

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

Immunhistologische Analyse der proinflammatorischen Zellen des  
Immunsystems bei Patienten mit Porokeratosis

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der  
Zahnmedizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Seda Özdemir  
aus Wiesbaden

Mainz, 2021

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion:

06. Juli 2021



---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	<b>Fragestellungen dieser Arbeit</b> .....	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Literaturdiskussion</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Porokeratosis</b> .....	<b>3</b>
2.1.1	Allgemeine Informationen .....	3
	Definition.....	3
	Epidemiologie .....	3
2.1.2	Ätiologie und Pathogenese .....	4
2.1.3	Klinische Erscheinungsformen.....	6
	Porokeratosis Mibelli .....	8
	Porokeratosis superficialis disseminata actinica .....	9
	Porokeratosis linearis unilateralis .....	11
	Porokeratosis palmoplantaris et disseminata .....	13
	Porokeratosis punctata.....	14
2.1.4	Differentialdiagnosen .....	15
2.1.5	Therapie .....	15
	Topische Vitamin D3-Analoga .....	16
	Topische und systemische Retinoide .....	17
	5-Fluorouracil.....	18
	Imiquimod .....	19
	Ingenolmebutat.....	20
	Diclofenac.....	20
	Cantharidenpflaster .....	20
	Immunsuppressiva .....	21
	Kortikosteroide.....	21
	Tacrolimus .....	22
	Laserbehandlungen.....	22

---

Grenzstrahlenbehandlung .....	25
Phototherapien .....	27
Chirurgische Eingriffe .....	29
Kryotherapie .....	30
2.1.6 Histologie .....	31
2.1.7 Diagnostik .....	33
<b>2.2 Maligne Transformation der Porokeratosis .....</b>	<b>34</b>
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1 Patienten.....</b>	<b>37</b>
<b>3.2 Probeentnahme.....</b>	<b>37</b>
<b>3.3 Paraffinierung und Schnittanfertigung.....</b>	<b>37</b>
3.3.1 Material .....	37
Geräte.....	37
Chemikalien.....	38
3.3.2 Methode .....	38
<b>3.4 Immunhistochemische Färbungen .....</b>	<b>39</b>
3.4.1 Material .....	39
Geräte.....	39
Chemikalien.....	39
Antikörper .....	40
3.4.2 Methoden .....	41
Antigendemaskierung.....	42
Färbeablauf .....	42
<b>3.5 Immunhistochemische Verfahren .....</b>	<b>44</b>
3.5.1 Monoklonale Antikörper .....	44
3.5.2 Herstellung monoklonaler Antikörper .....	45
<b>3.6 Analyse der angefärbten Objektträger .....</b>	<b>49</b>
3.6.1 Material .....	49

---

3.6.2 Methoden .....	49
Erstellung der Bilder .....	49
Analyse der Bilder .....	50
<b>3.7 Statistik.....</b>	<b>53</b>
3.7.1 Material .....	53
3.7.2 Methoden .....	53
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1 Übersicht.....</b>	<b>54</b>
<b>4.2 Histologische Schnitte .....</b>	<b>56</b>
4.2.1 Patient 1 (männlich) .....	56
4.2.2 Patient 2 (weiblich).....	58
4.2.3 Patient 3 (weiblich).....	60
4.2.4 Patient 4 (männlich) .....	62
4.2.5 Patient 5 (männlich) .....	64
4.2.6 Patient 6 (männlich) .....	66
4.2.7 Patient 7 (männlich) .....	68
4.2.8 Patient 8 (männlich) .....	70
4.2.9 Patient 9 (weiblich).....	72
4.2.10 Patient 10 (weiblich).....	74
4.2.11 Patient 11 (männlich) .....	76
4.2.12 Patient 12 (männlich) .....	78
4.2.13 Gesundes Individuum Nr. 1.....	80
4.2.14 Gesundes Individuum Nr. 2.....	82
4.2.15 Gesundes Individuum Nr. 3.....	84
4.2.16 Gesundes Individuum Nr. 4.....	86
4.2.17 Gesundes Individuum Nr. 5.....	88
4.2.18 Gesundes Individuum Nr. 6.....	90
<b>4.3 Antikörperauszählung.....</b>	<b>92</b>

---

<b>4.3.1 Antikörperauszählung bei allen Patienten mit Porokeratosis</b> .....	<b>92</b>
4.3.1.1 Übersicht der Mittelwerte der Antikörperauszählungen .....	92
4.3.1.2 Graphische Darstellung: Antikörperverteilung bei Porokeratosis Patienten .....	92
<b>4.3.2 Antikörperauszählung bei allen Individuen mit gesunder Haut (Kontrollgruppe)</b> .....	<b>93</b>
4.3.2.1 Übersicht der Mittelwerte der Antikörperauszählungen .....	93
4.3.2.2 Graphische Darstellung: Antikörperverteilung der Kontrollgruppe .....	93
<b>4.3.3 Gegenüberstellung der Antikörperauszählung: Porokeratosis vs Kontrollgruppe</b> .....	<b>94</b>
<b>4.3.4 T-Test: Signifikanz der Unterschiede bei Porokeratosis und der gesunden Haut (Kontrollgruppe)</b> .....	<b>95</b>
<b>5 Diskussion</b> .....	<b>96</b>
<b>5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse</b> .....	<b>96</b>
<b>5.2 Diskussion der Methoden</b> .....	<b>97</b>
<b>5.3 Diskussion der Ergebnisse</b> .....	<b>100</b>
<b>6 Zusammenfassung</b> .....	<b>112</b>
<b>7 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>113</b>
<b>8 Anhang</b> .....	<b>122</b>
<b>8.1 Histologische Übersichtsbilder; HE-Färbung</b> .....	<b>122</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>131</b>
<b>Lebenslauf</b> .....	<b>132</b>

## Abkürzungsverzeichnis

bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CD	Cluster of Differentiation
CK	Zytokeratin
cm	Zentimeter
COX-2	Cyclooxygenase-2
DAB	Diaminobenzidin
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure/ Ethylendiamintetraacetat
Er:YAG-Laser	Erbium:Yttrium-Aluminium-Garnet Laser
FGF- $\beta$	Fibroblast Growth Factor $\beta$
Gy	Gray
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	Human Leukocyte Antigen
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
INF	Interferon
IPL	Intensives gepulstes Licht
mdm2	mouse double minute 2 homolog
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIB-1	Molecular Immunology Borstel-1
mm	Millimeter
Nd-YAG-Laser	Neodym:Yttrium-Aluminium-Garnet Laser
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
pm	Pikometer
rad	Radiant
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor $\beta$

---

TH	T-Helferzellen
TNF	Tumornekrosefaktor
TUNEL	TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling
UV-Strahlung	ultraviolette Strahlung
UVA	ultraviolette Strahlung vom Typ A
UVB	ultraviolette Strahlung vom Typ B
z.B.	zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Porokeratosis mit muldenförmigen eingesunkenen Herden (2) .....	8
Abbildung 2: Porokeratosis Mibelli (12).....	9
Abbildung 3: Porokeratosis linearis unilateralis entlang der Blaschko-Linien des Beins (15).....	13
Abbildung 4: Porokeratosis punctata an der Handfläche (15).....	15
Abbildung 5: Histologisches Übersichtsbild (HE-Färbung) vom Porokeratosis Patient 8; kornoide Lamelle in der Epidermis .....	33
Abbildung 6: Schematische Darstellung eines monoklonalen Antikörpers (86) .....	44
Abbildung 7: Klassische Herstellung von monoklonalen Antikörpern (91).....	46
Abbildung 8: Moderne Verfahren zur Herstellung monoklonaler Antikörper (91).....	48
Abbildung 9: Fünf Bildausschnitte des Antikörpers CD3 im Rahmen der Bilderstellung .....	49
Abbildung 10: Farbenbearbeitung mit ImageJ- IHC Profiler (CD3-AK Bildausschnitt 3 als Beispiel) .....	51
Abbildung 11: Bildanalyse mit ImageJ (CD3-AK Bildausschnitt 3 als Beispiel) .....	52
Abbildung 12: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	57
Abbildung 13: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	59
Abbildung 14: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	61
Abbildung 15: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	63
Abbildung 16: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	65
Abbildung 17: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 6 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	67
Abbildung 18: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 7 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	69
Abbildung 19: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 8 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	71
Abbildung 20: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 9 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	73

---

Abbildung 21: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 10 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	75
Abbildung 22: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 11 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	77
Abbildung 23: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 12 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler .....	79
Abbildung 24: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 1, Fehlerindikator: Standardfehler .....	81
Abbildung 25: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 2, Fehlerindikator: Standardfehler .....	83
Abbildung 26: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 3, Fehlerindikator: Standardfehler .....	85
Abbildung 27: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 4, Fehlerindikator: Standardfehler .....	87
Abbildung 28: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 5, Fehlerindikator: Standardfehler .....	89
Abbildung 29: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 6, Fehlerindikator: Standardfehler .....	91
Abbildung 30: Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Porokeratosis; Fehlerindikator: Standardfehler .....	92
Abbildung 31: Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Individuen mit gesunder Haut (Kontrollgruppe); Fehlerindikator: Standardfehler .....	93
Abbildung 32: Antikörperauszählung. Vergleich der Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Porokeratosis und allen gesunden Individuen (Kontrollgruppe), Fehlerindikator: Standardfehler .....	94



---

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mittelwerte der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Porokeratosis .....	92
Tabelle 2: Mittelwerte der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Individuen mit gesunder Haut (Kontrollgruppe). 93	
Tabelle 3: T- Test (statistisch relevante Unterschiede bei Porokeratosis und der Kontrollgruppe).....	95

## 1 Einleitung

Die Porokeratosis ist eine Verhornungsstörung der Epidermis mit unterschiedlichen klinischen Formen (1). Das klinische Bild der Porokeratosis ist gekennzeichnet durch rundliche, linsengroße, leicht atrophe Erytheme mit einem peripheren hyperkeratotisch-schuppigen Randwall. Eine langsame periphere Ausbreitung der Herde ist typisch (2). Die kornoide Lamelle, eine schlotförmige Parakeratose, ist ein charakteristisches histologisches Merkmal (3, 4).

Die Ätiologie der Porokeratosis ist noch unklar. Auch Behandlungsrichtlinien der Porokeratosis sind immer noch unzureichend (5).

Im Rahmen dieser Arbeit werden Hautproben von zwölf Patienten, die unter einer Porokeratosis leiden, entnommen und mittels histochemischer Methoden angefärbt. Die histochemische Analyse der Porokeratosis erfolgt hierbei mit verschiedenen Antikörpern. Als Vergleich hierzu dienen Hautproben von sechs Individuen, die nicht an Porokeratosis erkrankt sind und somit eine gesunde Haut aufweisen. Auch diese Hautproben wurden mittels histochemischer Methoden angefärbt.

In dieser Arbeit soll die Häufigkeit der Antikörper bei Porokeratosis Patienten und bei Individuen mit gesunder Haut dargestellt und untereinander in Bezug auf die Expression der verschiedenen Antikörper verglichen werden.

Aus dieser Arbeit können Rückschlüsse über die Rolle verschiedener Antikörper am Pathomechanismus der Porokeratosis gezogen werden. Dies soll zum besseren Verständnis des Krankheitsprozesses dienen, um der erfolgreichen Entwicklung eines Pharmakas beizutragen. Außerdem liefert diese Arbeit Erkenntnisse darüber, welche Zellen des Immunsystems an der Entstehung der Porokeratosis beteiligt sind. Durch diese neu gewonnenen Erkenntnisse kann das Immunsystem langfristig gezielter und genauer angegriffen werden. Daraus könnte man bessere Ergebnisse bei der Therapie der Porokeratosis erreichen und die Nebenwirkungen der Patienten lindern. Schließlich ist ein erfolgreiches Therapiekonzept erstrebenswert, um im schlimmsten Fall einer malignen Entartung entgegen zu wirken, da die Entstehung von Basalzellkarzinomen/Basaliomen und Plattenepithelkarzinomen bei Porokeratosis Patienten bereits beschrieben wurde (2). Eine effektive Therapie der Porokeratosis wird die Hautsymptome der Patienten lindern und so zu einer besseren Lebensqualität beitragen.

## **1.1 Fragestellungen dieser Arbeit**

1. Welche Entzündungszellen kommen in den Hautproben von Patienten mit Porokeratosis vor?
2. Wie häufig kommen diese Entzündungszellen vor?
3. In welchem Verhältnis stehen die Entzündungszellen zueinander?
4. Wie häufig sind diese Entzündungszellen im Vergleich zur erkrankten Haut in der normalen Haut exprimiert?
5. Welche Rückschlüsse kann man aus dem Vergleich der Hautproben der Patienten mit Porokeratosis und den Hautproben der gesunden Individuen ziehen?

## **2 Literaturdiskussion**

### **2.1 Porokeratosis**

#### **2.1.1 Allgemeine Informationen**

##### **Definition**

Porokeratosis, auch Porokeratose genannt, ist eine seltene, erworbene oder erbliche Dermatose. Diese Hauterkrankung ist auf eine Verhornungsstörung zurückzuführen (6-8).

Es handelt sich hierbei um eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung (4, 9-11).

Erstmals wurde die Porokeratosis 1893 von Vittorio Mibelli beschrieben (4, 12, 13).

Charakteristisch sind ringförmige, linsengroße oder lineare, gut umschriebene keratotische Plaques. Zudem ist die kornoide Lamelle ein typisches histologisches Merkmal (4, 6, 14).

##### **Epidemiologie**

Da die Porokeratosis nur selten vorkommt, können keine genauen Angaben zur Epidemiologie gemacht werden (2).

Eine Studie aus dem Jahre 2005 geht davon aus, dass bevorzugt Männer an einer Porokeratosis erkranken (4). Selten kann das Auftreten der Porokeratosis bei dunkelhäutigen Menschen beobachtet werden. Insbesondere Italiener und Kaukasier scheinen zu den ethnischen Gruppen zu gehören, die einem höheren Risiko ausgesetzt sind, an einer Porokeratosis zu erkranken (15).

Bei Porokeratosis Patienten besteht eine maligne Degeneration. Dabei führt in 6,9% bis 30% der Fälle die Porokeratosis zu einem Hautkrebs. Meistens werden Plattenepithelkarzinome und seltener Basalzellkarzinome beobachtet (16).

Nach einer Nierentransplantation variiert die Inzidenz an einer Porokeratosis zu erkranken zwischen 0,34 und 10,68% (17). Unter den Organtransplantat Empfängern ist die Porokeratosis superficialis disseminata actinica weit verbreitet (18). Die Inzidenz, dass immunkompetente Porokeratosis Patienten Basalzellkarzinome, Morbus Bowen oder Plattenepithelkarzinome entwickeln, liegt bei etwa 7% (17). Normalerweise tritt die Porokeratosis auf der sonnenexponierten Haut auf. Am häufigsten kann diese seltene Hauterkrankung im fünften Lebensjahrzehnt auftreten.

Jedoch ist auch ein Auftreten in jedem Alter möglich. Hierbei spielt das Geschlecht keine Rolle, da ähnliche Häufigkeiten bei Frauen und Männern beobachtet werden.

In der Regel geht man bei der Porokeratosis von einer erworbenen Erkrankung aus. Allerdings liegt häufig auch eine familiäre Veranlagung vor. Aus diesem Grund könnte auch eine erbliche Komponente eine Rolle spielen (16).

### **2.1.2 Ätiologie und Pathogenese**

Die Ätiopathogenese der Porokeratosis ist noch ungeklärt (10, 11, 13, 15, 17, 19). Allerdings geht man von Mutationen in Genen des Mevalonat-Stoffwechsels aus (3). Bei Patienten, die an einer Porokeratosis superficialis disseminata actinica leiden, wurden Mutationen im Mevalonatkina-Gen auf Chromosom 12q24 beobachtet. Das Mevalonatkina-Gen kodiert für das Enzym Mevalonatkina. Dieses Enzym ist Teil des Cholesterinsyntheseweges und schützt vor durch ultraviolettes Licht induzierten Zelltod (20).

Auch spielt die Immunsuppression bei der Pathogenese der Porokeratosis eine wichtige Rolle. Sie kann den Krankheitsverlauf verschlimmern (12, 17).

Da bereits Langerhans-Zellen und T-Helfer-Zellen in Porokeratosis Mibelli Läsionen nachgewiesen wurden, geht man davon aus, dass immunologische Mechanismen an der Pathogenese beteiligt sein könnten (15).

Die Überexpression des p53-Tumorsuppressorproteins und der unkontrollierte Zellzyklus könnten auch eine wichtige Rolle an der Pathogenese der Porokeratosis spielen. Reguliert wird das p53-Tumorsuppressor-Genprodukt durch mdm2. Durch den zyklinabhängigen Kinase-Inhibitor p21 haben beide einen Einfluss auf den Zellzyklus. In einer Studie von Nelson et al. wurden verschiedene Formen der Porokeratosis immunhistochemisch auf p53-, mdm2- und p21- Proteine getestet. Hierbei war bei allen Fällen die Expression von mdm2 und p21 in den Keratinozyten unter der kornoiden Lamelle vermindert und der p53-Wert, welches anhand der verstärkten p53-Färbung erkennbar war, erhöht. Man vermutet, dass die Ursache für die erhöhte immunhistochemische Färbung des p53 eine Mutation sein könnte, weshalb sich die mutierte Form von p53 ansammelt und somit nachweisbar ist (11).

Das Tumorsuppressorprotein p53 ist ein wichtiger Effektor des Zellzyklus. Hauptfunktionen dieses Proteins sind die Aktivierung des apoptotischen Zelltods als Reaktion auf Signale wie Hypoxie oder DNA-Schäden und die Induktion eines

Zellzyklusstillstands. P53 agiert als Inhibitor der Zellproliferation. Die Schlüsselproteine mdm2 und p21 aktivieren und regulieren das Tumorsuppressorprotein p53. Mdm2 Protein hemmt p53, indem es ihren Abbau potenziert und ihre Transkription verhindert. Auch das Protein p21 induziert durch eine Inaktivierung von cyclin-abhängigen Kinasekomplexen eine Zellblockade. Bei malignen Erkrankungen können Mutationen der Gene p21 und mdm-2 nachgewiesen werden. Diese Mutationen und Veränderungen des p53-Tumorsuppressor-Gens führen zu einem unkoordiniertem Zellzyklus.

Zudem geht man davon aus, dass es bei Porokeratosis Patienten zu einer klonalen Mutation mit Beteiligung von Chromosom 3 bei Fibroblasten und Keratinozyten kommt (11).

In einer Studie von Shen et al. wird unter Verwendung der TUNEL-Methode die frühe Apoptose von Keratinozyten in der Epidermis der Porokeratosis Läsionen dargestellt. Diese Studie geht davon aus, dass eine abnormale frühe Apoptose der Keratinozyten eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese der Porokeratosis spielen könnte. Die frühe Apoptose epidermaler Keratinozyten führe zu einer fehlerhaften Differenzierung dieser Zellen und somit zu einer Dysregulation des Keratinisierungsprozesses (21).

Bei der Porokeratosis handelt es sich um eine klonale Expansion von reifungsgestörter Keratinozyten, wahrscheinlich aus Endstücken von ekkrinen Schweißdrüsen. In diesen Endstücken entsteht die kornoide Lamelle. Man geht von einem Keratinozyten-Klon aus, der die Porokeratosis Anomalie trägt und sich durch Infektionskrankheiten, Immunsuppression und Trauma vermehren kann (22).

Dabei gehören Genetik, ultraviolettes Licht, Trauma, Infektion, Röntgenstrahlung und Immunsuppression zu den Risikofaktoren bei der Entstehung der Porokeratosis (2, 17, 20). In diesem Zusammenhang wird vermutet, dass dies auf die Beeinträchtigung der Immunüberwachungsfunktion von Langerhans-Zellen zurückzuführen ist. Dies führt wiederum zu einer Proliferation von abnormalen Keratinozyten Klonen in Porokeratosis Läsionen, welches durch immunhistologische Studien bestätigt wird. Hierbei konnte bereits in Porokeratosis Läsionen eine fehlerhafte Expression von HLA-DR-Antigenen durch epidermale Langerhans-Zellen nachgewiesen werden (17).

Die Entwicklung einer Porokeratosis nach einer Organtransplantation gehört zu der häufigsten Art einer Immunsuppression assoziierten Porokeratosis. Am häufigsten ist dies nach einer Nierentransplantation der Fall. Laut Studien beträgt die Zeit zwischen

Organtransplantation und dem Auftreten der Porokeratosis 4 Monate bis 14 Jahre, durchschnittlich 4- 5 Jahre (17). Schließlich erkranken Nierentransplantierte häufiger an der Porokeratosis (3).

Die Studie von Raychaudhuri et al. zeigt, dass die Immunmodulation eine Rolle bei der Entstehung der Porokeratosis spielen könnte (9). Auch besteht ein Zusammenhang zwischen einer chronischen HCV-Infektion und einer Porokeratosis. Eine Studie aus dem Jahre 2008 belegt, dass Patienten, die unter einer chronischen HCV-Infektion leiden, eine Porokeratosis entwickeln können (18).

Zudem besteht ein Zusammenhang mit systemischen Erkrankungen wie Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Pemphigus vulgaris, Pemphigus foliaceus, Lupus erythematoses, Dermatomyositis, rheumatische Arthritis, Leukämie, Infektion mit dem humanen Immundefizienz-Virus und Diabetes mellitus (23).

Außerdem besteht bei vielen Porokeratosis Fällen eine Assoziation mit Chemotherapien (17, 24). Die Entwicklung einer Porokeratosis kann durch Immunsuppression im Zusammenhang mit Malignität und Chemotherapie verschlimmert oder ausgelöst werden (24).

Zusammenfassend zählen die Immunsuppression, UV-Strahlung, genetische Veranlagung, Hautkrankheiten, Systemerkrankungen, Transplantation, mechanisches Trauma, Drogen und ethnische Gruppen zu den Triggerfaktoren der Porokeratosis (15).

### **2.1.3 Klinische Erscheinungsformen**

Bei der Porokeratosis unterscheidet man verschiedene klinische Formen:

- Porokeratosis Mibelli
- Porokeratosis superficialis disseminata actinica
- Porokeratosis linearis unilateralis
- Porokeratosis palmoplantaris et disseminata (4, 10, 23, 25)
- Porokeratosis punctata (10, 17).

Definiert werden die verschiedenen Formen der Porokeratosis durch die Verteilung und Anzahl der Läsionen (26). Unterschieden werden diese durch klinische Kriterien (27). Jede einzelne Form der Porokeratosis weist ihre eigenen spezifischen Eigenschaften bezüglich Verteilung, Morphologie und klinischem Verlauf auf (15).

Die am häufigsten vorkommenden Formen der Porokeratosis sind die Porokeratosis Mibelli und die Porokeratosis superficialis disseminata actinica (8).

Porokeratosis palmoplantaris et disseminata und Porokeratosis punctata kommen nur selten vor (27).

Weitere seltene Formen der Porokeratosis sind die Porokeratosis ptychotropica, Riesenporokeratosis, Gesichtsporokeratosis, retikuläre Porokeratosis, hypertrophische verruköse Porokeratosis und die eruptive pruritische (juckende) papulöse Porokeratosis (20).

Es besteht eine Koexistenz verschiedener Formen der Porokeratosis (4). Allerdings kommt die Koexistenz bei einem einzelnen Patienten nur selten vor (13, 28). Die Pathogenese dieser Koexistenz ist noch unbekannt. Die Ähnlichkeiten der histologischen Befunde und des klinischen Erscheinungsbildes zwischen den verschiedenen Formen der Porokeratosis könnten auf unterschiedliche phänotypische Ausprägungen einer gemeinsamen genetischen Anomalie hinweisen (7). Die Literatur deutet auf einen wichtigen Zusammenhang zwischen der linearen Form der Porokeratosis und der Porokeratosis superficialis disseminata actinica hin (7, 10). Auch wurde beschrieben, dass die Porokeratosis Mibelli mit der Porokeratosis superficialis disseminata actinica koexistiert (7). Die Koexistenz der Porokeratosis superficialis disseminata actinica mit anderen Formen der Porokeratosis kommt nur selten vor (29).

Die Porokeratosis Läsionen können zwar alle Körperteile betreffen, allerdings sind Läsionen der Genitalien ungewöhnlich (13, 30). Schließlich wurde in der Literatur von weniger als 20 genitalen Porokeratosis Fällen berichtet. Irrtümlich kann die genitale Porokeratosis als Granuloma anulare, Syphilis, Kondylom, Ekzem oder Lichen simplex chronicus diagnostiziert werden (15). In der asiatischen Bevölkerung traten Porokeratosis Läsionen der Genitalien häufiger auf als in Berichten aus westlichen Ländern. Meistens handelt es sich hierbei um juckende Läsionen mit einer breiten Altersverteilung (30).

Zu Beginn der Erkrankung sind die Läsionen durch keratotische Papeln charakterisiert. Diese breiten sich langsam zentrifugal aus. Mit der Zeit entstehen ringförmige abgegrenzte Läsionen. Diese Läsionen bestehen aus einem atrophischen Zentrum. Begrenzt wird das Zentrum von einem peripheren keratotischen Kamm. Oft sind die Porokeratosis Läsionen asymptomatisch. Allerdings sind auch juckende Läsionen



möglich (15).



Abbildung 1: Porokeratosis mit muldenförmigen eingesunkenen Herden (2)

### **Porokeratosis Mibelli**

Bei der Porokeratosis Mibelli handelt es sich um eine autosomal-dominant vererbte Keratinisierungsstörung mit unbekannter Ätiologie (31). Es wurden aber auch sporadische Fälle beschrieben (32). Normalerweise betrifft diese Form der Porokeratosis junge Menschen. Die Porokeratosis Mibelli weist bei Männern (2,17:1) eine höhere Prävalenz auf als bei Frauen (15, 33).

Diese Form entwickelt sich in der Kindheit. Morphologisch sind einzelne oder mehrere Plaques mit erhöhten hyperkeratotischen Rändern charakteristisch. Die Läsionen können überall lokalisiert sein (10). Meistens entstehen die Läsionen einseitig an den Gliedmaßen. Allerdings können auch andere Körperteile (z.B. Lippen, Genitalien, Schleimhäute, Handflächen oder Fußsohlen) betroffen sein. Über Jahre können die Läsionen einen Durchmesser von bis zu 20 cm erreichen (15).

Die Studie von Scappaticci et al. stellte eine klonale Chromosomenanomalie mit bevorzugter Beteiligung von Chromosom 3 bei Patienten mit Porokeratosis Mibelli fest. Es bestehe eine Assoziation der Porokeratosis Mibelli als autosomal-dominante Erkrankung mit einer chromosomalen Instabilität. Typisch für die Porokeratosis Mibelli

ist eine erhöhte Anfälligkeit für maligne Erkrankungen (34). Dies könnte auf die Chromosomeninstabilität zurück zu führen sein (35).

Die Studie von Rothman et al. zeigt, dass Patienten nach einer Herztransplantation eine Porokeratosis Mibelli entwickeln können (36). Eine erfolgreiche Therapie der Porokeratosis Mibelli Läsionen ist nicht aus kosmetischen Gründen, sondern auch wegen des Risikos einer malignen Transformation sehr wichtig (12). Aus diesem Grund sollte die Porokeratosis frühzeitig diagnostiziert und behandelt werden (33).

Aufgrund der unspezifischen klinischen Manifestationen ist die klinische Diagnose der Porokeratosis Mibelli oft schwierig, weshalb die Hautbiopsie ein nützliches diagnostisches Mittel sein kann. Schließlich weist die Porokeratosis Mibelli die kornoide Lamelle als morphologisches Kennzeichen auf (33).

