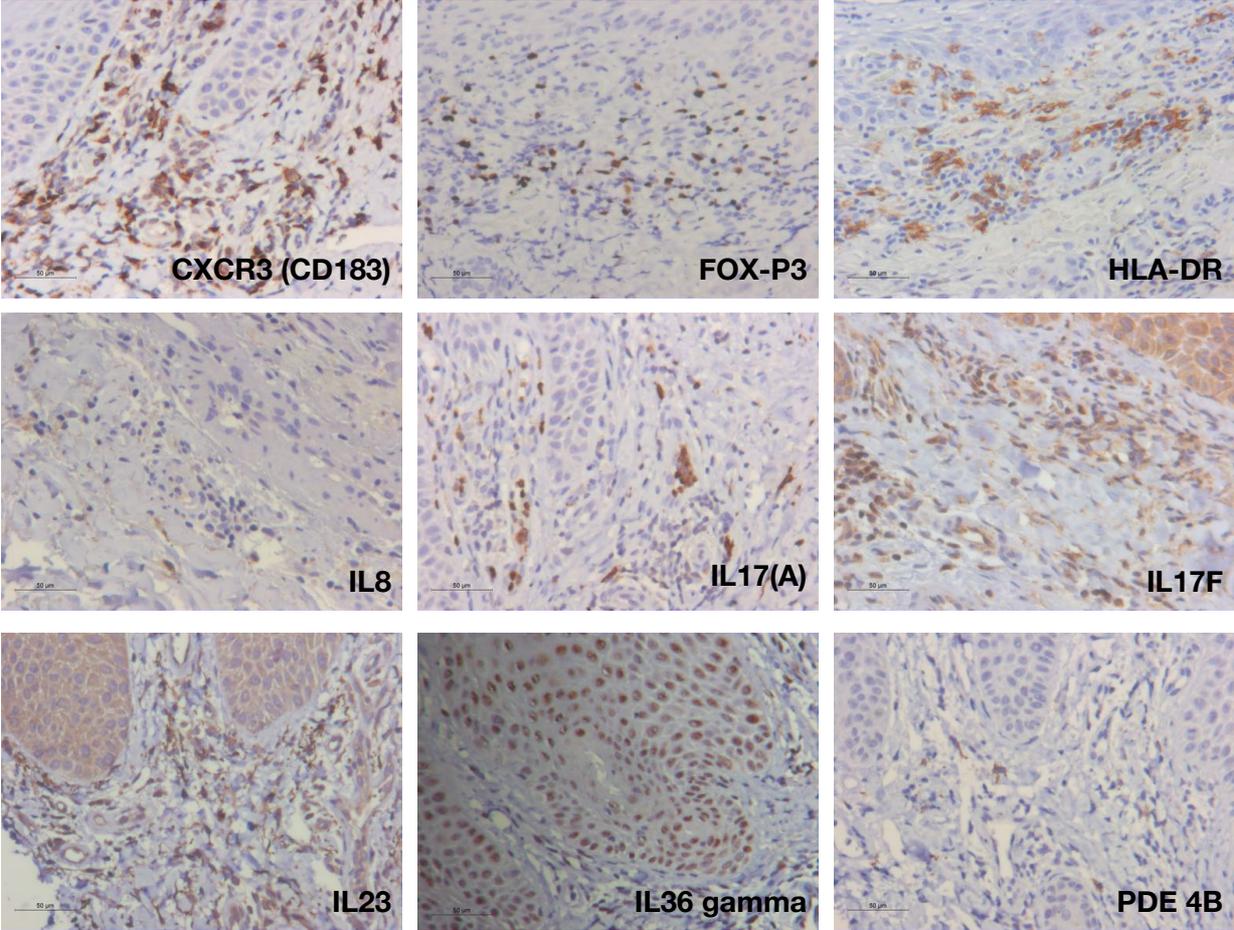


Abbildung 32: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 18 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 19 (männlich, 46 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

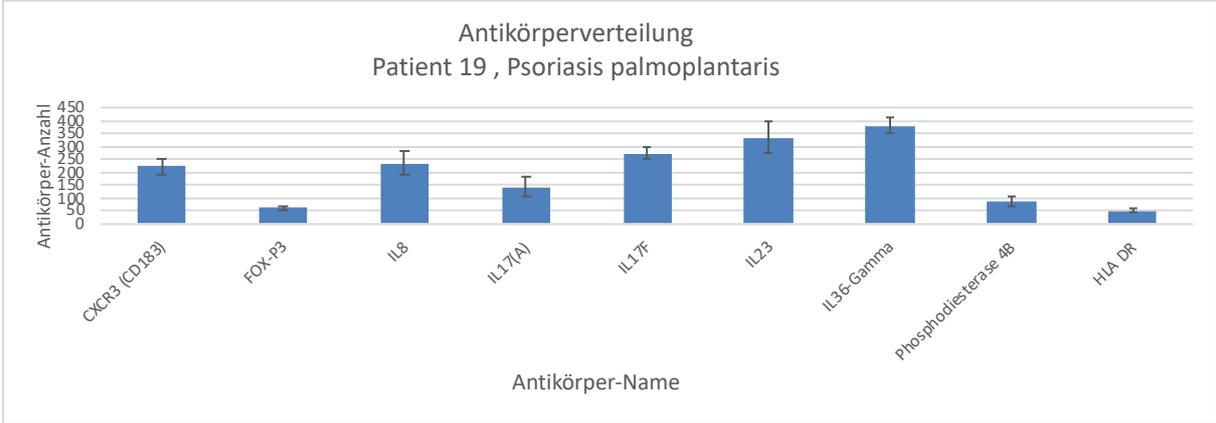
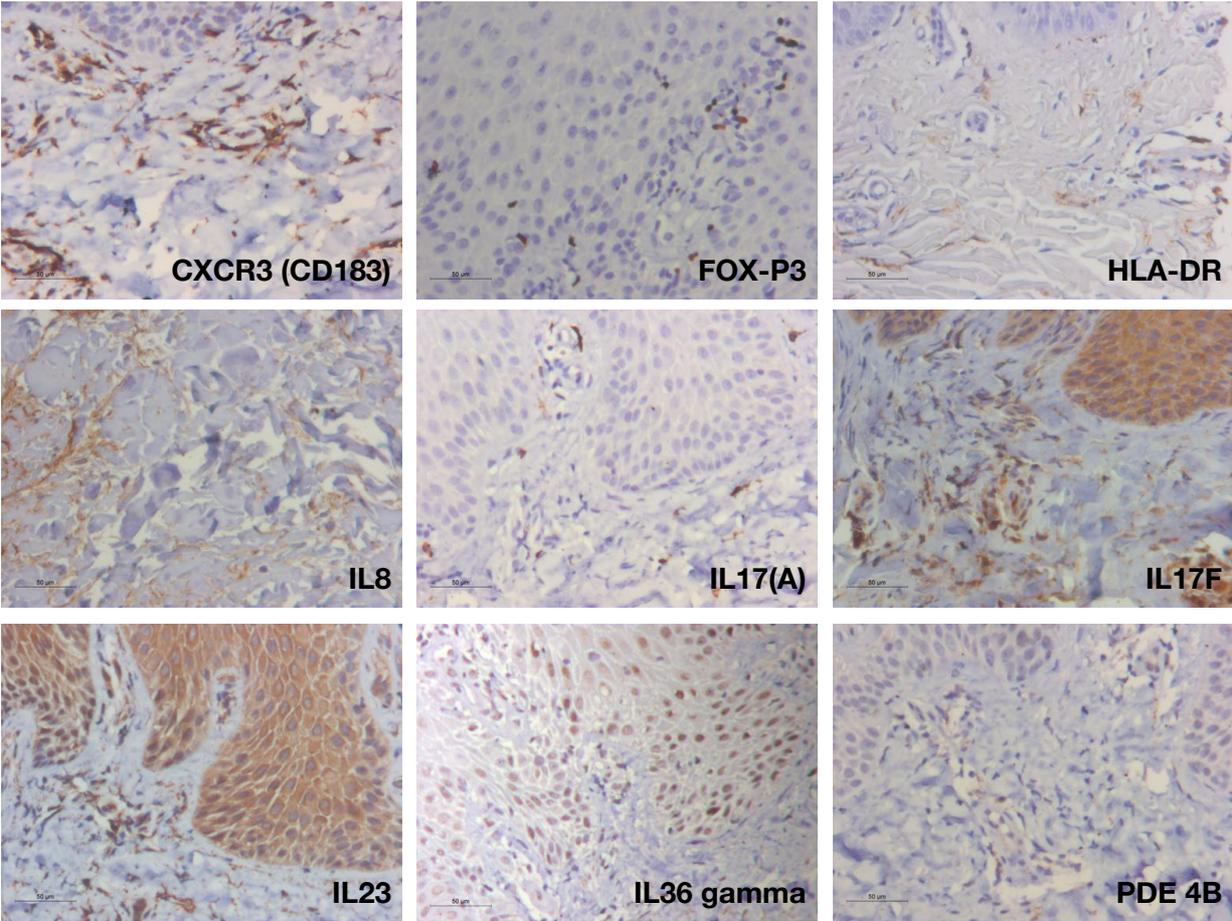


Abbildung 33: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 19 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 20 (weiblich, 43 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

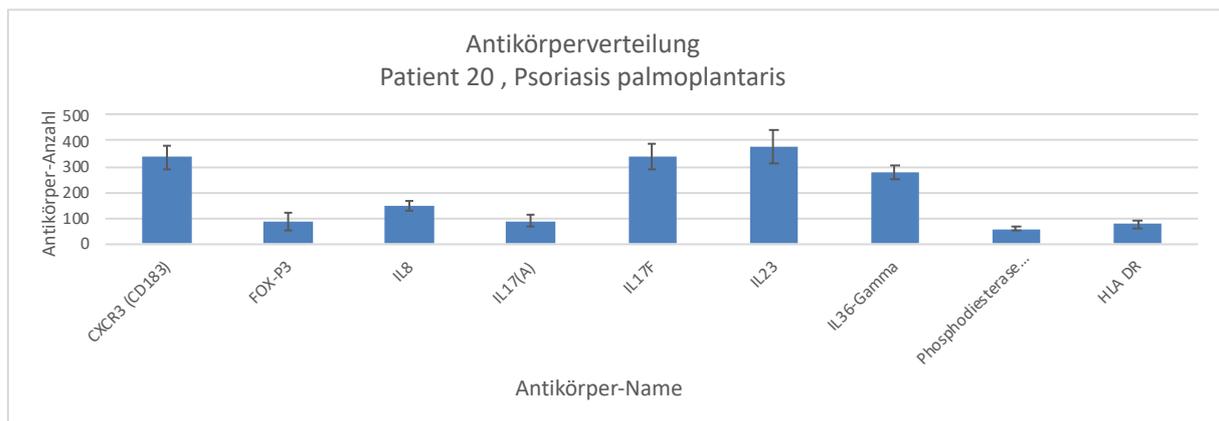
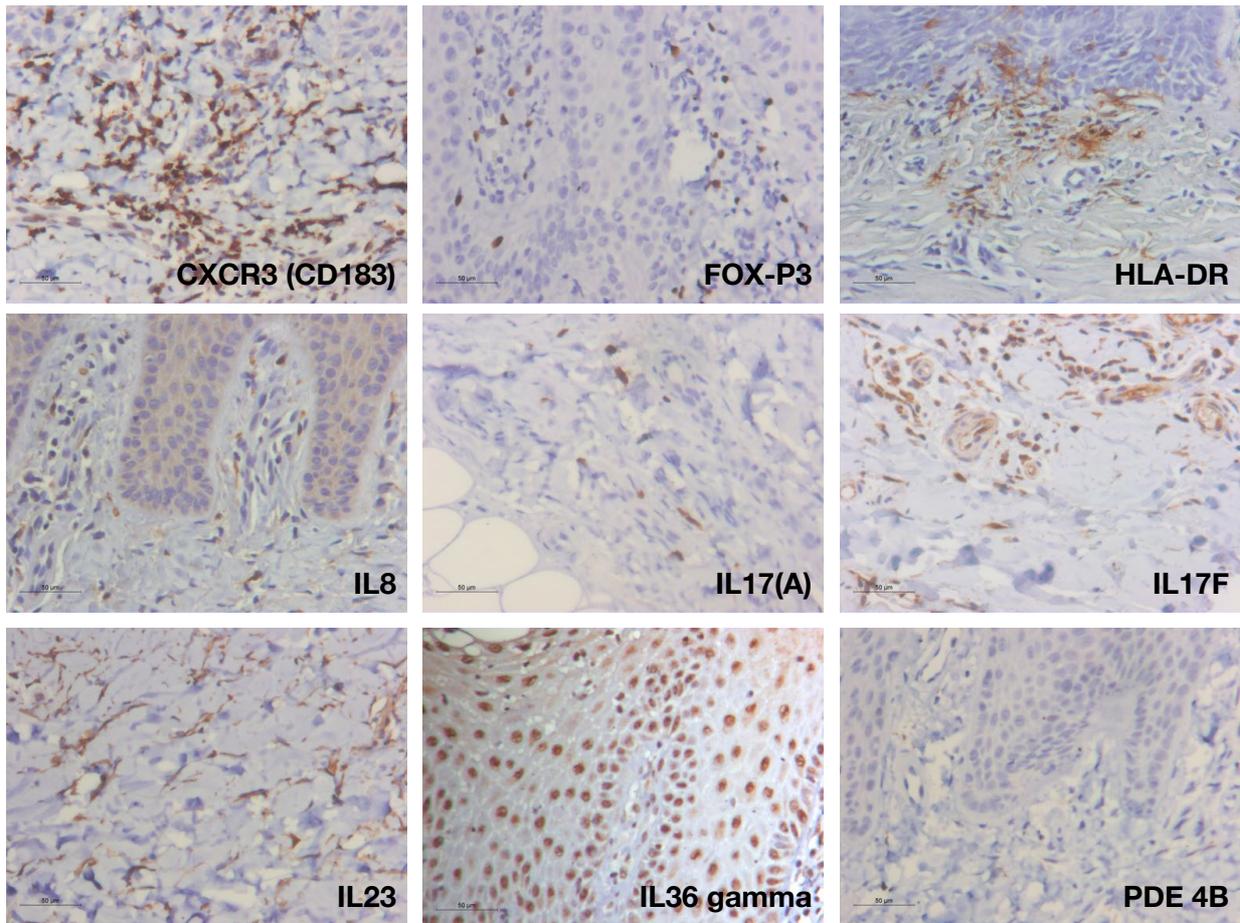


Abbildung 34: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 20 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 21 (männlich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

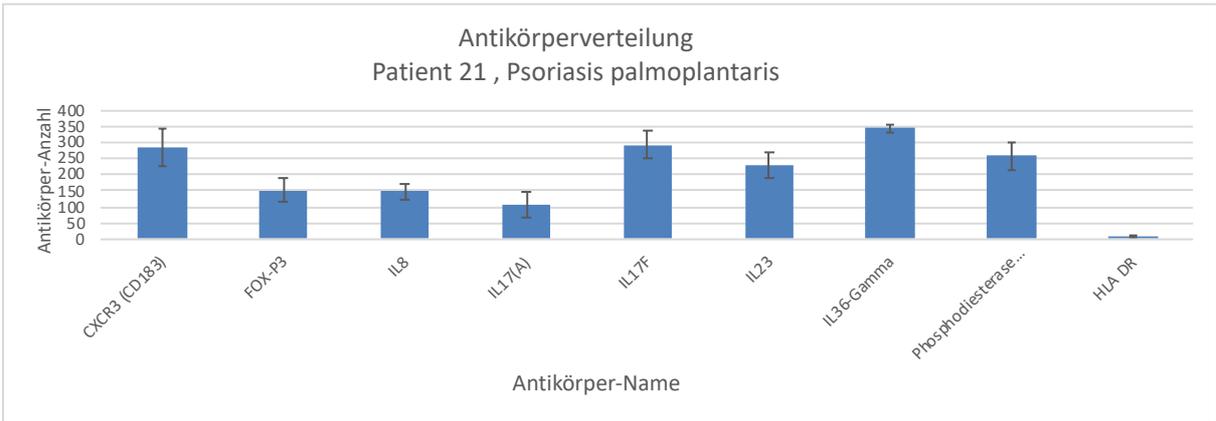
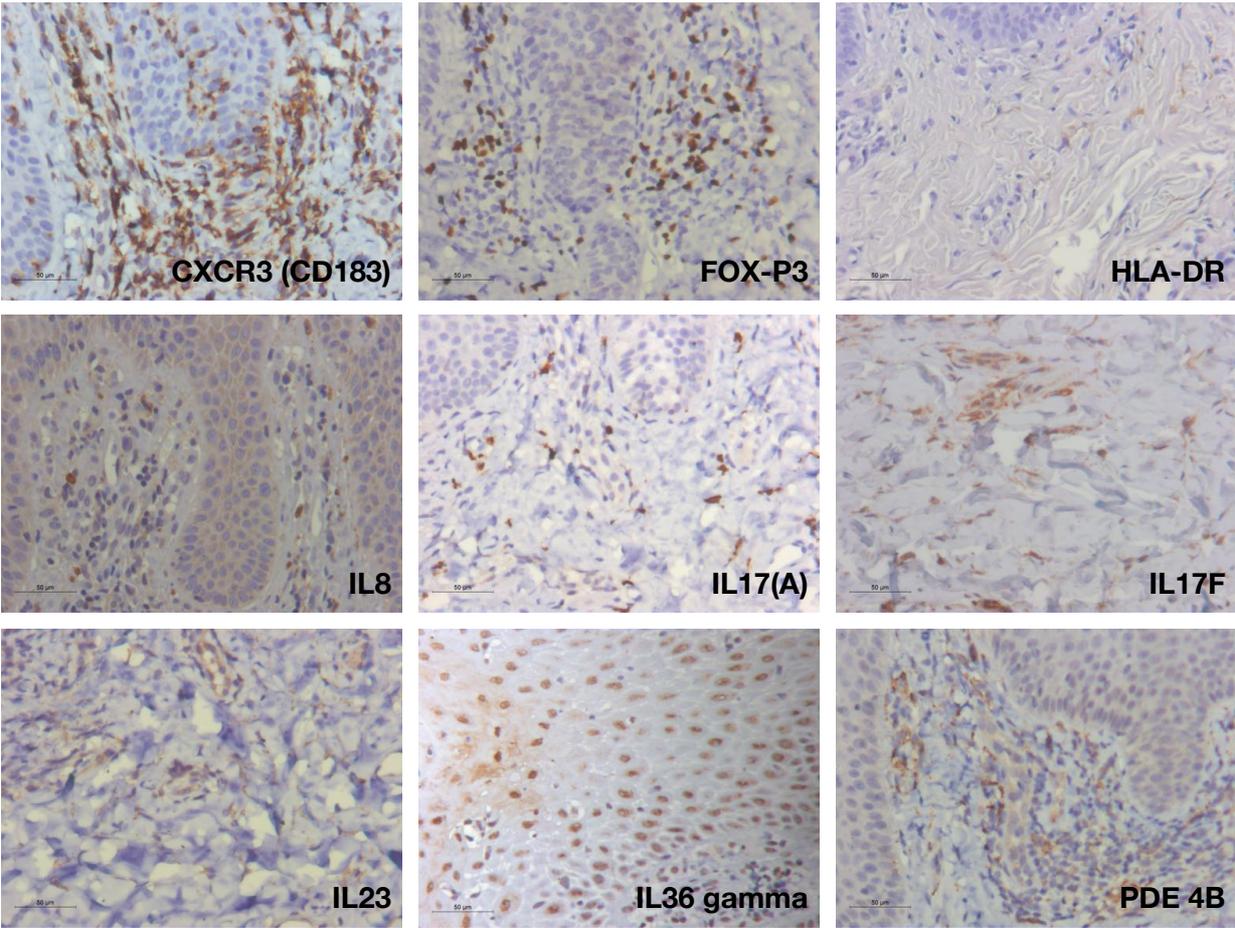


Abbildung 35: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 21 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 22 (weiblich, 47 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

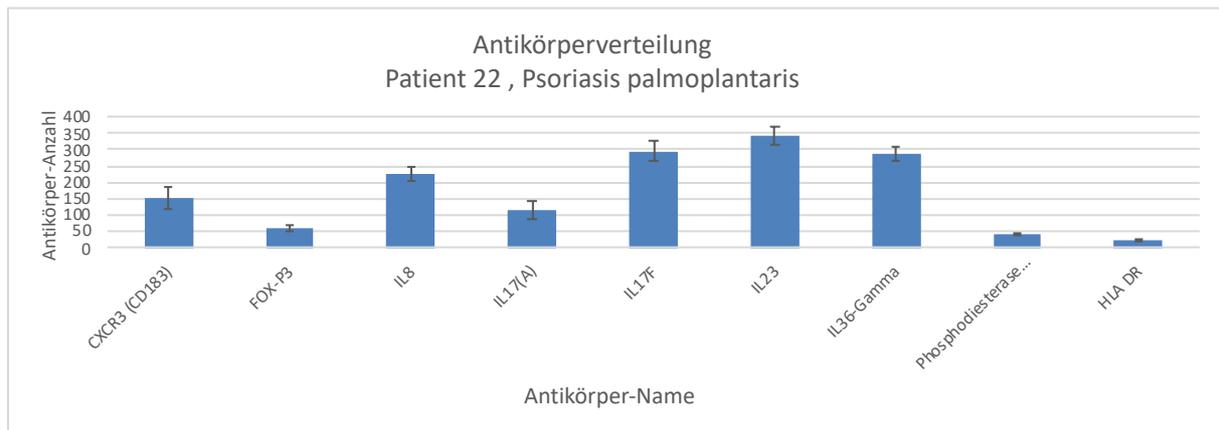
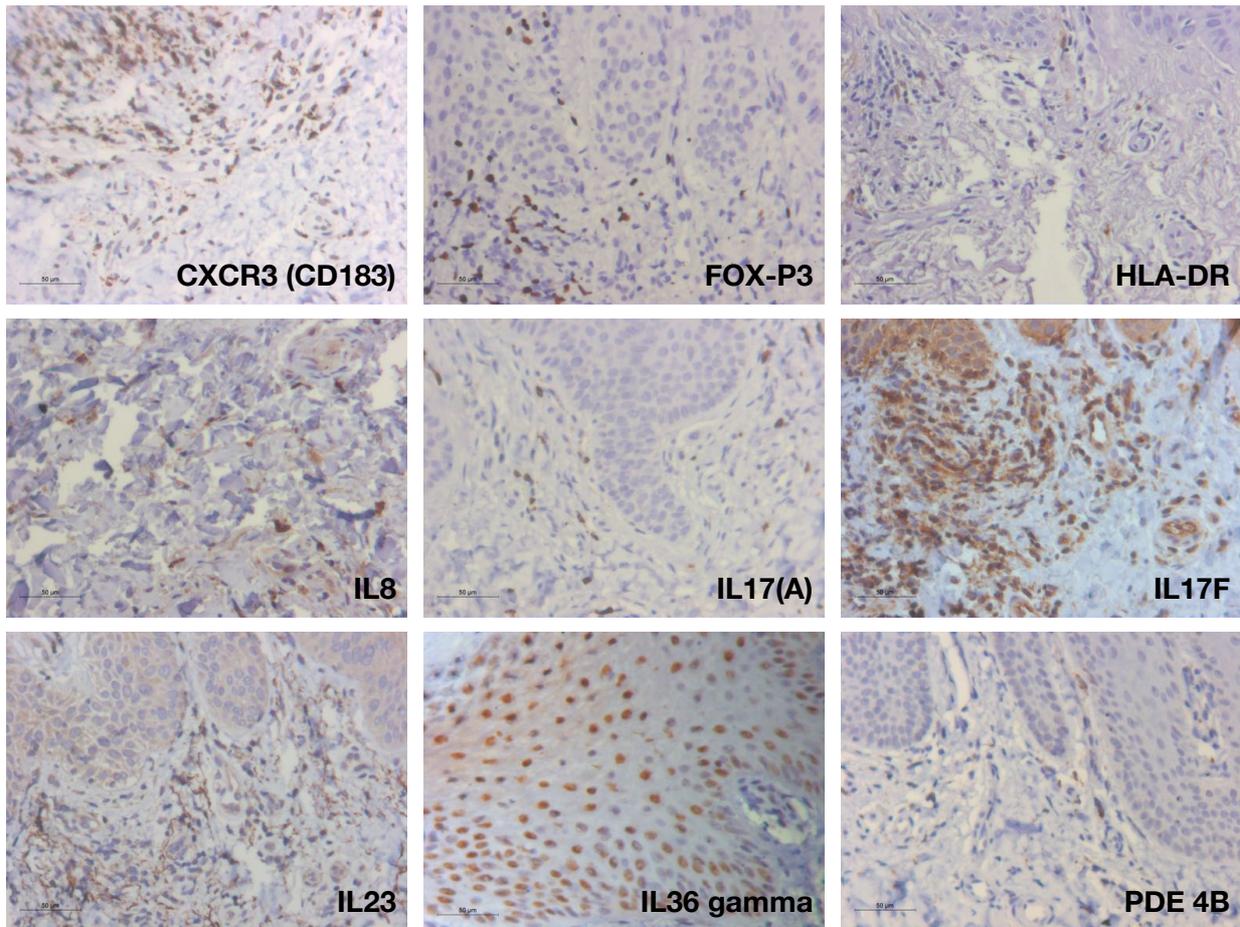