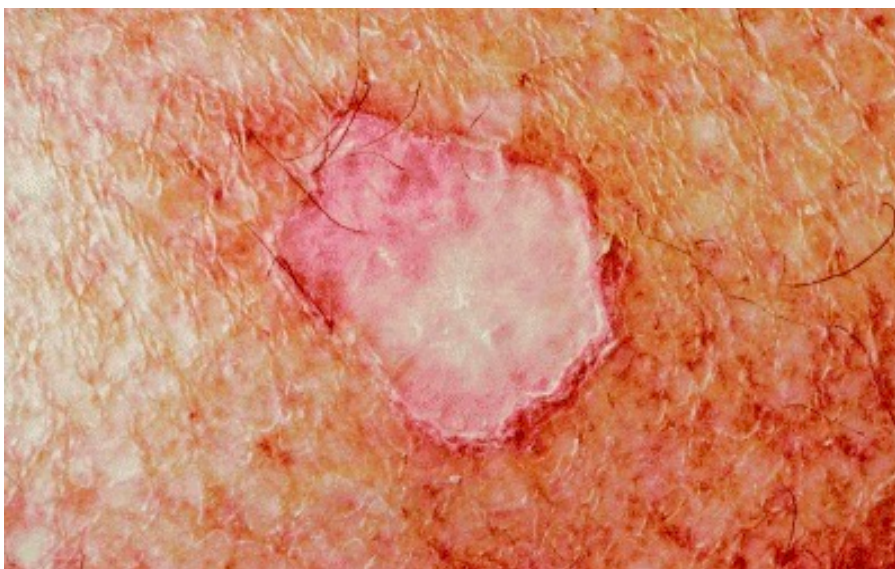


Abbildung 2: Porokeratosis Mibelli (12)

### **Porokeratosis superficialis disseminata actinica**

Zur Beschreibung einer klinischen Variante der Porokeratosis Mibelli wurde 1937 der Begriff Porokeratosis superficialis disseminata von Andrew eingeführt. Die Klinik der Porokeratosis superficialis disseminata und Porokeratosis superficialis disseminata actinica ist ähnlich. Als Unterschied ist zu erwähnen, dass bei der Porokeratosis superficialis disseminata UV-Licht keinen auslösenden Faktor darstellt. Aus diesem Grund entstehen die Porokeratosis superficialis disseminata Läsionen sowohl an sonnengeschützten als auch an sonnenexponierten Stellen (d.h. an den Genitalien, Fußsohlen, Handflächen und am Stamm). Ein weiterer Unterschied zur Porokeratosis

superficialis disseminata actinica ist, dass sich die Porokeratosis superficialis disseminata in einem viel früheren Lebensalter (in der Regel zwischen 5 und 10 Jahren) manifestiert. Vor allem nicht-aktinische Formen der Porokeratosis können nach Karzinomen, HIV-Infektionen, Organtransplantationen oder im Zusammenhang mit anderen Ursachen für Immunschwäche entstehen. Als Gemeinsamkeit der Porokeratosis superficialis disseminata und Porokeratosis superficialis disseminata actinica ist das Auftreten von Stechen oder Juckreiz bei einem Drittel der Patienten zu erwähnen. In einigen Porokeratosis superficialis disseminata Fällen beschrieb Drowing eine mögliche aktinische Ätiologie (15). Erstmals wurde dann die Porokeratosis superficialis disseminata actinica 1969 von Chernosky und Anderson beschrieben (22). Sie ist die häufigste Form der Porokeratosis (20, 28, 37).

Hierbei handelt es sich um eine autosomal-dominant vererbte Verhornungsstörung unbekannter Ätiologie. Bekannte Risikofaktoren für die Entstehung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica sind Immunsuppression und Sonneneinstrahlung (38). Betroffen sind vor allem hellhäutige Personen an Regionen mit chronischer Sonnenexposition (39).

Die Porokeratosis superficialis disseminata actinica beginnt im dritten oder vierten Jahrzehnt (10, 20, 37). Morphologisch sind verbreitete, flache, ringförmige oder oberflächliche Plaques charakteristisch (10). Diese Plaques oder Papeln sind braun oder erythematös mit einem leicht atrophischen Zentrum und einem leicht erhabenen keratotischen Rand (38). Die Läsionen sind an sonnenexponierten Stellen, Armen, Beinen, Schultern und am oberen Rücken verteilt (10). Selten kann das Gesicht betroffen sein (20). Bei weniger als 15% der Patienten werden von Gesichtseruptionen berichtet (40). Die Fußsohlen und Handflächen werden geschont (20).

Es ist zu erwähnen, dass diese Form der Porokeratosis hauptsächlich bei Frauen an den Extremitäten als atrophische Flecken auftritt (28, 37).

Die Läsionen können asymptomatisch oder leicht juckend sein. Durch Sonnenlicht kann sich die Porokeratosis superficialis disseminata actinica verschlechtern. Darüber hinaus kann sich dadurch der Juckreiz verstärken (20, 40). Man geht davon aus, dass mindestens die Hälfte der Porokeratosis superficialis disseminata actinica Patienten in den Sommermonaten an Exazerbationen nach Exposition gegenüber künstlichem Licht (UVA, UVB) oder aufgrund von Sonneneinstrahlung leiden (15).

Aufgrund des typischen Aussehens der Läsionen kann diese Form der Porokeratosis

klinisch diagnostiziert werden. Eine Hautbiopsie kann im Zweifelfall durchgeführt werden. Zur Beurteilung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica kann eine Dermatoskopie nützlich sein (20).

Die Histopathologie der Porokeratosis superficialis disseminata actinica ist durch eine kornoide Lamelle gekennzeichnet. Diese stellt eine Parakeratosesäule am lateralen Rand der Läsion dar (38). Das Stratum granulosum unterhalb der kornoiden Lamelle kann dünn oder nicht vorhanden sein (20). Zudem sind die Epidermiszellen atypisch und unregelmäßig angeordnet (38). In der Epidermis ist eine Dyskeratose auffallend. Auch kann eine Spongiose vorhanden sein. Die obere Dermis kann eine Erweiterung der Blutgefäße und ein leichtes lymphozytisches Infiltrat aufweisen.

Die Differentialdiagnose der Porokeratosis superficialis disseminata actinica umfasst einige Krankheitsbilder. Zu den Differentialdiagnosen zählen aktinische Keratosen, Lichen planus, seborrhoische Keratosen, Flachwarzen, Tinea corporis und Granuloma anulare.

Zur Epidemiologie der Porokeratosis superficialis disseminata actinica ist zu erwähnen, dass eine leichte weibliche Dominanz (1,76:1) herrscht (15, 20). Häufiger tritt diese Form der Porokeratosis in den 30er und 40er Jahren auf (20). Diese Erkrankung hat einen langsamen progressiven Verlauf (15).

Insgesamt kann festgehalten werden, dass die Porokeratosis superficialis disseminata actinica eine fortschreitende kosmetische Belastung für den Patienten darstellt und zudem mit einem erhöhten Risiko einer malignen Transformation der Läsionen verbunden ist (40).

### **Porokeratosis linearis unilateralis**

In den 1970er Jahren wurde die Porokeratosis linearis unilateralis erstmals beschrieben (41). Sie ist eine seltene Form der Porokeratosis (15). Läsionen der Porokeratosis linearis unilateralis können seit der Geburt oder frühen Kindheit vorhanden sein (10, 42). Gelegentlich kann sich die Porokeratosis linearis unilateralis auch bei Erwachsenen oder älteren Menschen entwickeln (15).

Typisch sind hierbei ringförmige, hyperkeratotische Plaques mit oberflächlicher, aber markanter Grenze (10, 42). Angeordnet sind diese Läsionen linear und gruppiert entlang der Blaschko-Linien.

Es existieren zwei Formen der Porokeratosis linearis. Die häufigere lokalisierte Form ist durch Läsionen gekennzeichnet, die einseitig vorkommen und sich oft auf die distalen Extremitäten beschränken. Bei der seltenen generalisierten Form treten die Läsionen vielfältig auf. Betroffen sind hierbei mehrere Extremitäten und der Rumpf.

Frauen (1,63:1) erkranken im Vergleich zu Männern etwas häufiger an dieser Form der Porokeratosis (15).

Die Porokeratosis linearis unilateralis ist eine charakteristische klinische Form der Porokeratosis mit maligner Transformation. Bei dieser Form tritt im Vergleich zu anderen Formen der Porokeratosis eine maligne Verschlechterung häufiger auf. Dies trifft insbesondere auf größere Läsionen von langer Dauer zu (42).

Zur Differentialdiagnose zählen die Lichen striatus und der entzündliche lineare verruköse epidermale Naevus (43).

Verursacht wird die Porokeratosis linearis unilateralis durch eine klonale Proliferation von Keratinozyten. Diese sind entlang der Blaschko-Linien verteilt (42). Man geht davon aus, dass die Porokeratosis linearis unilateralis sporadisch auftritt. Hierbei wurde kein bestimmtes Vererbungsmuster festgestellt.

Das gleichzeitige Auftreten der Porokeratosis linearis unilateralis mit der Porokeratosis superficialis disseminata actinica ist bereits bekannt. Auch Kinder von Patienten, die unter einer Porokeratosis superficialis disseminata actinica leiden, können an einer Porokeratosis linearis unilateralis erkranken. Die Porokeratosis linearis unilateralis stellt eine Segment- oder Mosaikform der autosomal dominant vererbten Typen dar. Daher führt ein Verlust der Heterozygotie einer Stammzelle zu einem Klon von Zellen, die sich entlang der Blaschko-Linien vermehren und das abnormale Allel tragen. Die Stammzelle trägt das Porokeratosis superficialis disseminata actinica- Allel in einem frühen Stadium der Entwicklung im Embryo. Dies erklärt den Befund der Epidermiszellen mit abnormaler DNA-Ploidie, einem empfindlichen Marker für prä-maligne Erkrankungen, an der Basis der kornoiden Lamelle. Berichte über metastasierende Plattenepithelkarzinome aufgrund einer Porokeratosis linearis unilateralis bestätigen das maligne Potenzial dieser Form der Porokeratosis, weshalb eine genaue Überwachung hierbei von großer Bedeutung ist (42).



Abbildung 3: Porokeratosis linearis unilateralis entlang der Blaschko-Linien des Beins (15)

### **Porokeratosis palmoplantaris et disseminata**

Die Porokeratosis palmoplantaris et disseminata ist eine seltene Variante der Porokeratosis (15, 23, 44). Männer erkranken doppelt so häufig (2:1) wie Frauen an dieser Form der Porokeratosis (15). Sie kann in der Kindheit oder im Erwachsenenalter auftreten.

Klinisch sind zahlreiche, oberflächliche Läsionen mit einer Größe von <1 cm und keratotischen Rändern auffallend. Sie beginnt an den Fußsohlen und Handflächen. Die Läsionen breiten sich allmählich auf die Extremitäten und den Rumpf aus (4, 10).

Bei 25% der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata Patienten kommt es im Sommer zu einer Verschlimmerung der Läsionen. Darüber hinaus leiden 25% der Patienten unter starken Schmerzen aufgrund von Palmoplantarkeratosen (23).

Diese Läsionen sind druckschmerzhaft. Die Patienten mit einer Porokeratosis palmoplantaris et disseminata sind beim Gehen und in der manuellen Geschicklichkeit beeinträchtigt. Vor allem durch Hitzeeinwirkung und im Sommer sind diese Läsionen

juckend. Bei Porokeratosis palmoplantaris et disseminata Patienten treten Schleimhautläsionen in Nase, Mund, Bindehaut und Eichel wie bei der Porokeratosis Mibelli nur selten auf (4).

Die Histopathologie der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata ist durch eine fokale Ausdünnung der Epidermis mit Verlust der Granulatschicht und einer diskreten Parakeratosesäule gekennzeichnet.

Zahlreiche, weit verbreitete Läsionen sind sowohl bei der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata als auch bei der Porokeratosis superficialis disseminata actinica auffallend. Allerdings ist die Porokeratosis palmoplantaris et disseminata im Vergleich zur Porokeratosis superficialis disseminata actinica nicht auf die sonnenexponierten Bereiche beschränkt.

Bei der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata handelt es sich um eine autosomal-dominante Erkrankung. Allerdings gibt es auch Patienten, bei denen in der Familienanamnese keine Porokeratosis palmoplantaris et disseminata vorkommt. Hierbei kann das Entstehen der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata auf spontane Genmutationen zurückzuführen sein. Aufgrund eines genetischen Defekts können abnormale Klone von Epidermiszellen entstehen. Diese vermehren sich spontan oder als Reaktion auf Auslöser wie z.B. Immunsuppression oder Bestrahlung (23).

### **Porokeratosis punctata**

Die Porokeratosis punctata ist eine seltene Form der Porokeratosis (15). Sie beginnt im Erwachsenenalter. Klinisch sind diffuse, punktgenaue, keratotische Läsionen typisch, die an den Sohlen und Handflächen verteilt sind (10).



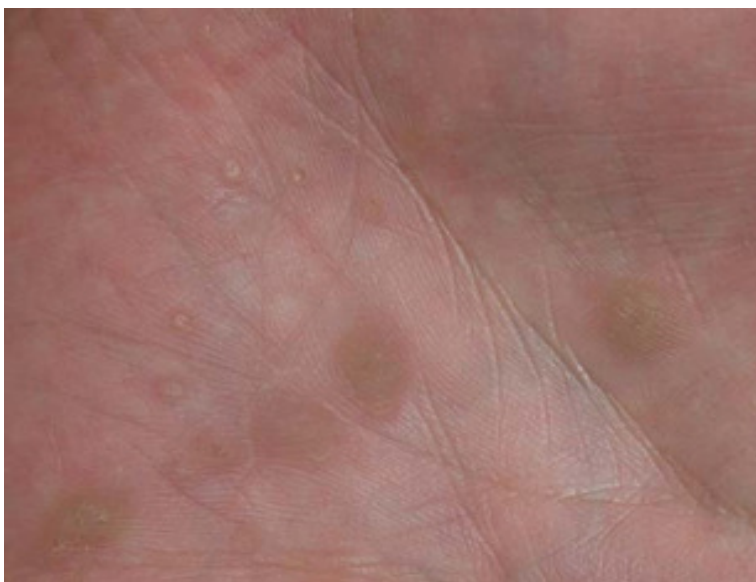


Abbildung 4: Porokeratosis punctata an der Handfläche (15)

#### 2.1.4 Differentialdiagnosen

Die Differentialdiagnose der Porokeratosis umfasst folgende Hauterkrankungen:

- Psoriasis
- aktinische Keratosen
- Basalzellnävussyndrom (Gorlin-Goltz-Syndrom)
- Morbus Darier
- Lichen nitidus
- benignes Hamartom der ekkrinen Schweißdrüsen
- porokeratotischer ekkriner Nävus
- erbliche punktuelle Keratodermie (15)
- Lichen simplex chronicus
- Lichen ruber verrucosus
- Morbus Bowen
- Hauttuberkulose
- allergische Kontaktdermatitis
- Candidiasis (16).

#### 2.1.5 Therapie

Eine erfolgreiche Therapie der Porokeratosis ist wichtig, da sich im schlimmsten Fall eine maligne Transformation entwickeln kann. Aufgrund der malignen Entartung sollte bei Patienten mit einer Porokeratosis die Haut engmaschig kontrolliert werden (23).



Die Behandlung der Porokeratosis ist schwierig. Ziel einer Therapie ist, das Risiko einer Degeneration zu verringern (8).

Bei vielen Porokeratosis Patienten können bereits die Verwendung von Feuchtigkeitscremes, Schutz vor Sonnenlicht und regelmäßige Kontrollen auf bösartige Tumore ausreichend sein (15).

Es werden viele verschiedene Therapien angewendet, welches darauf hinweist, dass eine ideale Behandlung fehlt, die wirksam und sicher ist. Aus diesem Grund sollte jeder Fall individuell bewertet werden (26).

Bei der Porokeratosis geht man von einer günstigen Gesamtprognose aus, die hingegen durch die Möglichkeit einer malignen Transformation der Läsionen trotzdem unklar bleibt (6).

Es können keine europäischen und internationalen Richtlinien zur Therapie der Porokeratosis erstellt werden, da Behandlungsstandards für diese Krankheit fehlen. Es sind randomisierte kontrollierte Studien erforderlich, um Patienten, die unter einer Porokeratosis leiden, eine evidenzbasierte, qualitativ hochwertige standardisierte Therapie anbieten zu können (45). Zu betonen ist, dass die Mehrzahl der Behandlungsmöglichkeiten nur in Einzelfällen oder Fallserien angewendet wurden (15).

Allerdings gibt es bereits mehrere Behandlungsmöglichkeiten mit unterschiedlichen Erfolgen.

### **Topische Vitamin D3-Analoga**

Topische Vitamin D3-Analoga als eine Behandlungsmöglichkeit der Porokeratosis modulieren Entzündungen sowie die Differenzierung und Proliferation von Keratinozyten. Demzufolge haben sie im Rahmen von einer Verhornungsstörung wie bei einer Porokeratosis potentiell positive Effekte.

In mehreren Fällen wird von einer Verbesserung und Heilung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica Läsionen berichtet. Diese Therapie führte zu keinen oder nur zu leichten Nebenwirkungen (z.B. leichte Hyperpigmentierung) (20). In der Literatur werden topische Vitamin D3-Analoga bei der Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica als Therapie der ersten Wahl vorgeschlagen (16, 45).

Bei der Behandlung der linearen Porokeratosis mit Vitamin D3-Analoga konnten

allerdings keine erfolgreichen Ergebnisse erzielt werden.

Der genaue Wirkungsmechanismus von Vitamin D3-Analoga bei der Porokeratosis ist unklar (20).

### **Topische und systemische Retinoide**

Retinoide als Vitamin-A-Derivate werden bei einer abnormalen Keratinozytenproliferation eingesetzt. Da systemische Retinoide mehr Nebenwirkungen aufweisen und diese zudem teratogen sind, werden topische Retinoide bevorzugt. Bei der Therapie der Porokeratosis superficialis disseminata actinica mit Retinoiden kommt es häufig zu Rückfällen der Erkrankung (20).

Retinoide haben eine positive Auswirkung auf die Proliferation, Abschuppung und Entzündung der Epidermis. Aus diesem Grund werden sie seit langem zur Behandlung von Keratinisierungsstörungen eingesetzt (45).

Bei immunsupprimierten Patienten kann die Verwendung oraler Retinoide das Risiko einer Karzinomentwicklung bei Porokeratosis Läsionen verringern (15).

Die Studie von Ruocco et al. zeigt, dass das Medikament Etretinat eine hemmende Wirkung auf maligne Veränderungen der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata haben kann. Hierbei wurde einem Patienten, der unter einer Porokeratosis palmoplantaris et disseminata erkrankt war, Etretinat oral verabreicht. Diese Therapie führte zu einer Verbesserung der Porokeratosis Läsionen und verhinderte das Auftreten von Plattenepithelkarzinomen (46). Im Jahre 1998 wurde Etretinat aus dem Markt genommen und dafür Acitretin mit einer ähnlichen klinischen Wirksamkeit eingeführt.

Hierbei kann das Absetzen oder Verringern der systemischen Retinoide zu Juckreiz oder Schmerzen führen. Dies wiederum kann die Lebensqualität der Porokeratosis Patienten beeinträchtigen.

Eine Erhöhung der Acitretindosis kann zu einer Cheilitis und systemischen Nebenwirkungen führen.

Es können zur Verringerung der Hyperkeratose zusätzlich Salicylsäure 6% Gel, Salicylsäure in 10 bis 40% Konzentrationen und Harnstoff 20 bis 50% eingesetzt werden (23). Zwar können keratolytische Behandlungen wie mit Salicylsäure eine Regression der Porokeratosis Läsionen induzieren, jedoch sind mit Rückfällen nach

Absetzen der Behandlung zu rechnen (15).

Während bei einigen Porokeratosis palmoplantaris et disseminata Patienten nach dreiwöchiger Etretinat Therapie eine wesentliche Verbesserung der Läsionen erzielt werden konnte, kam es wiederum bei anderen Patienten nach dieser Therapie zu einer Exazerbation der Läsionen.

In der Literatur wird dargelegt, dass die Porokeratosis palmoplantaris et disseminata mit Isotretinoin erfolgreich behandelt werden konnte. Es kam hierbei zu einer deutlichen Verringerung der Anzahl der Läsionen.

Auch erzielte man durch eine Kombination von oralen Retinoiden und topischem 5-Fluorouracil ein positives Ergebnis.

Zusammenfassend wird vermutet, dass orale Retinoide das Risiko einer malignen Entartung verringern können. Schließlich führte hierbei das Absetzen von Etretinat zu einem Plattenepithelkarzinom. Nach Beendigung der oralen Retinoidtherapie treten häufig innerhalb von Wochen bis Monaten Rückfälle der Läsionen auf (23).

Die Porokeratosis linearis unilateralis kann am besten mit systemischen oder topischen Retinoiden therapiert werden (16). Bei der Anwendung von Retinoiden müssen Ärzte allerdings zwischen den möglichen Nebenwirkungen von Vitamin-A-Säurederivaten und der malignen Transformation bzw. der verminderten Lebensqualität dieser Patienten abwägen (45).

### **5-Fluorouracil**

Topisches 5-Fluorouracil ist ein zytostatisches Mittel und führt zu einer Störung der DNA-Synthese. Es hemmt zudem die Proliferation sich schnell replizierender Zellen (40).

Eine Therapie mit 5-Fluorouracil kann zu einer vorübergehenden Remission der Porokeratosis superficialis disseminata actinica beitragen. Allerdings ist diese Therapie nur begrenzt, da diese zytotoxische Salbe eine schlechte Verträglichkeit und Nebenwirkungen aufweist (40).

Bei einigen Patienten führt 5-Fluorouracil zu sehr schweren Entzündungsreaktionen, Ulzerationen, Erythemen und zu einer Dermatitis (20). Auch postinflammatorische Hyperpigmentierungen können Nebenwirkungen im Rahmen einer 5-Fluorouracil

Behandlung sein (45). Normalerweise ist das klinische Ansprechen vorübergehend (20).

In einer Studie konnten mit einer 5-Fluorouracil Therapie unterschiedliche Ergebnisse erzielt. Zudem kann laut einer Studie eine Behandlungsunterbrechung notwendig sein (45).

Bei der Behandlung der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata kann mit einer 5-Fluorouracil Therapie ein nur geringer Erfolg erzielt werden (23).

### **Imiquimod**

Imiquimod, ein Imidazochinolinamin, agiert als Modifikator der Immunantwort (47). Die wichtigsten Zellen, die bei der Immunüberwachung benötigt werden, sind die T-Helfer-1-Zellen. Die Imiquimod-Creme kann Zytokine wie IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12 und TNF- $\alpha$  induzieren. Diese Zytokine fördern eine TH1-zellvermittelte Immunantwort (12). Imiquimod kann somit durch Induktion von Zytokinen das angeborene Immunsystem stimulieren (45). Imiquimod rekrutiert die körpereigenen Immunzellen, indem es die Toll-like Rezeptoren 7 und 8 aktiviert und Zytokine induziert.

Hauptsächlich wird Imiquimod zur Behandlung der Porokeratosis Mibelli und Porokeratosis palmoplantaris et disseminata angewendet. Allerdings können bei der Anwendung von Imiquimod ähnlich bei 5-Fluorouracil Entzündungsreaktionen auftreten (20).

Die Studie von Hartman et al. aus dem Jahre 2010 zeigt, dass längere Behandlungen mit topischem Imiquimod und 5-Fluorouracil zu keiner Verbesserung der Porokeratosis Läsionen führt. Auch kann hierdurch das Entstehen von neuen Läsionen nicht verhindert werden (23).

Mit Imiquimod (Aldara®) kann aber auch eine erfolgreiche Behandlung erzielt werden (17). Studien zeigen, dass eine Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica mit Imiquimod zu einer Heilung der Läsionen führte. Nach dem Auftreten von schmerzhaften oberflächlichen Ulzerationen kam es zu leichten oberflächlichen Narbenbildungen und Resterythemen. Aufgrund von möglichen schweren Nebenwirkungen wie Entzündungen und Geschwürbildung sollte die Anwendung von Imiquimod mit Vorsicht erfolgen. Darüber hinaus erfordert diese Behandlungsmöglichkeit beim Auftreten von schweren lokalen Reaktionen häufige Konsultationen und therapeutische Pausen (45).

In Studien wird berichtet, dass die Porokeratosis Mibelli mit topischer 5%-iger Imiquimod-Creme erfolgreich behandelt werden kann (12, 48). Bei der Therapie mit Imiquimod 5% Creme zeigten die Porokeratosis Mibelli Läsionen die besten Ergebnisse (16, 45). Als Ergebnis dieser Therapie erzielte man eine Heilung der Läsionen ohne Narbenbildung. 24 Monate danach konnte man bei diesen Patienten klinisch kein Rezidiv feststellen (48).

### **Ingenolmebutat**

Ingenolmebutat aus *Euphorbia peplus*/Wolfsmilchgewächs als eine weitere Behandlungsmöglichkeit kann bei der Therapie der Porokeratosis Mibelli die hyperkeratotischen ringförmigen Plaques auflösen. Als Nebenwirkung ist eine leichte vorübergehende Entzündung zu nennen (45).

Dieses Arzneimittel stellt ebenso eine Therapiemöglichkeit bei der Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica dar, welches hilfreich bei der Hyperkeratose sein kann (20).

### **Diclofenac**

Das topische Diclofenac ist ein nichtsteroidales Antirheumatikum und hemmt COX-2. Zugelassen wurde dieses Medikament für die Behandlung der aktinischen Keratose. Außerdem wurde Diclofenac mit unterschiedlichen Ergebnissen zur Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica eingesetzt (20).

Topisches Diclofenac 3% Gel dient als etablierte Behandlungsmöglichkeit bei der Therapie von aktinischen Keratosen. Diclofenac wirkt über die Blockade der COX-2 entzündungshemmend. Normalerweise hemmt die COX-2 die Zellproliferation und Angiogenese.

Studien legen dar, dass Diclofenac zwar den symptomatischen Juckreiz bei Porokeratosis superficialis disseminata actinica und genitaler Porokeratosis lindert, aber trotzdem lieferte Diclofenac keine überzeugenden positiven klinischen Ergebnisse. Eine Therapie mit Diclofenac führte zu unerwünschten Nebenwirkungen wie Erythem, starke lokale Reizung und Dermatitis (45).

### **Cantharidenpflaster**

Studien zeigen, dass man mit Cantharidenpflastern eine erfolgreiche Therapie der Porokeratosis Mibelli erzielen kann. Unerwünschte Nebenwirkungen einer solchen

Therapie sind anhaltende postinflammatorische Erytheme und schwere lokale Reaktionen (45).

### **Immunsuppressiva**

Über die Behandlung der Porokeratosis mit topischen und systemischen Immunsuppressiva gibt es nur wenige Berichte. Immunsuppressiva stellen keine kausale Behandlung dar, da keine Hautentzündung, sondern eine Dysregulation der Keratinisierung Hautursache für die Porokeratosis ist (45).

Allerdings kann man mithilfe von Immunsuppressiva eine symptomatische Linderung des Juckreizes erzielen, wenn eine Entzündung begleitend eine Rolle spielt (45).

### **Kortikosteroide**

Bekannt ist, dass Kortikosteroide eine entzündungshemmende und antiproliferative Wirkung haben. Sie hemmen die DNA-Synthese vor allem in abnormalen Zellen. Vermutet wird, dass Kortikosteroide die DNA-Synthese in einem abnormalen mutierten Klon von Zellen in der Epidermis hemmen (31). In einem Fall wird berichtet, dass eine Verabreichung topischer Kortikosteroide in Kombination mit oralen Antihistaminika zu einer partiellen Verbesserung der Symptome bei einer juckenden papulösen Porokeratosis führte.

Mit einer Dexamethason Therapie konnte ein unvollständiges Verschwinden der Porokeratosis Mibelli Läsionen erzielt werden. Eine Studie legt dar, dass eine topische Anwendung von Kortikosteroiden mit Salicylsäure bei Patienten mit genitalen Porokeratosis Läsionen zu einer Linderung der Symptome führte (45).