Abbildung 36: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 22 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 23 (weiblich , 31 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

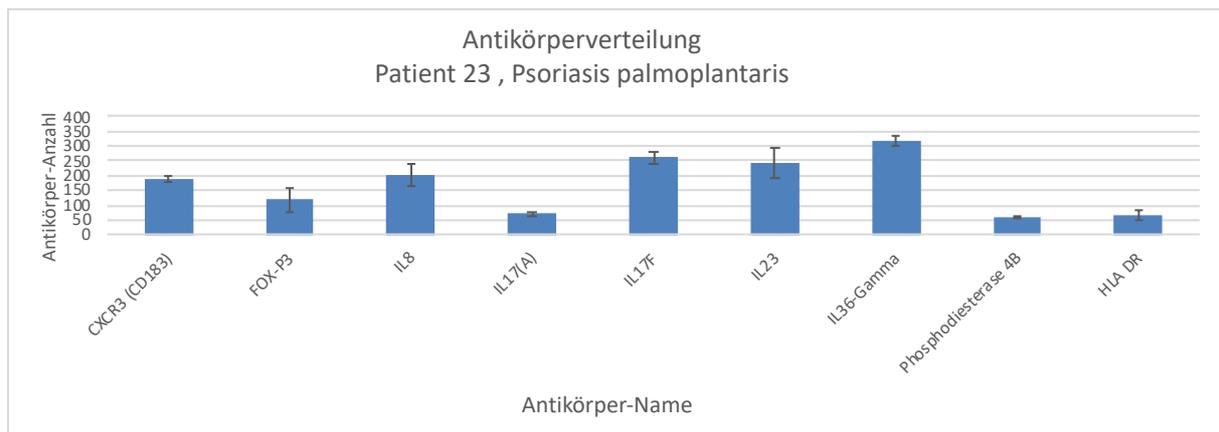
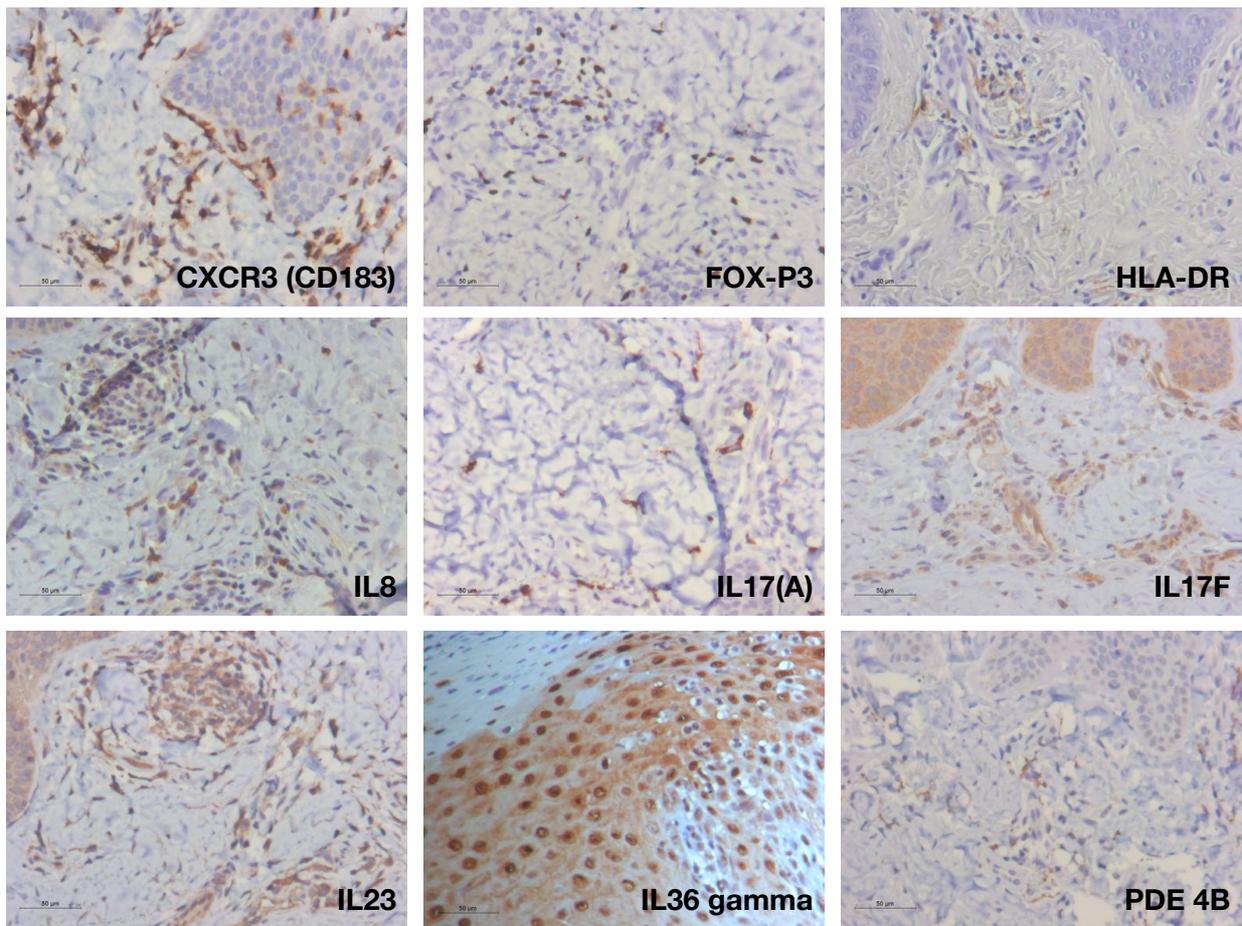


Abbildung 37: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 23 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 24 (weiblich, 33 Jahre, Psoriasis palmoplantaris):

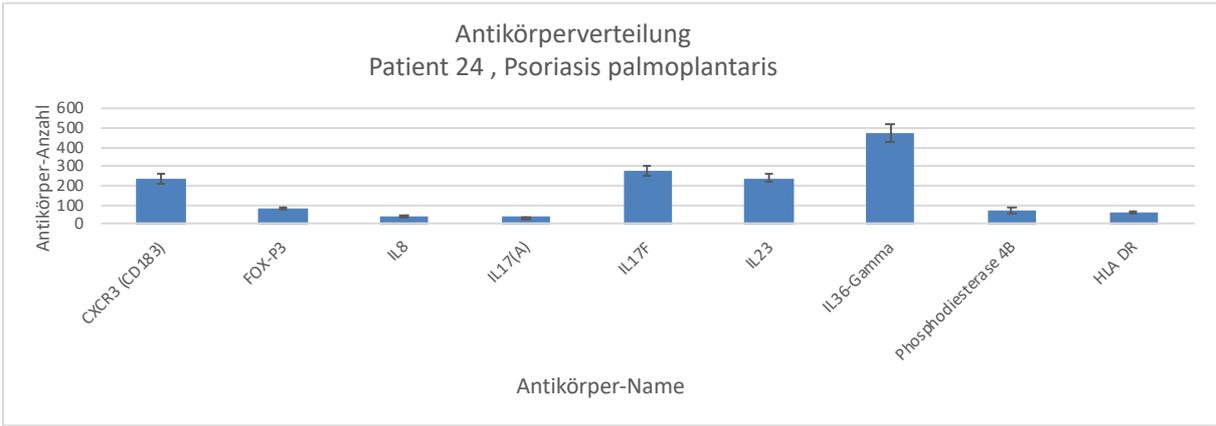
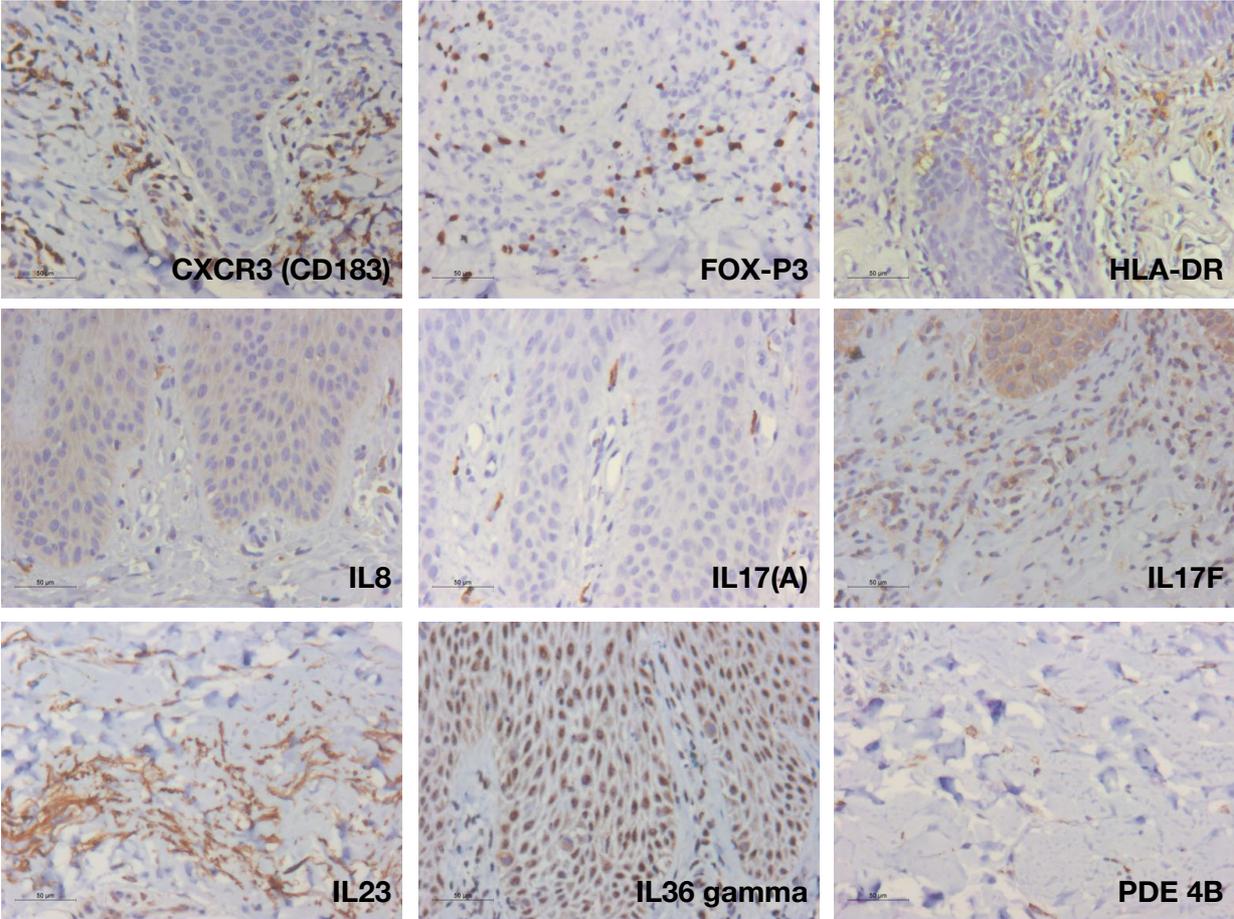


Abbildung 38: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 24 mit Psoriasis palmoplantaris, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 25 (männlich, 47 Jahre, Kontrollgruppe):

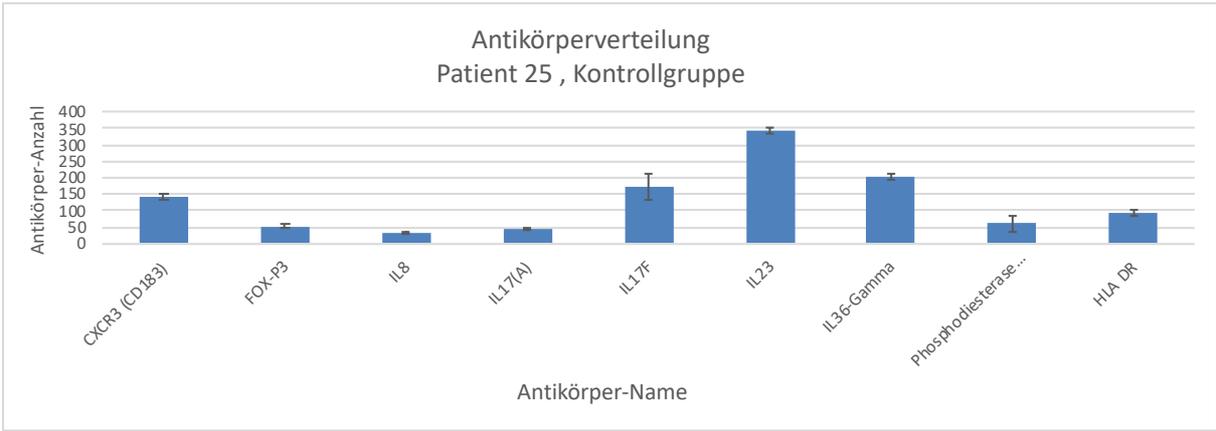
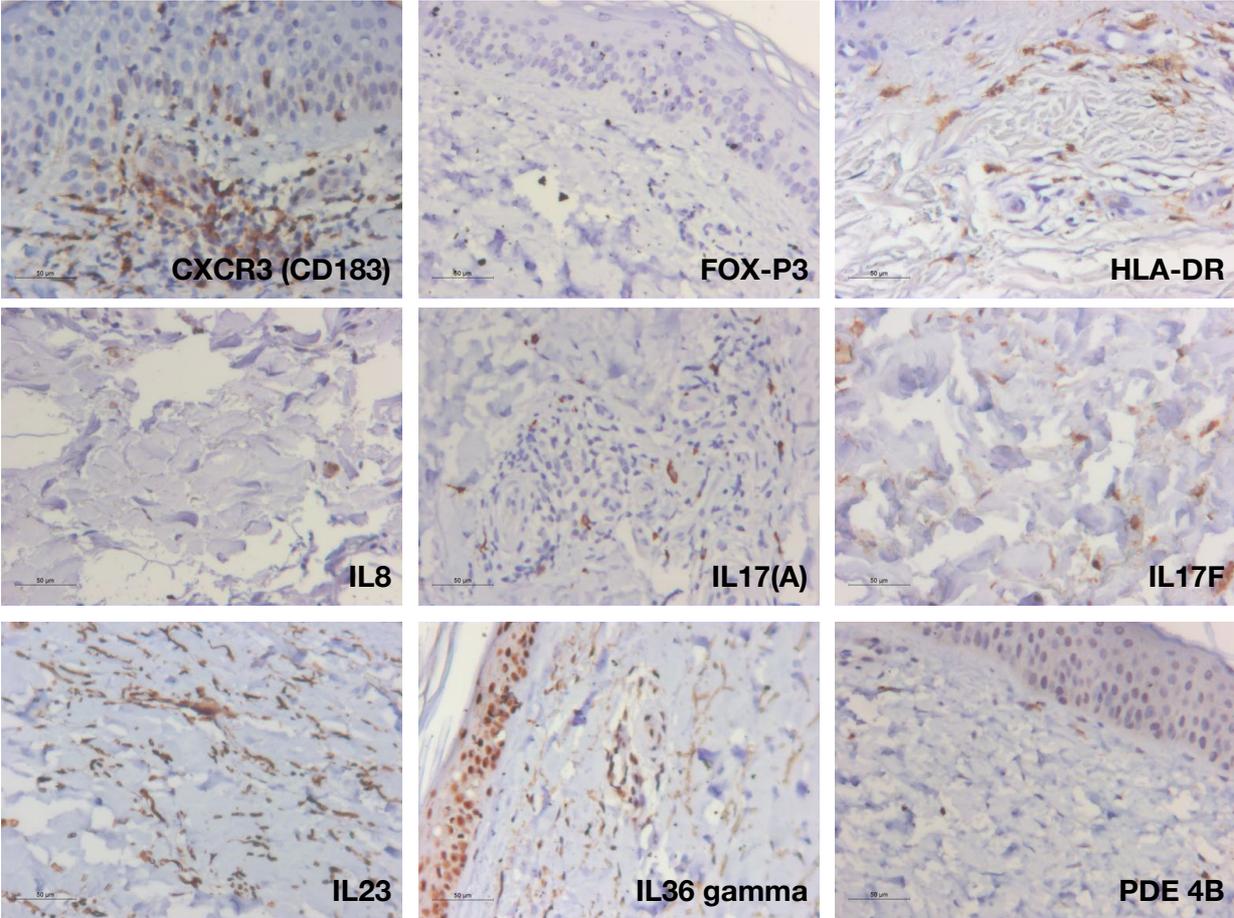


Abbildung 39: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 25 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 26 (männlich, 51 Jahre, Kontrollgruppe):

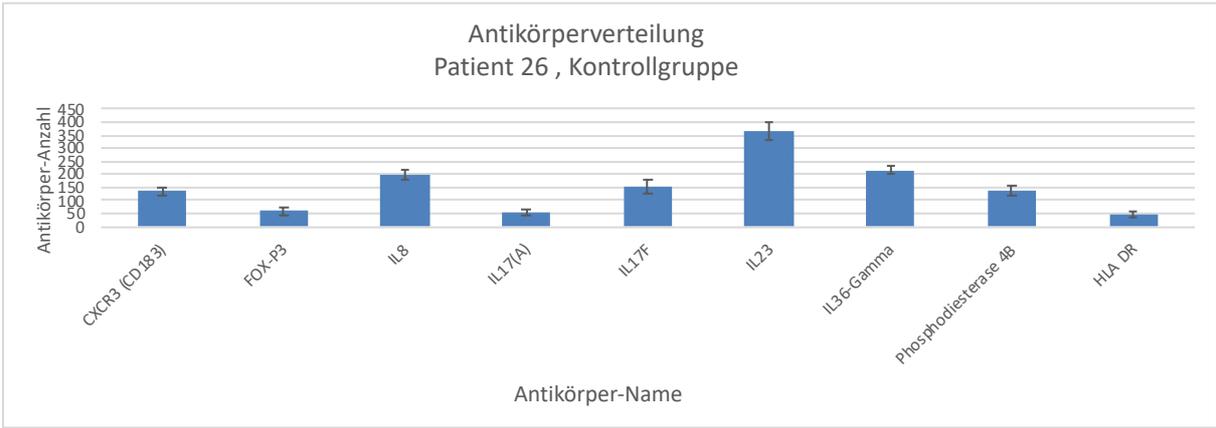
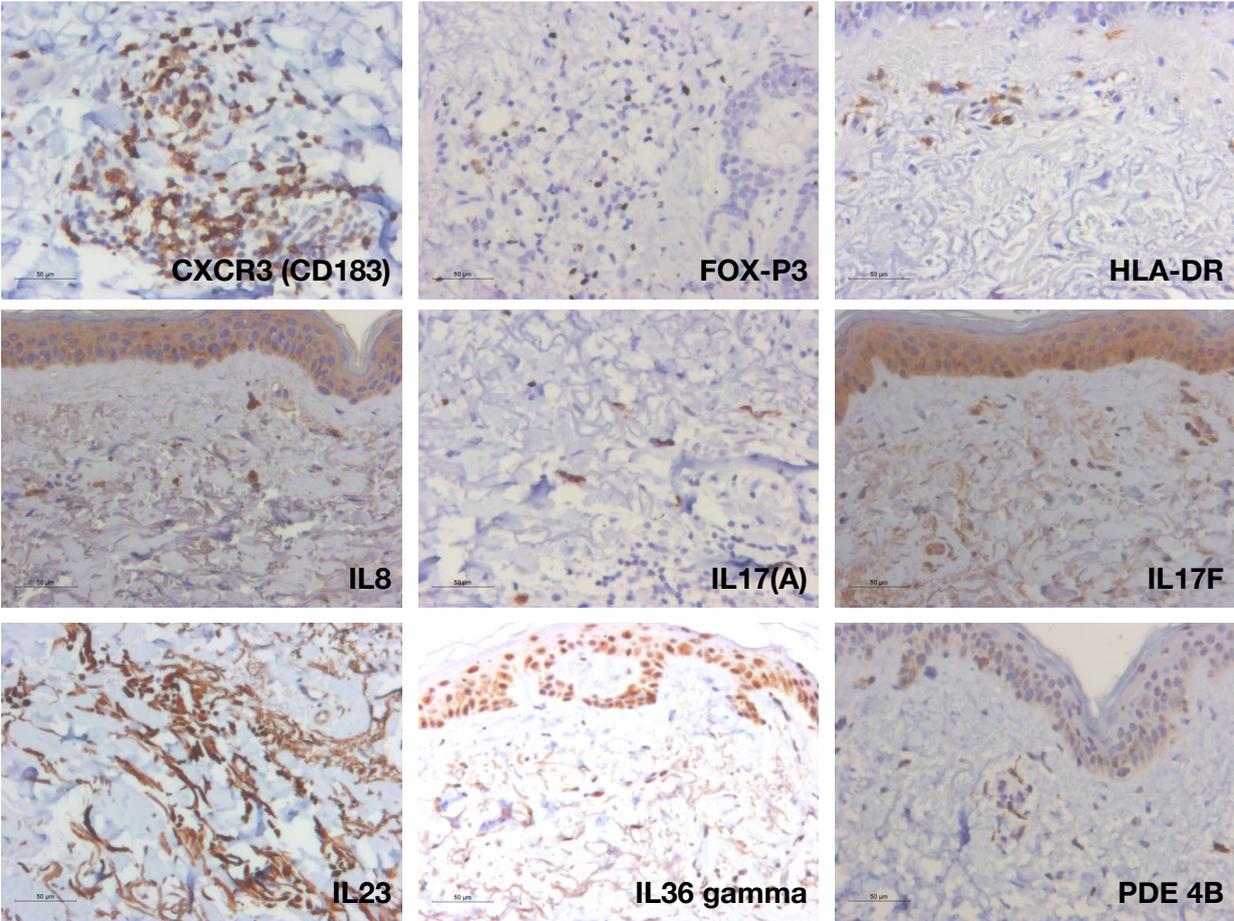