Da es sich bei der Porokeratosis superficialis disseminata actinica nicht um eine entzündliche Erkrankung handelt, sind Medikamente wie topische Kortikosteroide, die die Immunantwort unterdrücken, normalerweise nicht wirksam. Allerdings können diese Medikamente dem Juckreiz, der im Rahmen dieser Erkrankung entsteht, entgegenwirken (20).

Eine Studie aus dem Jahre 2010 belegt, dass die topische oder systemische Behandlung der Porokeratosis palmoplantaris et disseminata mit Glukokortikoiden nur einen geringen Erfolg bringt (23).

Topische Kortikosteroide dienen als Goldstandard für die Therapie von vielen entzündlichen Hauterkrankungen (45). Allerdings ist zu betonen, dass mit einer Glukokortikoid Behandlung nur eine vorübergehende Linderung der Symptome erzielt

werden kann. Zudem sollte man bei einer solchen Behandlung vorsichtig sein. Schließlich kann eine Immunsuppression die Proliferation der Porokeratosis und eine maligne Transformation auslösen (15).

### **Tacrolimus**

Die Anwendung von Tacrolimus in Kombination mit Betamethason führte in einer Studie von Parks et al. zu einer schnellen und drastischen Verbesserung der Hautläsionen bei einer Patientin mit einer linearen Porokeratosis. Zudem konnten mithilfe dieser Therapie Juckreiz, Schmerzen und Parästhesien vollständig bekämpft werden. Über zweieinhalb Jahre wurde diese Patientin in 3 bis 6-monatigen Abständen beobachtet. Hierbei konnte eine kontinuierliche Verbesserung der Hautläsionen festgestellt werden. Die tägliche Tacrolimus Therapie wurde nach zweieinhalb Jahren abgebrochen. Die Haut der Patientin zeigte bei der Untersuchung im Vergleich zum Ausgangszustand nur wenige, sehr schwache Makula. Hiermit konnte anhand dieser Studie die langfristige Wirksamkeit der Behandlung mit Tacrolimus und topischem Betamethason belegt werden.

Insgesamt könne Tacrolimus eine sichere und wirksame Alternative zu herkömmlichen Behandlungen der Porokeratosis sein. Jedoch ist zu betonen, dass kontrollierte Studien mit mehr Patienten, die langfristig beobachtet werden, erforderlich sind, um die tatsächliche Wirksamkeit von Tacrolimus bewerten zu können (41).

Bei der Tacrolimus-Salbe handelt es sich um einen topisch angewendeten Makrolid-Lacton-Immunmodulator. Diese Salbe wird bei der Behandlung der atopischen Dermatitis angewendet. Zum Wirkmechanismus von Tacrolimus ist zu sagen, dass es Calcineurin hemmt, welches wiederum die Zytokin Genexpression unterbricht und die T-Zell-Aktivität herunterreguliert (49).

Man vermutet, dass Tacrolimus die angeborene Immunantwort in Keratinozyten verstärkt und die Proliferation abnormaler Keratinozyten verhindert. Auf diese Weise könnte Tacrolimus Porokeratosis Läsionen verbessern (41).

### **Laserbehandlungen**

Laserbehandlungen mit Kohlendioxid, gütegeschaltetem Rubin-Laser, Erbium:Yttrium-Aluminium-Garnet Laser, Neodym:Yttrium-Aluminium-Garnet Laser, fraktionierter Photothermolyse und gepulstem Farbstofflaser können bei der Therapie der Porokeratosis eingesetzt werden (45).

In Bezug auf den **Kohlendioxidlaser** ist zu sagen, dass er gestreutes oder gepulstes Infrarotlicht mit Wellenlängen zwischen 9,4 und 10,6 Mikrometern verwendet. Er wirkt auf das Wasser in den Zellen. Hierbei führt das Verdampfen der Flüssigkeit zu einer Gewebeerstörung (20). Dieser Laser entfernt somit Schichten geschädigter Haut und ermöglicht darunter die Regeneration von gesundem Gewebe.

Mit einer Kohlendioxid-Lasertherapie können zwar sofortige Resultate erzielt werden, allerdings sind schwere Narben und postinflammatorische Pigmentierungen häufige Nebenwirkungen (40). Die Hyperpigmentierung als Nebenwirkung ist vor allem bei Patienten mit dunkler Haut ein großer Nachteil. Darüber hinaus handelt es sich hierbei um eine schmerzhafteste Therapie. Es ist zudem mit einer verlängerten Heilungszeit zu rechnen. Trotz vollständiger Entfernungen der Läsionen mithilfe des Kohlendioxidlaser muss man mit einer hohen Rezidivrate ausgehen (40).

Mit einer Kohlendioxid-Lasertherapie kann die Porokeratosis linearis unilateralis Läsionen erfolgreich behandelt werden. 6 Monate nach dieser Therapie konnte kein Rezidiv festgestellt werden (50).

Kohlendioxidlaser wurden bei fast allen Formen der Porokeratosis angewendet. Hierbei wurden verschiedene Ergebnisse veröffentlicht. Viele Veröffentlichungen legen gute klinische Ergebnisse ohne Rezidive dar. Vor allem bei der Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica, Porokeratosis Mibelli und retikulierter Porokeratosis konnten zufriedenstellende kosmetische Ergebnisse erzielt werden (45). Eine kombinierte Verabreichung von Kohlendioxid-Lasertherapie und Methylaminolevulinat-photodynamischer Therapie zeigte in einer Studie eine deutliche klinische Verbesserung der Porokeratosis Läsionen (51).

Im Gegensatz hierzu reduziert der **gütegeschaltete Rubinlaser** die Hyperpigmentierung, indem er Melanin als Ziel verwendet. Allerdings wird die kornoide Lamelle dabei nicht zerstört (20).

Der gütegeschaltete Rubinlaser als eine weitere Therapieoption wird traditionell zur Behandlung von Haarentfernung und Läsionen mit Hyperpigmentierung angewendet. Auch hyperpigmentierte Läsionen bei einer Porokeratosis superficialis disseminata actinica können hiermit behandelt werden (52).

Allerdings kam man in einer Studie zu dem Ergebnis, dass der gütegeschaltete Rubinlaser bei der Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica nur mäßig erfolgreich war. Aber diese Behandlungsoption stellte im Gegensatz zu anderen



Behandlungen eine gute Alternative dar (52). Vorteilhaft bei dieser Therapie sind eine gute kosmetische Verbesserung und eine narbenlose Heilung mit relativ geringen Schmerzen. Aufgrund der hohen Rezidivraten sollte diese Therapiemöglichkeit als vorübergehende Maßnahme dienen. Zudem erfordert diese Therapie eine genauere, umfangreichere Nachsorge, um eine fortschreitende Malignität der rezidivierenden Läsionen zu vermeiden (40).

Der gütegeschaltete Rubinlaser ist im Vergleich zum **Yttrium-Aluminium-Granat** durch eine größere Penetration gekennzeichnet (20).

Die Anwendung des Yttrium-Aluminium-Granats erfolgt bei 532 nm für pigmentierte Läsionen. Yttrium-Aluminium-Granat führt zu einer Entfernung der oberflächlichen papillären Dermis. Zudem vermindert es die Obliteration der kornoiden Lamelle und Hyperpigmentierung (20).

Eine weitere Studie belegt, dass der **Neodym:Yttrium-Aluminium-Garnet Laser** bei der Behandlung der Porokeratosis hervorragende Ergebnisse lieferte. Allerdings sind weitere Untersuchungen hinsichtlich der Wirksamkeit des Nd:YAG-Laserbehandlung bei einer größeren Gruppe von Testpatienten erforderlich (53).

Die Studie von Aird et al. zeigt, dass man mithilfe verschiedener Arten von YAG-Lasertherapien bei der Behandlung der Porokeratosis superficialis disseminata actinica erfolgreiche kosmetische Ergebnisse mit minimalen Beschwerden erzielen kann. Sowohl der Nd:YAG-Laser als auch der Erbium-YAG-Laser gehören zu den zusätzlichen vorteilhaften Behandlungsmöglichkeiten bei der Therapie der Porokeratosis superficialis disseminata actinica. Schließlich sind diese Lasertherapien einfach anzuwenden. Außerdem erfordern sie keine Anästhesie oder einen Krankenhausaufenthalt. Es kommt zu keiner Hyperpigmentierung, Narbenbildung oder Läsionsrezidiven bis zu 9 Monaten nach einer solchen Lasertherapie. Aus diesen Gründen werden diese Lasertherapien als optimale Behandlungsmöglichkeiten angesehen, die kontinuierlich eingesetzt werden können. Je nach Bedarf könne eine Wiederholung der Behandlung alle paar Monate oder Jahre erforderlich sein (40).

In einer Studie von Rosenblum et al. wird berichtet, dass die Anwendung vom **Erbium:Yttrium-Aluminium-Garnet Laser** im Vergleich zum Kohlendioxid-Laser zu weniger Narben führte. Der Er:YAG-Laser führte zudem zu einer deutlichen Verbesserung der Läsionszahl, der Kosmetik und des Schweregrades. Auch ein Jahr nach dieser Behandlung konnte kein Rezidiv festgestellt werden. Der Er:YAG-Laser

stelle eine vorübergehende Behandlungsmaßnahme dar, die vermutlich alle paar Jahre eine Nachsorge erforderlich macht (54).

Die **fraktionierte Photothermolyse** als eine weitere Therapieoption ermöglicht aufgrund von kleineren Verletzungsbereichen eine schnellere Wundheilung. Im Vergleich zum Kohlendioxidlaser oder Er:YAG-Laser führt die fraktionierte Photothermolyse zu weniger schwerwiegenden unerwünschten Nebenwirkungen wie Schmerzen und Erythemen. Diese Behandlung führte in einer Studie zu einer mäßigen bis deutlichen Abnahme der Porokeratosis superficialis disseminata actinica Läsionen. Nach 3 bis 6 Behandlungen konnte außerdem eine Verbesserung der Hautstruktur (Gleichmäßigkeit der Farbe und Hautglätte) festgestellt werden. Allerdings sind zur genauen Bewertung der fraktionierten Photothermolyse zusätzliche Studien mit unterschiedlichen Hauttypen und einer größeren Anzahl von Patienten erforderlich (55). Laser mit fraktionierter Photothermolyse induziert kleine Bereiche thermischer Nekrosen, die allerdings nicht allzu große Rötungen, Schmerzen oder Schäden verursachen und zudem eine schnellere Heilung ermöglichen (20).

Die fraktionierte Photothermolyse führt zu nur wenigen Nebenwirkungen. Hiermit können riskante Gesichtsläsionen in der Nähe des Mundes und der Augen mit einer größeren Sicherheit behandelt werden.

Zusammenfassend kann mithilfe der fraktionierten Photothermolyse eine deutliche Abnahme der Anzahl und Größe von behandelten Porokeratosis superficialis disseminata actinica Läsionen erzielt werden. Darüber hinaus führt diese Behandlungsmöglichkeit zu einer 50%igen Verbesserung der Hautstruktur (40).

Die Studie von Alster et al. bezüglich der **gepulsten Farbstofflaser** Behandlung berichtet über einen Fall, bei dem diese Behandlung zum Verschwinden der Porokeratosis Läsionen führte. Vermutlich wirkt der gepulste Farbstofflaser direkt auf Kollagen und indirekt auf Histamin und Mastzellen. Wahrscheinlich aus diesen Gründen konnte man klinische Veränderungen bei diesem Patienten beobachten (56).

### **Grenzstrahlenbehandlung**

Der Grenzstrahl verwendet wie Röntgenstrahlen elektromagnetische Strahlung. Durch Blockierung der DNA-Synthese hemmt er die Proliferation (20). Somit verursacht der Grenzstrahl DNA-Schäden und Zelltod, wobei besonders sich schnell teilende Zellen betroffen sind. Auch führt der Grenzstrahl zu einer lokalen Aktivierung des Komplements und erhöht die Immunreaktion.

Röntgenstrahlen, die im Rahmen einer Grenzstrahlentherapie verwendet werden, befinden sich am kurzwelligen Ende des elektromagnetischen Spektrums (1 pm bis 1 nm) (57).

In den ersten Millimetern der Haut sind die meisten entzündlichen Dermatosen aktiv. Vorteil der Grenzstrahlenbehandlung ist, dass 50% der verabreichten Grenzstrahlungen von den ersten 0,5 mm der Haut absorbiert werden. Somit wird die Morphologie der Keratinozyten nicht verändert (58). Folglich ermöglicht diese Therapie eine gezielte Behandlung der am stärksten von Porokeratosis superficialis disseminata actinica betroffenen Hautregionen (40).

Grenzstrahlen werden im Rahmen einer Porokeratosis Behandlung eingesetzt, weil man davon ausgeht, dass diese eine entzündungshemmende und antineoplastische Wirkung haben. Die Studie von Ricci et al. kam zu dem Ergebnis, dass Grenzstrahlen zu einer Reduzierung der Entzündung führten. Nach 12 Monaten konnte keine Entwicklung eines Tumors festgestellt werden. Patienten berichteten, dass Grenzstrahlen eine positive Wirkung auf den Juckreiz hatten. Diese Studie geht davon aus, dass Grenzstrahlen den positiven Effekt von UV-Licht und/oder Röntgenstrahlung bestmöglich kombinieren und somit im Vergleich zu Röntgenstrahlen weniger Nebenwirkungen aufweisen (58).

Im Rahmen einer Studie von Ramelyte et al. wurde das Ansprechen von Porokeratosis superficialis disseminata actinica Läsionen auf die Grenzstrahlentherapie untersucht. Dabei konnte bei den meisten Patienten ein vollständiger klinischer Rückgang der Läsionen festgestellt werden. Vorübergehende Nebenwirkungen traten bei allen Patienten auf, die allerdings innerhalb von vier Wochen nach der letzten Bestrahlung abklangen. Letztendlich kam diese Studie zu dem Ergebnis, dass eine Grenzstrahlentherapie bei Porokeratosis superficialis disseminata actinica Patienten zu empfehlen ist (57).

Es besteht nach einer Therapie mit weichen Röntgenstrahlen (Grenzstrahlen) eine sehr geringe Inzidenz von Karzinomen. Allerdings können Karzinome nach sehr hohen Dosen bei Patienten auftreten, die empfindlich auf Röntgenstrahlen reagieren. Daher sollten die Empfehlungen für eine sichere Anwendung der Strahlentherapie befolgt werden. Hierbei wird empfohlen, dass kein Hautareal lebenslang mehr als 10.000 rad (100 Gy) grenznahen Strahlen ausgesetzt wird. Zudem sollte diese Dosis fraktioniert werden. Falls diese Grenze überschritten wird, sollte eine engmaschige Überwachung

des Patienten und eine regelmäßige Untersuchung auf maligne Transformation vorgenommen werden (58).

### **Phototherapien**

Die photodynamische Therapie und das intensive gepulste Licht zählen zu den Phototherapien im Rahmen einer Porokeratosis Behandlung.

Die **photodynamische Therapie** dient zur Behandlung von Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und aktinischen Keratosen (20). Hierbei werden Photosensibilisierungsmittel (Methylaminolevulinat, 5-Aminolevulinsäure oder Hypericin) topisch angewendet (45). Diese werden von atypischen Keratinozyten aufgenommen. Da diese Photosensibilisatoren reaktive Sauerstoffspezies erzeugen, werden die atypischen Keratinozyten durch Lichteinwirkung zerstört (20). Anschließend werden die Hautbereiche bestrahlt. Dies führt zur Produktion von zytotoxischen Sauerstoffspezies. Diese wiederum verursachen Zellschäden und die Zerstörung von bösartigem Gewebe (45).

Methylaminolevulinat oder 5-Amino-evulinsäure dringt in die beschädigten oder aktiven Epidermiszellen ein und wird in ein starkes photosensibilisierendes Protoporphyrin IX umgewandelt (59).

Entzündungen, Erytheme und Hyperpigmentierung gehören zu den Nebenwirkungen bei einer photodynamischen Therapie. Die photodynamische Therapie zeigt schlechtere Ergebnisse mit einer höheren Inzidenz von Nebenwirkungen. Wohingegen die Lasertherapie nur zu minimalen Nebenwirkungen wie leichte Erytheme, mäßige Ödeme und leichte Hyperpigmentierung führt (40).

Es ist wiederum zu betonen, dass es sich bei der photodynamischen Therapie um eine sichere und gut verträgliche Technik handelt. Diese Therapie führt insgesamt nur zu wenigen Nebenwirkungen und guten kosmetischen Ergebnissen (26). Es wurden bereits mehrere Berichte zur Anwendung der photodynamischen Therapie bei verschiedenen Formen der Porokeratosis mit unterschiedlichen Ergebnissen veröffentlicht.

In einer Studie wurde die photodynamische Therapie mit Methylaminolevulinat als Photosensibilisierungsmittel bei Porokeratosis superficilais disseminata actinica Patienten angewendet. Man kam hierbei zu keinen erfolgreichen Ergebnissen. Nur eine leichte Abnahme der Hyperkeratose konnte beobachtet werden. Jedoch

verschwanden diese Läsionen nicht. Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass die photodynamische Therapie mit Methylaminolevulinat zur Behandlung der Porokeratosis nicht vielversprechend ist (60).

In einer anderen Studie konnte durch eine photodynamische Therapie mit Methylaminolevulinat eine klinische Verbesserung der Porokeratosis Läsionen erzielt werden.

Eine weitere Studie aus dem Jahre 2015 zeigt bei Porokeratosis Patienten ein hervorragendes Ansprechen auf eine photodynamische Therapie (61).

Dieses Ergebnis konnte anhand der Studie von Giuliadori et al. bestätigt werden. Hierbei konnte die Porokeratosis Mibelli ebenso mit einer photodynamischen Therapie erfolgreich behandelt werden. Auch 6 Monate nach der Behandlung konnte ein erneutes Auftreten nicht festgestellt werden (33).

Eine Studie, die die photodynamische Therapie im Rahmen einer Porokeratosis linearis unilateralis angewendet hatte, zeigte, dass man hierbei ein sehr zufriedenstellendes klinisches und kosmetisches Ansprechen erzielen konnte. Bei der Nachuntersuchung nach einem Jahr konnte eine Verschlechterung der Läsionen nicht festgestellt werden (62). Dies wurde durch eine weitere Studie bestätigt (63, 64).

Eine Kombination der photodynamischen Therapie mit topischer Fluorouracil-Creme führte in einer Stunde nach 3 Wochen zu einer Heilung der Porokeratosis Mibelli Läsionen. Beide Therapiemöglichkeiten wirken durch zwei unabhängige Mechanismen. Die photodynamische Therapie wirkt selektiv auf atypische, hochaktive Zellen und führt durch die Bildung von toxischen Zwischenprodukten zu einer Zerstörung. Fluorouracil hemmt das Hauptenzym, welches für den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der DNA-Synthese verantwortlich ist. Somit hemmt es selektiv die schnelle Teilung von Zellen.

Zusammenfassend kann anhand dieser Studie fest gehalten werden, dass die photodynamische Therapie mit oder ohne Kombinationstherapie im Rahmen einer Porokeratosis Mibelli Behandlung eine wirksame und sichere Therapiemöglichkeit darstellt (59).

Da unterschiedliche Ergebnisse im Rahmen einer photodynamischen Therapie erzielt wurden, sind weitere Studien erforderlich, um klare Schlussfolgerungen bezüglich der Nützlichkeit dieser Therapie zu ziehen (26).

**Intensives gepulstes Licht** zählt auch zur Phototherapie (45). Laut Literatur dient IPL aufgrund seines breiten Wellenlängenbereichs zur Behandlung von Haarentfernung, Akne und Pigmentstörungen.

In einer Studie von Piccolo et al. kam man zu dem Ergebnis, dass IPL eine gültige Therapieoption und Unterstützung darstellt. Hiermit konnte man schließlich gute Ergebnisse mit geringen Nebenwirkungen erzielen. In dieser Studie konnte belegt werden, dass bei einem von 10 Porokeratosis Patienten, die mit IPL behandelt wurden, nach vier Sitzungen eine deutliche Verbesserung der Läsionen zu erkennen war. Allerdings konnte histopathologisch keine Verringerung der kornoiden Lamelle festgestellt werden (65).

Man geht davon aus, dass die Wirksamkeit und Verwendung von IPL mit den Erfahrungen des Bedieners zusammenhängt.

Es handelt sich hierbei um eine polychromatische, nicht kohärente und breitspektrale gepulste Lichtquelle (Xenonlampe). Diese kann Licht mit einer Wellenlänge zwischen 390 nm und 1200 nm emittieren. Zum Wirkmechanismus ist zu sagen, dass es Photone durch endogene oder exogene Chromophore in der Haut absorbiert. Durch die Energieübertragung wird auf die Zielstrukturen Wärme erzeugt und diese hierdurch zerstört. Dieser Prozess wird als selektive Photothermolyse bezeichnet (65).

### **Chirurgische Eingriffe**

Die chirurgische Entfernung zählt als der definitivste Ansatz. Allerdings kann diese Behandlungsmöglichkeit abhängig von der Größe, Anzahl und Stelle der Läsionen aus technischen Gründen schwierig sein (12). Es gibt viele Veröffentlichungen, in denen chirurgische Eingriffe als eine Behandlungsmöglichkeit der Porokeratosis dargestellt werden.

In der Studie von Spencer et al. wurde gezeigt, dass die Porokeratosis Mibelli mithilfe der **Dermabrasion** erfolgreich therapiert werden kann (66). Die Dermabrasion führte auch in einer anderen Studie bei der Behandlung der Porokeratosis linearis unilateralis zu einer erfolgreichen Therapie der Läsionen (67).

Die vollständige **Exzision** der Porokeratosis Läsionen zählt auch zu den chirurgischen Maßnahmen (45). Erforderlich ist eine Exzision bei Läsionen, die auf eine Malignität hinweisen. Bei allen Formen der Porokeratosis kann eine Exzision erfolgen (15).

Mit der Anwendung des **Dermatoms** konnten in einer Studie erfolgreiche Ergebnisse

bei der Behandlung der Porokeratosis psycotropica erzielt werden (68).

In einer anderen Studie wurde von der erfolgreichen Therapie einer vulvären Porokeratosis mithilfe eines **chirurgischen Ultraschallaspirators** berichtet. Diese Therapie führte bei der Patientin zu einer Verbesserung der Kosmetik und einer Auflösung ihres Juckreizes (69).

Auch die **Hochfrequenzchirurgie** kommt im Rahmen einer Porokeratosis Behandlung zum Einsatz (45).

### **Kryotherapie**

Die Kryotherapie als eine weitere Therapiemöglichkeit im Rahmen einer Porokeratosis Behandlung zeigt akzeptable Ergebnisse. Vor allem anogenitale Porokeratosis Läsionen konnten hiermit erfolgreich therapiert werden (45).

In einem Fall kam es bei einer Porokeratosis linearis unilaterialis mithilfe der Kryotherapie zu einer vollständigen Heilung der Läsionen (70). Auch gute Reaktionen bei Porokeratosis Läsionen der Lippe konnte mit der Kryotherapie erreicht werden (71).

Die Studie von Dereli et al. stellte die Vorteile und Effizienz der Kryochirurgie bei der Behandlung der Porokeratosis Mibelli dar. Vorteile der Kryochirurgie sind die hohen Heilungsraten, kurze Behandlungsdauer, wenige Komplikationen, geringe Kosten und die Einfachheit. In dieser Studie kam es innerhalb von 4-6 Wochen zu einer vollständigen Verheilung der Porokeratosis Läsionen. Im dritten Monat waren eine Pigmentveränderung und leichte Atrophie zu erkennen. Achtzehn von 20 behandelten Porokeratosis Läsionen konnten hierbei erfolgreich therapiert werden. Nach der Kryochirurgie konnten bei allen Porokeratosis Patienten Blasenbildung und Ödeme beobachtet werden. Die Heilung der Porokeratosis Läsionen erfolgte mit leichten bis mittelschweren Narben. Bei einer Patientin mit dunkler Haut kam es zu einer Heilung mit Hypopigmentierung. Die Kryochirurgie führte außerdem zu einer Patientenzufriedenheit (32). Insgesamt kann die Kryochirurgie für kleinere Porokeratosis Läsionen in Betracht gezogen werden (45). Als Nebenwirkung der Kryotherapie ist die Narbenbildung zu erwähnen. Zudem treten häufig Rezidive auf (20).

Zusammenfassung ist zur Therapie der Porokeratosis zu sagen, dass Porokeratosis Patienten darüber aufgeklärt werden sollten, übermäßige Sonneneinstrahlung zu

vermeiden und Sonnenschutz zu verwenden. Die regelmäßige Untersuchung durch einen Dermatologen spielt eine wichtige Rolle, um eine maligne Transformation oder ein Wiederauftreten der Erkrankung feststellen zu können (16).

Man kann bei einer Kontraindikation oder schwieriger Anwendung von topischen Wirkstoffen die Kryochirurgie und chirurgische Eingriffe anwenden.

Eine wirksame Therapie der Porokeratosis ist die physikalische Zerstörung von Läsionen durch Kryotherapie, Elektrodesikkation oder Kohlendioxidlaserbehandlung. Allerdings sind hierbei die Narbenbildung und Depigmentierung unerwünschte Nebenwirkungen.

Topische Retinoide oder eine photodynamische Therapie können bei oberflächlichen Läsionen wirksam sein (17). Die Kryotherapie, Kürettage, Exzision und Dermabrasion als weitere Therapiemöglichkeiten der Porokeratosis superficialis disseminata actinica zeigen erfolgreiche Ergebnisse. Diese Therapien kommen allerdings nicht bei ausgedehnten Erkrankungen zum Einsatz und sind nur begrenzt (20).

Traditionelle Behandlungsmöglichkeiten wie Vitamin-D-Analoga, topische Retinoide, 5-Fluorouracil, Kryotherapie und Steroide tragen zu einer kurzfristigen Linderung der Erkrankungen bei. Aber hiermit kann kein langfristiger Therapieerfolg erzielt werden (40).

Alles in allem kann festgehalten werden, dass randomisierte kontrollierte Studien erforderlich sind, um eine evidenzbasierte Behandlung mit qualitativ standardisierten Schemata anbieten zu können. Vermutlich sind hierbei multizentrische und internationale Studien notwendig, da es sich bei der Porokeratosis um eine seltene Hautkrankheit handelt (45).

### **2.1.6 Histologie**

Die Histopathologie der Porokeratosis ist durch die kornoide Lamelle, eine dünne Parakeratosesäule, gekennzeichnet (10, 23). Sie durchzieht die gesamte Hornschicht. Verankert ist die kornoide Lamelle in einer grubchenartigen Vertiefung der Epidermis („in der Haut steckende Artischocke“) (2).

Bei der kornoiden Lamelle handelt es sich um eine Säule eng anliegender parakeratotischer Zellen (16). Diese liegt über einer dünnen oder fehlenden granulären Schicht. Die darunterliegende Dermis weist häufig ein entzündliches Infiltrat auf (2).



Mithilfe des Lichtmikroskop kann in der Dermis ein mäßig dichtes, chronisch entzündliches Infiltrat beobachtet werden (72). Es können dyskeratotische Zellen vorhanden sein.

Elektromikroskopisch kann unter der kornoiden Lamelle eine Abnahme der Lamellenkörperchen und der Keratohyalin-Granula festgestellt werden. Dieser Befund könnte für die fehlerhafte Abschuppung der Korneozyten verantwortlich sein.

Aufgrund von abgebauten Organellen und Lipidtröpfchen enthalten die parakeratotischen Zellen der kornoiden Lamelle ein elektronendichtes Zytoplasma und pyknotische Kerne. In der Malpighi-Schicht weisen die Keratinozyten Anzeichen einer Degeneration, wie z.B. die periphere Kondensation von Tonofilamenten und zytoplasmatische Vakuolen (15).

Die kornoide Lamelle als charakteristisches histologisches Merkmal kommt bei allen Formen der Porokeratosis vor und ist somit bei der Diagnosestellung sehr hilfreich (4, 7, 10, 13, 17, 19, 20, 73).

Die Histogenese der Porokeratosis lässt sich als klonale Erkrankung der Epidermis erklären. Die Tendenz, dass sich diese Klone entwickeln, ist wahrscheinlich erblich bedingt (74).

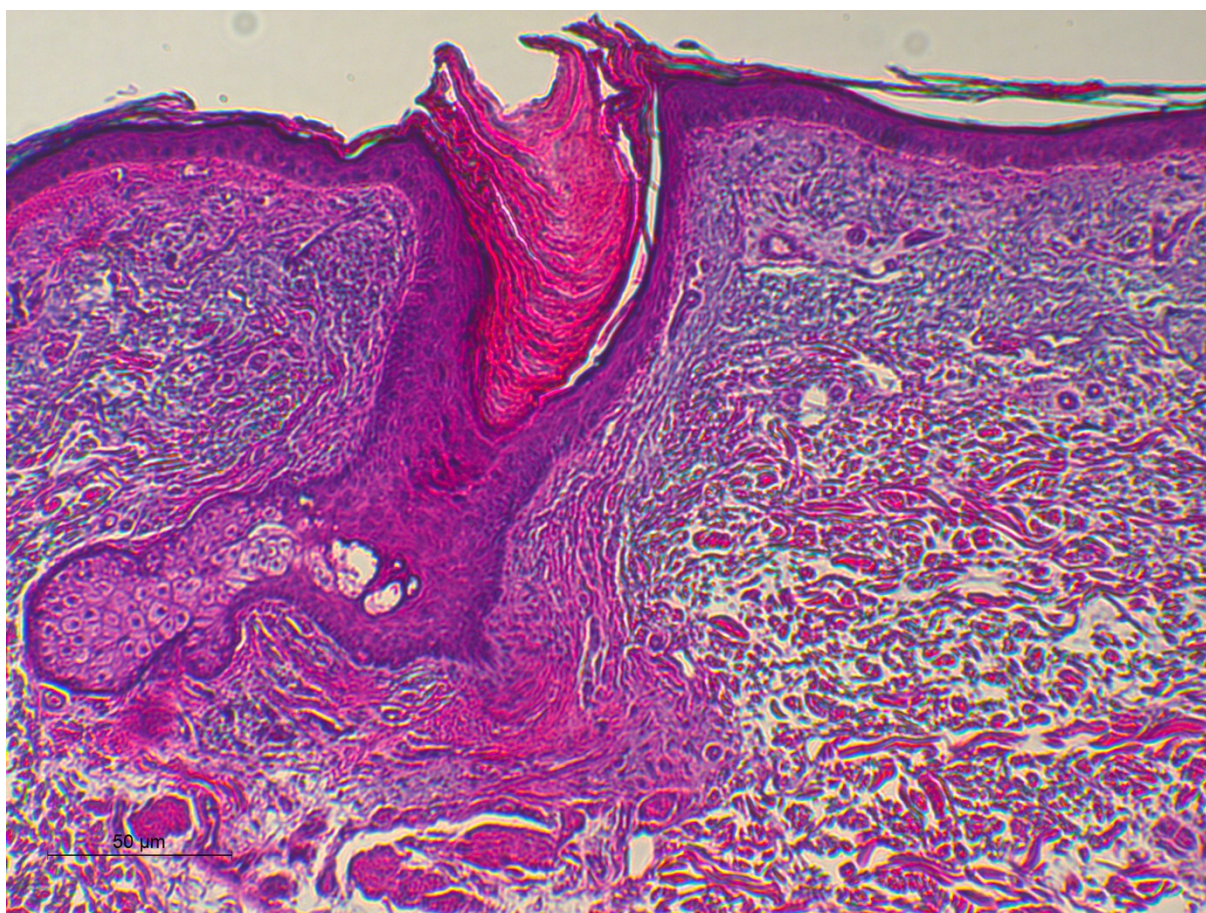


Abbildung 5: Histologisches Übersichtsbild (HE-Färbung) vom Porokeratosis Patient 8; kornoide Lamelle in der Epidermis

### 2.1.7 Diagnostik

Die Diagnostik der Porokeratosis erfolgt am besten mit einer Biopsie im Bereich des erhöhten Randes, da hier die kornoide Lamelle erkennbar ist. Schließlich spielt die kornoide Lamelle eine wesentliche Rolle bei der Diagnosestellung der Porokeratosis.

Auch die Dermatoskopie ist für die Diagnostik hilfreich. Mithilfe der Dermatoskopie sind die Porokeratosis Läsionen als zentrale braune Pigmentierung mit blau-grauen Punkten erkennbar. Diese Punkte sind von einem einzigen hypopigmentierten Band mit einer weißen Spur an der Peripherie umgeben (16).

Obwohl die Porokeratosis nur selten vorkommt, spielt die Diagnostik eine wichtige Rolle. Schließlich besteht hierbei das Risiko einer malignen Degeneration. Um diesem

Risiko entgegen zu wirken, ist die Zusammenarbeit der Dermatologen mit Pathologen entscheidend (16).

## **2.2 Maligne Transformation der Porokeratosis**

Die Porokeratosis ist eine prä-maligne Hautkrankheit. Hierbei weisen bestimmte Patientengruppen ein erhöhtes Risiko für eine maligne Transformation auf (14).

Mit einer Rate von 19% zeigt die Porokeratosis linearis unilateralis die stärkste Tendenz zur malignen Transformation. Im Vergleich hierzu liegt diese Tendenz bei allen anderen Formen der Porokeratosis bei 7,5%. Die Malignität durch die Porokeratosis linearis unilateralis kann in einem früheren Alter auftreten (Mittelwert 54,8 Jahre) (42). Somit besteht bei allen Formen der Porokeratosis eine Malignität (4, 19). Am seltensten kommt es bei der Porokeratosis superficialis disseminata actinica zu einer malignen Transformation (16).

Ein Verlust der Heterozygotie oder der Allelverlust stellt einen entscheidenden Mechanismus bei der Entstehung vieler Krebsarten dar. Der genetische Mechanismus des Allelverlustes, der zu einer Porokeratosis linearis führt, könnte hierbei einen ersten Schritt in der Karzinomentstehung darstellen (75).

In der Literatur geht man davon aus, dass bei der Porokeratosis eine Überexpression von p53 an der Apoptose abnormaler Keratinozyten beteiligt sein kann. Als Reaktion auf diese Apoptose können dann Entzündungszellen in die Läsionen infiltrieren. Das Beenden von diesem Regulationszyklus kann dazu führen, dass die krebsanfällige Natur der Porokeratosis erworben wird. Schließlich kann es dann so zur Entwicklung von Karzinomen kommen (21). Schlussfolgernd kann somit eine Überexpression des Tumorsuppressor-Gens p53 in der Epidermis im Rahmen der malignen Transformation eine Rolle spielen (4, 20, 23, 42). In diesem speziellen Protein kommt es zu einer funktionellen Aberration, die als wichtiger Schlüsselfaktor bei der malignen Transformation agiert. Hierbei sind möglicherweise die Proteine Involucrin, Fillagrin, Cytokeratin und Psi-3 auch beteiligt (4).

Durch Induktion von Thymidin-Dimeren kann UV-Exposition vermutlich p53-Mutationen verursachen (15). In vielen malignen Neoplasmen können Mutationen des p53-Gens gefunden werden. Charakteristisch für ein mutantes p53-Gen ist eine längere Halbwertszeit. Zudem kann dieses Gen durch eine Immunperoxidase-Färbung leicht nachgewiesen werden. In der Studie von Magee et al. wurde bei Porokeratosis Patienten eine Immunperoxidase-Färbung mit einem Antikörper, der sich gegen p53

richtet, durchgeführt. Anhand dieser Färbung konnte festgelegt werden, dass die Porokeratosis auf eine genetische Mutation hindeutet. Außerdem zeigte dabei das Fehlen einer Expression des proliferierenden zellkernigen Antigens, dass die p53-Überexpression kein Spiegelbild der verstärkten Zellproliferation ist (76).

Bei der Porokeratosis können die Keratinozyten nicht normal reifen und sich differenzieren. Dies kann einen Zusammenhang mit der erhöhten Inzidenz von Karzinomen bei Porokeratosis Patienten haben (77).

Porokeratosis Läsionen können sich am häufigsten zu einem Plattenepithelkarzinom, Morbus Bowen, seltener auch zu einem Basalzellkarzinom oder Melanom entwickeln (18, 23, 42, 48, 77-79). Häufiger tritt die maligne Transformation bei nicht exponierter Haut an den Extremitäten auf. Hierbei beträgt die durchschnittliche Latenzzeit 36 Jahre, wobei sie bei der Porokeratosis Mibelli kürzer ist. Normalerweise entstehen maligne Läsionen einfach, aber in einem Drittel der Fälle sind auch mehrere Tumore möglich. Im Rahmen einer Porokeratosis kann eine verminderte Immunüberwachung eine Rolle bei der Entwicklung bösartiger Hauterkrankungen spielen (15).

Frühere ionisierende Strahlung, große Größe, lange Dauer der Läsionen und der lineare Typ stellen die größten Risikofaktoren bei der malignen Transformation dar (4, 23, 42, 80). Zudem steigt mit dem Alter des Patienten das Risiko einer bösartigen Entartung (18). Auch Patienten mit geschwächtem Immunsystem können eine maligne Transformation der Porokeratosis aufweisen (20).

Die Studie von Otsuka et al. bestätigte, dass die Porokeratosis eine Vorstufe von bösartigen Tumoren ist und einen neoplastischen Prozess durchläuft. Hierbei wurde mit Hilfe der Mikrofluorometrie der nukleäre DNA-Gehalt von Epidermiszellen aus porokeratotischen Läsionen gemessen (81). Dies sollte zur Ermittlung ihrer Fähigkeit zu bösartigen Degeneration dienen (32). Es wurde festgestellt, dass 42% der porokeratotischen Läsionen eine DNA-Polyploidisierung in der Epidermis aufwiesen. Letztendlich kam man zu dem Ergebnis, dass die meisten porokeratotischen Läsionen, mit oder ohne DNA-Polyploidisierung, die Zellanteile in der S- und G2/M-Phase erhöhen (81). Es konnten also erhöhte Zellanteile in der S- und G2/M-Phase festgestellt werden (32).

Nach einer Nierentransplantation sollte die Entwicklung einer Porokeratosis bei diesen Patienten, vor allem in Bezug auf eine maligne Veränderung, genau verfolgt werden, weil das Plattenepithelkarzinom bei Transplantatempfängern viel aggressiver ist und

häufiger metastasiert. Die hohe Inzidenz, dass immunkompetente Porokeratosis ein prämalignes Potenzial aufweisen, hat wahrscheinlich einen Zusammenhang mit der Existenz abnormaler Klone in der Epidermis von Porokeratosis Läsionen und der Chromosomeninstabilität bei Fibroblasten (17).

## **3 Material und Methoden**

### **3.1 Patienten**

In dieser immunhistochemischen Analyse nahmen insgesamt 12 Porokeratosis Patienten teil, die zwischen den Jahren 2016 bis 2019 in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz behandelt wurden. Hierbei konnten in den histologischen Untersuchungen bei 7 dieser Patienten eine Porokeratosis superficialis disseminata actinica beobachtet werden. Bei den restlichen 5 dieser Patienten wurden in den histologischen Untersuchungen unabhängig von der Form eine Porokeratosis festgestellt.

Als Kontrollgruppe dienen 6 gesunde Individuen, die nicht an einer Porokeratosis erkrankt sind und somit eine normale Haut aufweisen.

### **3.2 Probeentnahme**

Im Rahmen der Behandlung in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz erfolgte unter Lokalanästhesie eine Probeentnahme. Zuvor wurde der Patient über mögliche Risiken aufgeklärt.

Im Rahmen anderer Behandlungen des Universitätsklinikums wurden die 6 Hautbiopsien der Kontrollgruppe, die nicht an einer Porokeratosis leiden, entnommen und für die Forschung zur Verfügung gestellt.

### **3.3 Paraffinierung und Schnittanfertigung**

#### **3.3.1 Material**

##### **Geräte**

- Tissue-Tek® VIP® 5Jr (VIP= Vakuum-Infiltrationsprozessor)  
Firma: Sakura
- Mikrotom RM 2245 (Rotationsmikrotom)  
Firma: Leica Biosystems Nussloch GmbH
- Feather® A35 Microtome Blade (Mikrotomklinge)  
Firma: FEATHER® Safety Razor Co. Ltd.
- SuperFrost® Plus (Adhäsions-Objektträger)  
Firma: Thermo Fisher Scientific Gerhard Menzel B.V. & Co. KG
- Horo Typ0383 (Brutschrank)  
Firma: HORO Dr. Hofmann GmbH

### **Chemikalien**

- ROTI®-Histofix 4,5%: pH-Wert=7, phosphatgepufferte Formaldehydlösung 4,5%  
Firma: Carl Roth GmbH + Co. KG
- Alkohol (1): 70%  
Firma: Carl Roth GmbH + Co. KG
- Alkohol (2): 96% Ethanol  
Firma: Martin & Werner Mundo oHG
- Alkohol (3): 100% Isopropylalkohol  
Firma: Aug. Hedinger GmbH + Co. KG
- Xylol  
Firma: AppliChem GmbH
- Destilliertes Wasser

### **3.3.2 Methode**

Die Proben wurden in Formalin fixiert. Mittels Tissue-Tek® VIP® 5JR wurden sie danach entwässert und eingebettet. Folglich erfolgte dann die Kühlung der Proben. Danach wurden mithilfe eines Mikrotoms Schnitte von 2-3 Mikrometer Dicke erstellt. Diese Schnitte wurden dann auf adhäsiven Objektträgern zum Strecken in ein Wasserbad getaucht. Zur Vermeidung von Schrumpffartefakten wurden die fertigen Objektträger auf eine Wärmeplatte aufgelegt. Auf der Wärmeplatte verweilten diese Objektträger eine kurze Zeit. Abschließend wurden die Objektträger im Brutschrank für 60 Minuten bei 60 Grad Celsius getrocknet.

## 3.4 Immunhistochemische Färbungen

### 3.4.1 Material

#### Geräte

- Leica ST5010 Autostainer XL  
Firma: Leica Biosystems Nussloch GmbH
- Dampfgarer Typ 3216  
Firma: Braun (De'Longhi Deutschland GmbH)
- Eindeckmaschine: LEICA CV5030
- Eindeckmittel: Entellan®
- Deckgläser
- Spritzen
- Pipetten
- Färbeküvetten
- Eppendorfgefäße

#### Chemikalien

- Alkohol (1): 70%  
Firma: Carl Roth GmbH + Co. KG
- Alkohol (2): 96% Ethanol  
Firma: Martin & Werner Mundo OHG
- Alkohol (3): 100% Isopropylalkohol  
Firma: Aug. Hedinger GmbH + Co. KG
- Xylol  
Firma: AppliChem GmbH
- Target Retrieval (EDTA)  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
- Antigenretrieval Buffer 1 pH= 6 (Citrat)  
Firma: Spring Bioscience Corporation
- Waschpuffer  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
- Dako REAL™ EnVision™ Detection System, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse: K5007
  - Flasche A: Dako REAL™ EnVision™/HRP, Rabbit/Mouse  
Sekundärer (gebrauchsfertiger) Antikörper



- Flasche B: Dako REAL™ Substrate Buffer
- Flasche C: Dako REAL™ DAB+ Chromogen  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
- Saures Hämalan nach Meyer (Gegenfärbung)  
Firma: Merck KGaA
- Dako REAL™ Peroxidase- Blocking Solution S2023  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
- Dako REAL™ Antibody Diluent  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
- Dako Real™ Proteinase K S3020  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies

### **Antikörper**

- Anti-CD 1a  
Monoclonal mouse antibody  
Verdünnung 1:100  
Antigendemaskierung mit EDTA  
Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
  
- Anti-CD 3  
Monoclonal mouse antibody  
Verdünnung 1:100  
Antigendemaskierung mit EDTA  
Firma: Leica Biosystems Novocastra™ Liquid
  
- Anti-CD 4  
Monoclonal rabbit antibody  
Verdünnung 1:50  
Antigendemaskierung mit EDTA  
Firma: Cell Marque (Sigma-Aldrich Co. LLC)

- Anti-CD 8
  - Monoclonal mouse antibody
  - Verdünnung 1:100
  - Antigendemaskierung mit EDTA
  - Firma: Dako Deutschland GmbH Agilent Technologies
  
- Anti-CK 16
  - Monoclonal mouse antibody
  - Verdünnung 1:20
  - Antigendemaskierung mit Citrat
  - Firma: Leica Biosystems Nussloch GmbH
  
- Anti-Ki-67
  - Monoclonal mouse antibody
  - Verdünnung 1:100
  - Antigendemaskierung mit EDTA
  - Firma: Zeta Corporation/Medac
  
- Anti-Involucrin
  - Monoclonal mouse antibody
  - Verdünnung 1:100
  - Antigendemaskierung mit Proteinkinase K
  - Firma: EmergoEurope

### **3.4.2 Methoden**

#### **Deparaffinierung**

Hierbei wird das Paraffin mit Xylol nach dem Schneiden aus den Schnitten entfernt (Deparaffinierung). Die mit Schnitten versetzten Objektträger wurden über eine absteigende Alkoholreihe für jeweils 5 Minuten gebadet. Dafür wurden die Schnitte in folgenden Lösungen in der genannten Reihenfolge belassen:

1. Xylol
2. Xylol
3. 100 % Alkohol
4. 100 % Alkohol

5. 96 % Alkohol
6. 70 % Alkohol
7. destilliertes Wasser.

### **Antigendemaskierung**

Die Fixierung in Formalin führt zum Verlust der Immunreaktivität vieler Antigene. Ein Antigen kann aus einem oder mehreren Epitopen bestehen. Ein Epitop kann fünf oder mehr Aminosäuren aufweisen. Sie können durch intermolekulare Faltung dreidimensional einander genähert sein (Tertiärstruktur) oder gebunden sein (kontinuierliche Abfolge der Aminosäuren in der Polypeptidkette).

Die Fixierung in Formalin kann bei einigen Epitopen zu deutlichen Änderungen ihrer dreidimensionalen Struktur führen. Bei diesen Epitopen kommt es also zu einer Konformationsänderung. Hierfür ist die formalininduzierte Bildung chemischer Quervernetzungen verantwortlich. Diese chemischen Quervernetzungen können zwischen verschiedenen Proteinen (intermolekulare Cross-Links) oder innerhalb desselben Proteins (intramolekulare Cross-Links) zustande kommen. Das Resultat hiervon kann ein vollständiger oder partieller Verlust der Immunreaktivität sein. Dabei wird von einer „Maskierung“ des Antigens gesprochen (82).

Eine Antigendemaskierung ist erforderlich, da dieses Verfahren die Immunreaktivität wiederherstellt und die Wirkung der Formalin Fixierung umkehrt (83).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Antigene durch Hitzeeinwirkung demaskiert. Die Schnitte wurden hierfür mit der für den Antikörper richtigen Pufferlösung, also entweder mit EDTA oder Citrat, behandelt. Danach verweilten diese Schnitte für 40 Minuten im Dampfgarer. Die anschließende Abkühlung erfolgte für 20 Minuten bei Raumtemperatur. Ungefähr 5 Minuten wurden die Schnitte mit Leitungswasser abgespült. Zuletzt wurden sie mit Waschpuffer behandelt.

Bezüglich des Antikörpers Anti-Involucrin ist zu ergänzen, dass dieser Antikörper durch enzymatische Behandlung demaskiert wurde. Die Schnitte wurden mit Proteinkinase K vorbehandelt.

### **Färbeablauf**

Für die Färbung wurden die Objektträger zunächst zweimal jeweils 5 Minuten mit Waschpuffer gespült. Anschließend wurde Peroxidase Blocking Solution aufgetragen und 5 Minuten auf den Objektträgern eingewirkt.

Daraufhin erfolgte das Auftragen des Primärantikörpers. Für 60 Minuten wirkte dieser bei Raumtemperatur ein und wurde dann mit Waschpuffer abgespült. Die Objektträger wurden hierfür zweimal jeweils 5 Minuten mit Waschpuffer gespült. Nun wurde der Sekundärantikörper, der bei Raumtemperatur eine Stunde einwirkte, aufgetragen.

Danach wurden die Objektträger wieder zweimal jeweils 5 Minuten mit Waschpuffer gespült. Daraufhin erfolgte die Entwicklung der Schnitte mit DAB. Hierbei betrug die Einwirkzeit 7 Minuten. Erneut wurden die Objektträger ca. 5 Minuten mit Leitungswasser gespült. Die anschließende Gegenfärbung erfolgte für ca. eine Minute mit Hämatoxylin. Daraufhin wurden diese Objektträger zuerst ca. 10 Minuten mit Leitungswasser und anschließend ca. 30 Sekunden mit destilliertem Wasser gespült. Danach wurden die Objektträger für die Entwässerung jeweils zwei Minuten in folgenden Lösungen gebadet:

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

Die Objektträger wurden zuletzt mit der Eindeckmaschine LEICA CV5030 eingedeckt.

## 3.5 Immunhistochemische Verfahren

### 3.5.1 Monoklonale Antikörper

In dieser Studie wurden monoklonale Antikörper verwendet. Monoklonale Antikörper spielen eine wichtige Rolle in der Diagnostik, Therapie und Forschung (84). Für viele molekulare immunologische Untersuchungen dienen sie als wesentliche Werkzeuge. Ein monoklonaler Antikörper stammt von einem einzelnen B-Zellklon und ist für ein einzelnes Epitop spezifisch (85).

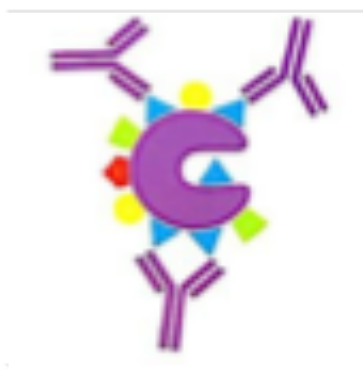


Abbildung 6: Schematische Darstellung eines monoklonalen Antikörpers (86)

Antikörper sind Glykoproteine der Immunglobulin-Superfamilie. Zur Identifizierung und Neutralisierung von Antigenen oder fremden Organismen werden sie von B-Zellen sekretiert. Bestandteile der Antikörper sind zwei schwere und zwei leichte Ketten. Eingeteilt werden sie abhängig von der Art der schweren Ketten in verschiedene Isotypen. In der Regel handelt es sich bei therapeutischen monoklonalen Antikörpern um  $\gamma$ - Immunglobuline (oder IgG) (87).

Die Hybridomtechnologie ermöglicht die biotechnologische Erzeugung monoklonaler Antikörper (84). Erstmals haben Köhler und Milstein 1975 die in-vitro-Produktion muriner monoklonaler Antikörper aus Hybridomen beschrieben. Hiermit stellte dies den ersten Schritt zur Entwicklung menschlicher monoklonaler Antikörper als Therapeutika dar (87). Die Immunisierung des Organismus mit geeignetem Antigen ist der erste Schritt des Erzeugungsprozesses monoklonaler Antikörper (84).

Die Milzzellen werden nach einer positiven Immunantwort isoliert und mit Myelomzellen fusioniert. Dies dient dazu, um langlebige, stabile Antikörper produzierende Zelllinien, also Hybridomzellen, zu erzeugen. Anschließend werden

jede Woche die Kulturüberstände von allen Hybridomzellen auf die Produktion des interessierenden Antikörpers gescreent.

Hybridomzellen, die den interessierenden Antikörper produzieren, werden bis ein monoklonales Hybridom gefunden wird, kloniert. Hierbei handelt es sich um einen sehr zeitaufwändigen Prozess. Aus diesem Grund wurden seit 1975 zur Erleichterung der Erzeugung monoklonaler Antikörper unterschiedliche Selektionsstrategien entwickelt (84).

Bereits in den frühen 1980er Jahren wurden therapeutische monoklonale Antikörper entwickelt. Im Jahre 1986 wurde das erste therapeutische monoklonale Antikörperprodukt vermarktet. Seit dem 10. November 2014 sind 47 monoklonale Antikörperprodukte in Europa oder USA für die Behandlung von vielen Erkrankungen zugelassen (88).

Ein Bericht aus dem Jahre 2017 geht von über 50 lizenzierten monoklonalen Antikörpern gegen viele Erkrankungen aus. Ungefähr 540 weitere monoklonale Antikörper befinden sich in der laufenden klinischen Entwicklung. Nicht nur als Therapeutika, sondern auch in Bezug auf Konsistenz und Stabilität haben monoklonale Antikörper im Vergleich zu polyklonalen Antikörpern überlegene Eigenschaften (89).

Rekombinante DNA-Technologien ermöglichen die Humanisierung von monoklonalen Maus-Antikörpern. Hierdurch werden diese Antikörper mit den Antikörpern des Menschen ähnlicher gemacht. Auf diese Weise können sie für die Behandlung von vielen chronischen Krankheiten, Krebs und Autoimmunerkrankungen geeignet sein (90).

Zudem sind monoklonale Antikörper in der Immunhistochemie im Vergleich zu polyklonalen Antikörpern vorteilhaft. Zu den Vorteilen gehören das Fehlen unspezifischer Antikörper, ihre leichte Charakterisierbarkeit, ihre hohe Homogenität und geringe chargenabhängige Qualitätsschwankungen (86).

### **3.5.2 Herstellung monoklonaler Antikörper**

Hauptsächlich werden Mäuse zur Herstellung monoklonaler Antikörper verwendet (86). Die Herstellung monoklonaler Antikörper erfolgt durch Zellverschmelzung nach dem klassischen Hybridomverfahren.

Zunächst werden die Mäuse mit den gesuchten zellulären oder löslichen Antigenen immunisiert. Daraufhin kommt es zu einer Zunahme der Anzahl spezifischer B-Lymphozyten in der Milz und den Lymphknoten. Die Antikörper produzierenden B-Lymphozyten werden durch Zusatz von Fusionsvermittlern aus den Organen isoliert. Diese B-Lymphozyten werden dann in vitro mit Zelllinien verschmolzen. Sie sind durch einen Gendefekt charakterisiert, weswegen ihre Selektion möglich ist.

Nur zelluläre Fusionsprodukte, die mit B-Lymphozyten fusioniert haben, können nach Zugabe eines Zellgifts überleben. Daraufhin erfolgt die Selektion der gewünschten Klone bzw. Antikörperspezifität, die in Zellkulturen vermehrt werden.

Zuletzt können die Antikörper aus den Zellkulturflüssigkeiten labor- und großtechnisch aufgereinigt werden (91).