Abbildung 40: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 26 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 27 (männlich, 43 Jahre, Kontrollgruppe):

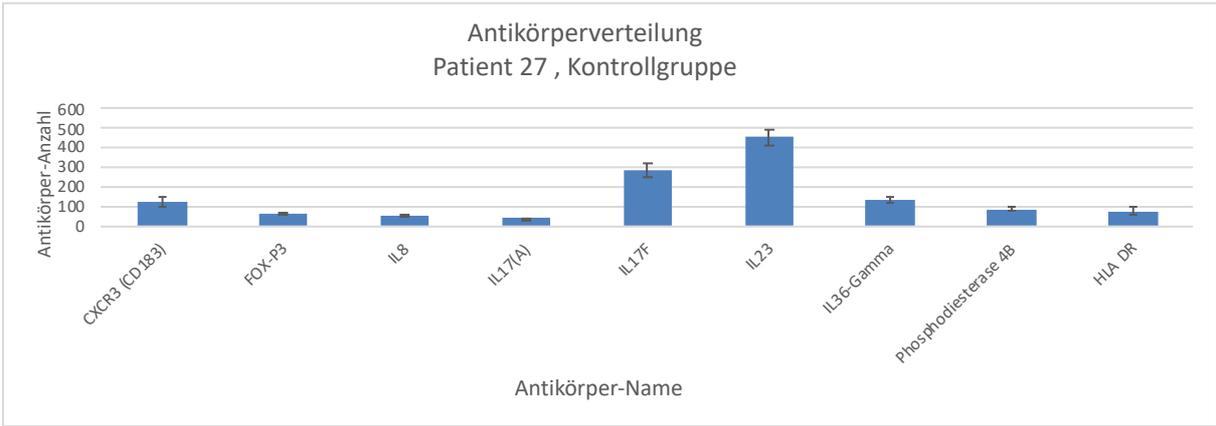
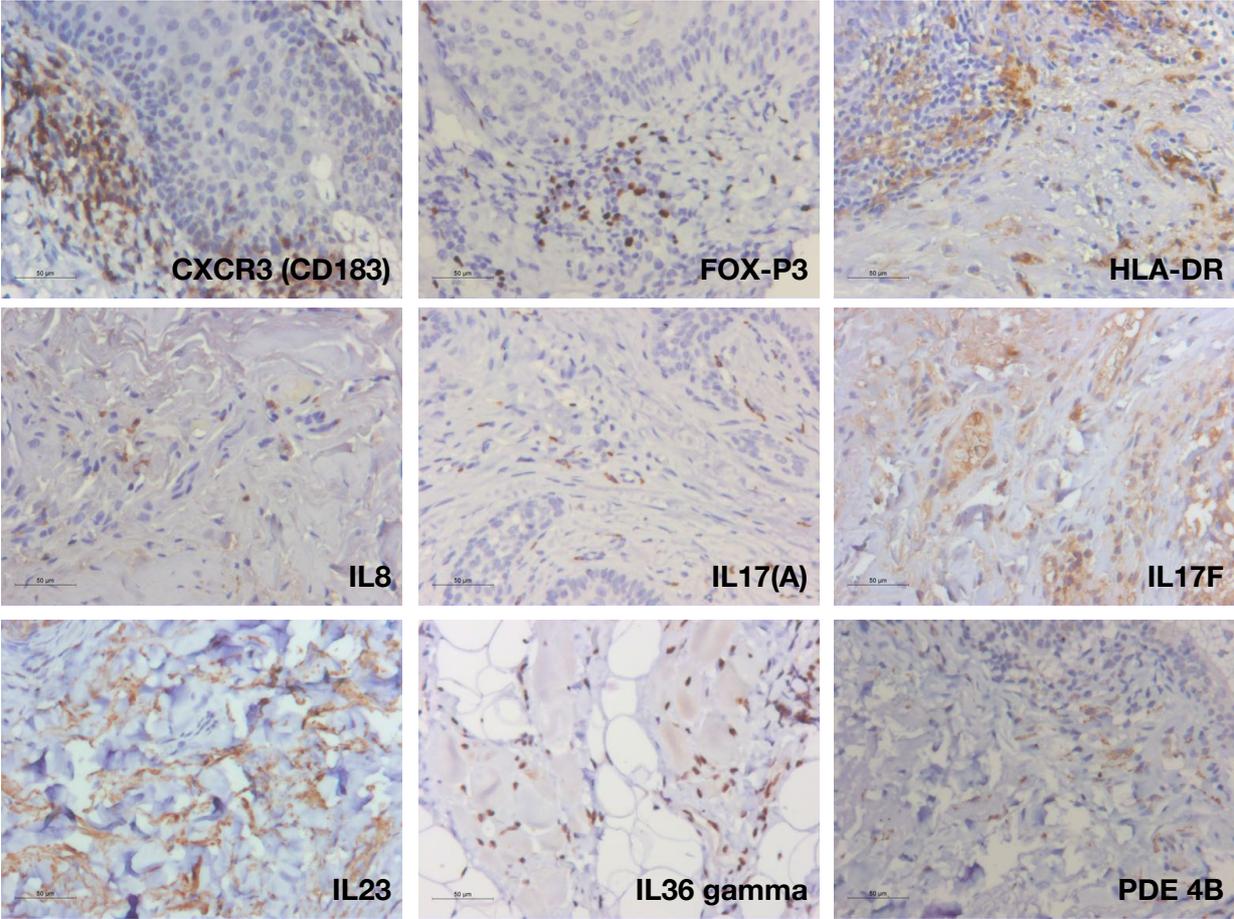


Abbildung 41: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 27 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 28 (weiblich, 44 Jahre, Kontrollgruppe):

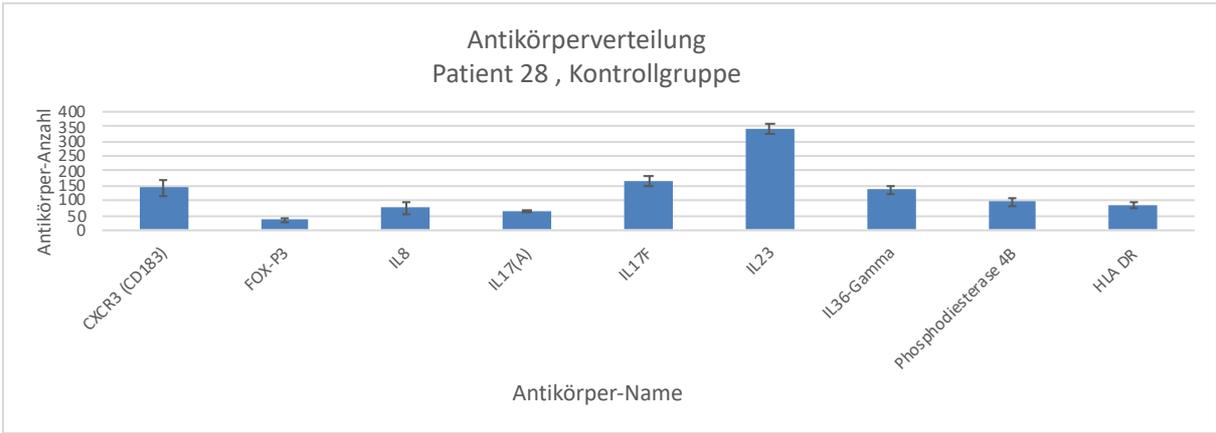
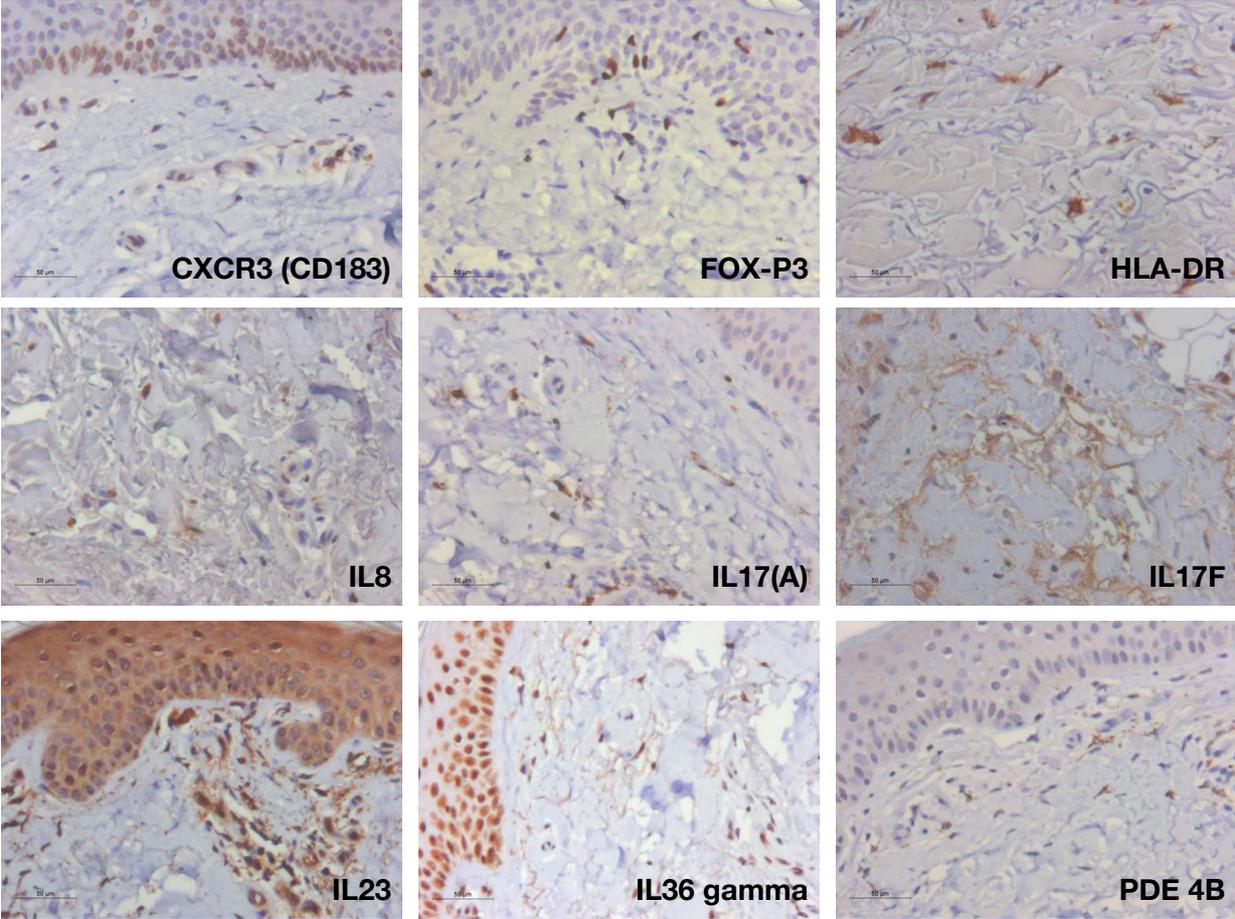


Abbildung 42: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 28 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 29 (männlich, 39 Jahre, Kontrollgruppe):

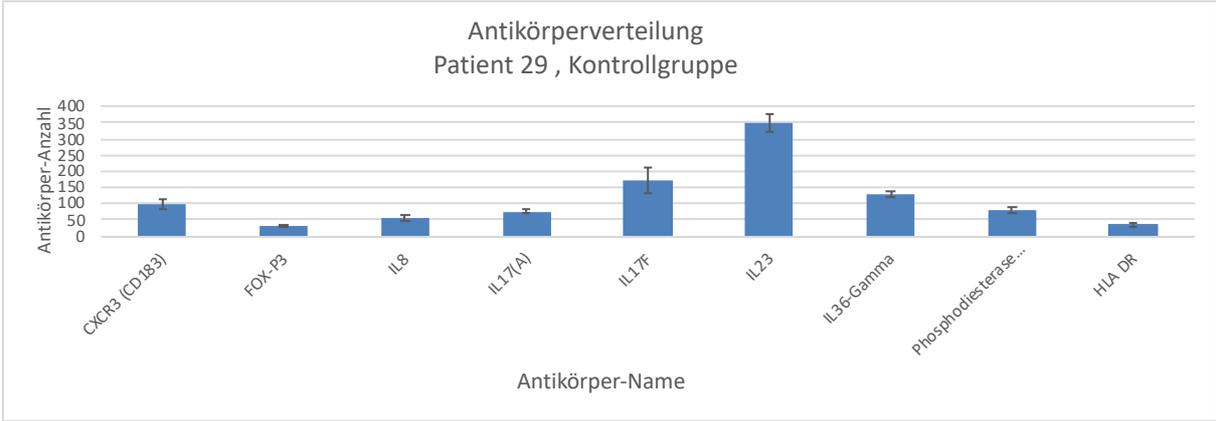
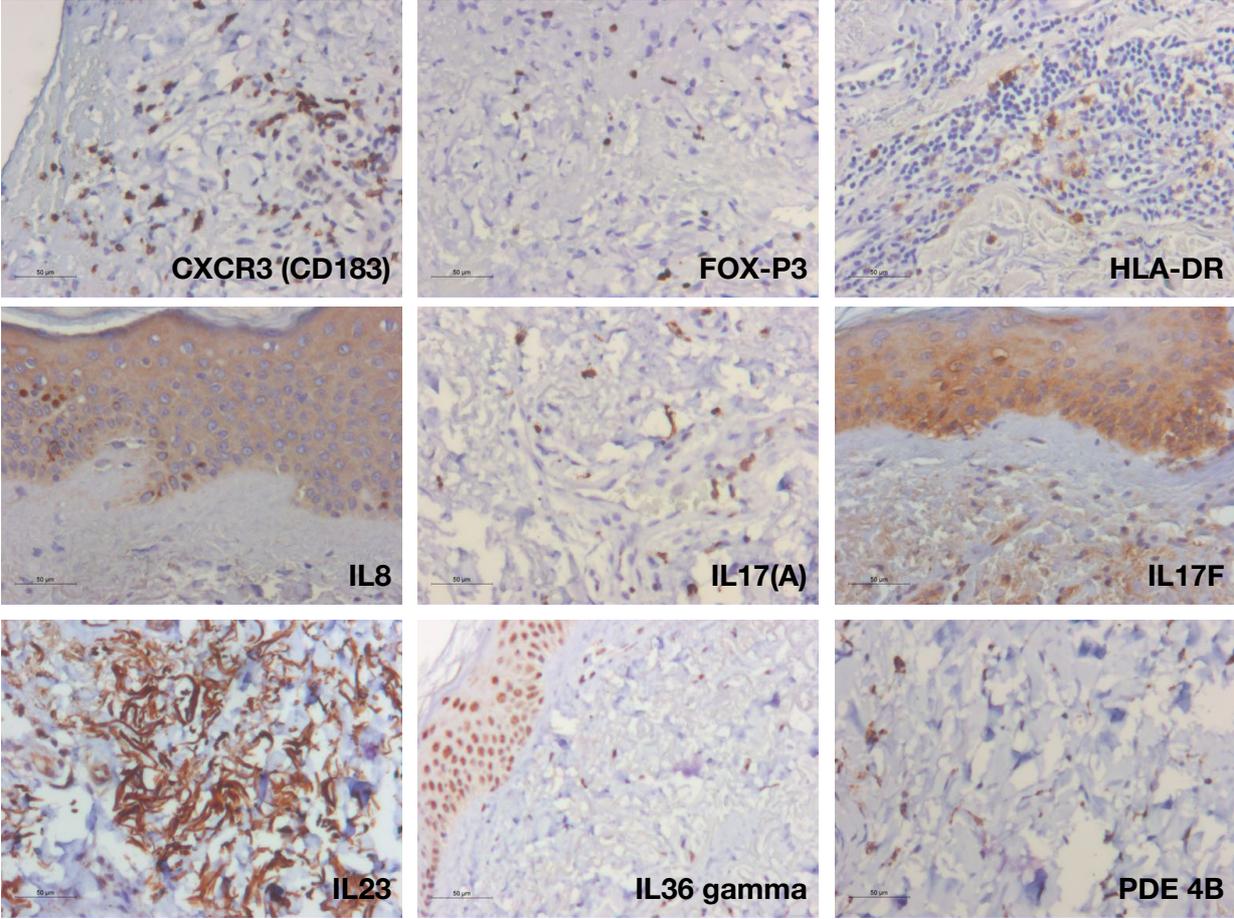


Abbildung 43: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 29 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

Patient 30 (männlich, 63 Jahre, Kontrollgruppe):

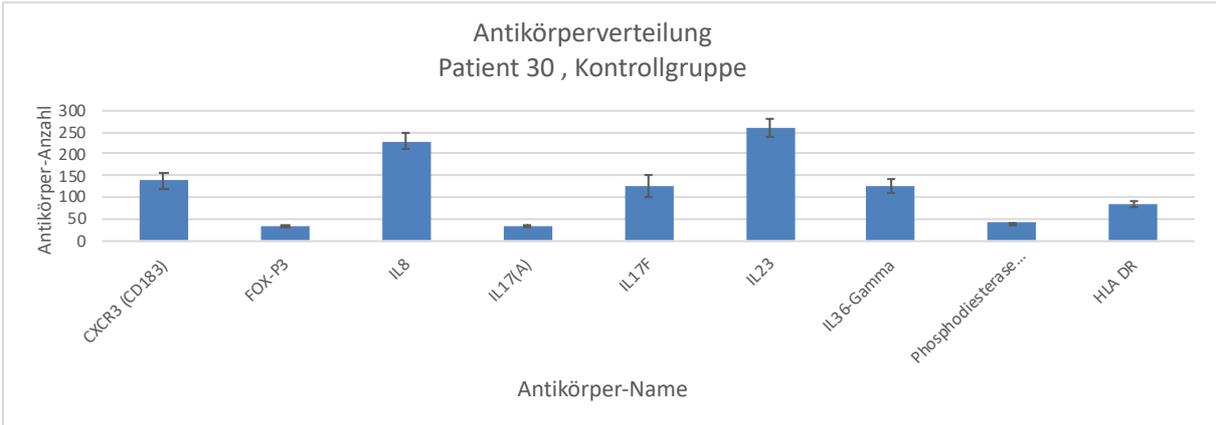
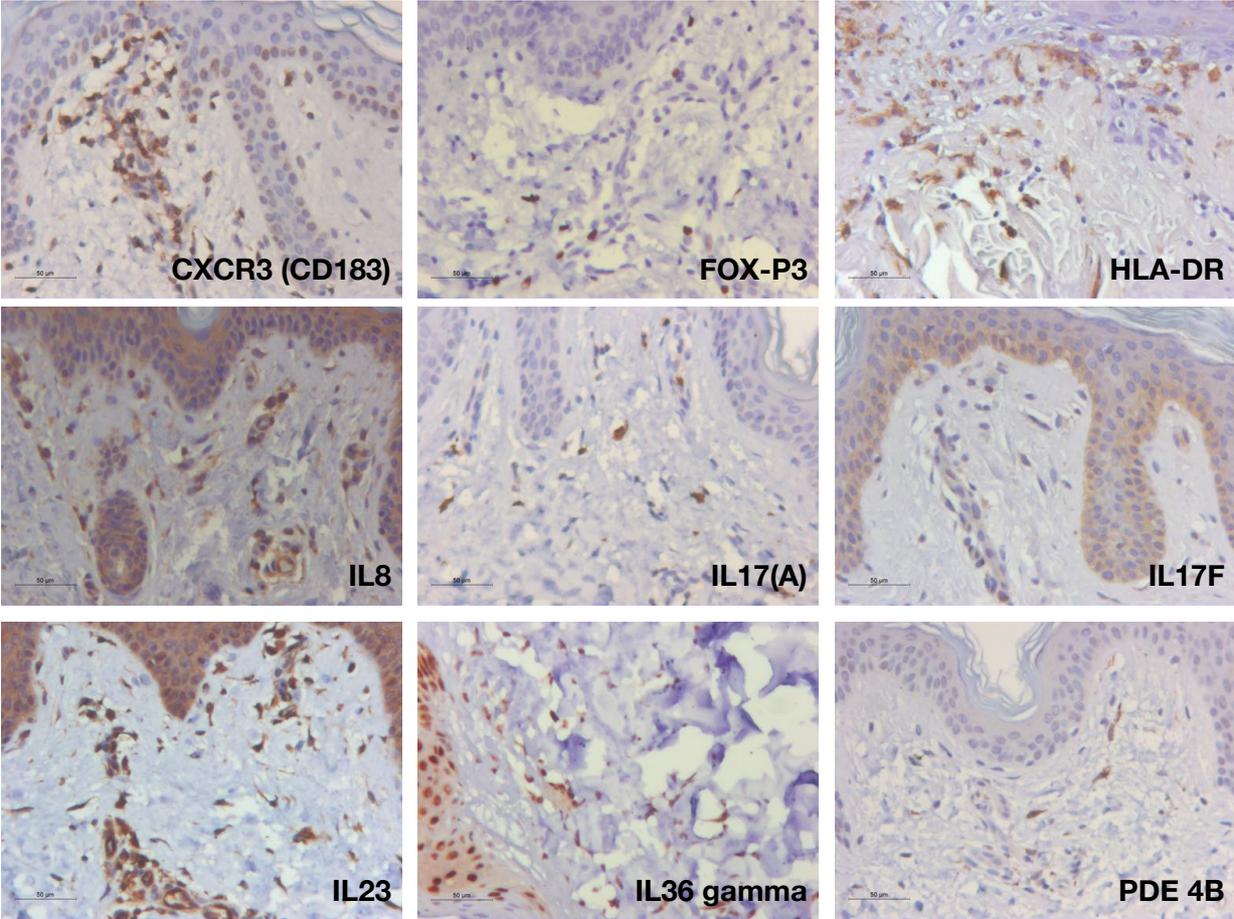


Abbildung 44: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 30 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.3. Antikörperauszählung: Absolute Antikörper-Anzahl

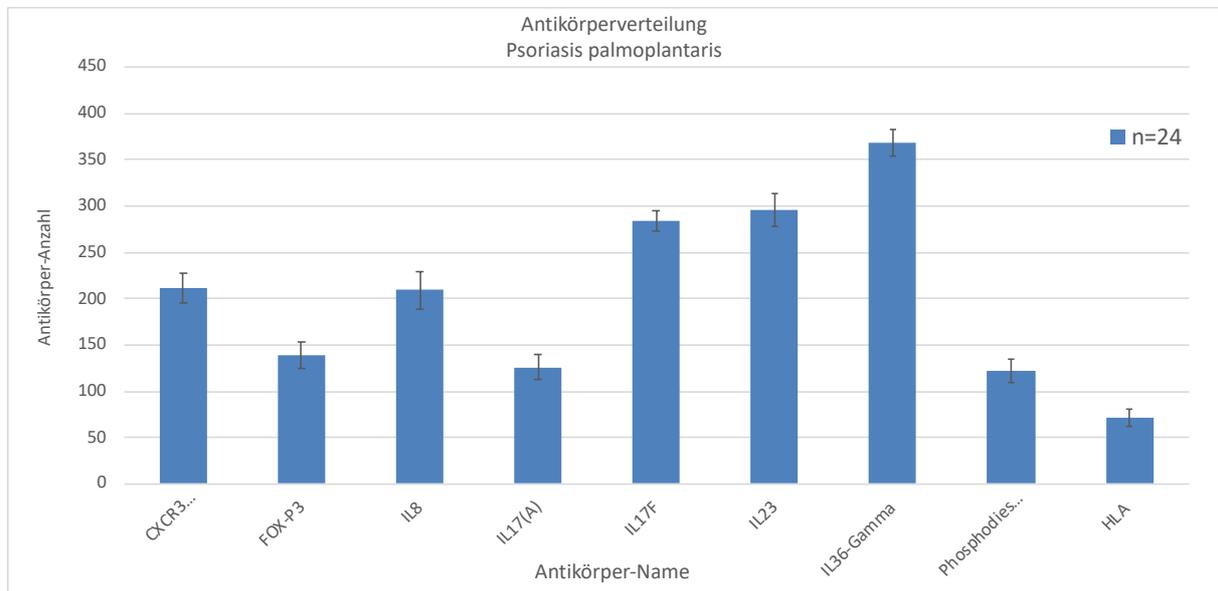


Abbildung 45: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Psoriasis palmoplantaris pustulosa, Fehlerindikator: Standardfehler

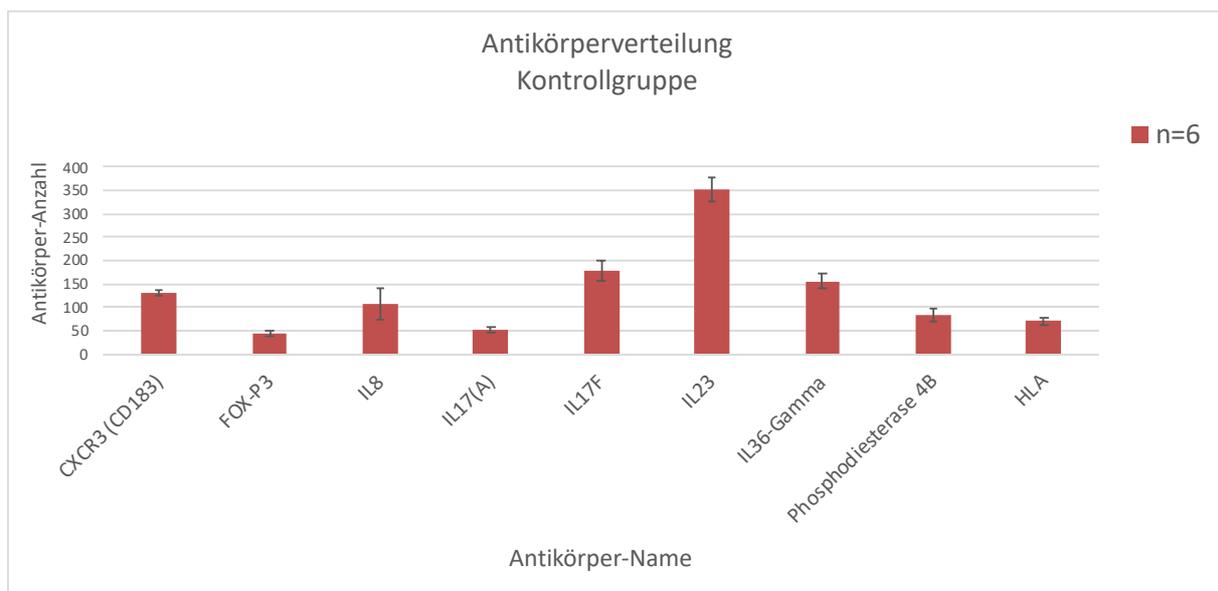


Abbildung 46: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei der Kontrollgruppe mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

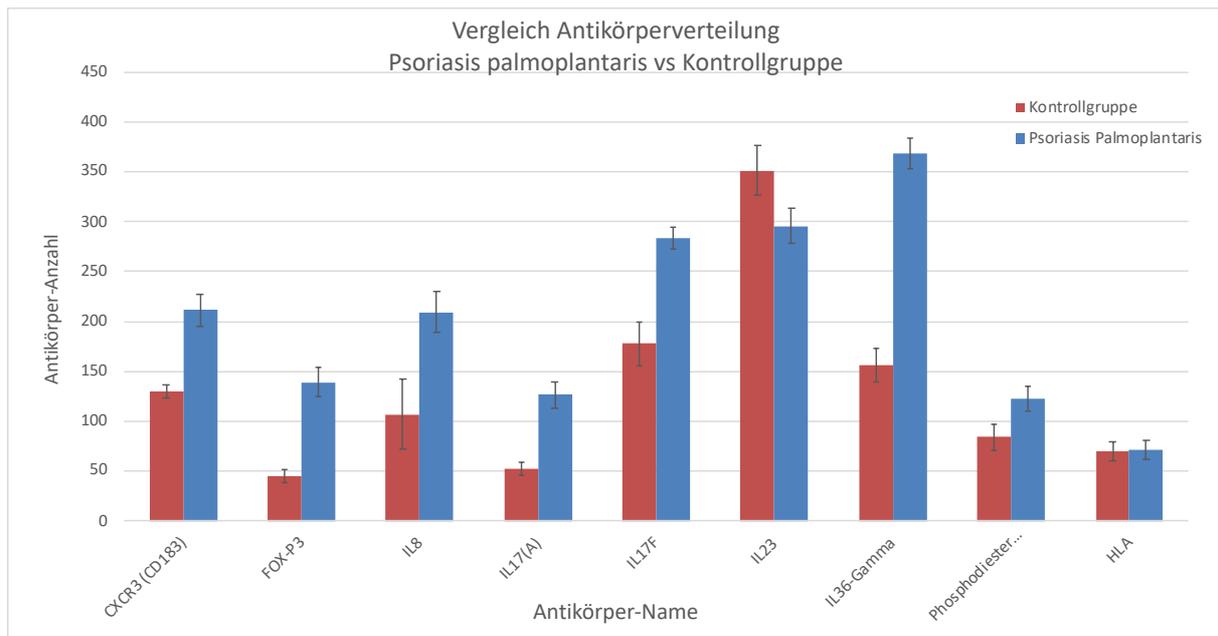


Abbildung 47: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Psoriasis palmolantaris pustulosa und der Kontrollgruppe mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

T-Test (Signifikanz der Unterschiede bei Psoriasis palmoplantaris pustulosa und der Kontrollgruppe in absteigender Reihenfolge):

p-Value		
	IL36-gamma	1,97648E-07
	FOX-P3	1,74427E-06
	IL17(A)	3,118E-05
	CXCR3	7,1354E-05
	IL17F	0,003089112
	IL8	0,032150295
	Phosphodiesterase 4B	0,05715868
	IL23	0,1010952
	HLA-DR	0,915455475

	CXCR3 (CD183)	FOXP3	IL8	IL17(A)	IL17F	IL23	IL36-Gamma	Phosphodiesterase 4B	HLA
P1	160	202,4	248	287	293,4	253,4	317,4	237,8	154,8
P2	147	111	315,8	256,4	250,6	406	407,6	198	110,8
P3	199	103,6	439,2	159,6	347,6	376	362,2	207,8	84,4
P4	131,2	123,4	194,6	94,2	193	334,4	455,2	87,4	10,2
P5	218,8	153,2	360,2	174,4	274,2	293,4	323,8	148,4	135,8
P6	149,6	61,6	290,4	119,6	401,4	407,4	311,2	211,8	59
P7	115,2	107,8	312,2	115,8	277,2	304,6	325,2	96,2	32
P8	113,8	116,4	319,4	277,4	236,2	310,6	530,2	83,8	101,6
P9	234,6	187,2	280,4	79	275	343,6	526,8	135,6	68,6
P10	120,8	67,2	112,4	68,8	275,2	104	406,6	114,4	9,4
P11	219,6	109,8	140,4	98,6	177,8	204,2	359,6	73,2	126,4
P12	147,4	187,8	186	66,4	235,2	110,6	402,8	59,8	109,2
P13	165	189,2	153	70,4	226,2	382,6	373,4	127,4	58,2
P14	379,4	378	103,6	155,6	358,4	217,2	305	157,4	74,6
P15	311,8	229	79	83,2	266,6	277,6	329,8	58,4	150,8
P16	236,8	116,4	163	106,4	321	382	427,6	112	9
P17	376,2	188,8	246,8	106,8	367,2	275,2	278,8	165	22,2
P18	227,8	144,2	84,2	151,4	295,4	354,4	318,2	90	109,4
P19	222,8	60	234,2	142,6	272,6	334	379,8	87,2	51,2
P20	335,4	87,4	148,2	87,8	338,2	379,6	279,4	59	76
P21	283,2	151	147,4	107,6	292,2	227,8	342,4	257	7
P22	155,6	61	224,6	115,4	296,4	340,6	288,4	42,6	22,2
P23	185,4	118,2	203	70,8	260,2	243,2	317,8	58,2	69
P24	234,2	81,6	40,2	35,8	273,4	239	470	72	60,8
Mittelwert	211,275	139,0083333	209,425	126,2916667	283,525	295,8916667	368,3	122,5166667	71,35833333

Abbildung 48: ‚Heat-Map‘ der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Psoriasis palmoplantaris pustulosa, Fehlerindikator: Standardfehler

6. Diskussion

6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Es wurde eine immunhistochemische Färbung mit neun verschiedenen Antikörpern durchgeführt (IL17/17A, IL17F, IL36 gamma, IL8, IL23, Phosphodiesterase 4B, CXCR3 (CD183), HLA-DR und FOX-P3) und die Anzahl, der an der Immunreaktion beteiligten Zellen ausgezählt. Dies wurde in zwei Patientengruppen untersucht.

Hierfür wurden Hautbiopsien von zwei Patientengruppen entnommen. Die erste Gruppe besteht aus vierundzwanzig Patienten, die an Psoriasis palmoplantaris pustulosa erkrankt sind. Hier wurden Hautbiopsien aus befallener Haut entnommen. Bei der zweiten Gruppe handelt es sich um sechs Patienten, die nicht an PPP erkrankt sind und als Kontrollgruppe dienen. Es wurden sechs Hautbiopsien aus normaler Haut entnommen.

Die Hautproben der Patienten entstammen den Dokumentationen der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Die ausgesuchten Antikörper wurden nach der immunhistochemischen Färbung durch ein automatisiertes computerunterstütztes Programm analysiert. Dadurch wurde die Häufigkeit der verschiedenen Antikörper in beiden Patientengruppen bestimmt.

Bei den PPP-Patienten zeigte sich folgende Häufigkeitsverteilung in absteigender Reihenfolge: IL36-Gamma, IL23, IL17F, CXCR3 (CD183), IL8, FOX-P3, IL17(A), Phosphodiesterase 4B, HLA-DR.

Bei der Kontrollgruppe ergab sich für die Hautbiopsien aus der gesunden Haut folgende Häufigkeitsverteilung in aufsteigender Reihenfolge: FOX-P3, IL17(A), HLA-DR, Phosphodiesterase 4B, IL8, CXCR3 (CD183), IL36-Gamma, IL17F, IL23.

Ausnahmsweise zeigte sich das IL23 als einziger Interleukin bei der Kontrollgruppe mit der gesunden Haut häufiger im Vergleich zu den PPP-Patienten. Bei den PPP-

Patienten waren keine großen Unterschiede in der Häufigkeit von Interleukin-17A, Phosphodiesterase-4B und FOXP3 zu beobachten. Beide Gruppen haben fast die gleiche HLA-DR Verteilung. Bis auf HLA-DR sind bei den PPP-Patienten alle anderen Antikörper hoch exprimiert im Vergleich zu der Kontrollgruppe mit normaler Haut.

Anhand des T-Tests zeigte sich bei fünf der neun getesteten Antikörpern einen hoch signifikanten Unterschied in absteigender Reihenfolge bei: IL36-gamma ($1,97E-07$) gefolgt von FOXP3 ($1,74E-06$), IL17A ($3,11E-05$), CXCR3-CD183 ($7,13E-05$) und IL17F ($0,00308$), wobei der außerordentlich signifikanteste Unterschied bei IL36-gamma zu sehen war.

Diese Ergebnisse lassen sich durch sehr niedrige p-Werte bestätigen.

6.2 Diskussion der Methoden

Nachdem die Biopsien histologisch bearbeitet wurden, erfolgte eine immunhistochemische Färbung der Gewebeschnitte mit den verschiedenen Antikörpern. Anschließend wurden 5-Bildflächen ausgesucht, die die größte Antikörpermenge aufweisen und bei 20-facher Vergrößerung abfotografiert. Folglich wurden die Bilder mithilfe von *ImageJ Plugin ICH-Profiler* und *ImageJ* automatisch analysiert und ausgewertet.

Bei der Bearbeitung der Biopsien und der immunhistochemischen Färbung lassen sich Fehler trotz vorsichtiger Arbeit und maximaler Genauigkeit nicht vermeiden. Es kann z.B. sowohl durch personenabhängige Faktoren wie Stress und Müdigkeit als auch durch Umgebungsfaktoren, wie beispielsweise die Raumtemperatur zu unvermeidbare Fehler kommen. Beim Abfotografieren von Bildflächen werden zum Teil auch Gefäße mit erfasst. Diese zeigen eine starke Färbung der Antikörper an, sind jedoch nicht von großer Bedeutung. Aufgrund dessen wurde ständig versucht solche Bereiche wegzulassen und andere Zonen zu suchen, die gar keine Gefäße enthalten.

Im Vergleich zur manuellen Auszählung bietet die computerunterstützte Auszählung der Antikörpern mehrere Vorteile an: Einer der wichtigsten Vorteile ist der zeitliche Aufwand, den die Auszählung der Antikörper ausnutzt. Im Gegensatz zur manuellen Auszählung kann bei der automatisierten Auszählung eine zeitlich kürzere Auswertung von Antikörpern stattfinden. Infolge der schnellen computerunterstützten Auszählung ist es einfacher, sowohl eine höhere Zahl von Biopsien als auch von Antikörpern zu untersuchen, was zu besseren und zu genaueren Ergebnissen führen kann. Ein weiterer Vorteil der computerunterstützten Auszählung ist die Genauigkeit solcher Auszählung. Außerdem können die Ergebnisse der automatisierten Auszählung immer schnell und exakt wiederholt und überprüft werden. Bei der manuellen Auszählung können manche Antikörper doppelt gezählt oder komplett übersehen werden.

Aufgrund der Arbeitsweise des Zählprogramms können Fehler entstehen, die diese Methode negativ beeinflussen. Trotz genauer Farbenerkennung durch das Programm, werden manchmal andere Strukturen mitgezählt, die den gleichen Farbton wie die Antikörper besitzen. Infolgedessen kommt es zu Ungenauigkeiten bei der Auszählung, welche einer Verfälschung der Ergebnisse zu Folge hat. Mit Hilfe der Negativ-Kontrolle und der genauen Einstellung des Programms auf die exakte Farbe der Antikörper können solche falsche Ergebnisse vermieden werden. Um genauere und bessere Ergebnisse zu erzielen, wurde jedes dieser analysierten Bilder direkt mit dem Originalbild verglichen. Wenn Abweichungen vom Originalbild festgestellt wurden, wurde das automatisch analysierte Bild erneuert manuell so bearbeitet, dass es exakt mit dem Originalbild vergleichbar ist, damit es nicht zur falschen Auswertung kommt. Dadurch können Fehler auf ein Minimum reduziert werden.

Ein weiterer Nachteil der angewendeten Methode ist die Anzahl der Bildzonen pro Biopsie. Durch die geringe Anzahl an Bildarealen, die abfotografiert werden, können nicht alle Antikörper exakt ausgezählt werden. Damit man ein besseres Ergebnis erzielt, müssen mehr als fünf Bildareale in Betracht gezogen werden.

Durch die automatisierte computerunterstützte Auszählung ist es einfacher, verschiedene Krankheitsbilder zu vergleichen und eine höhere Anzahl an Antikörpern

und Biopsien zu untersuchen. Dies ermöglicht einen deutlich grösseren Umfang zukünftiger Arbeiten.

6.3 Diskussion der Ergebnisse

Zytokine nehmen eine wichtige Rolle im Immunsystem ein. Sie werden von Makrophagen, B- Lymphozyten, T- Lymphozyten, natürlichen Killerzellen, Fibroblasten sowie Keratinozyten gebildet. Zytokine haben verschiedene Aufgaben, unter anderem dienen Zytokine die Signalübertragung zwischen Zellen und steuern somit deren Zellaktivierung, Proliferation, Differenzierung und die Migration von Leukozyten und vielen anderen Zelltypen.

In mehreren Studien wurde gezeigt, dass IL36 (Mitglied der IL-1- Familie) eine bedeutsame Schlüsselrolle für Psoriasis spielt (10,17). Im Gegensatz zu der normalen Haut ist IL36 in der Haut der Psoriasis-Patienten, vor allem der Subtyp IL36-gamma, hoch exprimiert (18,20,21). IL36 wird hauptsächlich in Keratinozyten, Monozyten, Makrophagen und Plasmazellen gebildet. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Makrophagen und dendritische Zellen IL36-Zytokine produzieren, insbesondere IL36-gamma (51,54,55). Studiendaten weisen auf eine anhaltende Aktivierung von IL-1 und IL-36 in Psoriasis pustulosa generalisata hin, die die Neutrophilen-Chemokinexpression, -infiltration und -pustelnbildung induziert, was darauf hindeutet, dass die IL-1 / IL-36-Entzündungsachse ein potenter Treiber der Krankheitspathologie in Psoriasis pustulosa ist (79).

Bei manchen Patienten konnte eine Mutation des IL36RN-Gens nachgewiesen werden (58,59). Zudem wurde kürzlich entdeckt, dass die funktionelle Aktivierung des IL-36-Rezeptors (IL-36R) eine weitere treibende Kraft bei der Pathogenese der Psoriasis ist. Dies wurde erstmals durch die Entdeckung hervorgehoben, dass eine Mutation mit Funktionsverlust des IL-36R-Antagonisten (IL-36Ra) eine Psoriasis pustulosa verursacht (75). Eine sehr aktuelle Studie (Phase I clinical trial (NEJM), stand 2019) zeigte außergewöhnliche Ergebnisse in der Therapie von Psoriasis pustulosa mit einem monoklonalen Antikörper „BI 655130“, der die Wirkung des Interleukin-36-Rezeptors (IL-36R) blockiert. Nach bereits einer Einzelgabe waren die

Hautsymptome schnell beseitigt (80,81). Die in dieser Arbeit nachgewiesene, sehr starke und signifikante Expression von IL36-gamma bei PPP-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe deutet darauf hin, dass IL36 eine außerordentlich wichtige und bedeutsame Rolle in der Pathogenese der Psoriasis palmoplantaris pustulosa hat.

Die therapeutische Reaktion auf Biologicals unterstützt die zentrale Rolle der Tumor-Nekrose-Alpha / Interleukin (IL) -23 / IL-17 / IL-22-Achse bei der Pathogenese der Psoriasis. In Studien wurde beobachtet, dass Biologicals wie Anti-Interleukin-17-Agents, Ustekinumab (IL12/23-Antibody) und Phosphodiesterase Typ-4 Inhibitoren, bei der langfristigen Bekämpfung von refraktären Fällen, vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung von Psoriasis palmoplantaris pustulosa gezeigt haben (71,73,74). IL-17A ist in den Handflächen und Fußsohlen von Patienten mit PPP im Vergleich zu gesunden Probanden stark exprimiert (73).

Psoriasis ist nach heutigem Wissen eine T-Zell-vermittelte chronische inflammatorische Autoimmunerkrankung. FOXP3 ist ein Makromolekül, welches sich im Zellkern von Säugetieren befindet und dort als wichtiger Transkriptionsfaktor Einfluss auf die Expression von Genen nimmt. Seine Funktion als Transkriptionsfaktor besteht nun darin, die Expression von bestimmten Proteinen zu stimulieren, die von den regulatorischen T-Zellen zur Immunabwehr benötigt werden. Daher kommt FOXP3 auch spezifisch in peripher produzierten T-Zellen vor, was als guter Nachweisindikator für diese Zellen fungieren kann. Nicht nur auf die Synthese der Proteine kann FoxP3 einwirken, es ist auch der Transkriptionsfaktor für die Neubildung der T-Zellen selber. Eine vorangegangene Studie zeigte, dass FOXP3+ regulatorische T-Zellen von Psoriasis-Patienten sich leicht in IL-17A produzierenden Zellen differenzieren und in verletzter Haut gefunden werden. Zudem waren zweifach positive IL-17A + / Foxp3 + Zellen in Hautläsionen von Patienten mit schwerer Psoriasis vorhanden (76).

Die vorliegende Auswertung verdeutlicht durch die sehr hohe Signifikanz von FOXP3 die bedeutende Rolle dieser regulatorischen Proteine in der Pathogenese von Psoriasis palmoplantaris pustulosa.

Chemokine und ihre Rezeptoren spielen eine wichtige Rolle bei der Rekrutierung, Aktivierung und Differenzierung von Immunzellen. Der Chemokinrezeptor CXCR3 und seine Liganden CXCL9, CXCL10 und CXCL11 sind wichtige Chemoattraktoren des Immunsystems bei Interferon-induzierten Entzündungsreaktionen. Entzündungen der Haut infolge von Infektionen oder Autoimmunerkrankungen führen zur Expression von CXCL9/10/11 und zur anschließenden Rekrutierung von Effektor-CXCR3 + -T-Zellen aus dem Blutkreislauf. Des Weiteren spielt der CXCR3-Rezeptor bei Hautkrebs eine wichtige Rolle (77).

Frühere Untersuchungen, die das Vorhandensein von CXCR3 (+) T-Lymphozyten in psoriatischer Läsionshaut berichteten, legten eine Rolle dieses Rezeptors bei der Rekrutierung von T-Zellen in die Läsion nahe. Eine der Studien zeigte durch reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion, dass die mRNA-Spiegel von CXCR3 und seinen Liganden CXCL9-11 in psoriatischen Läsionen im Vergleich zu nicht-läsionalen Proben signifikant erhöht waren. Serielle Kryostatschnitte von Psoriasis-Hautbiopsien wurden durch Immunhistochemie bewertet. Die Anzahl der CXCR3 (+) - Zellen war in nicht läsionalen Geweben niedrig. Die quantitative Bildanalyse zeigte einen signifikanten Anstieg der Anzahl epidermaler und dermaler CXCR3 (+) -Zellen bei Läsionen im Vergleich zu nicht-Läsionsbiopsien (78).

Die aktuell vorliegende signifikante Auswertung stützt frühere Berichte bei der Rolle von CXCR3 in der Pathophysiologie der Psoriasis und die Sonderform psoriasis palmoplantaris pustulosa.

7. Zusammenfassung

Die Psoriasis palmoplanatris pustulosa ist eine seltene, chronisch verlaufende, inflammatorische Sonderform der Psoriasis, die auf die Handflächen und Fußsohlen begrenzt ist und mit der Bildung von sterilen Eiterbläschen einhergeht. Eine hohe Beständigkeit gegen Behandlung und eine hohe Rezidivrate sind charakteristisch. Wir wissen, dass die Behandlung außer mit Ciclosporin, welches wegen Toxizität individuell nur bedingt einsetzbar ist, extrem schwierig ist, da andere Immunmodulatoren nur unregelmäßig oder kaum therapeutisch wirken.

Der genaue Pathomechanismus für die Erkrankung ist unklar, jedoch wurden verschiedene Immunzellen entdeckt, die eine Rolle bei der Pathogenese spielen. In dieser vorliegenden Arbeit lag der Fokus auf eine Immunhistochemische Analyse von neun verschiedenen Antikörpern bei Psoriasis palmoplantaris pustulosa. Es werden Zellpopulationen untersucht, die Rückschlüsse auf deren quantitative Beteiligung am pathophysiologischen Mechanismus von Psoriasis palmoplantaris pustulosa ermöglichen.