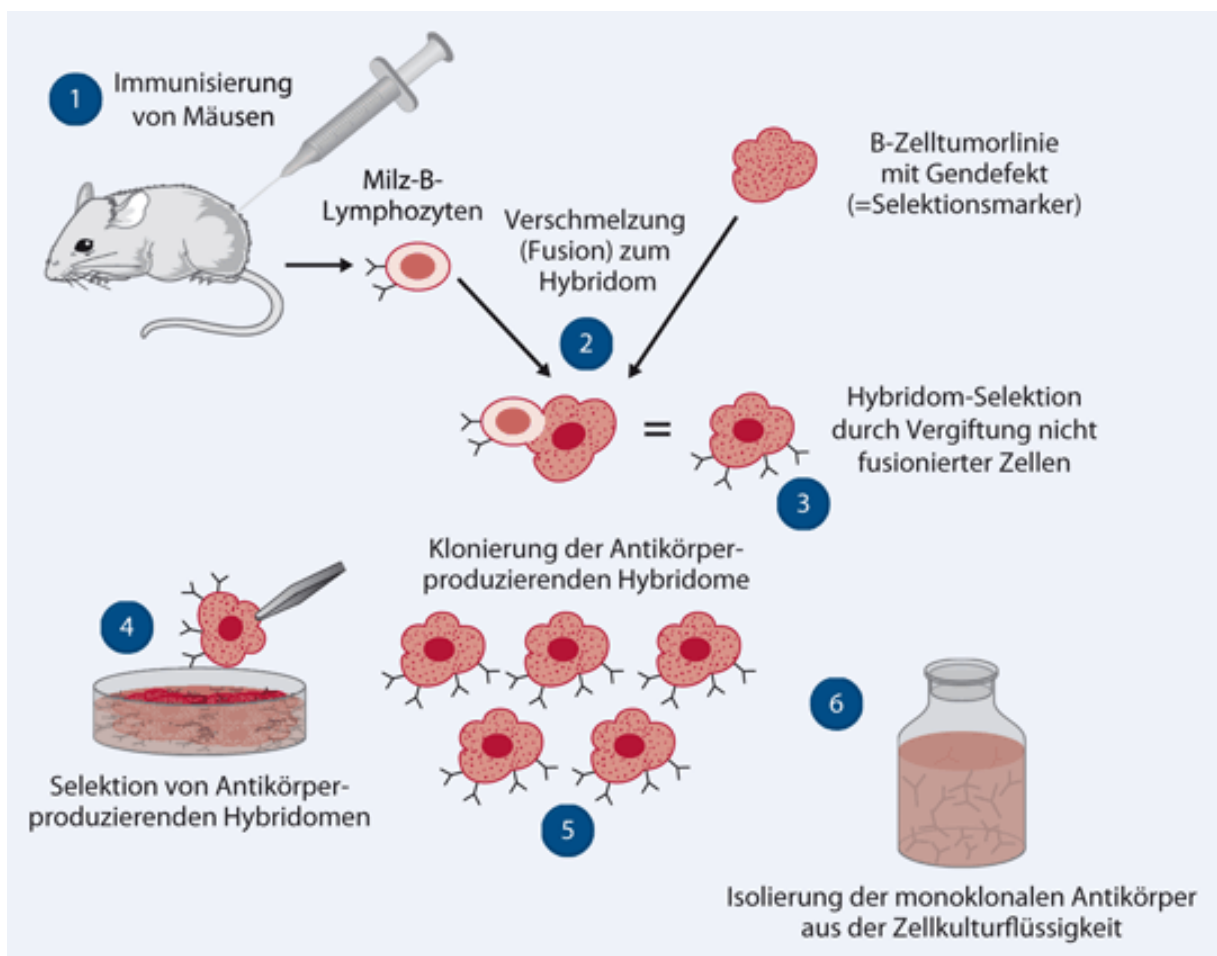


Abbildung 7: Klassische Herstellung von monoklonalen Antikörpern (91)

Zur Herstellung menschlicher monoklonaler Antikörper gibt es auch moderne Verfahren. Dazu zählen das Phagendisplay und die Immunoglobulintransgene. Diese Verfahren sind durch eine Umgehung einer zweckgerichteten Immunisierung gekennzeichnet.

Das Verfahren Phagendisplay zählt zu den ersten und am weitesten verbreiteten in-vitro-Selektionstechnologien (90). Bei dem Verfahren Phagendisplay werden die gewünschten Antikörper über Genbanken von menschlichen Immunoglobulingenen selektiert (91).

Die Biologie von Bakteriophagen spielt dabei eine wesentliche Rolle, da diese zum Anzeigen von Antikörpern verwendet werden (92). Bei diesem Verfahren werden die Antikörper kodiert und auf der Oberfläche von Phagen exprimiert. Diese Antikörper können anschließend an antigenbeschichteten Festphasen selektiert und expandiert werden.

Das Auswahlverfahren wird hierdurch deutlich beschleunigt. Verwendet wird diese Technik vor allem, wenn menschliche monoklonale Antikörper gebraucht werden (91). Dieses Verfahren dient als leistungsfähige Technik, um die Antikörpereigenschaften zu verbessern. Für die Therapie wurden 2016 sechs menschliche Antikörper, die durch Phagendisplay weiterentwickelt wurden, zugelassen. Adalimumab (Humira®) wurde 2002 als erster aus Phagen gewonnener Antikörper mit Phagendisplay zur Vermarktung zugelassen (90).

Bei dem Verfahren Immunoglobulintransgene werden zunächst auf transgene Mäuse menschliche Immunoglobulingene übertragen und anschließend immunisiert. Dies führt zu einem starken Anstieg der Anzahl spezifischer B-Zellen, die menschliche monoklonale Antikörper produzieren. Hiermit sind klassische Verfahren zur Zellfusion möglich (91).



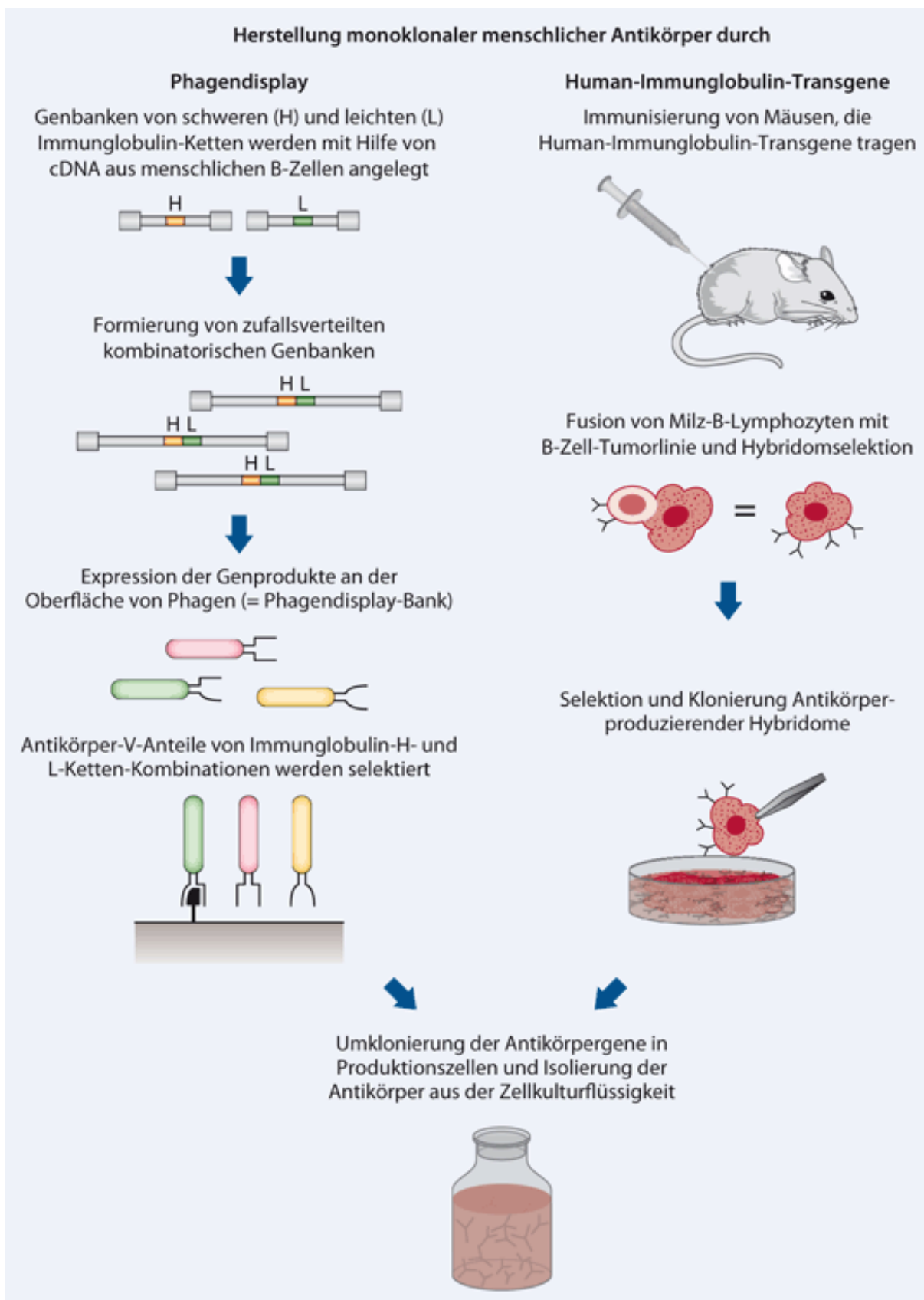


Abbildung 8: Moderne Verfahren zur Herstellung monoklonaler Antikörper (91)

## 3.6 Analyse der angefärbten Objektträger

### 3.6.1 Material

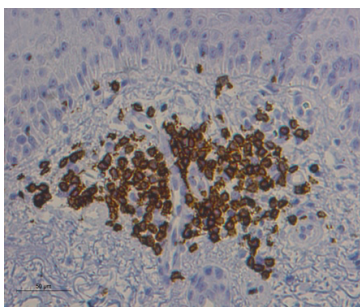
- Mikroskop LEICA DFC 295 mit einem angeschlossenen PC und einem digitalem Farbkamerasystem
- LEICA Application Suite Software
- Softwareversion V4.3
- ImageJ (zum Herunterladen von diesem Bildbearbeitungs- und Bildverarbeitungsprogramms siehe: <https://imagej.nih.gov/ij/>)

### 3.6.2 Methoden

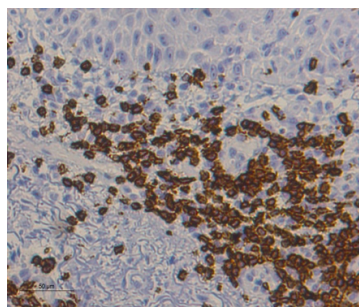
#### Erstellung der Bilder

Zur Bilderstellung wurden die Gewebeschnitte mittels digitalem Farbkamerasystem (Leica DFC 295) abfotografiert. Hierzu wurden pro Antikörper-Färbung und Patient fünf repräsentative Bildausschnitte mit der größten Menge an Antikörpern, ausgesucht. Zuletzt wurden diese fünf Bilder bei zwanzigfacher Vergrößerung angefertigt.

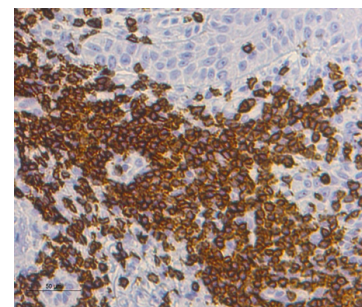
CD3-AK Bildausschnitt 1



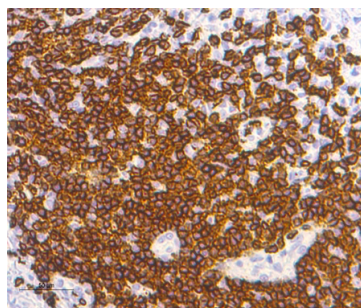
CD3-AK Bildausschnitt 2



CD3-AK Bildausschnitt 3



CD3-AK Bildausschnitt 4



CD3-AK Bildausschnitt 5

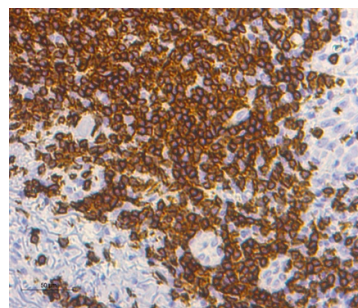


Abbildung 9: Fünf Bildausschnitte des Antikörpers CD3 im Rahmen der Bilderstellung

## **Analyse der Bilder**

Die automatisierte Bildanalyse erfolgt mithilfe des Programmes ImageJ. Hierbei handelt es sich um ein Bildbearbeitungs- und Bildverarbeitungsprogramm. Durch diese Analyse sollen die Bilder in Zahlen transferiert werden. Diese Werte geben letztendlich die Anzahl der angefärbten Zellen im jeweiligen Bildabschnitt wieder.

Für die Analyse wurden die Bilder zunächst mit dem Program ImageJ Plugin – IHC Profiler (<https://sourceforge.net/projects/ihcprofiler>) vorbereitet. Anschließend wurden diese Bilder mit dem Programm ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>) analysiert.

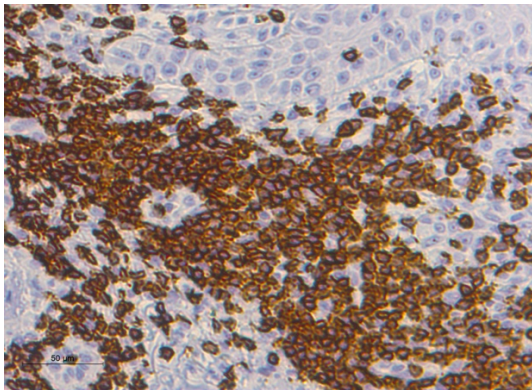
Hiermit wurden also die angefärbten Zellen der Bildabschnitte in Zahlen ausgedrückt. Um Fehler bei der Bildanalyse zu vermeiden, wurde das analysierte Bild nach der automatisierten Bildanalyse mit dem Originalbild verglichen. Bei Abweichungen vom Originalbild wurde eine nochmalige manuelle Bearbeitung der Bilder durchgeführt. Somit konnten Fehler reduziert werden. Zuletzt erfolgte eine stichprobenartige manuelle Auszählung der angefärbten Antikörper. Hiermit konnten die Ergebnisse der automatisierten Bildanalyse bestätigt werden.

- **Bildbearbeitung mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler**

Zunächst wurden die Bilder mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler bearbeitet. Hiermit werden die Farben bearbeitet, wodurch die Antikörper besser zu erkennen sind. Im Folgenden sind die einzelnen Schritte aufgelistet:

- Starten des Programmes ImageJ
- Öffnen des Bildes in ImageJ („File“ → „Open“ → Auswählen der Datei vom Speicherort → „Open“)
- Auswählen von Plugins → IHC Profiler → Nuclear Stained Image → Vector „H DAB“

CD3-AK Bildausschnitt 3



CD3-AK Bildausschnitt 3: bearbeitetes Bild

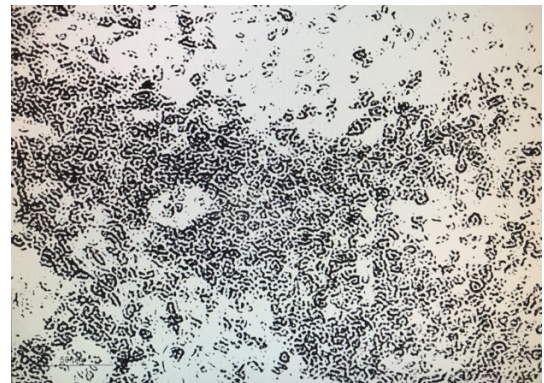


Abbildung 10: Farbenbearbeitung mit ImageJ- IHC Profiler (CD3-AK Bildausschnitt 3 als Beispiel)

- **Analyse mit ImageJ**

Die anschließende Zellanalyse erfolgte mithilfe des Programmes ImageJ. Dazu wurden eigene Makrobefehle pro Antikörper eingesetzt. Hierdurch können beim automatisierten Auszählen der Antikörper genauere Ergebnisse erzielt werden. Die Bildanalyse erfolgt nach den folgenden Makrobefehlen:

- CD1a:  
„setThreshold(0, 100)  
run(„Analyse Particles...“, „size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize“)
- CD3:  
„setThreshold(0, 100)  
run(„Analyse Particles...“, „size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize“)
- CD4:  
„setThreshold(0, 100)  
run(„Analyse Particles...“, „size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize“)
- CD8:  
„setThreshold(0, 100)



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

- CK 16:

```
„setThreshold(0, 100)
```

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

- Ki-67:

```
„setThreshold(0, 100)
```

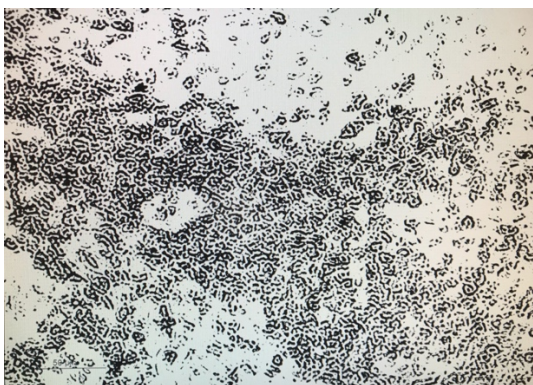
```
run("Analyse Particles...", "size=70-Infinity circularity=0.00-1.00  
show=Outlines summarize")
```

- Involucrin:

```
„setThreshold(0, 100)
```

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

CD3-AK Bildausschnitt 3: bearbeitetes Bild



CD3-AK Bildausschnitt 3: analysiertes Bild

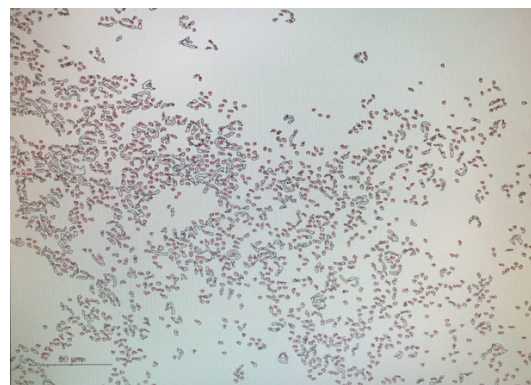


Abbildung 11: Bildanalyse mit ImageJ (CD3-AK Bildausschnitt 3 als Beispiel)

Nach erfolgter Bildanalyse gibt ImageJ eine Wertetabelle aus. Diese Tabelle beinhaltet die Variablen „Count“, „Total Area“, „Average Size“ und „%Area“. Für diese Analyse ist die Variable „Count“ ausschlaggebend. Die „Counts“ gibt die Anzahl der gezählten Partikel im Bild wieder.

## **3.7 Statistik**

### **3.7.1 Material**

- Excel

### **3.7.2 Methoden**

Durch das Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) erfolgte die statistische Beratung dieser Arbeit.

Für die statistische Auswertung wurde mithilfe des Programmes Microsoft Excel der T-Test (Zweistichproben-t-Test) durchgeführt.

Wenn hierbei ein p-Wert von unter 0,05 berechnet wird, spricht man von einem statistisch relevanten Unterschied. Es handelt sich um eine explorative Datenanalyse, d.h. es wird keine Korrektur für multiples Testen durchgeführt. Daher wird ein p-Wert von unter 0,05 in einem Test nur als statistisch relevant, nicht jedoch als statistisch signifikant bezeichnet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Übersicht

Diese Arbeit untersucht die Immunhistologie der proinflammatorischen Zellen des Immunsystems bei Patienten, die an einer Porokeratosis erkrankt sind. Hierzu werden alle Hautproben mit 7 verschiedenen immunohistochemischen Markern angefärbt. Dabei werden zwei Gruppen auf immunohistochemische Unterschiede untersucht:

- 12 Porokeratosis Patienten
- 6 gesunde Individuen, die nicht an einer Porokeratosis erkrankt sind und lediglich als Kontrollgruppe dienen.

Anschließend kann mithilfe des Programmes ImageJ die absolute Anzahl der Antikörper pro Gesichtsfeld ermittelt werden. Ein Gesichtsfeld entspricht dem vollständigen Bildausschnitt, der vom Mikroskop erfasst wird. Es beträgt 82364 Quadratzentimeter (0.082364 Quadratmillimeter).

Zur Auswertung werden zu jedem Patienten 5 histologische Schnitte pro Antikörper angefertigt. Dabei werden pro Antikörper eins der fünf Bilder abgebildet.

Anschließend erfolgt zu jedem Patienten eine graphische Darstellung der Anzahl der angefärbten Zellen (Mittelwerte der Antikörper) pro Antikörper und der ermittelte Standardfehler. Hierfür werden mithilfe des Programmes Microsoft Excel Balkendiagramme erstellt.

Der Standardfehler ist ein statistisches Maß und hängt von der Messgenauigkeit ab. Er gibt eine Aussage über die „Genauigkeit“ des Mittelwertes (93).

Eine tabellarische Übersicht stellt die einzelnen Mittelwerte für jeden Patienten und Antikörper dar. Die unterschiedliche Farbgebung bezieht sich auf die Zellzahl. Hierbei erfolgt die Farbgebung von grün (niedrige Zellzahl) über gelb (mittlere Zellzahl) zu rot (hohe Zellzahl).

Mithilfe des T-Tests (Zweistichproben-t-Test) erfolgt die statistische Auswertung. Dieser Test wird mit dem Programm Microsoft Excel durchgeführt. Anhand des T-Tests können die Mittelwerte zweier Gruppen verglichen werden (94).

In dieser Arbeit wurden folgende Antikörper als immunhistochemische Marker verwendet:

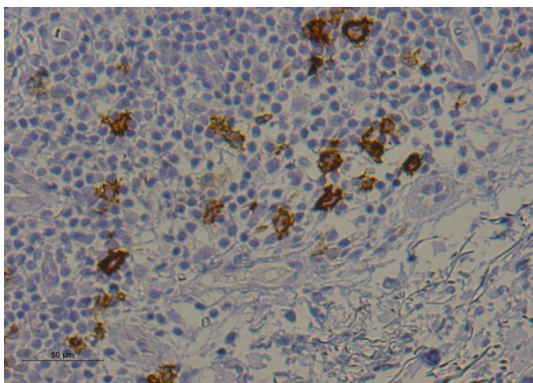
- CD1a
- CD3
- CD4
- CD8
- CK 16
- Ki-67
- Involucrin



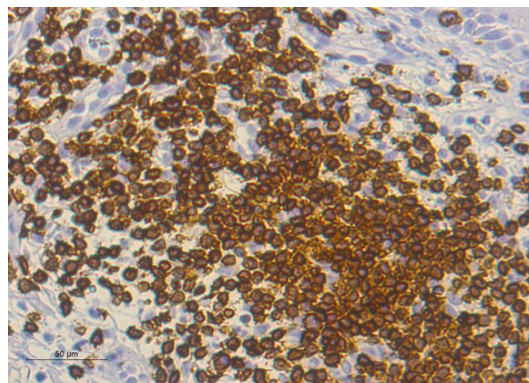
## 4.2 Histologische Schnitte

### 4.2.1 Patient 1 (männlich)

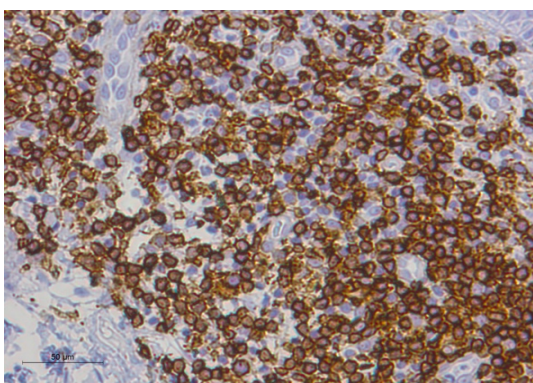
- Alter bei Studienerhebung: 41 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis



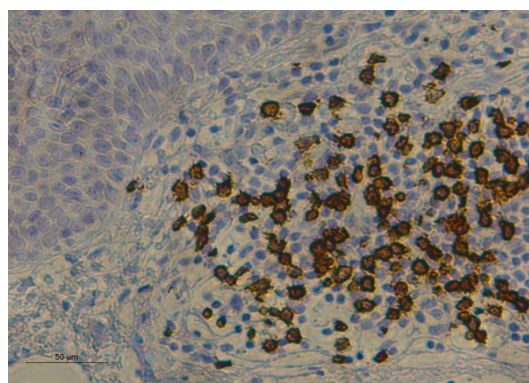
**CD1a**



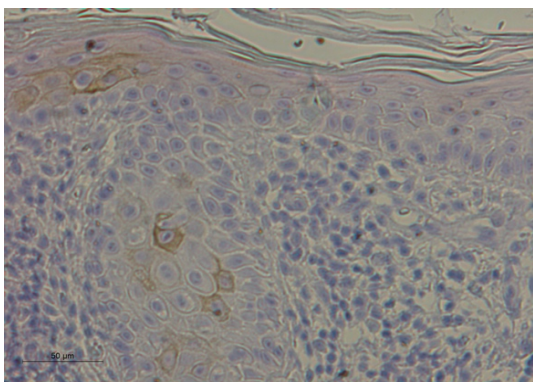
**CD3**



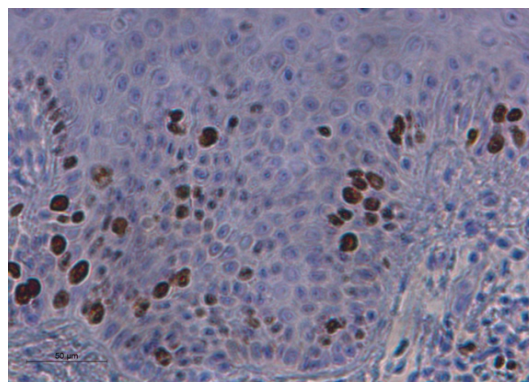
**CD4**



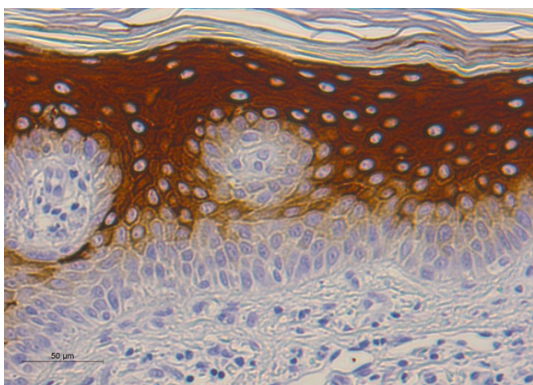
**CD8**



**CK 16**



**Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 1

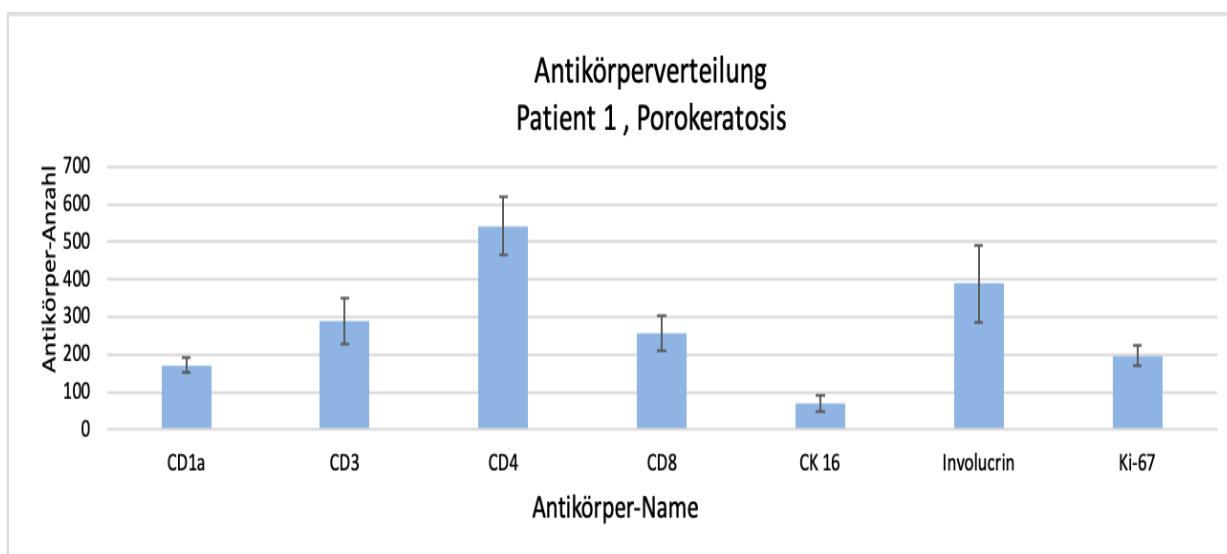
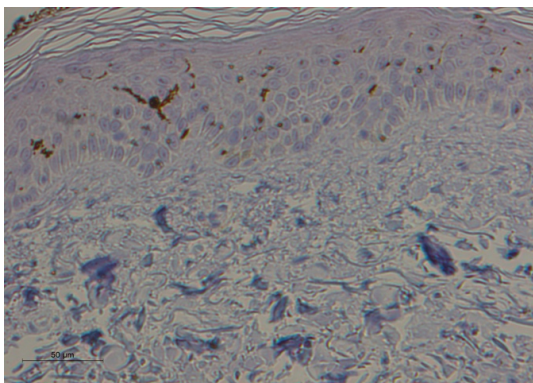
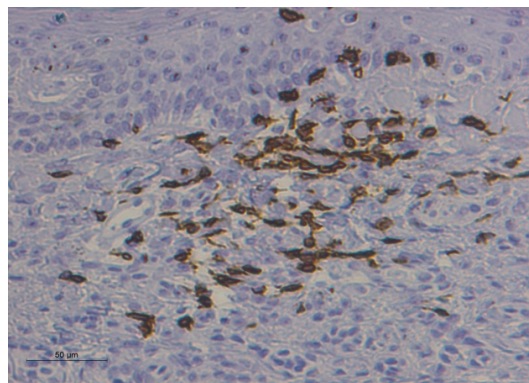
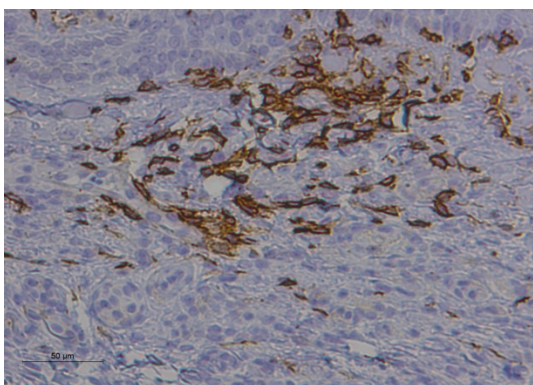
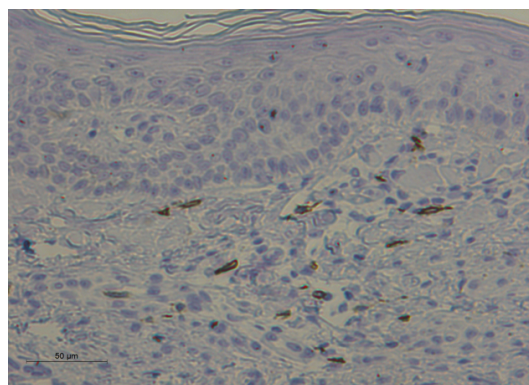
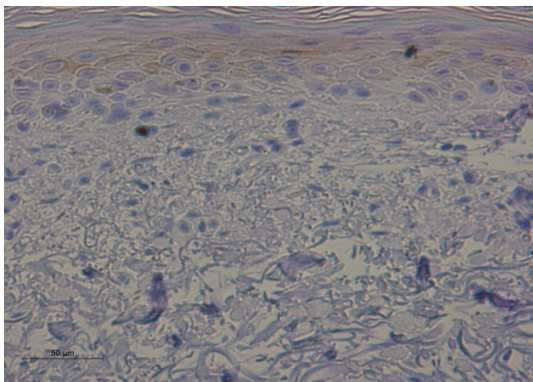
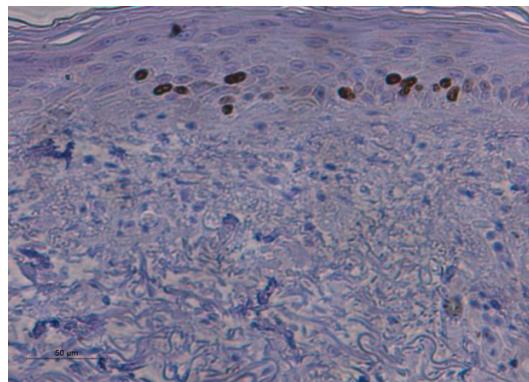