Um dies besser zu verdeutlichen, wurde die Häufigkeit der neun verschiedenen Antikörper (IL17/17A, IL17F, IL36 gamma, IL8, IL23, Phosphodiesterase 4B, CXCR3 (CD183), HLA-DR, FOX-P3) in zwei Patientengruppen ermittelt. Dafür wurden Hautbiopsien von 30 Patienten entnommen, wobei die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt wurden. Die erste Gruppe besteht aus vierundzwanzig Patienten mit Psoriasis palmoplantaris pustulosa. Bei dieser Gruppe wurden Hautbiopsien aus betroffener Haut entnommen. Bei der zweiten Gruppe handelt es sich um sechs Patienten, die nicht an Psoriasis palmoplantaris pustulosa erkrankt sind und eine normale gesunde Haut aufweisen. Diese dient als Kontrollgruppe.

Die Gewebeschnitte wurden histologisch bearbeitet und danach mit Antikörpern gegen bestimmten Zytokinen/Zellmembranproteinen immunhistochemisch gefärbt. Daraufhin wurden fünf Bildzonen mit maximaler Anzahl an Färbungen pro Gewebeschnitt abfotografiert und die Anzahl, der an der Immunreaktion beteiligten Zellen durch ein computerunterstütztes Bildanalyse-System ausgezählt. Anschließend wurden die Ergebnisse in Form von Tabellen dargestellt. Zum Schluss wurden die

Mittelwerte der Vergleichgruppen mittels T-Test verglichen, um rauszufinden, ob die Unterschiede statistisch signifikant sind oder nicht. Es wurden insgesamt 270 Präparate ausgewertet.

Die Befunde der direkten Gegenüberstellung beider Auszählungen in den zwei Vergleichgruppen (IL17A=3,11E-05, IL17F=0,00308, IL36-gamma=1,97E-07, IL8=0,032, IL23=0,101, Phosphodiesterase 4B=0,0571, CXCR3(CD183)=7,13E-05, HLA-DR=0,915, FOX-P3=1,74E-06) demonstrieren bei PPP signifikant höhere Expressionen in absteigender Reihenfolge insbesondere von IL36-gamma gefolgt von FOX-P3, IL17A, CXCR3 (CD183), IL17F, IL8 und Phosphodiesterase 4B. Der außerordentlich signifikanteste Unterschied war bei IL36-gamma zu sehen. Niedrigere Expression gegenüber gesunder Haut zeigen IL23 und HLA (beide nicht signifikant).

Diese starke Expressierung von IL36-gamma bei PPP-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe deutet darauf hin, dass IL36-gamma eine wichtige und bedeutsame Aufgabe in der Pathogenese sowie eine zentrale Rolle im Entzündungsprozess der Psoriasis palmoplantaris pustulosa hat. Ein Unterschied, der wichtige Auswirkungen auf die Behandlung in der Zukunft haben wird. Das Targeting des IL-36-Signalwegs ist eines der aufregendsten neuen Gebiete in der Dermatologieforschung.

Des Weiteren bestätigt die vorliegende Arbeit durch die ebenfalls signifikant höhere Expressionen von FOX-P3, IL17 und CXCR3, die bedeutende Rolle dieser regulatorischen Proteine bei PPP.

Die Zusammenfassung hebt hervor, dass der größte signifikante Unterschied bei der erhöhten IL36-gamma Expressionen in den Hautschnitten von PPP gegenüber Gesunden besteht. Daraus kann eine pathologische Bedeutung abgeleitet werden, die zu neuen Therapien führen kann, z.B. mit monoklonalen Antikörpern gegen IL36-gamma. Aber auch die anderen gemessenen Prävalenzen der verschiedenen Proteine zeigen wichtige Basiswerte der PPP, die bislang kaum geforscht wurden.

Zusammenfassend legen die oben genannten Ergebnisse nahe, in welchem Umfang die aufgeführten Immunzellen an der Entzündungsreaktion, die mit der Pathogenese von Psoriasis palmoplantaris pustulosa einhergehen, beteiligt sind.

Mit diesen Kenntnissen über die unterschiedliche und hoch signifikante Expressionen insbesondere von IL36-gamma, könnte man in der Zukunft nach Entwicklung neuer Antikörper, die IL36-gamma explizit abzielen, diese als First-Line-Therapie in der Behandlung von Psoriasis palmoplantaris pustulosa empfehlen. Damit kann man langfristig genauer und gezielter im Immunsystem angreifen, bessere Ergebnisse bei der Behandlung erzielen und Nebenwirkungen lindern, eine bessere Versorgung dieser Patienten gewährleisten, deren Hautsymptome vermindern und ihnen eine bessere Lebensqualität ermöglichen.

Quellenverzeichnis

1. Saraceno R, Chiricozzi A, Chimenti S. Psoriasis. European Handbook of Dermatological Treatments. 2015; 3:797-815.
2. Sabat R, Sterry W, Philipp S, Wolk K. Three decades of psoriasis research: where has it led us? Clin Dermatol. 2007;25(6):504–9.
3. Die Online-Enzyklopädie der Dermatologie V, Allergologie und Umweltmedizin [Internet], Altmeyer P. Dermatogische Differenzialdiagnose. Der Weg zur klinischen Diagnose. 2007; Springer Medizin Verlag, Heidelberg [zitiert am 03.10.2017]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/psoriasis-ubersicht-3339>.
4. Christophers E, Mrowietz U, Sterry W (Hrsg.). Psoriasis auf einen Blick. 2. Auflage, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin-Wien 2003.
5. Braun-Falco O, Burg G. Inflammatory infiltrate in psoriasis vulgaris: a cytochemical study. Arch Klin Exp Dermatol. 1970;236:297-314.
6. Burge S, Rubeta M, Dinny W. Psoriasis. Oxford Handbook of Medical Dermatology. 2016; 2:190-205.
7. Wolff K, Johnson R, Saavedra A, Roh E. Psoriasis. Psoriasisform, and Pityriasiform Dermatosen. Fitzpatrick's Color Atlas and Synopsis of Clinical Dermatology. 2017; 8:50-71.
8. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol*. 1985; 13: 450-6.
9. Amir R, Saraiya and Alice B.Gottlieb. Immunpathogenesis of psoriasis skin and nail. Psoriatic arthrititis and psoriasis – pathology and clinical aspects. 2016; 45-50.
10. Towne JE, Sims JE. IL-36 in psoriasis. Current opinion in pharmacology. 2012 Aug;12(4):486-90.

11. Hawkes JE, Chan TC, Krueger JG. Psoriasis pathogenesis and the development of novel targeted immune therapies. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017 Sep;140(3):645-653.
12. Finlay AY, Coles EC. The effect of severe psoriasis on the quality of life of 369 patients. *Br J Dermatol*. 1995; 132:236-244.
13. Bos JD, Hulsebosch HJ, Krieg SR, Bakker PM, Cormane RH. Immunocompetent cells in psoriasis: in situ immunophenotyping by monoclonal antibodies. *Arch Dermatol Res*. 1983;275:181-9.
14. Nestle FO, Nickoloff BJ. Role of dendritic cells in benign and malignant lymphocytic infiltrates of the skin. *Dermatol Clin*. 1994;12:271-82.
15. Carrier Y, Ma HL, Ramon HE, Napierata L, Small C, O'Toole M, Young DA, Fouser LA, Nickerson-Nutter C, Collins M et al.: Inter-regulation of Th17 cytokines and the IL-36 cytokines in vitro and in vivo: implications in psoriasis pathogenesis. *J Invest Dermatol*. 2011; 131:2428-2437.
16. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Mechanisms of disease psoriasis. *N Eng J Med* 2009;361:496-509.
17. Sims JE, Smith DE: The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol* 2010, 10:89-102.
18. Debets R, Timans JC, Homey B, Zurawski S, Sana TR, Lo S, Wagner J, Edwards G, Clifford T, Menon S et al.: Two novel IL-1 family members, IL-1 delta and IL-1 epsilon, function as an antagonist and agonist of NF-kappa B activation through the orphan IL-1 receptor-related protein 2. *J Immunol* 2001, 167:1440-1446.
19. Cooper EJ, Herd RM, Priestley GC, Hunter JA. A comparison of bathwater and oral delivery of 8- methoxypsoralen PUVA therapy for plaque psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 2000; 25: 111-114.
20. Lebwohl M (2003), Psoriasis. *The Lancet* 2003; 361: 1197-204.

21. Janowski K, Steuden S (2008), Severity of psoriasis and health related quality of life: the moderating effects of temperament. *BJD* 2008; *158*: 633-634.
22. Kirschner N, Poetzl C, Von Den Driesch P, Wladykowski E, Moll I, Behne M. J. & Brandner J. M. Alteration of tight junction proteins is an early event in psoriasis: putative involvement of proinflammatory cytokines. *Am J Pathol.* 2009; *175*:1095-106.
23. Farber Em, Nall MI. The natural history of psoriasis in 5,600 patients. *Dermatologica.*1974;*148*:1-18.
24. Schon M.P,Boehncke W. H. Psoriasis. *N Engl J Med.* 2005;*352*: 1899-912.
25. Marissa D, Newman and Jeffrey M.Weinberg. the pathophysiology of psoriasis. *Treatment of psoriasis.* 2008; *1*:11-13.
26. Weinstein G. D, Mccullough J. L. & Ross P.A .Cell kinetic basis for pathophysiology of psoriasis. *J Invest Dermatol.* 1985;*85*: 579-83.
27. Sabat R, Philipp S, Hoflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, Volk H. D, Sterry W, Wolk K. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol.* 2007;*16*: 779-98.
28. Smith C. H, Barker, J. N. Psoriasis and its management. *British Medical Journal,* 2006;*333*:380-384.
29. Capon F, Di Meglio P, Szaub J, et al. Sequence variants in the genes for the interleukin- 23 receptor (IL23R) and its ligand (IL12B) confer protection against psoriasis. *Hum Genet* 2007;*122*:201-6.
30. Magne D, Palmer G, Barton JL, Mézin F, Talabot-Ayer D, Bas S, et al. The new IL-1 family member IL-1F8 stimulates production of inflammatory mediators bysynovial fibroblasts and articular chondrocytes. *Arthritis Research & Therapy*2006;*8*:R80, <http://dx.doi.org/10.1186/ar1946>.

31. Watson W, Cann H, Farber E. M, Nall M. L. The genetics of psoriasis. *Arch Dermatol.* 1972; 105:197-207.
32. Kirby B, Griffiths CEM. Psoriasis: the future. *Br J Dermatol* 2001; 144 (58): 37-43.
33. Towne JE, Renshaw BR, Douangpanya J, Lipsky BP, Shen M, Gabel CA, et al. Interleukin-36 (IL-36) ligands require processing for full agonist (IL-36alpha, IL-36beta, and IL-36gamma) or antagonist (IL-36Ra) activity. *Journal of Biological Chemistry* 2011; 286:42594–602.
34. Khachemoune A, Guillen, S. Psoriasis: disease management with a brief review of new biologics. *Dermatology nursing/Dermatology Nurses' Association.* 2006; 18:40-49.
35. Keratoacanthoma, G., Lipoatrophy, H. I. V. A. F., Light, I. P., Acrokeratosis, I. P., Vasculopathy, L. T., Hyperpigmentation, P., & Blastomycosis, P. C. Drug-provoked psoriasis: is it drug induced or drug aggravated? Understanding pathophysiology and clinical relevance. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology.* 2010; 3:32-38.
36. Christophers E. Psoriasis--epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol.* 2001; 26: 314-20.
37. Griffiths C. E, Clark C. M, Chalmers R. J, Li Wan Po, A, Williams H. C. A systematic review of treatments for severe psoriasis. *Health Technology Assessment.* 2000; 4:1-125.
38. Gresnigt MS, Van de Veerdonk FL, Biology of IL-36 cytokines and their role in disease. *Seminars in Immunology.* 2013; 25(6):458-65.
39. Marrakchi S, Guigue P, Renshaw BR, Puel A, Pei XY, Fraitag S, et al. Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis. *New England Journal of Medicine* 2011; 365:620–8, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1013068>.

40. Gudjonsson J. E, Karason A, Antontsdottir A, Runarsdottir E.H, Hauksson V. B, Upmanyu, R, Gulcher J, Stefansson K, Valdimarsson H. Psoriasis patients who are homozygous for the HLA-Cw*0602 allele have a 2.5-fold increased risk of developing psoriasis compared with Cw6 heterozygotes. *Br J Dermatol*, 2003; 148: 233-5.
41. Raychaudhuri, S.K, Maverakis E, Raychaudhuri S.P. Diagnosis and classification of psoriasis. *Autoimmunity Reviews*. 2014;13(4):490-95.
42. Dinarello C, Arend W, Sims J, Smith D, Blumberg H, O'Neill L, et al. IL-1 family nomenclature. *Nature Immunology* 2010;11:973.
43. Bowcock AM, Krueger JG. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol* 2005;5:699-711.
44. Farooq M, Nakai H, Fujimoto A, Fujikawa H, Matsuyama A, Kariya N, et al. Mutation analysis of the IL36RN gene in 14 Japanese patients with generalized pustular psoriasis. *Human Mutation* 2012, <http://dx.doi.org/10.1002/humu.22203>.
45. Barker JNWN. Genetik der Psoriasis. *H + G* 2001; 76:351-355.
46. Sugiura K, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Shimoyama Y, Muro Y, et al. A novel IL36RN/IL1F5 homozygous nonsense mutation, p.Arg10X, in a Japanese patient with adult-onset generalized pustular psoriasis. *British Journal of Dermatology* 2012;5–7, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.10953.x>.
47. Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet* 2007;80:273-90.
48. Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, et al. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997;6:813-20.

49. Dunn E, Sims JE, Nicklin MJ, O'Neill LA. Annotating genes with potential roles in the immune system: six new members of the IL-1 family. *Trends in Immunology* 2001;22:533–6, [http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4906\(01\)02034-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1471-4906(01)02034-8).
50. Johnston A, Xing X, Guzman AM, Riblett M, Loyd CM, Ward NL, et al. IL-1F5, -F6, -F8, and -F9: a novel IL-1 family signaling system that is active in psoriasis and promotes keratinocyte antimicrobial peptide expression. *Journal of Immunology* (Baltimore, MD:1950) 2011;186:2613–22.
51. Tortola L, Rosenwald E, Abel B et al. Psoriasisiform dermatitis is driven by IL-36-mediated DC-keratinocyte crosstalk. *J Clin Invest* 2012; 122:3965–76.
52. Boutet MA, Bart G, Penhoat M, Amiaud J, Brulin B, Charrier C, Morel F, Lecron JC, Rolli-Derkinderen M, Bourreille A, Vigne S, Gabay C, Palmer G, Le Goff B, Blanchard F. Distinct expression of interleukin (IL)-36 α , β and γ , their antagonist IL-36Ra and IL-38 in psoriasis, rheumatoid arthritis and Crohn's disease. *Clinical and Experimental Immunology*. 2016 May;184(2):159-73. doi: 10.1111/cei.12761.
53. Boenisch T, Henne C, DakoCytomation GmbH. *Handbuch immunchemische Färbemethoden*. 3. Aufl ed. Hamburg 2003. 85 S p.
54. Vigne S, Palmer G, Lamacchia C et al. IL-36R ligands are potent regulators of dendritic and T cells. *Blood* 2011; 118: 5813–23.
55. Bachmann M, Scheiermann P, Hardle L, Pfeilschifter J, Muhl H. IL-36 γ /IL-1F9, an innate T-bet target in myeloid cells. *J Biol Chem* 2012; 287:41684–96.
56. Ogawa E, Sato Y, Minagawa A, Okuyama R. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment. 2018 Mar;45(3):264-272.
57. Schön MP, Boehncke WH. Psoriasis. *N Engl J Med*. 2005 May 5;352(18):1899-912.
58. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014 Aug;28 Suppl 5:13-6. doi: 10.1111/jdv.12561.

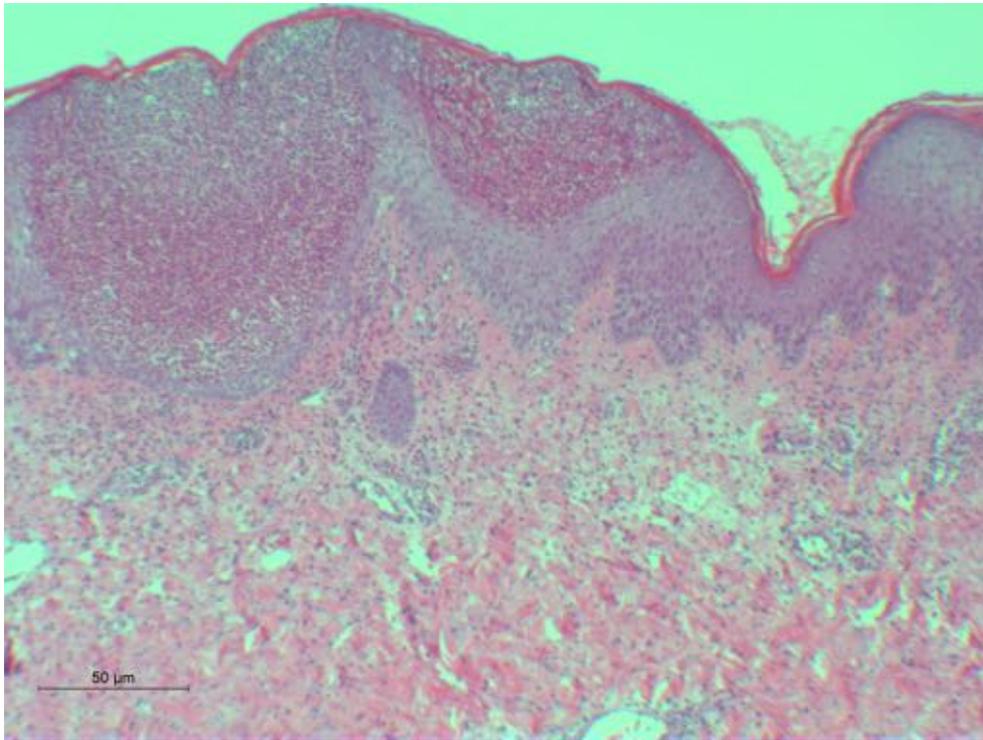
59. Serena Gianfaldoni, Georgi Tchernev, Uwe Wollina, and Torello Lotti: Pustular Palmoplantar Psoriasis Successfully Treated with Nb-UVB Monochromatic Excimer Light: A Case-Report Open Access Maced J Med Sci. 2017 Jul 25; 5(4): 462–466. Published online 2017 Jul 19. doi: 10.3889/oamjms.2017.080 PMID: 28785333
60. P. Altmeyer: Psoriasis pustulosa. In: Die Online-Enzyklopädie der Dermatologie, Venerologie, Allergologie und Umweltmedizin. URL: <http://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/artikel?id=3361>.
61. Lowell A. Goldsmith, Stephen I. Katz, Barbara A. Gilchrest, Amy S. Paller, David J. Leffell, Klaus Wolff. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 8th Edition. 2012; 21:253-259.
62. Fitzpatrick's Dermatology 9th Edition. 2019; Part 4:457-497.
63. Lancet. 2015 Sep 5;386(9997):983-94. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61909-7. Epub 2015 May 27.
64. International Psoriasis Council [Internet]: [https:// www.psoriasisCouncil.org](https://www.psoriasisCouncil.org).
65. Wilma Lambert. Psoriasis Epidemiology, Diagnosis and Management Strategies. 2016; 1:17-18.
66. Asumalahti K et al: Genetic analysis of PSORS1 distinguishes guttate psoriasis and palmoplantar pustulosis. J Invest Dermatol 120:627, 2003.
67. Michaelsson G et al: The psoriasis variant palmoplantar pustulosis can be improved after cessation of smoking. J Am Acad Dermatol 54:737, 2006.
68. Sevrain M, Richard MA, Barnetche T, et al. Treatment for palmoplantar pustular psoriasis: systematic literature review, evidence-based recommendations and expert opinion. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2014;28(suppl 5):13-16.

69. Takahara M. Clinical outcome of tonsillectomy for palmoplantar pustulosis and etiological relationship between palmoplantar pustulosis and tonsils. *Adv Otorhinolaryngol.* 2011;72:86-88.
70. Michaelsson G, Gustafsson K, Hagforsen E. The psoriasis variant palmoplantar pustulosis can be improved after cessation of smoking. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(4):737-738.
71. Raposo I, Torres T. Palmoplantar Psoriasis and Palmoplantar Pustulosis: Current Treatment and Future Prospects. *Am J Clin Dermatol.* 2016 Aug;17(4):349-58. doi: 10.1007/s40257-016-0191-7.
72. Elahmed HH. Rapid improvement of palmoplantar psoriasis after cessation of smoking. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2013;13: 188–9.
73. Benjegerdes KE, Hyde K, Kivelevitch D, Mansouri B. Pustular psoriasis: pathophysiology and current treatment perspectives. *Psoriasis (Auckl).* 2016 Sep 12;6:131-144. doi: 10.2147/PTT.S98954. eCollection 2016.
74. Morales-Munera C, Vilarrasa E, Puig L. Efficacy of ustekinumab in refractory palmoplantar pustular psoriasis. *Br J Dermatol.* 2013;168(4):820–824.
75. Furue K1, Yamamura K, Tsuji G, Mitoma C, Uchi H, Nakahara T, Kido-Nakahara M, Kadono T, Furue M. Highlighting Interleukin-36 Signalling in Plaque Psoriasis and Pustular Psoriasis. *Acta Derm Venereol.* 2018 Jan 12;98(1):5-13. doi: 10.2340/00015555-2808.
76. Bovenschen HJ, van de Kerkhof PC, van Erp PE, Woestenenk R, Joosten I, Koenen HJ. Foxp3+ regulatory T cells of psoriasis patients easily differentiate into IL-17A-producing cells and are found in lesional skin. *J Invest Dermatol.* 2011 Sep;131(9):1853-60. doi: 10.1038/jid.2011.139. Epub 2011 Jun 9.

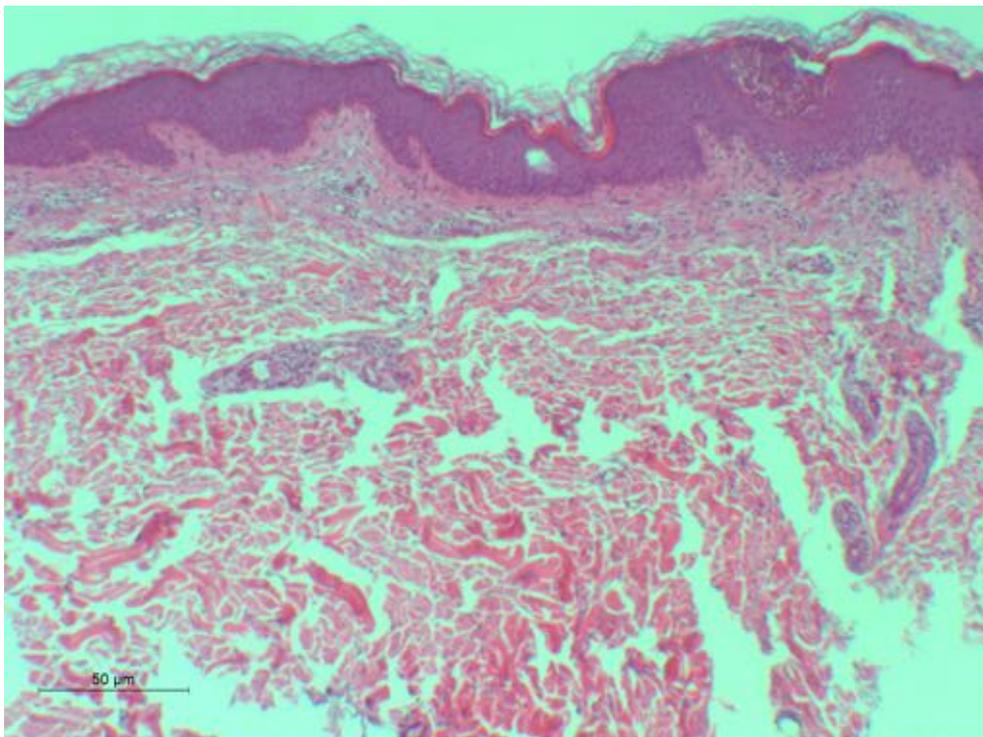
77. Paula T. Kuo, Zhen Zeng, Nazhifah Salim, Stephen Mattarollo, James W. Wells, and Graham R. Leggatt. The Role of CXCR3 and Its Chemokine Ligands in Skin Disease and Cancer. Published online 2018 Sep 25. doi: 10.3389/fmed.2018.00271.
78. Chen SC¹, de Groot M, Kinsley D, Lavery M, McClanahan T, Arreaza M, Gustafson EL, Teunissen MB, de Rie MA, Fine JS, Kraan M. Expression of chemokine receptor CXCR3 by lymphocytes and plasmacytoid dendritic cells in human psoriatic lesions. *Arch Dermatol Res*. 2010 Mar;302(2):113-23. doi: 10.1007/s00403-009-0966-2. Epub 2009 Jun 11.
79. Johnston A, Xing X, Wolterink L, Barnes DH, Yin Z, Reingold L, Kahlenberg JM, Harms PW, Gudjonsson JE. IL-1 and IL-36 are dominant cytokines in generalized pustular psoriasis. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Jul;140(1):109-120. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.056. Epub 2016 Dec 31.
80. Bachelez H, Choon SE, Marrakchi S, et al. Inhibition of the IL-36 Pathway for the Treatment of Generalized Pustular Psoriasis. *N Engl J Med* 2019; 380:(10).
81. Krueger JG, Bachelez H, Choon SE, et al. The therapeutic efficacy of BI 655130, an anti-interleukin-36 receptor antibody, in patients with acute generalized pustular psoriasis is associated with the downregulation of inflammatory and tissue remodeling genes in lesional skin.

Anhang histologische Übersichtsbilder; HE-Färbung

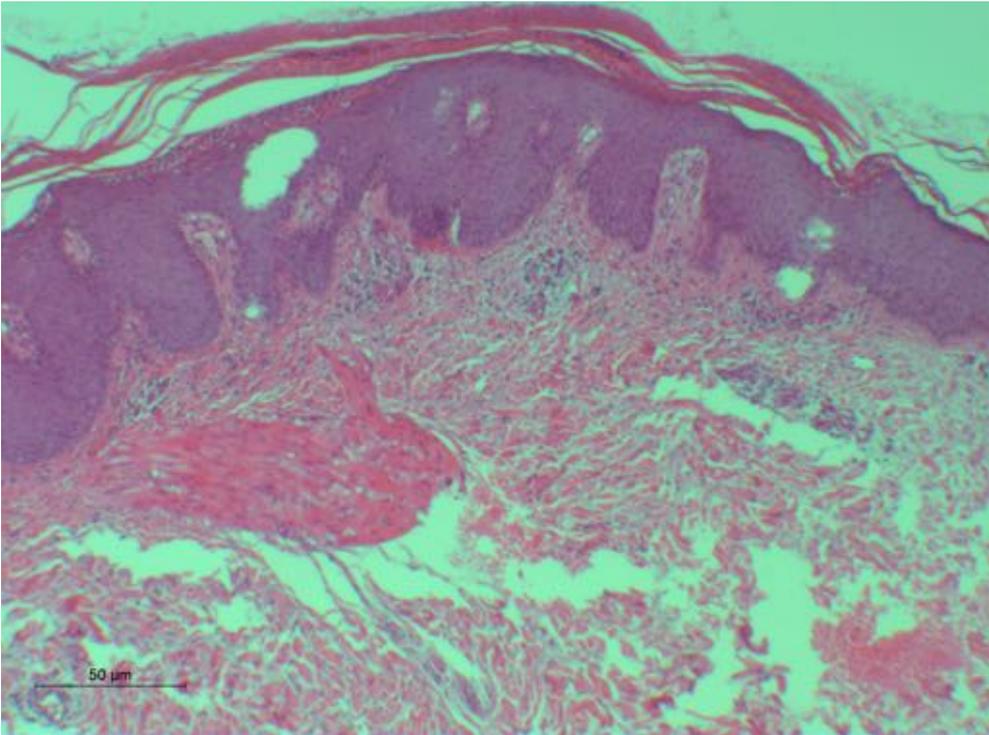
Patient 1 (weiblich, 56 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



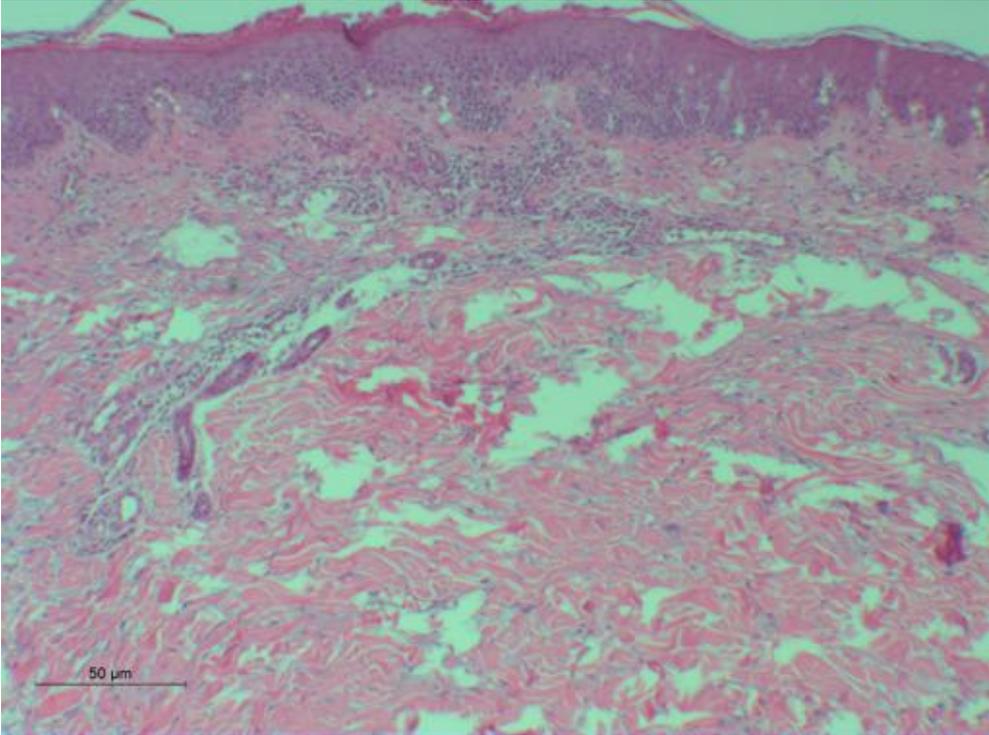
Patient 2 (weiblich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



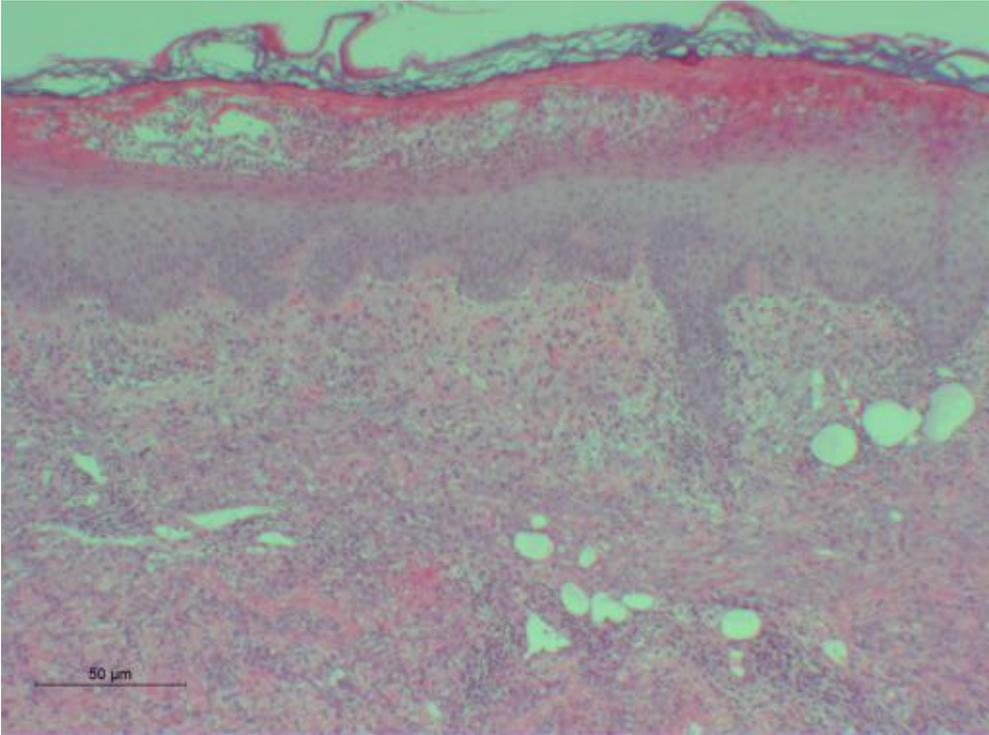
Patient 3 (weiblich, 23 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



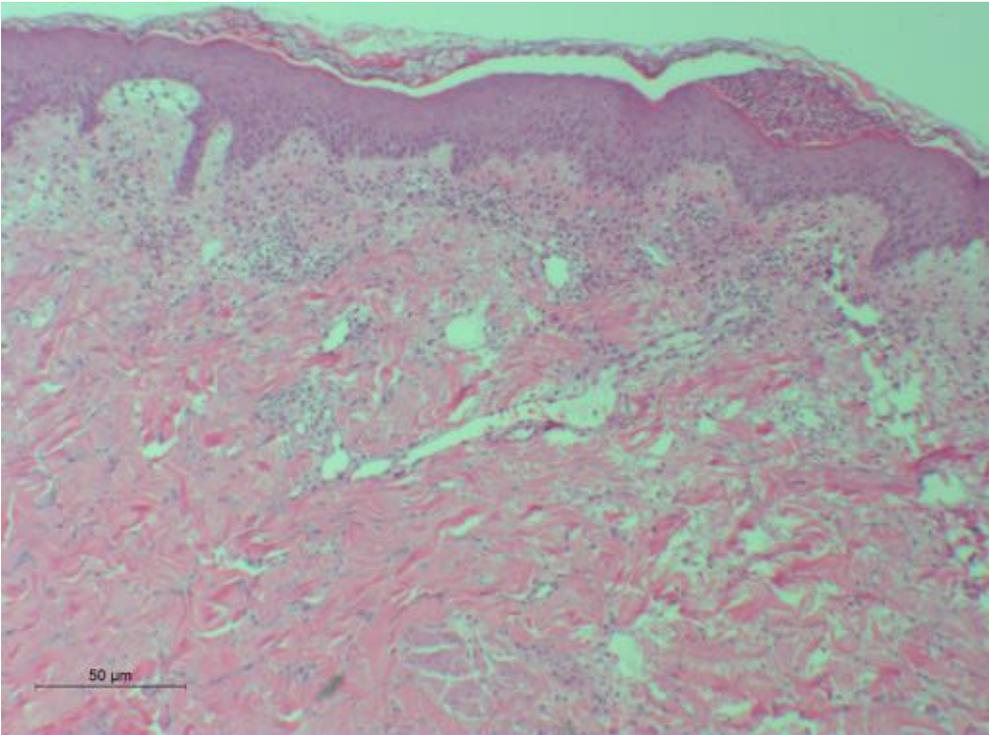
Patient 4 (männlich, 30 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



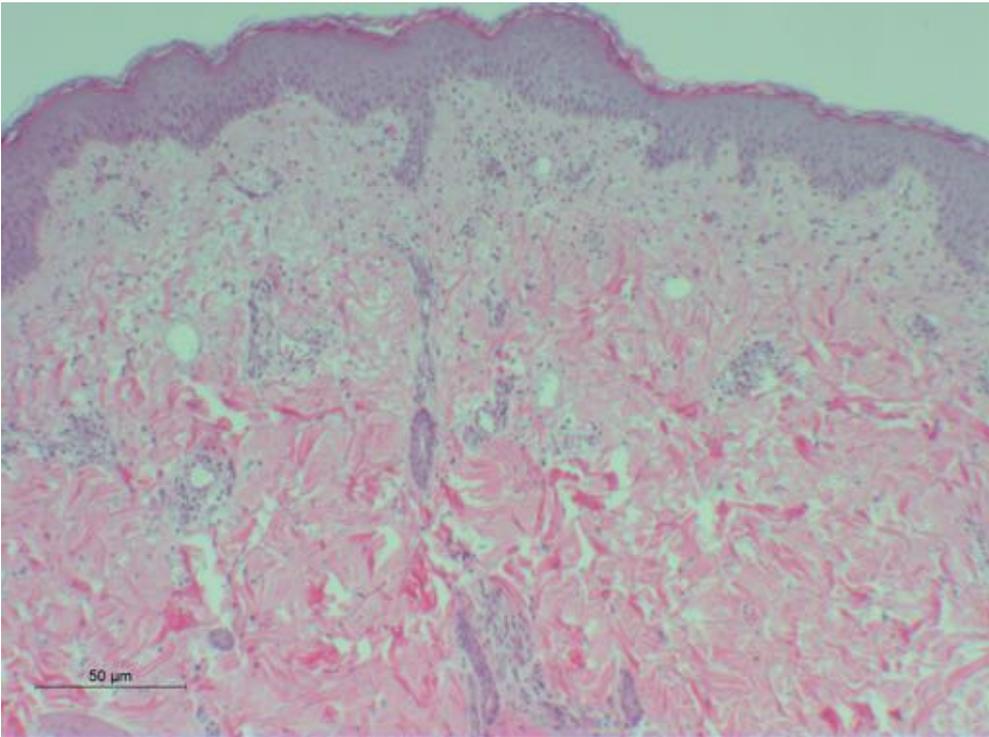
Patient 5 (männlich, 55 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



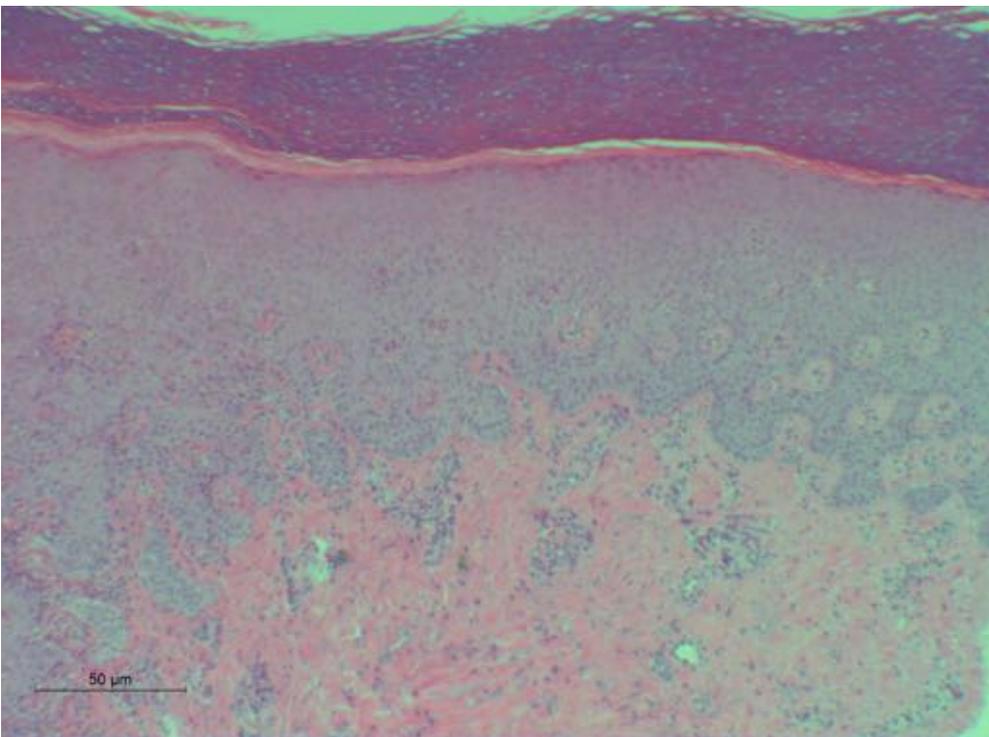
Patient 6 (weiblich, 31 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



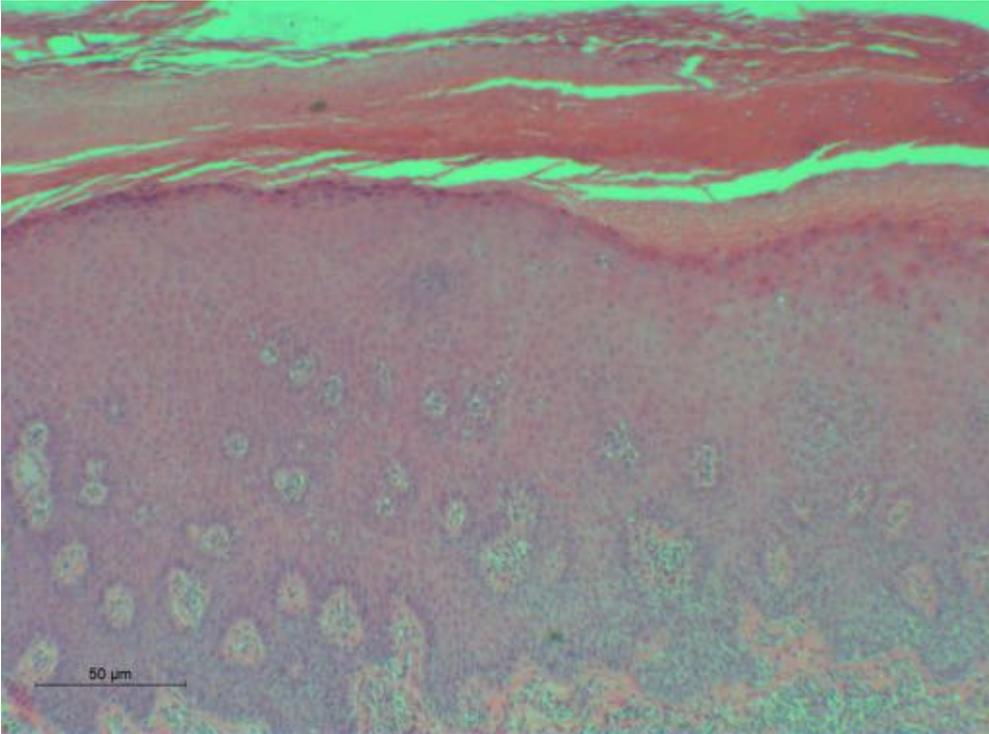
Patient 7 (weiblich, 61 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



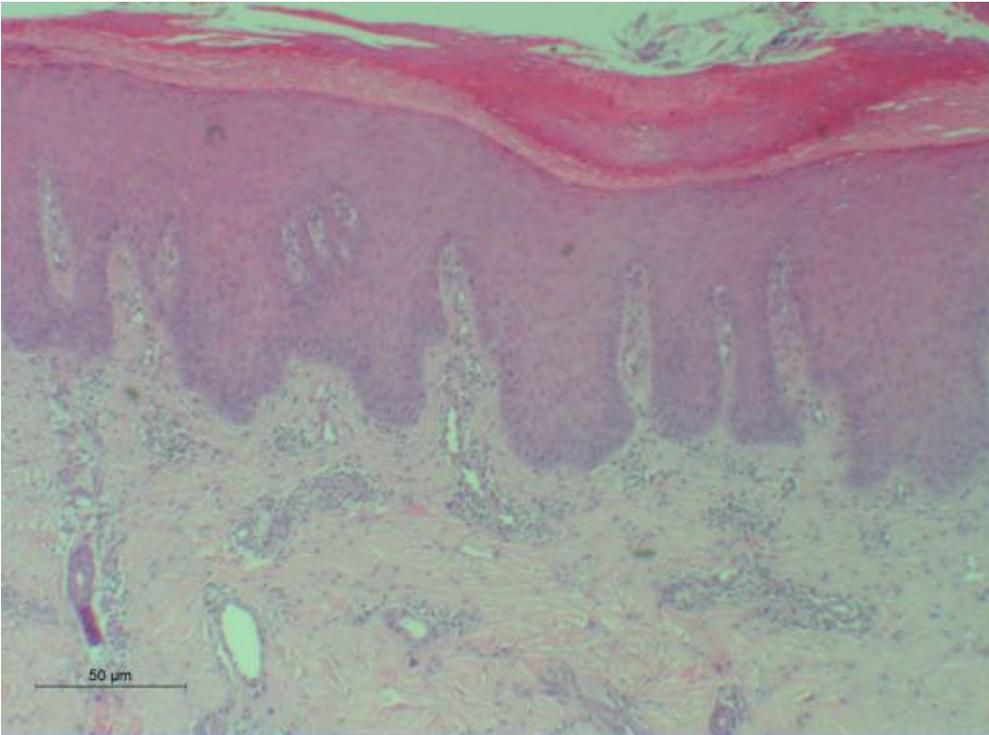
Patient 8 (weiblich, 54 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



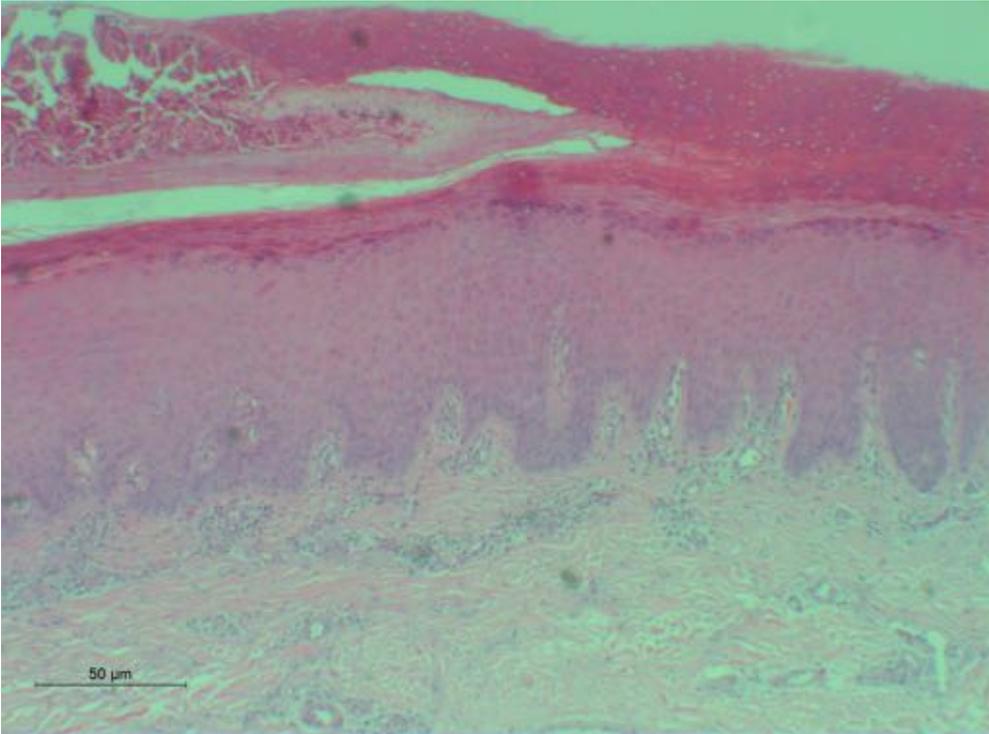
Patient 9 (weiblich, 35 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