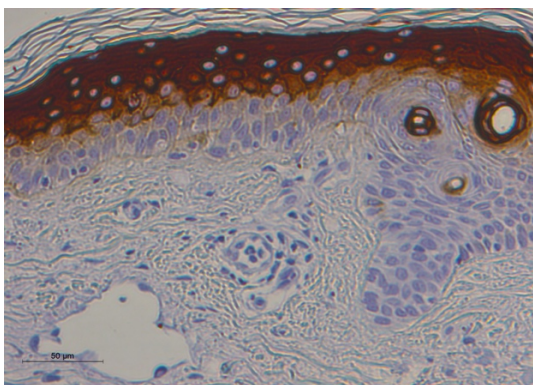
Abbildung 12: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.2 Patient 2 (weiblich)**

- Alter bei Studienerhebung: 76 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 2

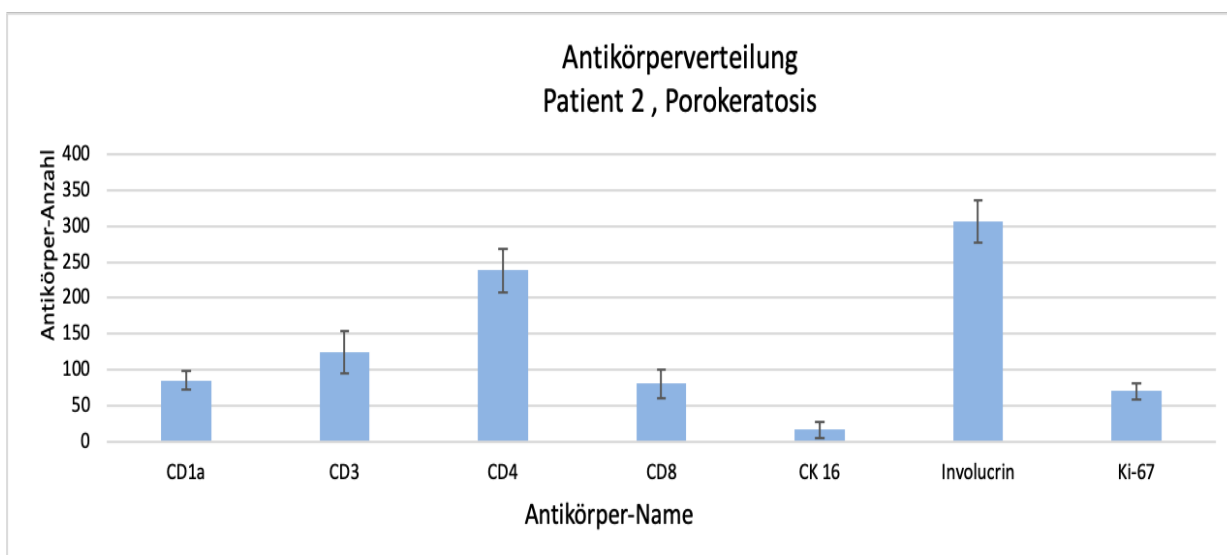
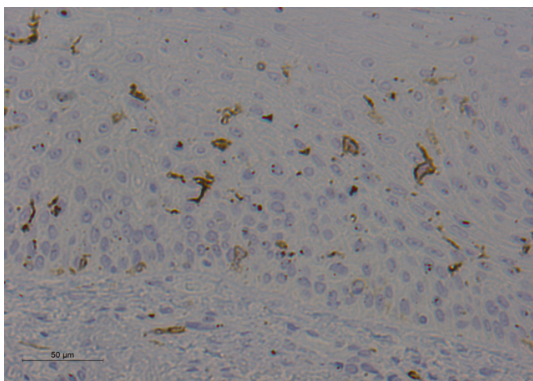
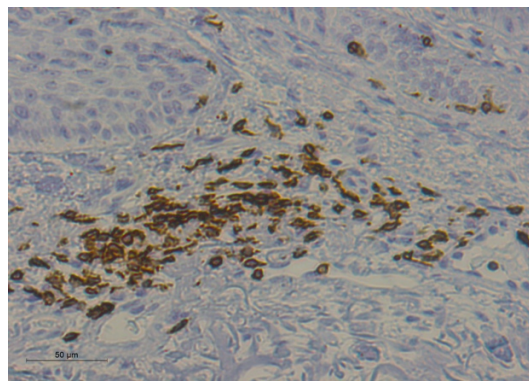
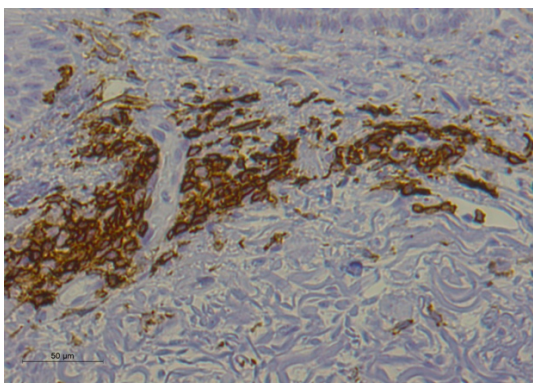
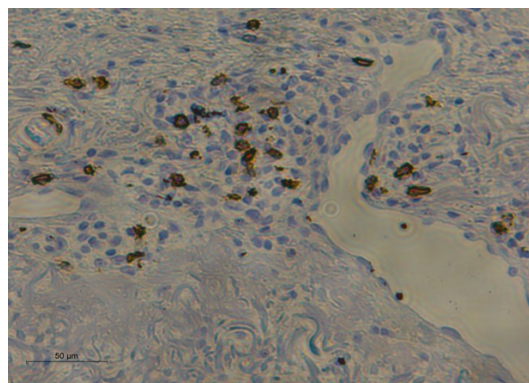
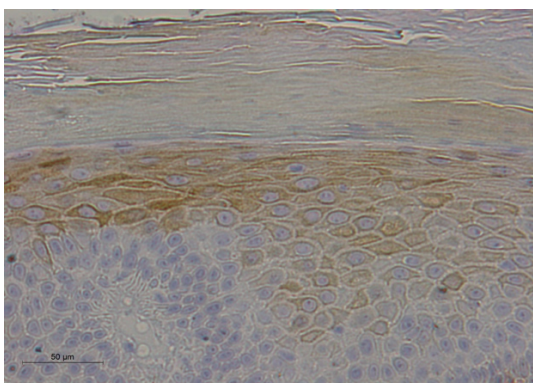
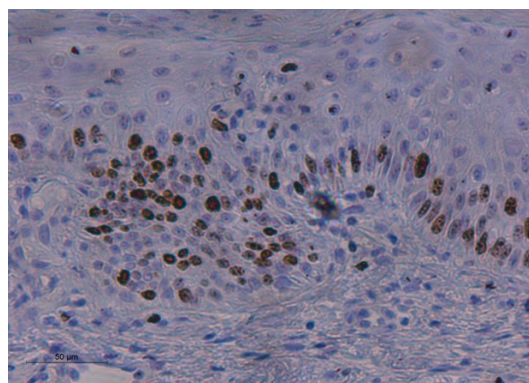


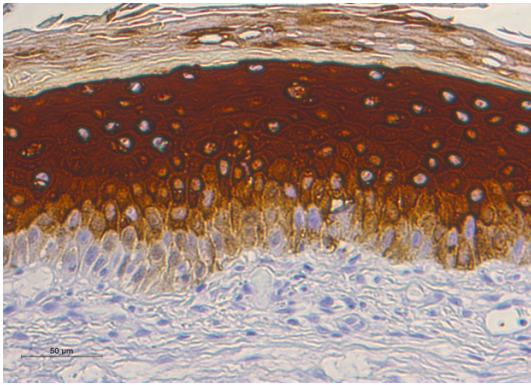
Abbildung 13: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.3 Patient 3 (weiblich)**

- Alter bei Studienerhebung: 60 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 3

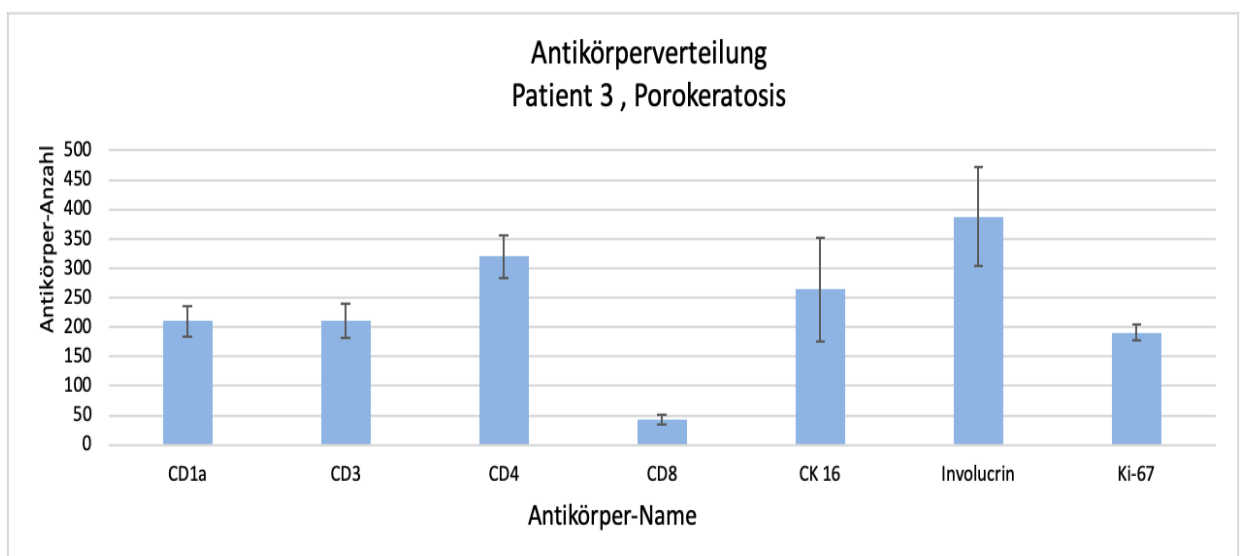
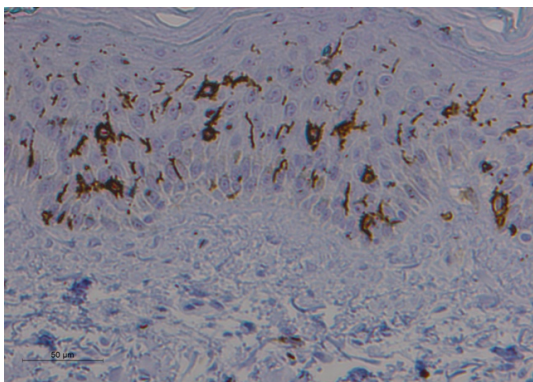
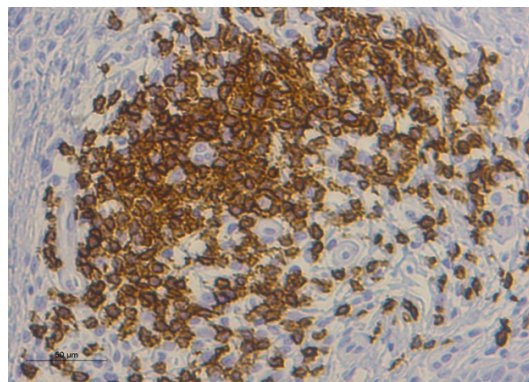
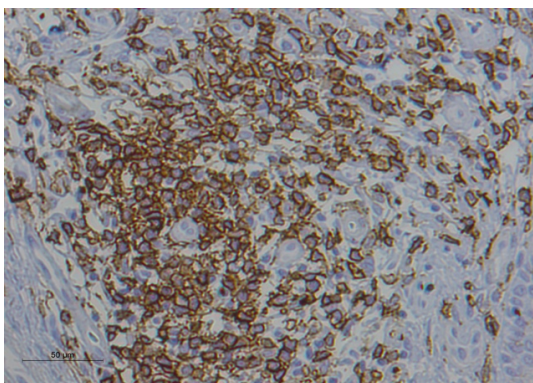
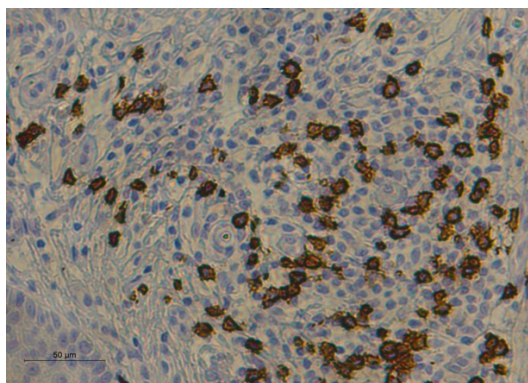
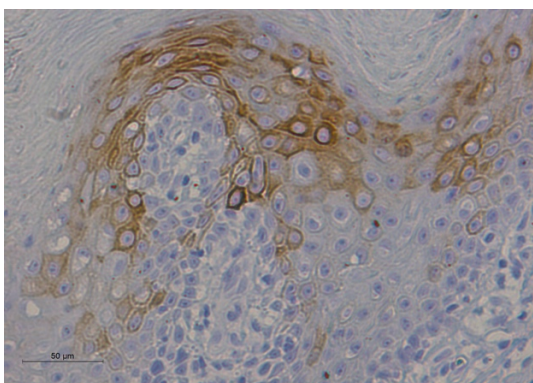
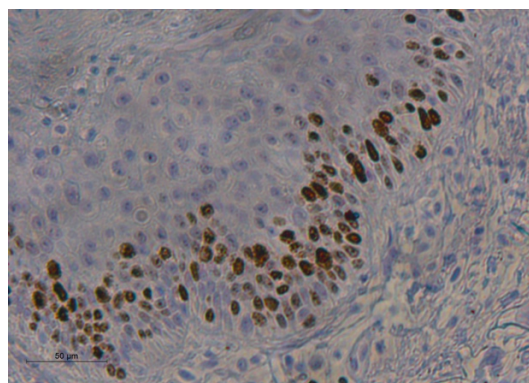


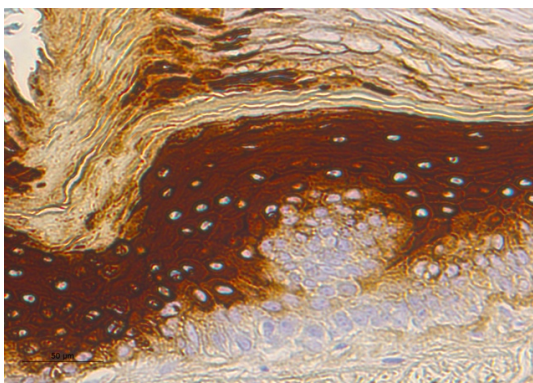
Abbildung 14: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.4 Patient 4 (männlich)**

- Alter bei Studienerhebung: 52 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 4

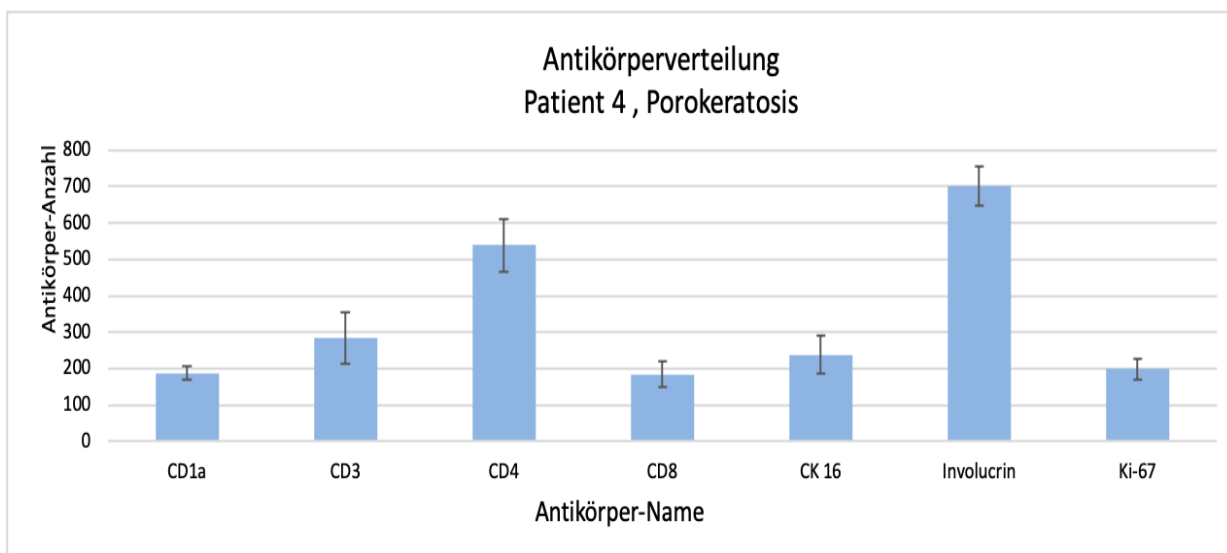
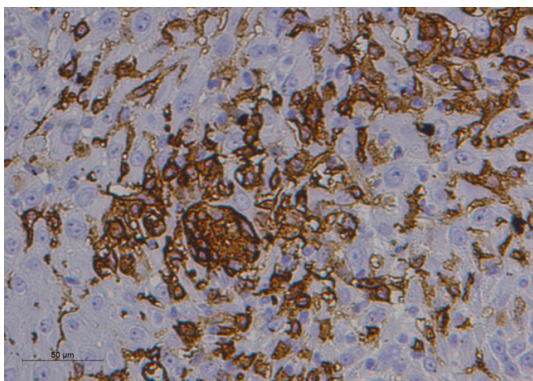
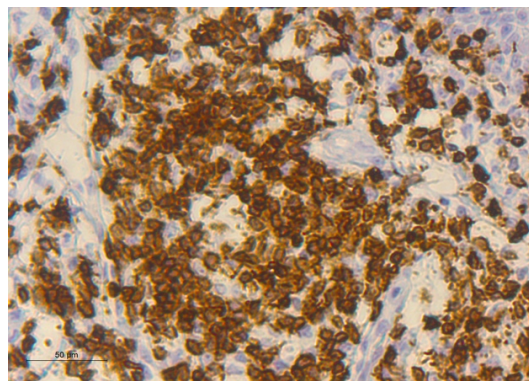
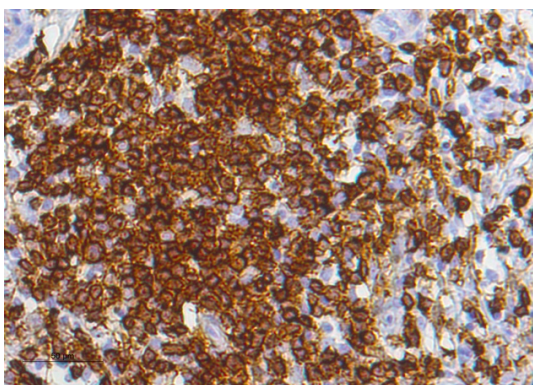
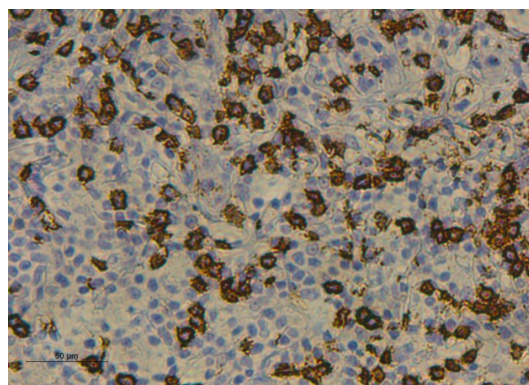
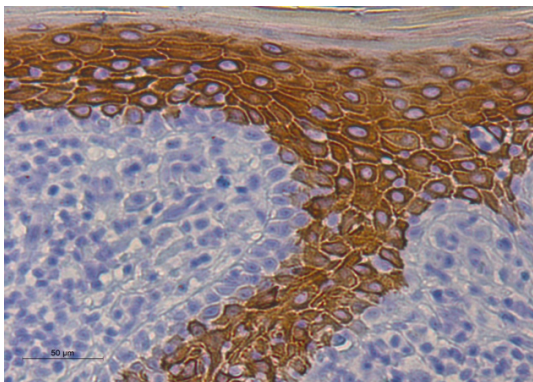
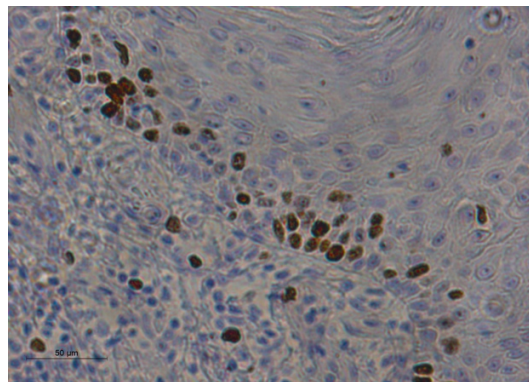


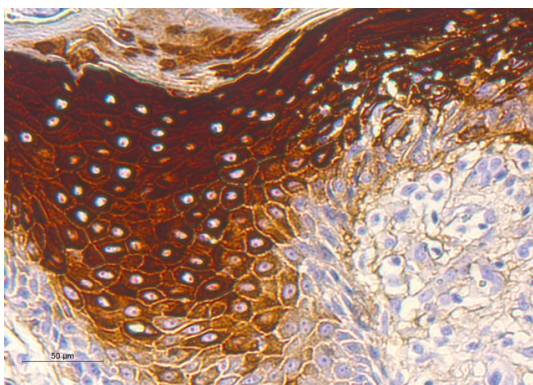
Abbildung 15: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.5 Patient 5 (männlich)**

- Alter bei Studienerhebung: 80 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 5