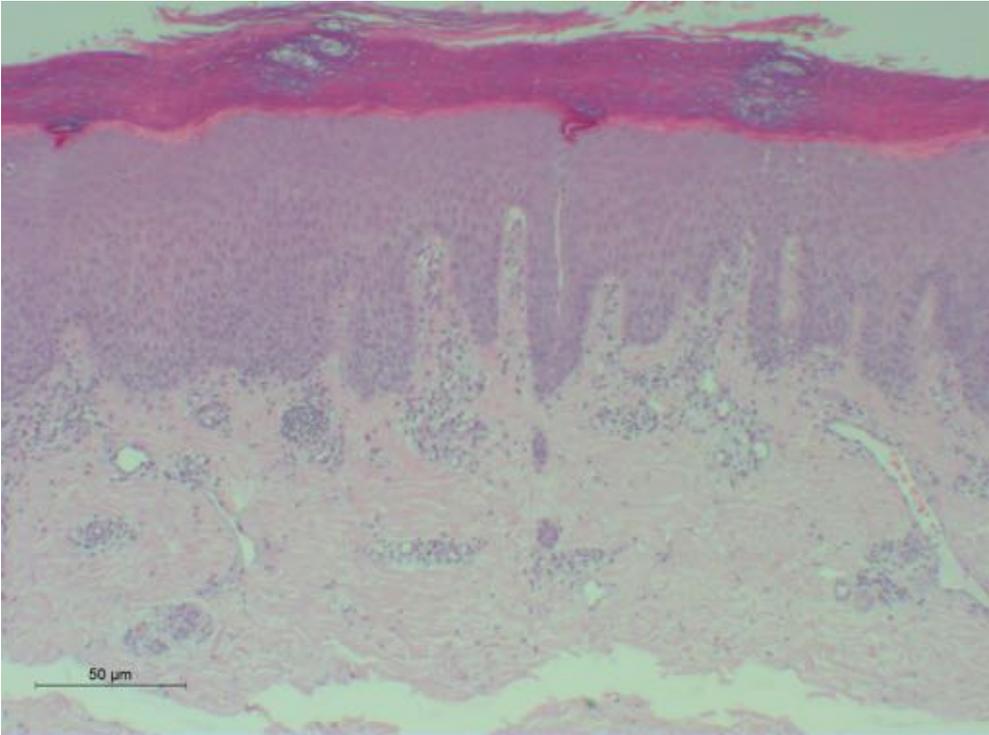
Patient 10 (weiblich, 48 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



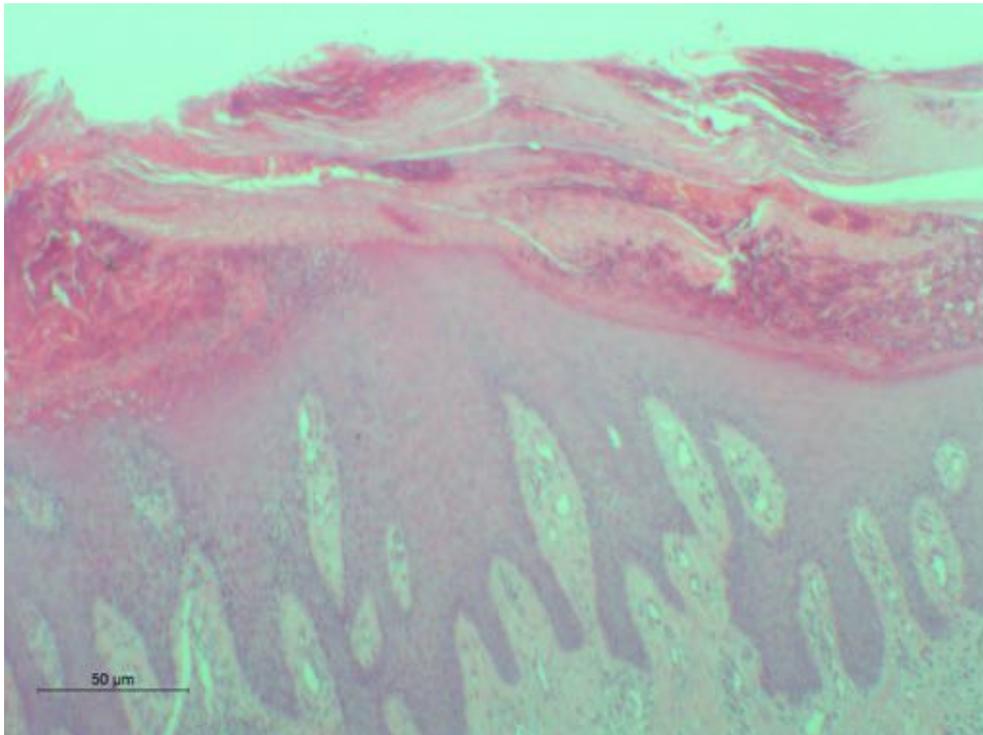
Patient 11 (männlich, 36 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



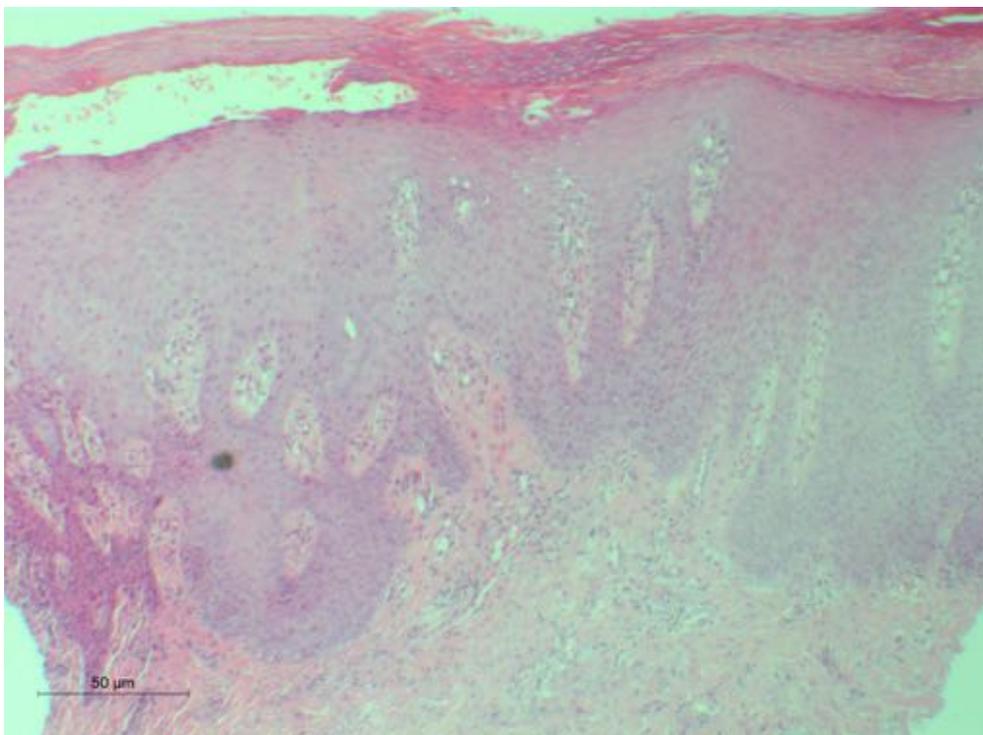
Patient 12 (männlich, 62 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



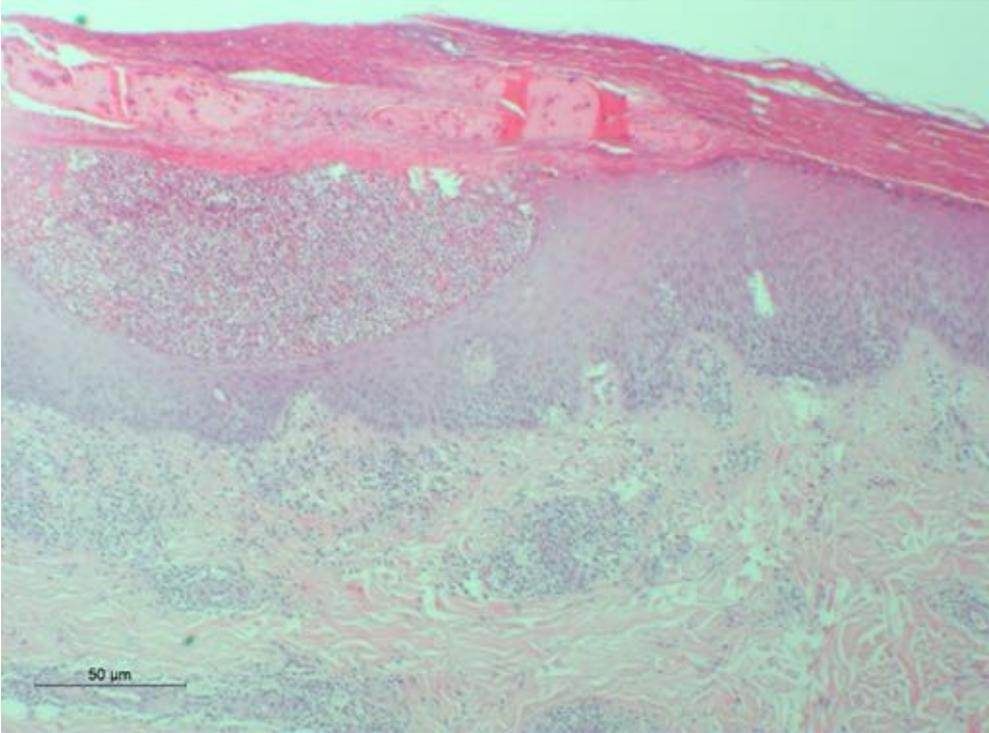
Patient 13 (männlich, 41 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



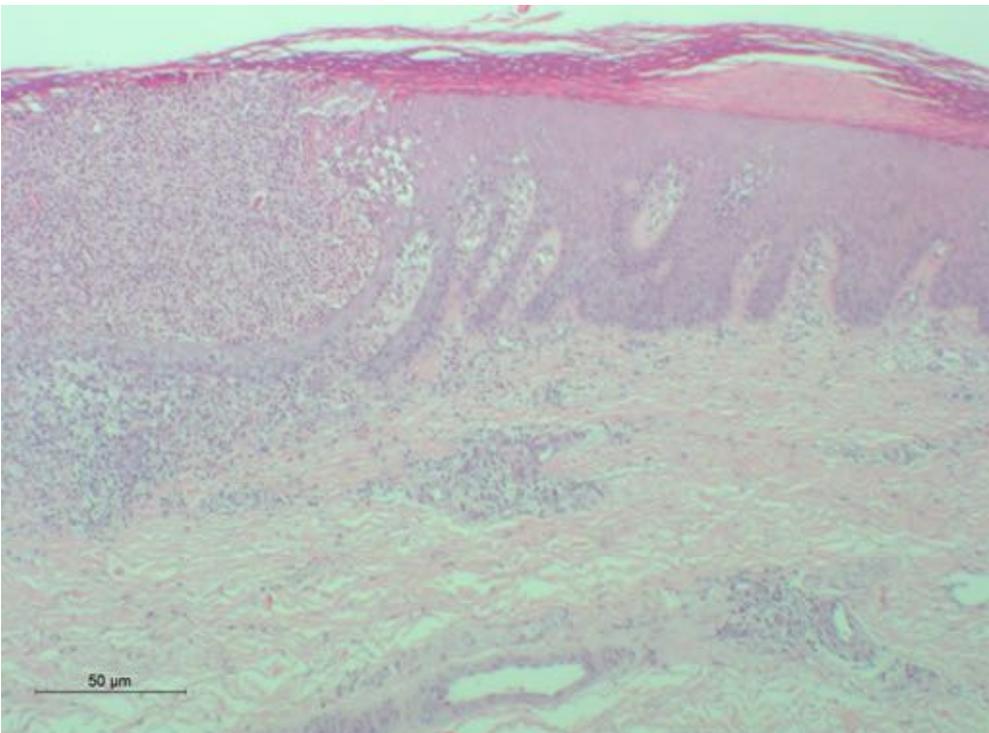
Patient 14 (weiblich, 72 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



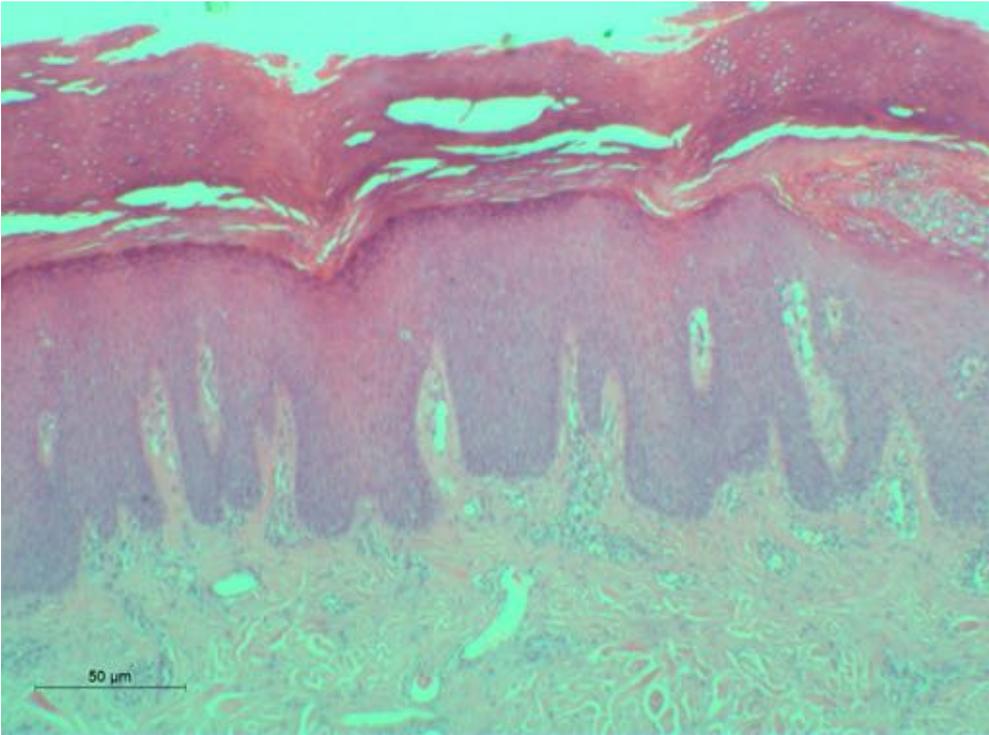
Patient 15 (männlich, 64 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



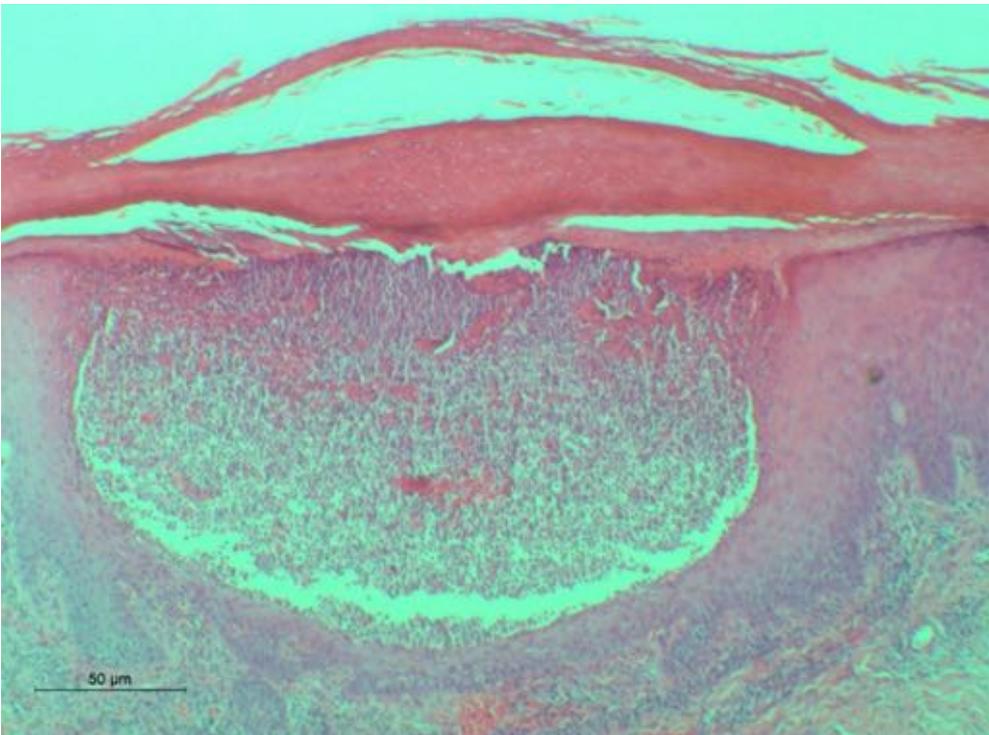
Patient 16 (männlich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



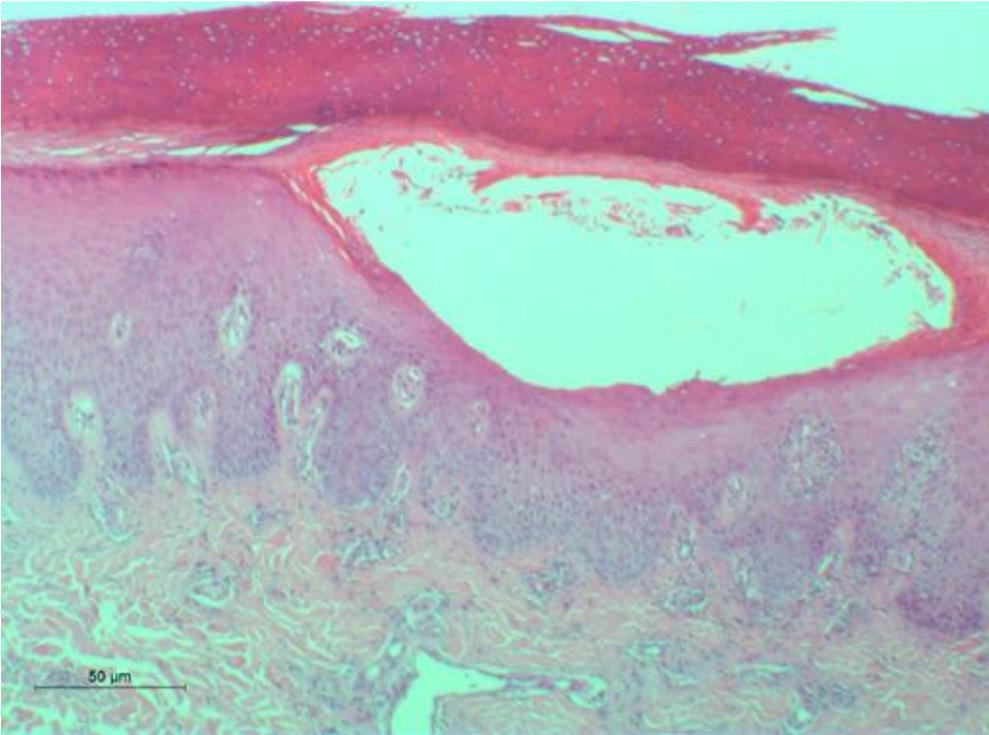
Patient 17 (männlich, 53 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



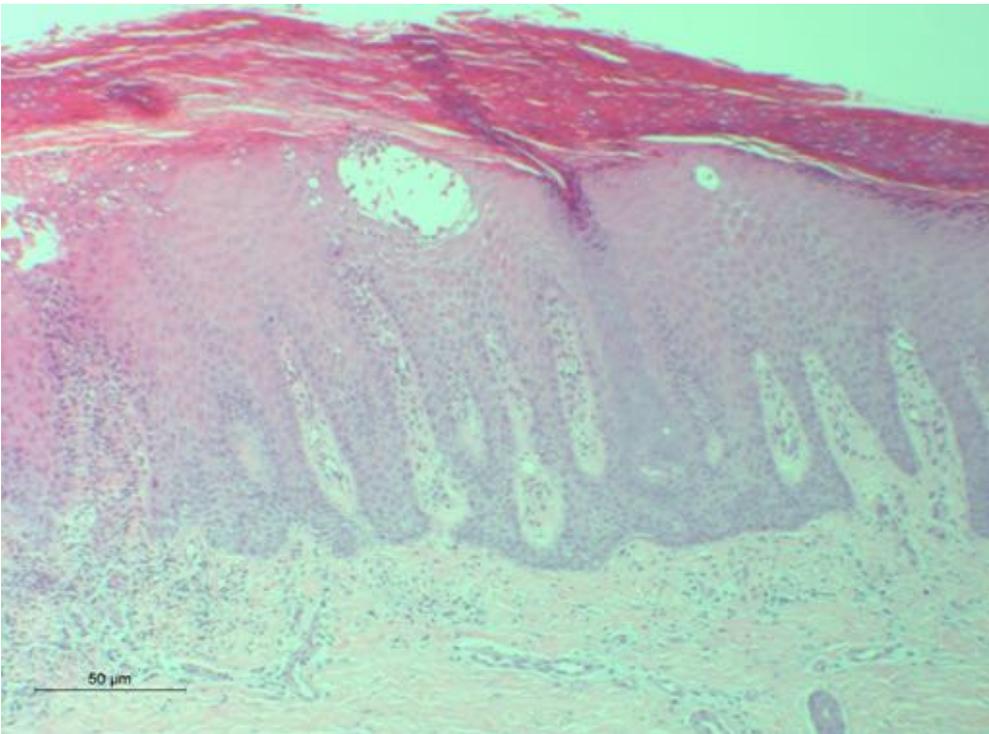
Patient 18 (weiblich, 50 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



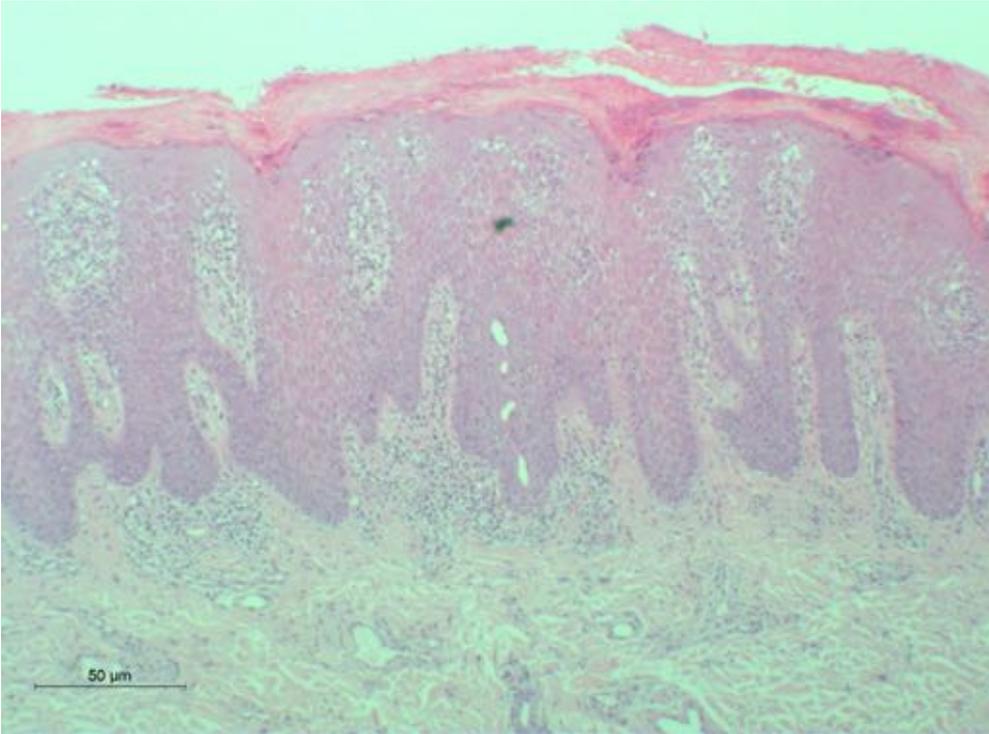
Patient 19 (männlich, 46 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