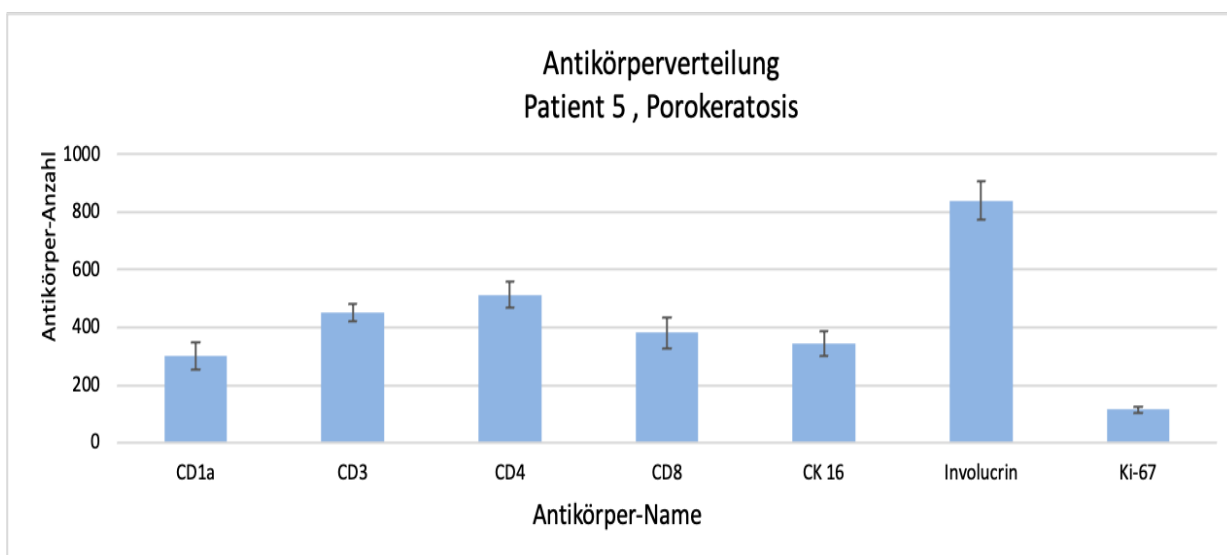
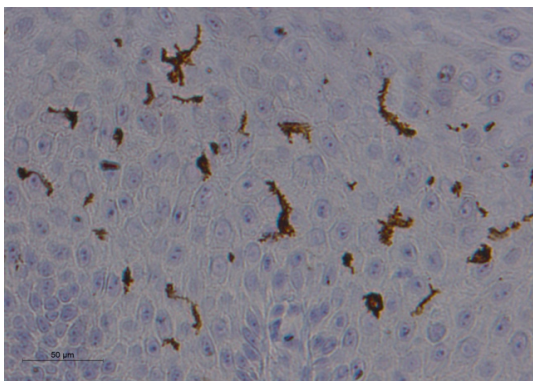
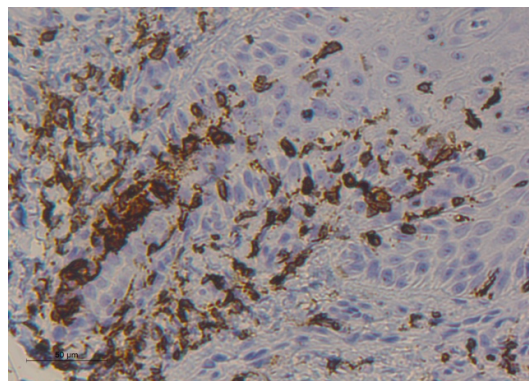
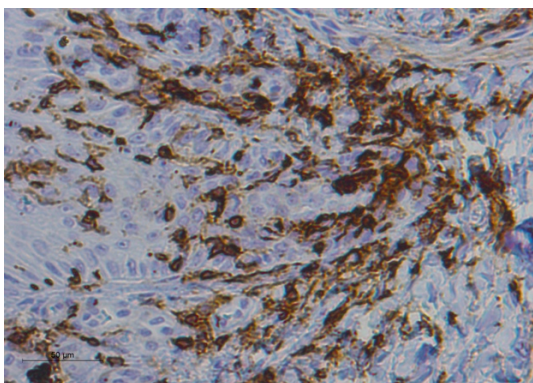
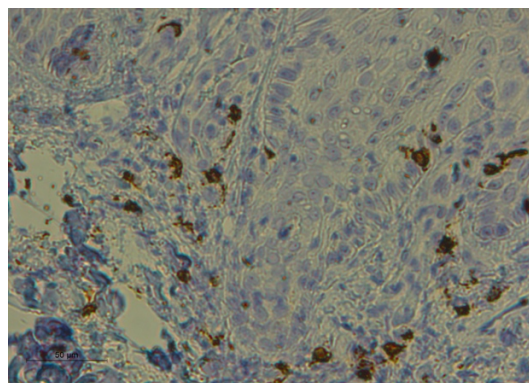
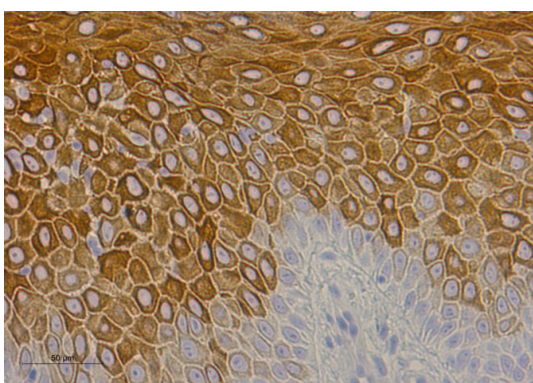
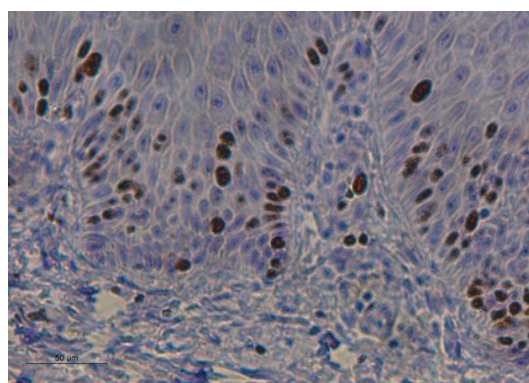


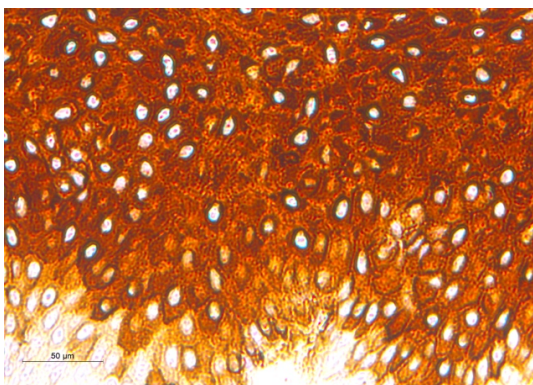
Abbildung 16: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.6 Patient 6 (männlich)**

- Alter bei Studierenerhebung: 76 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 6

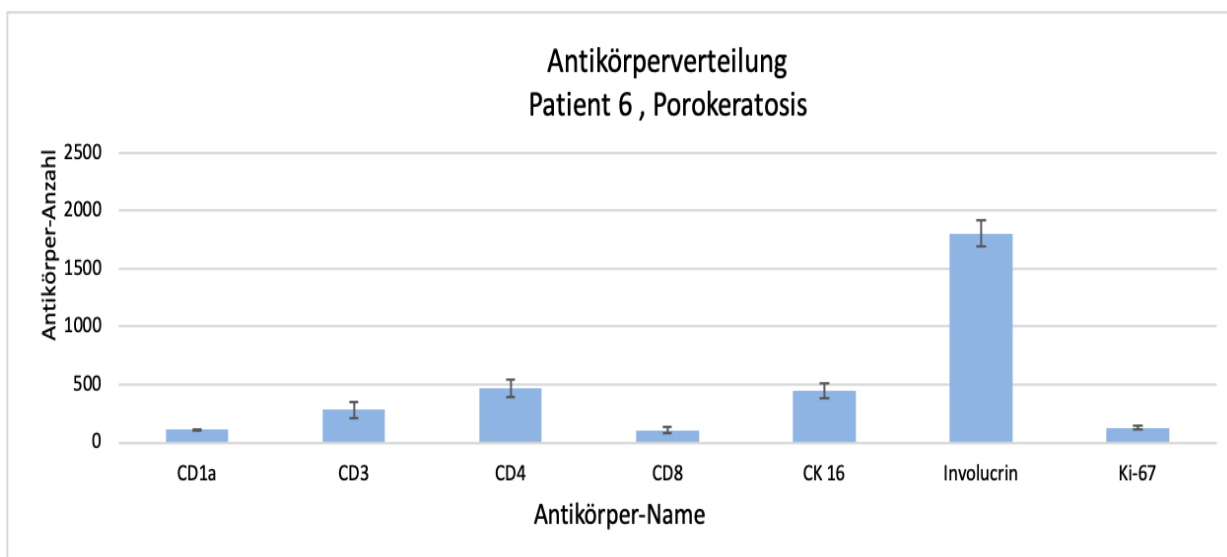
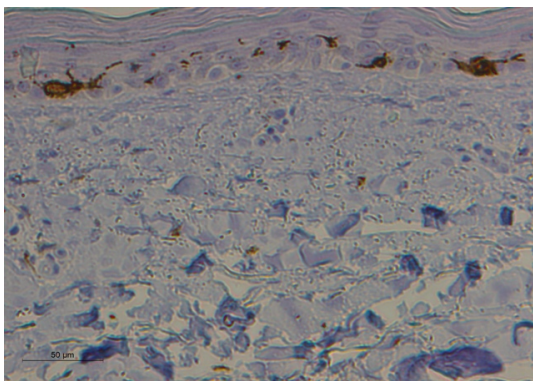
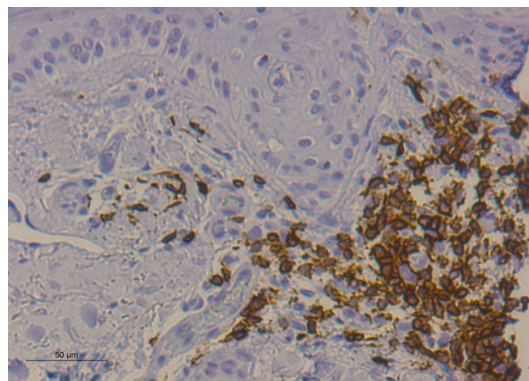
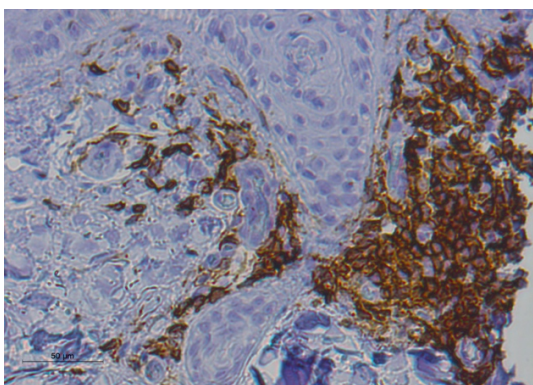
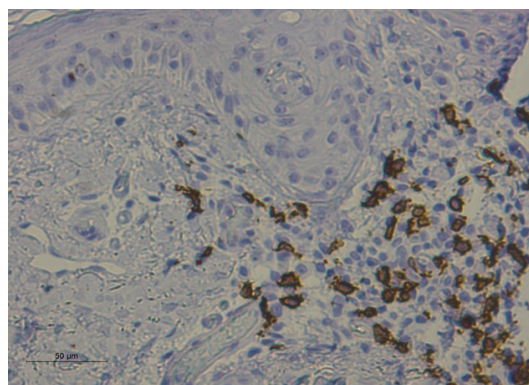
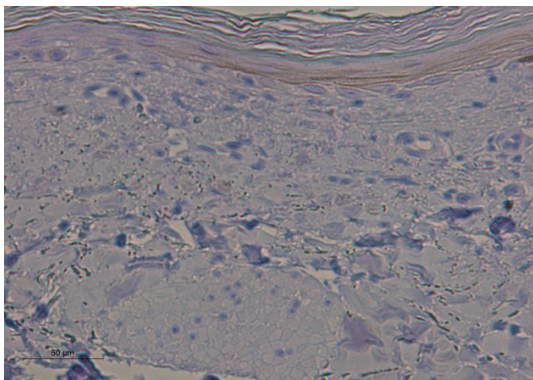
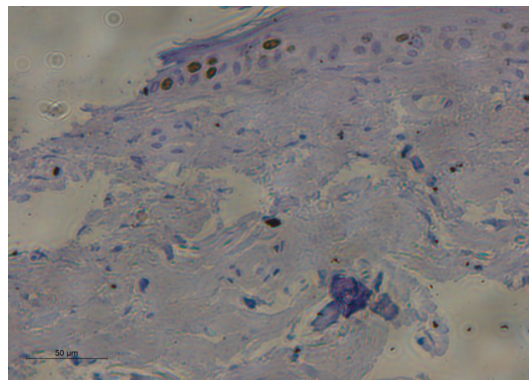


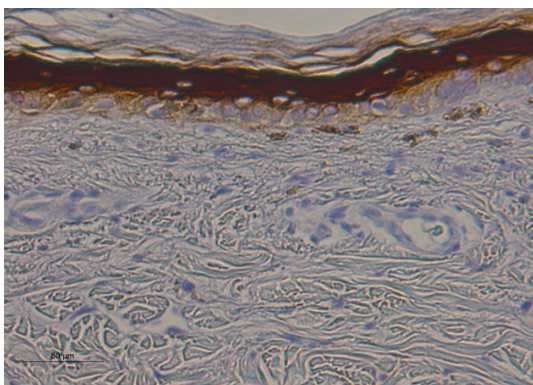
Abbildung 17: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 6 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.7 Patient 7 (männlich)**

- Alter bei Studierenerhebung: 44 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 7

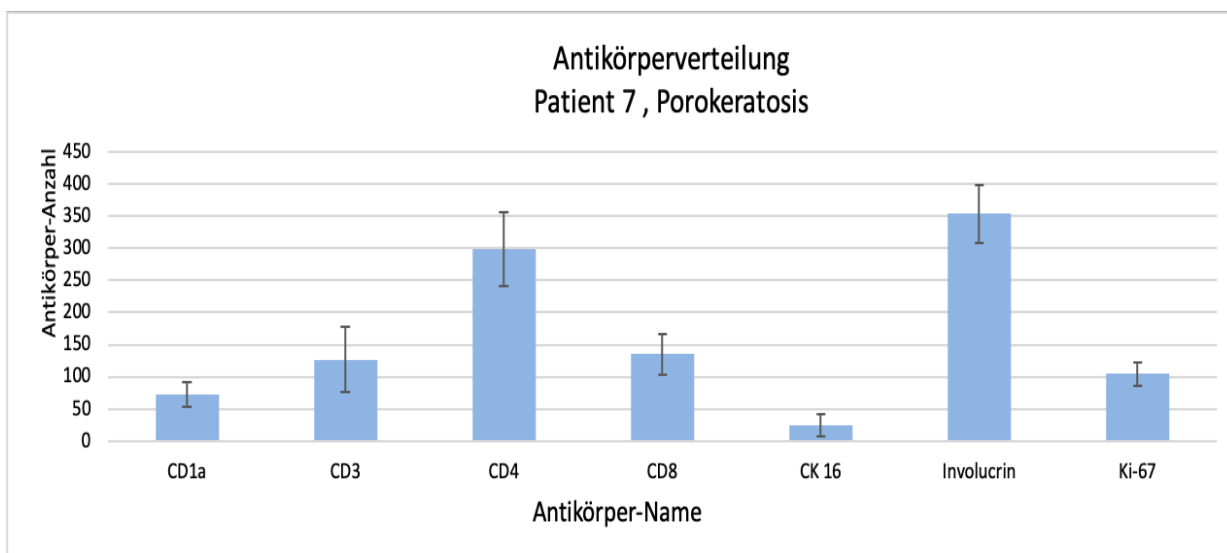
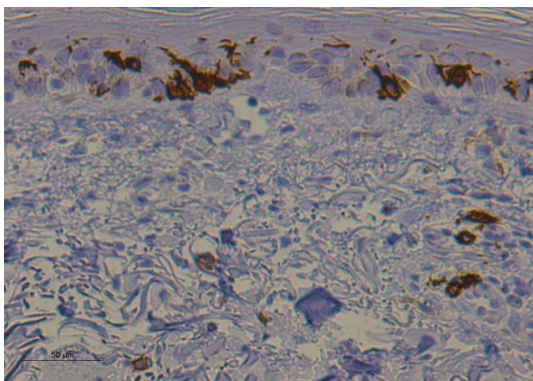
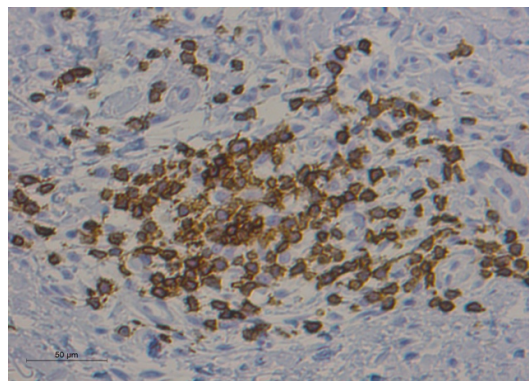
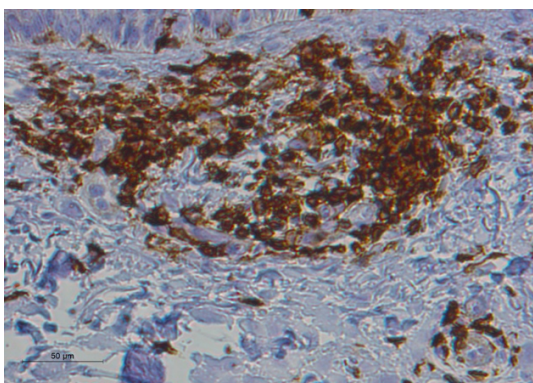
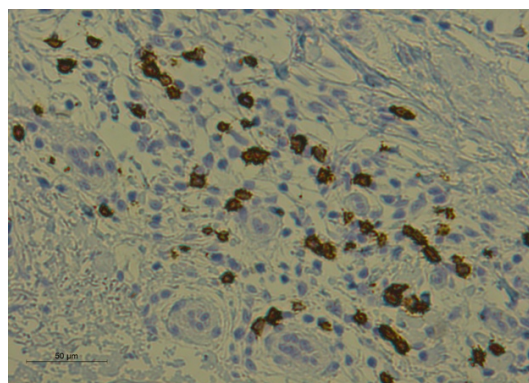
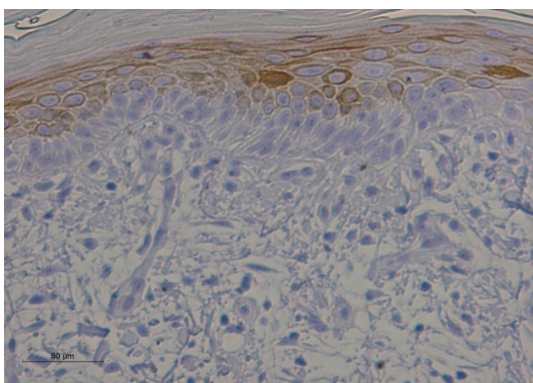
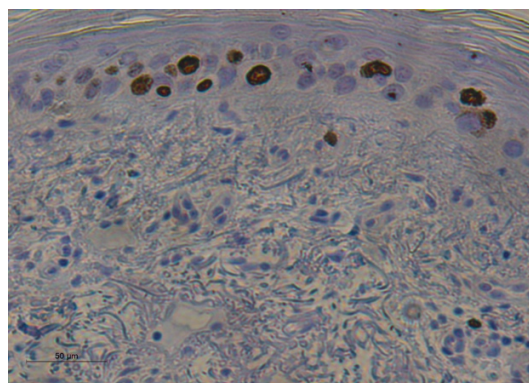


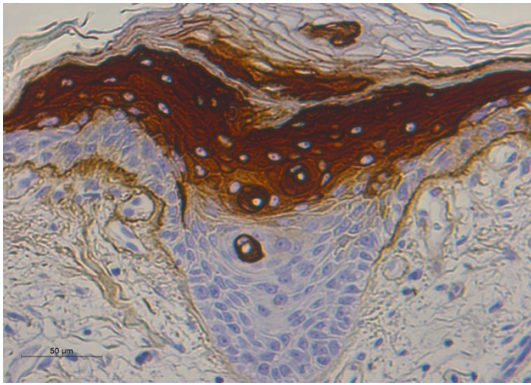
Abbildung 18: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 7 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.8 Patient 8 (männlich)**

- Alter bei Studienerhebung: 80 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 8

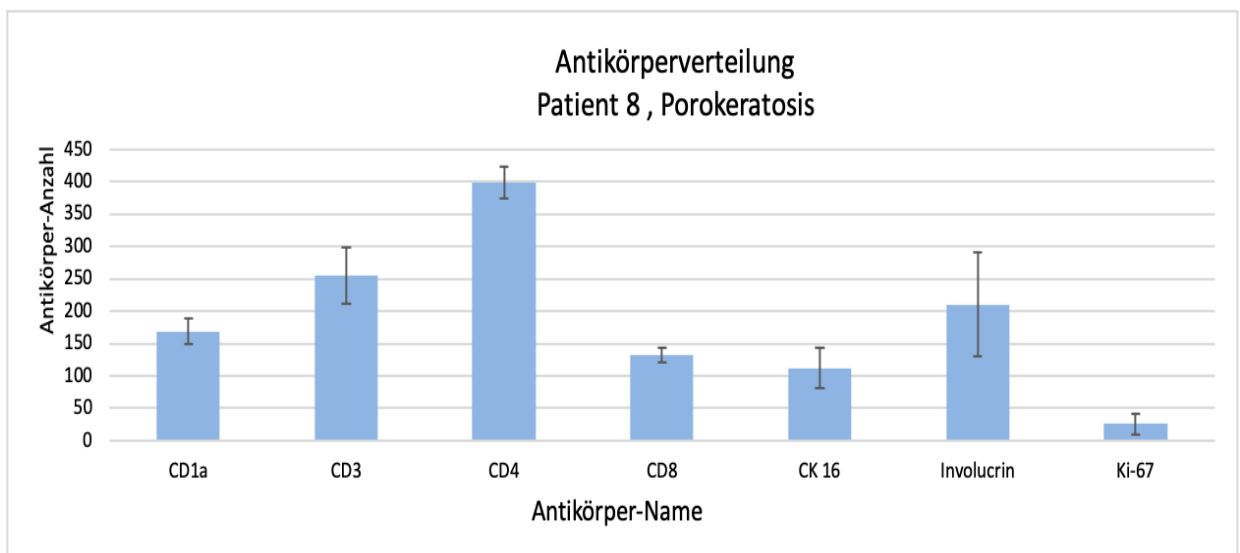
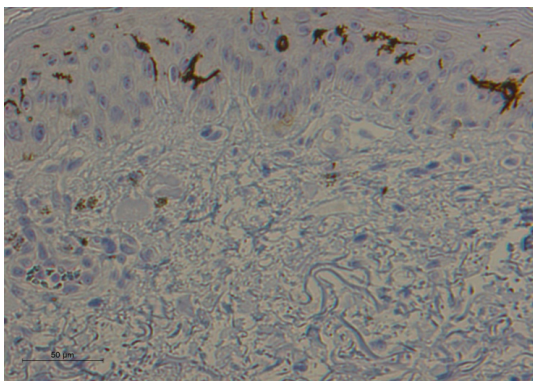
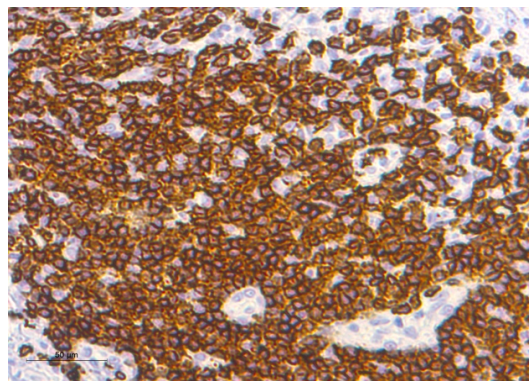
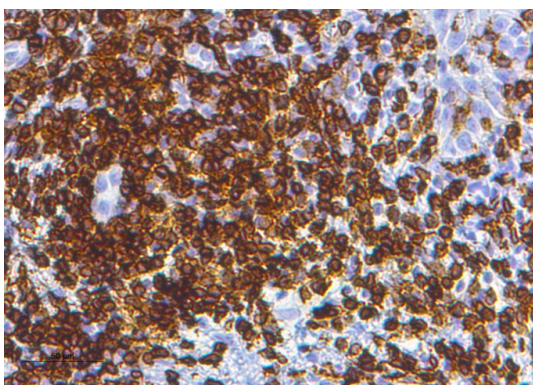
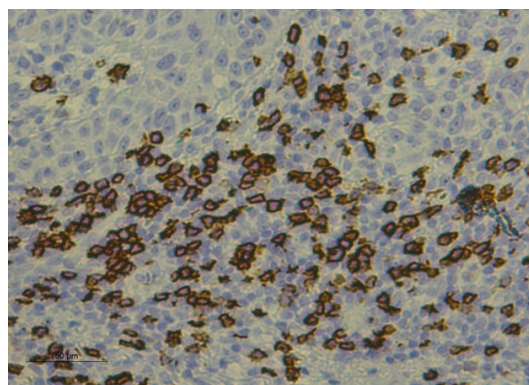
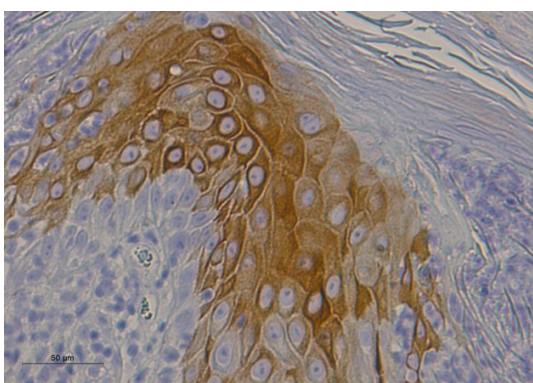
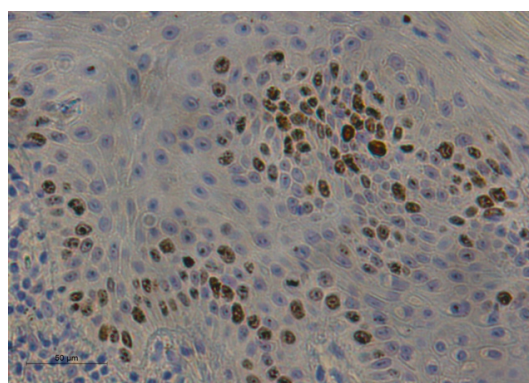


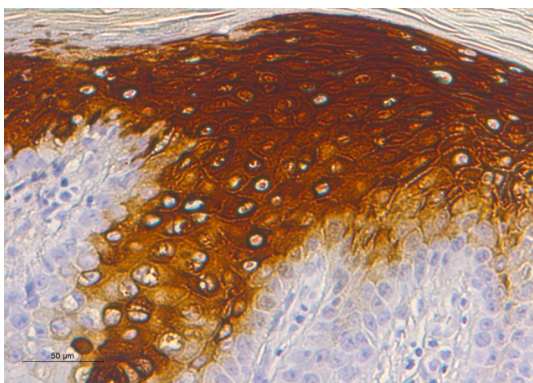
Abbildung 19: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 8 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.9 Patient 9 (weiblich)**

- Alter bei Studienerhebung: 52 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 9