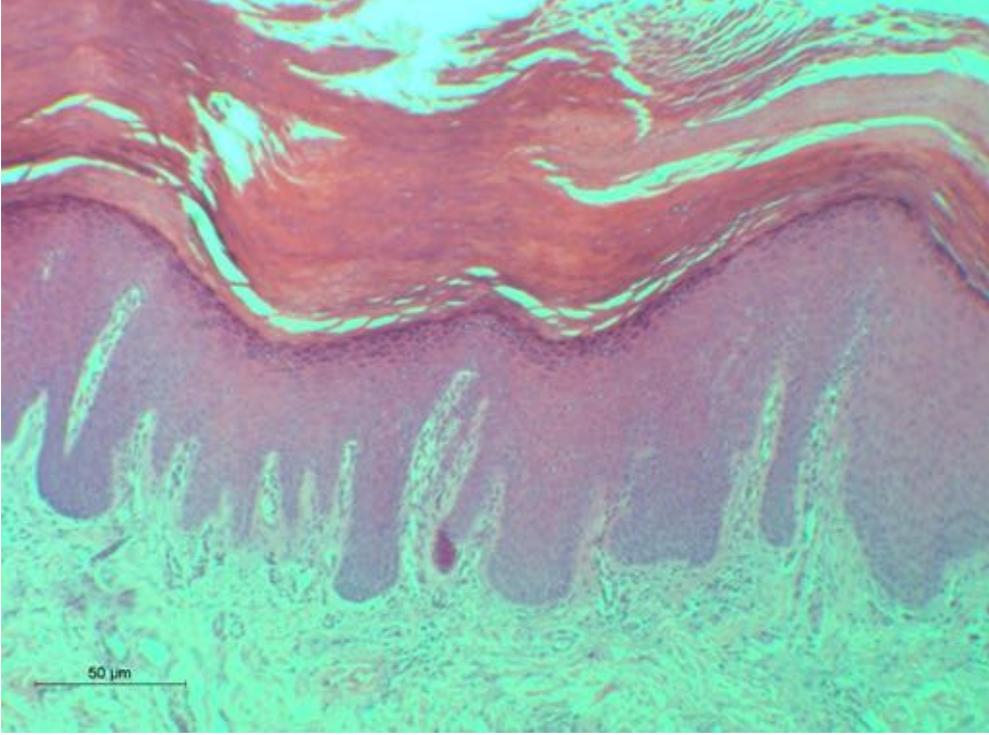
Patient 20 (weiblich, 43 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



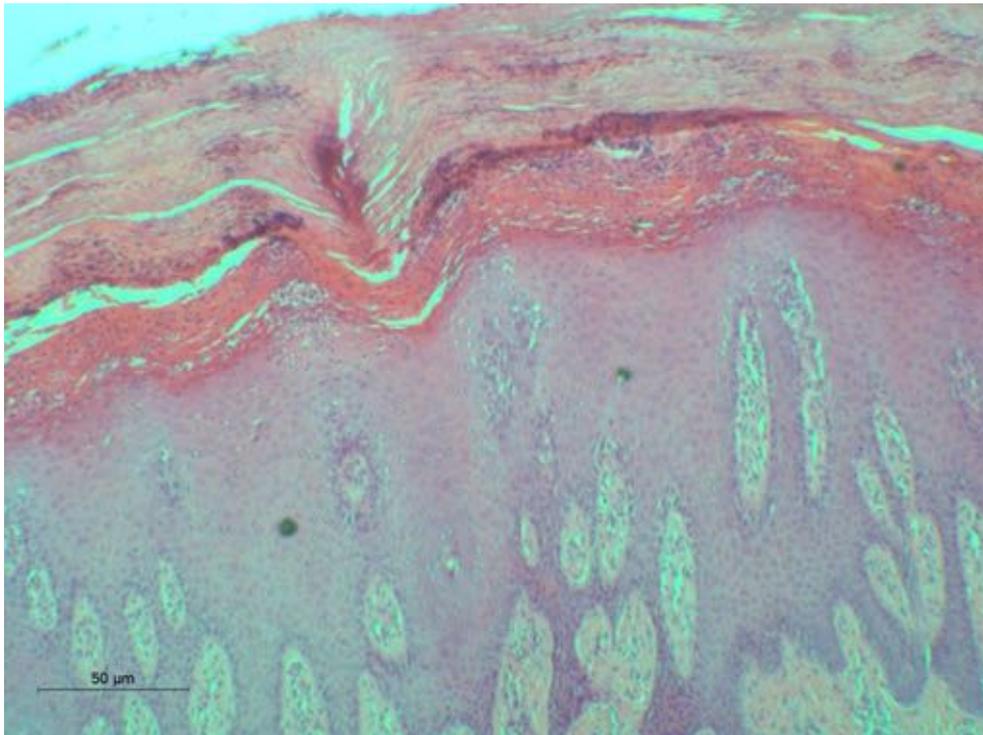
Patient 21 (männlich, 59 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



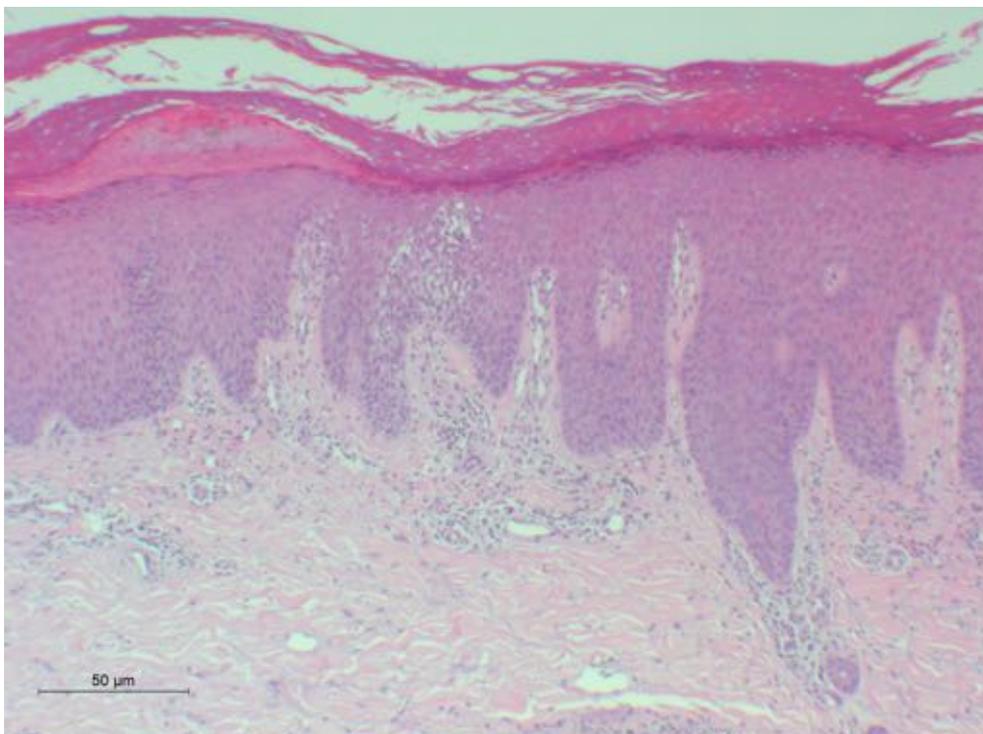
Patient 22 (weiblich, 47 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



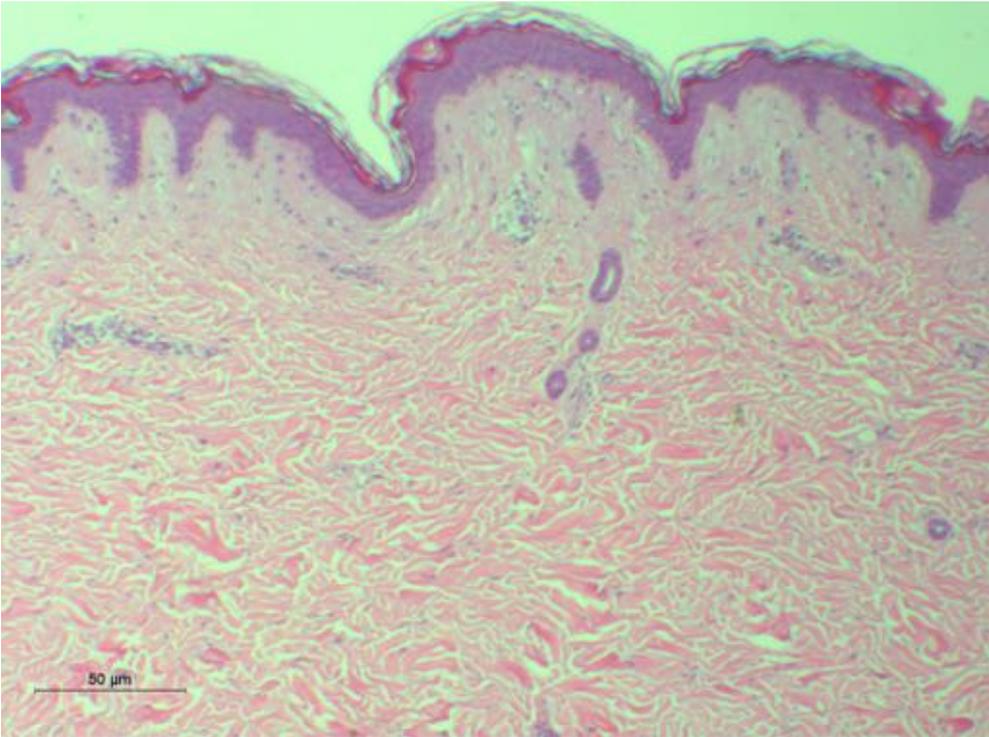
Patient 23 (weiblich, 31 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



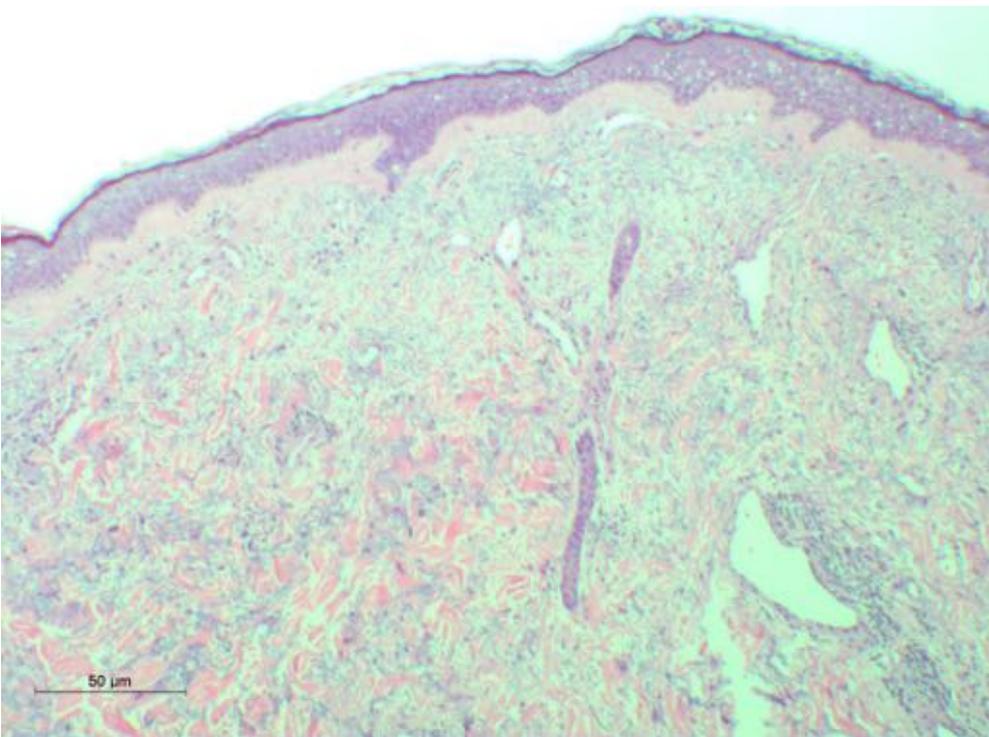
Patient 24 (weiblich, 33 Jahre, Psoriasis palmoplantaris)



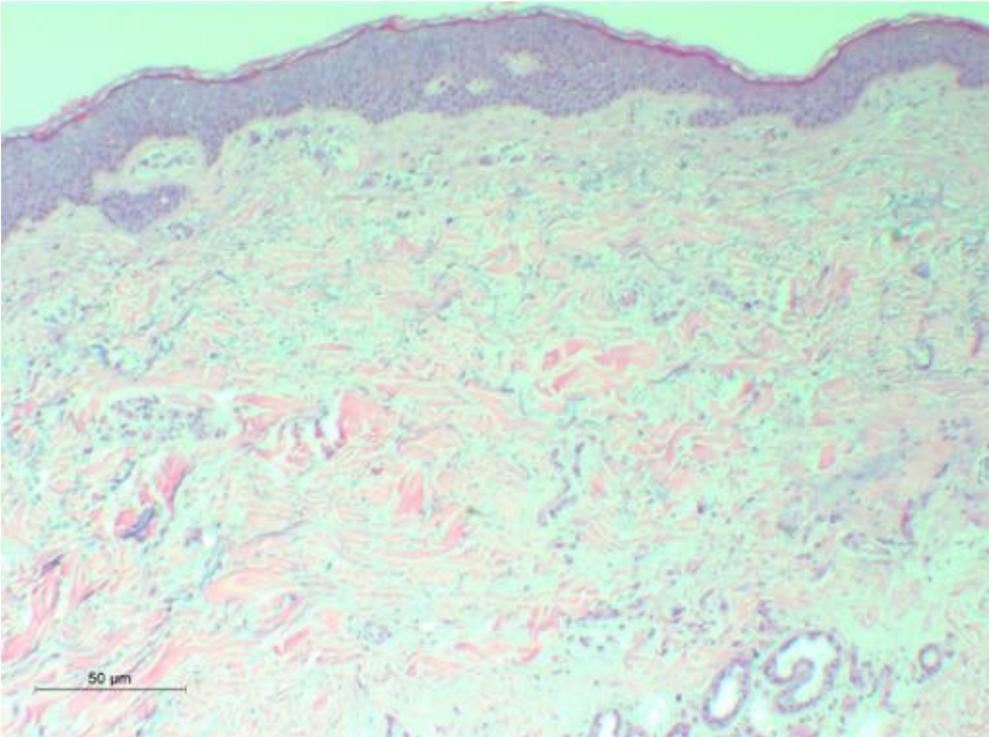
Patient 25 (männlich, 47 Jahre, Kontrollgruppe)



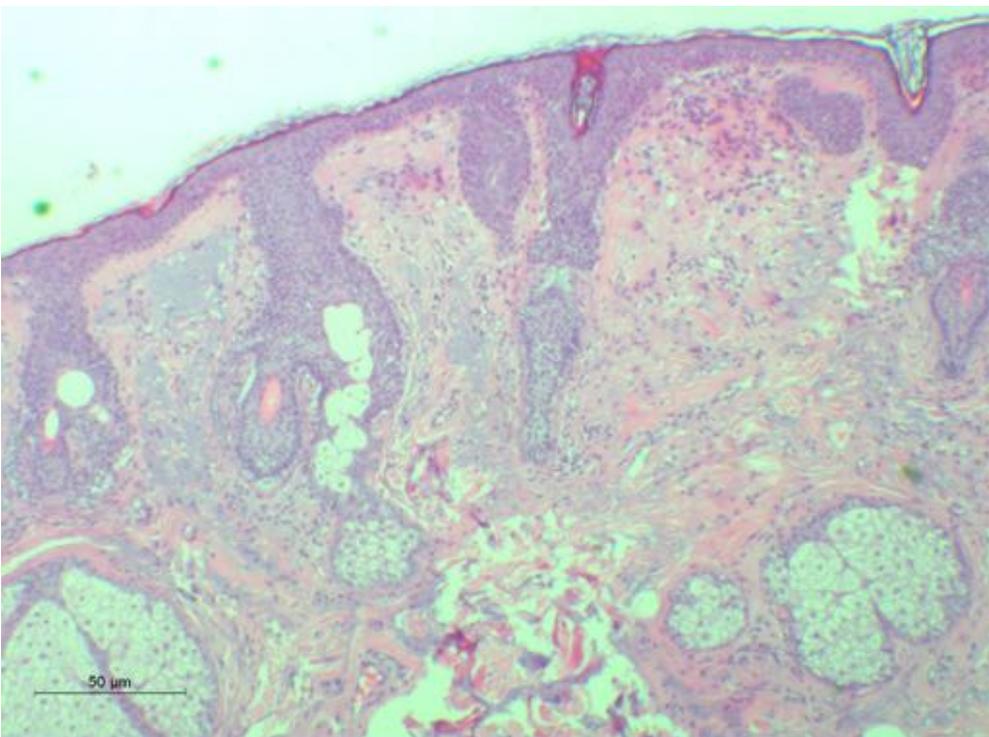
Patient 26 (männlich, 51 Jahre, Kontrollgruppe)



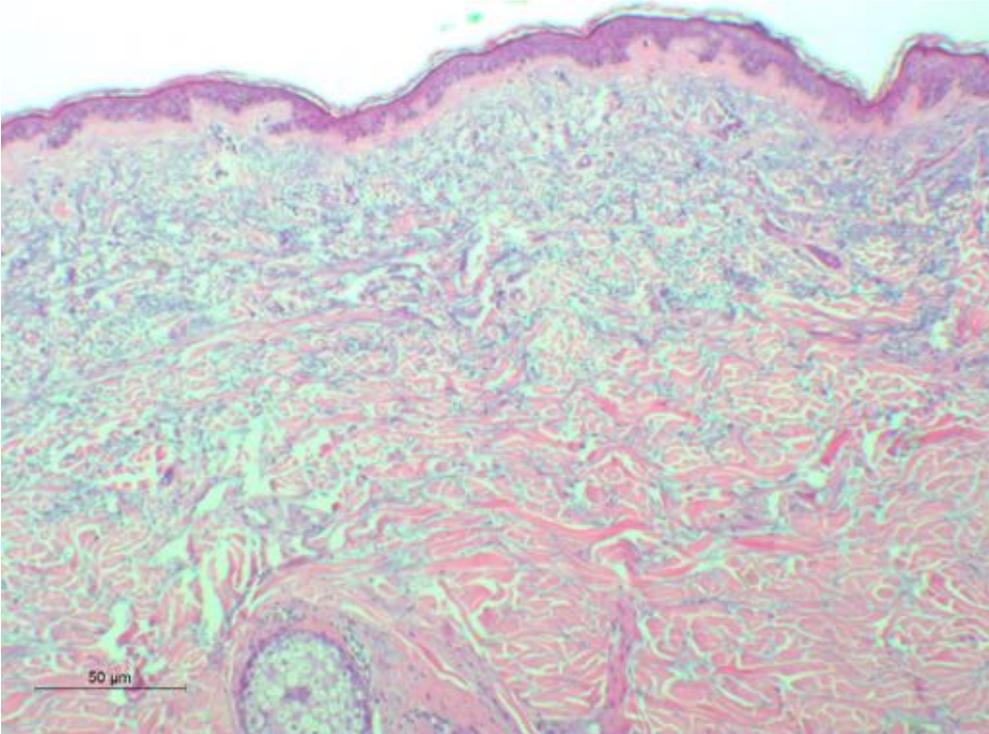
Patient 27 (männlich, 43 Jahre, Kontrollgruppe)



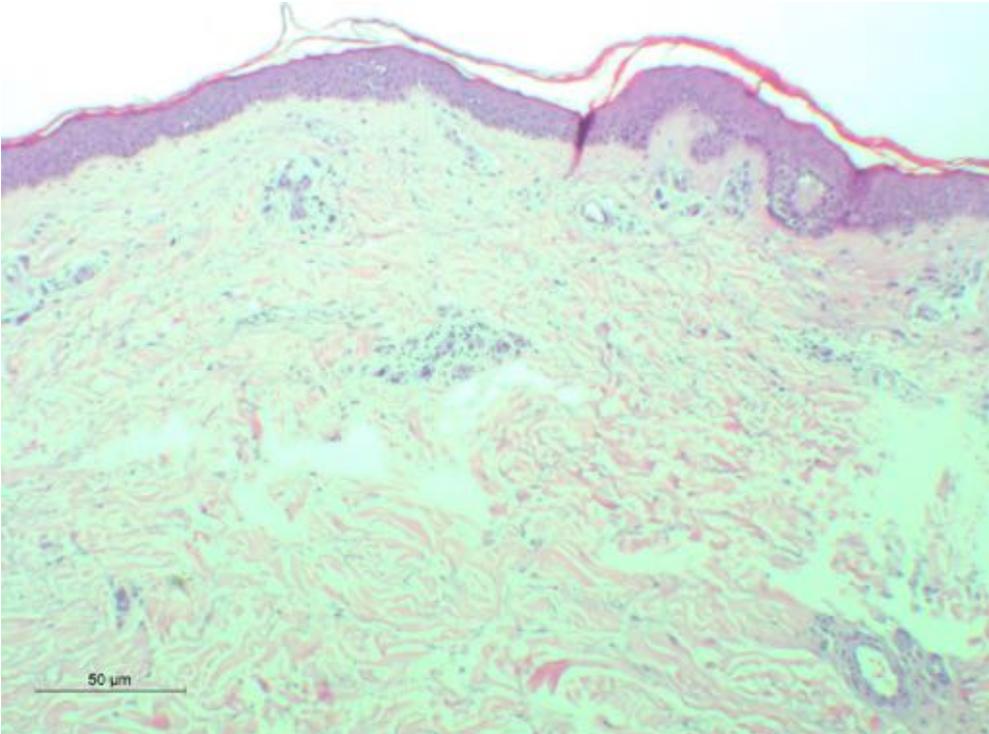
Patient 28 (weiblich, 44 Jahre, Kontrollgruppe)



Patient 29 (männlich, 39 Jahre, Kontrollgruppe)



Patient 30 (männlich, 63 Jahre, Kontrollgruppe)



Danksagung

Abschließend möchte ich mich ganz herzlich bei all denen bedanken, die zu der Entstehung und dem Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Ohne deren Unterstützung und Hilfe wäre die Anfertigung dieser Promotionsschrift nicht zustande gekommen.

Bei der gesamten Forschungsgruppe möchte ich mich für die freundliche Aufnahme und die Hilfsbereitschaft bei allen Fragestellungen und Problemen bedanken.