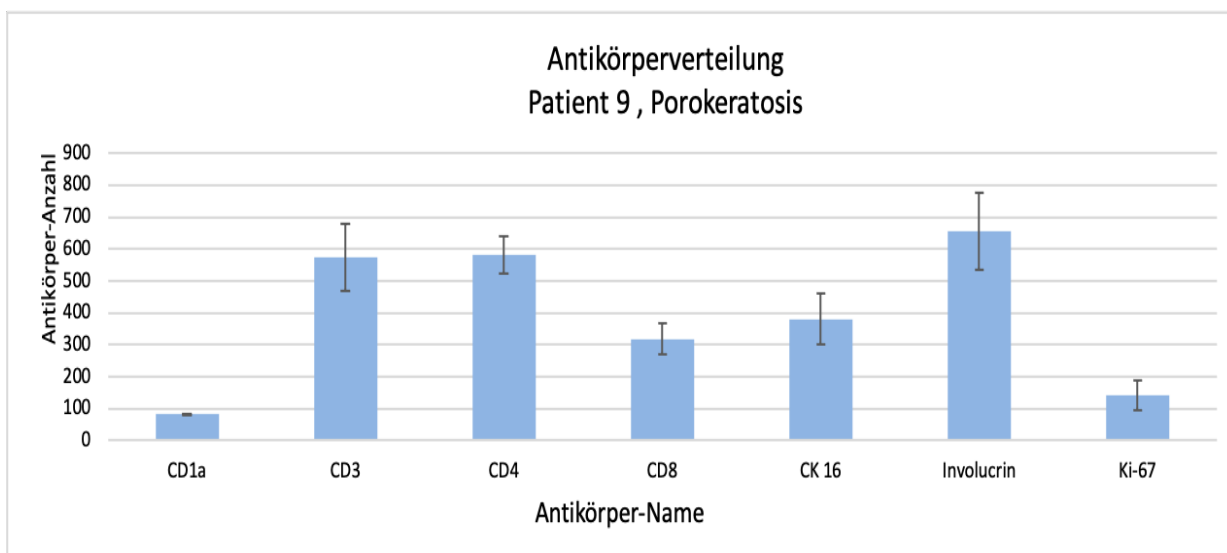
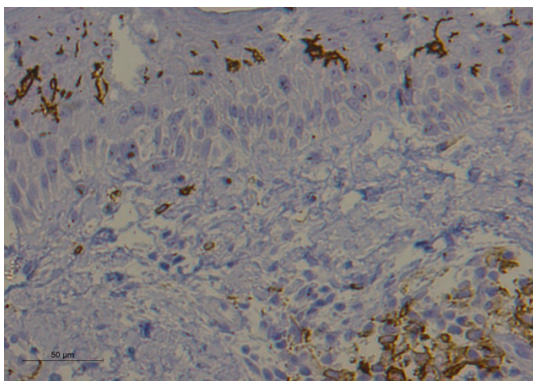
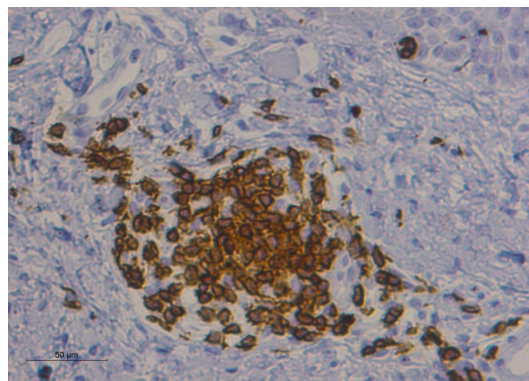
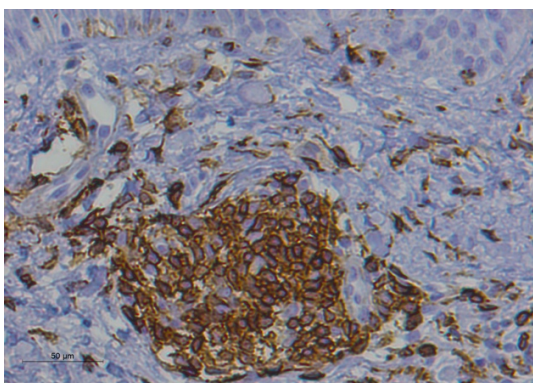
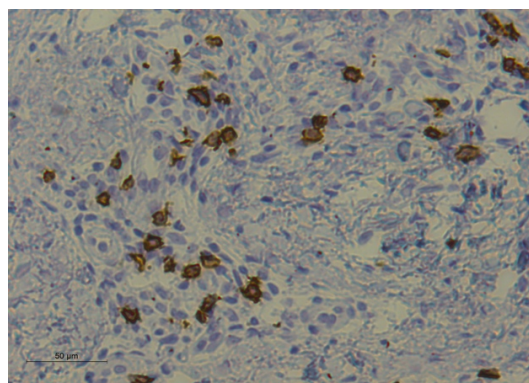
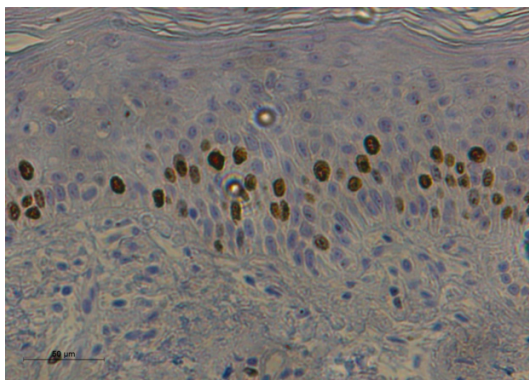


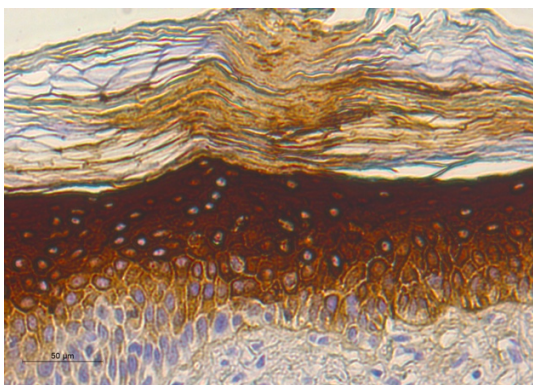
Abbildung 20: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 9 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.10 Patient 10 (weiblich)**

- Alter bei Studierenerhebung: 63 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK16 (Färbung nicht zu sehen)****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 10

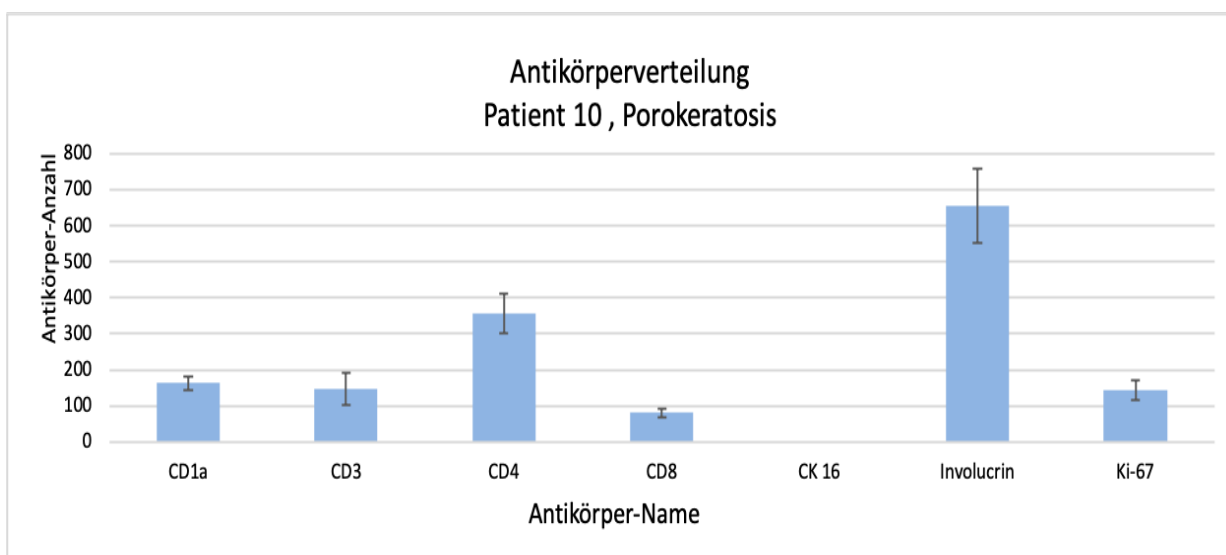
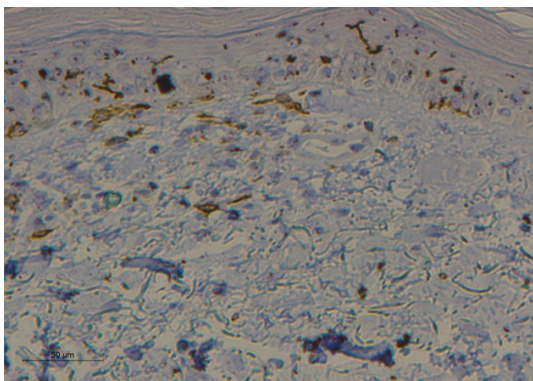
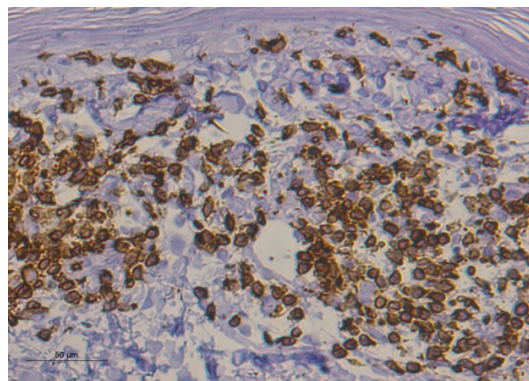
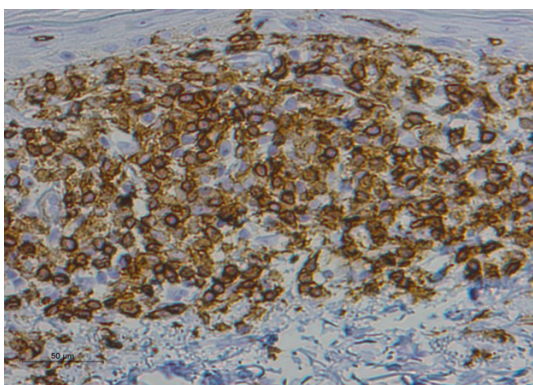
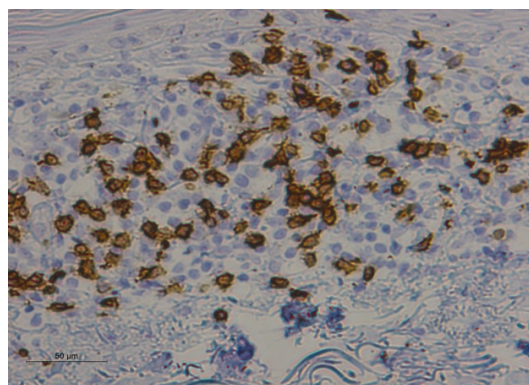
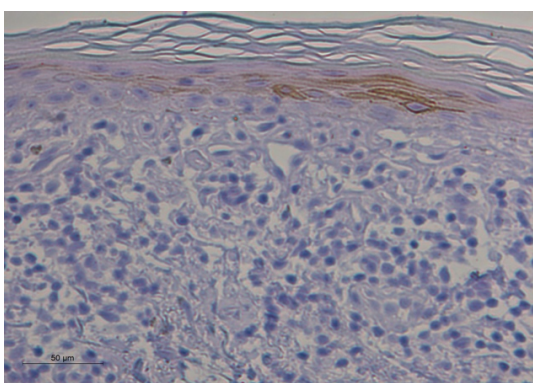
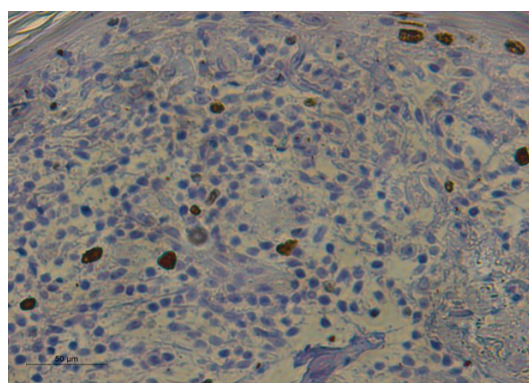


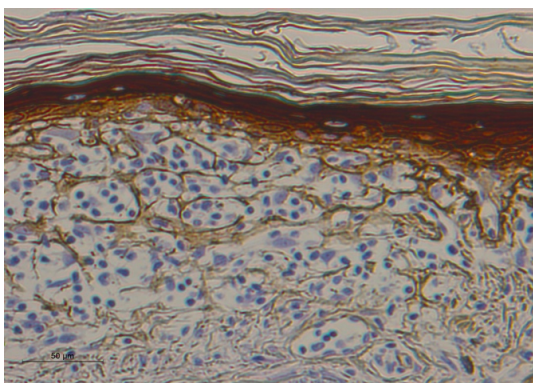
Abbildung 21: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 10 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.11 Patient 11 (männlich)**

- Alter bei Studienerhebung: 55 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 11

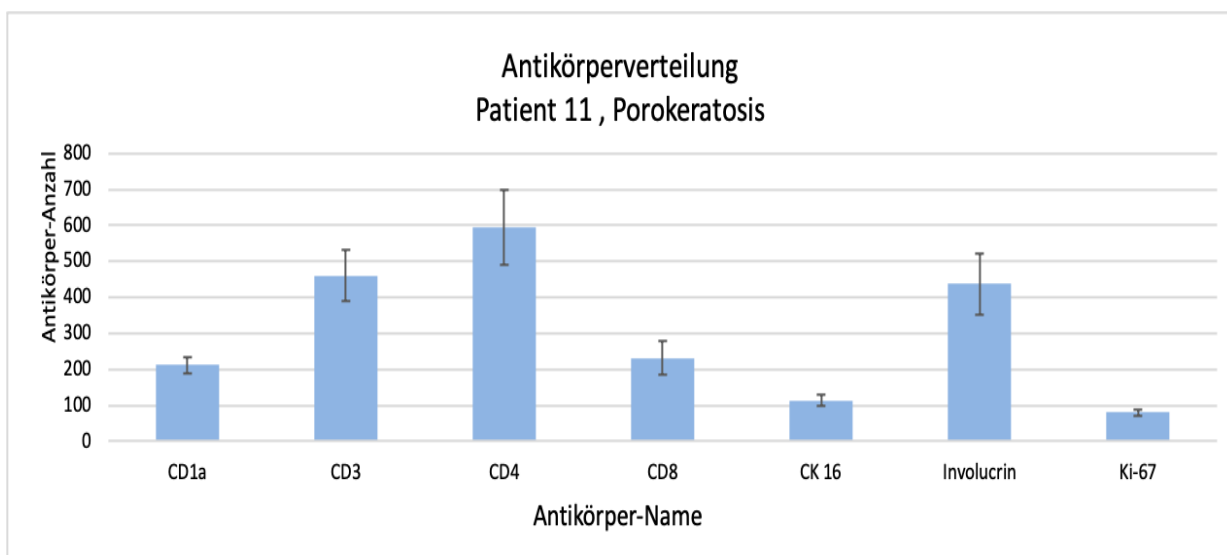
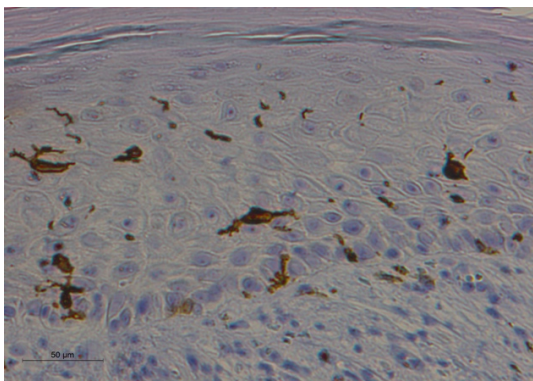
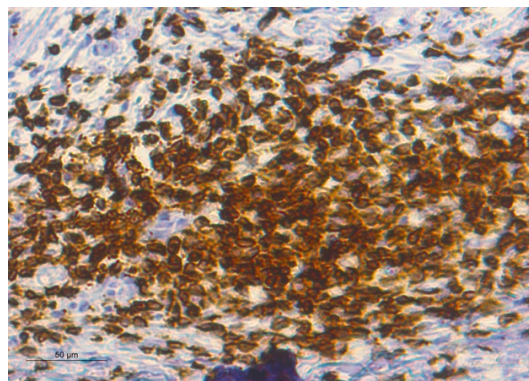
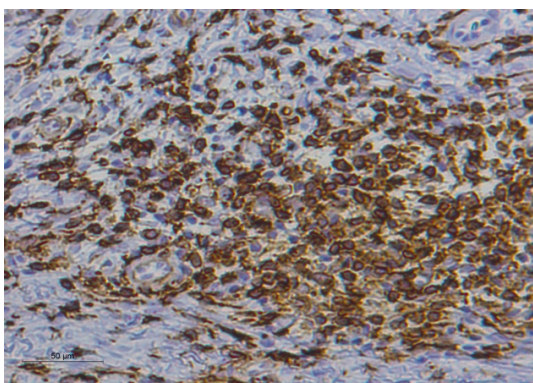
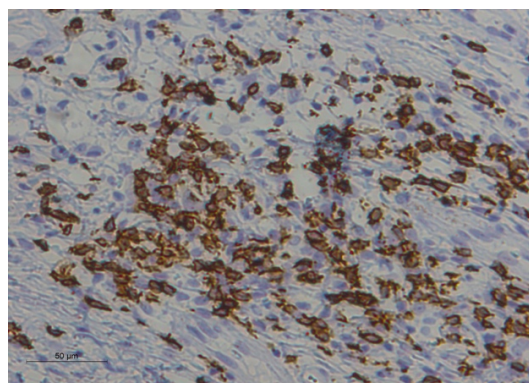
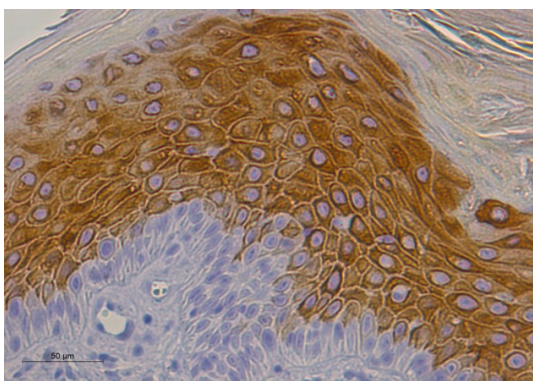
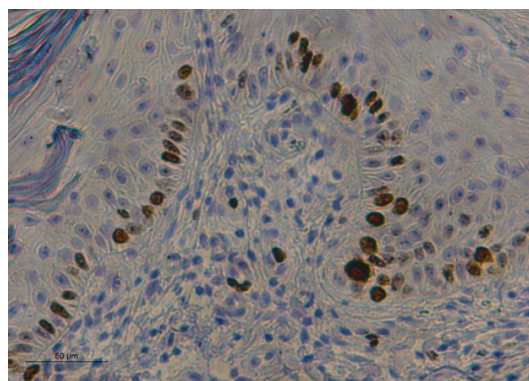


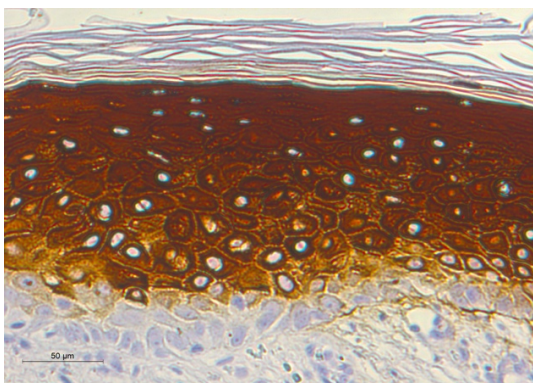
Abbildung 22: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 11 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.12 Patient 12 (männlich)**

- Alter bei Studiienerhebung: 78 Jahre
- Gruppe: Porokeratosis

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Porokeratosis Patient 12

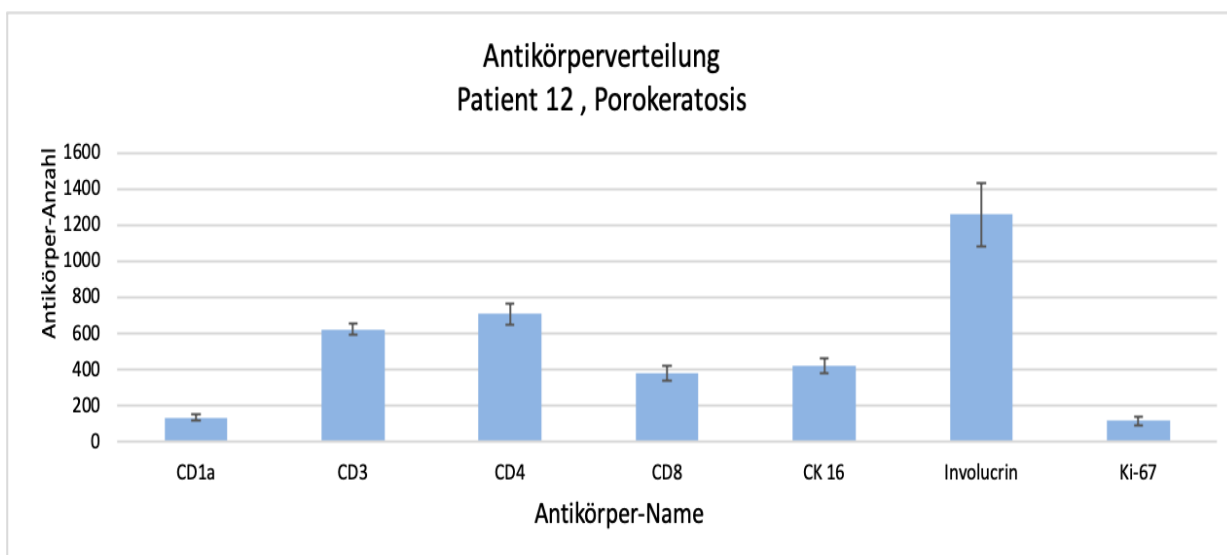
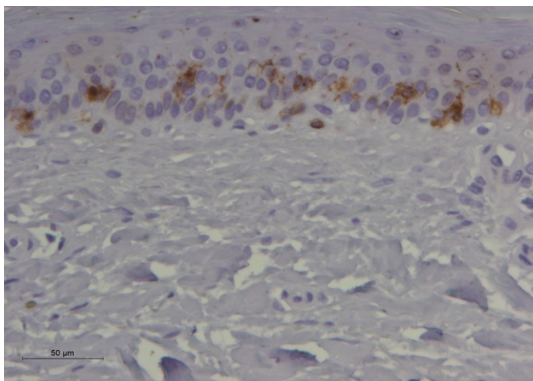


Abbildung 23: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei Patient 12 mit Porokeratosis, Fehlerindikator: Standardfehler

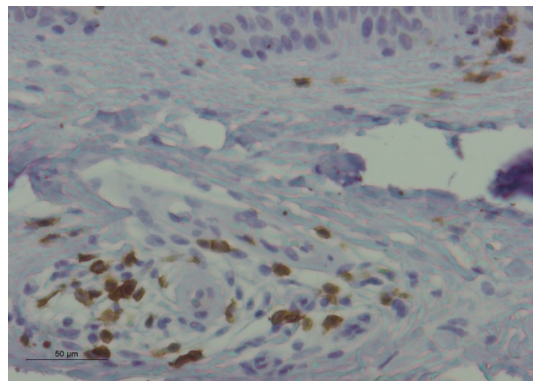


### 4.2.13 Gesundes Individuum Nr. 1

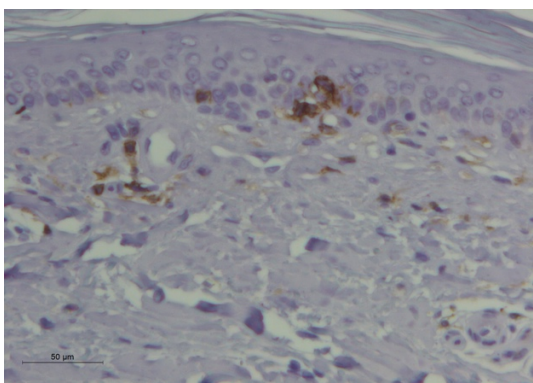
- Gruppe: Kontrollgruppe



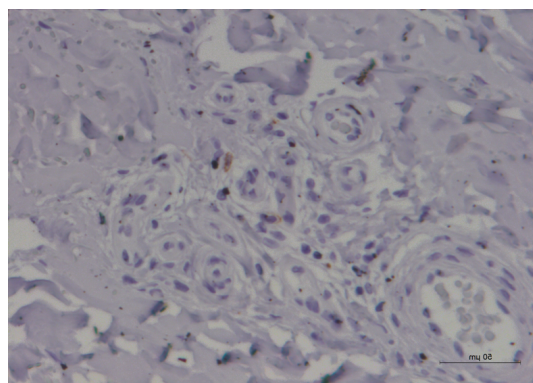
**CD1a**



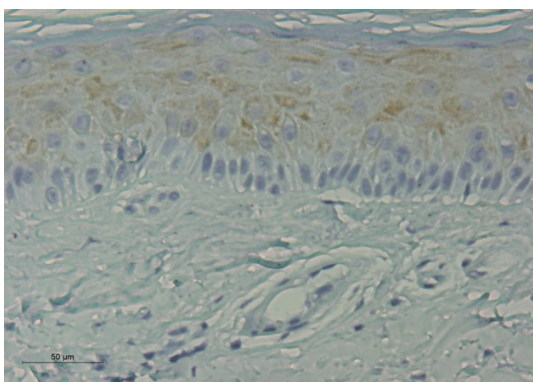
**CD3**



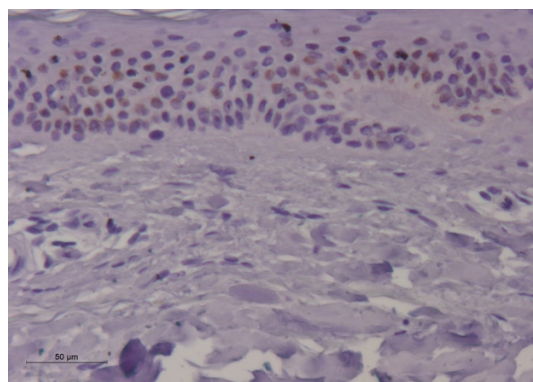
**CD4**



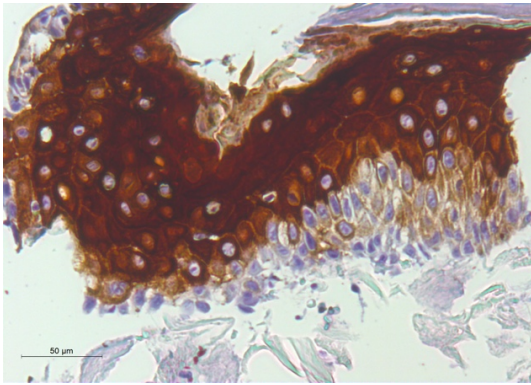
**CD8**



**CK 16**



**Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Kontrollgruppe gesundes Individuum Nr. 1

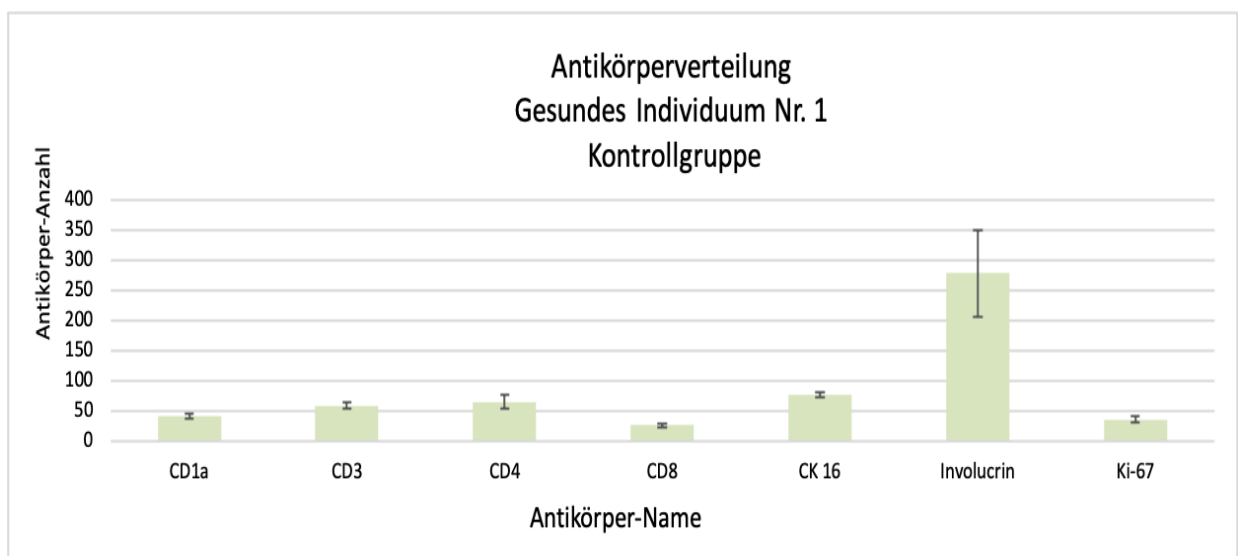
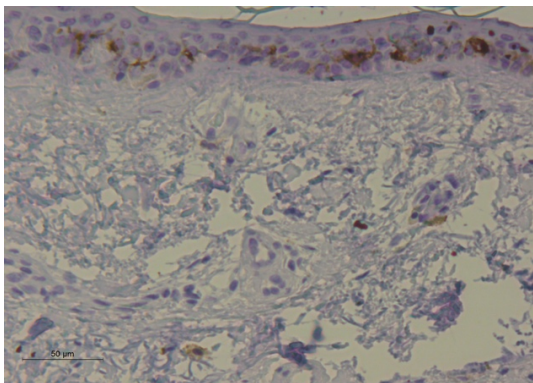


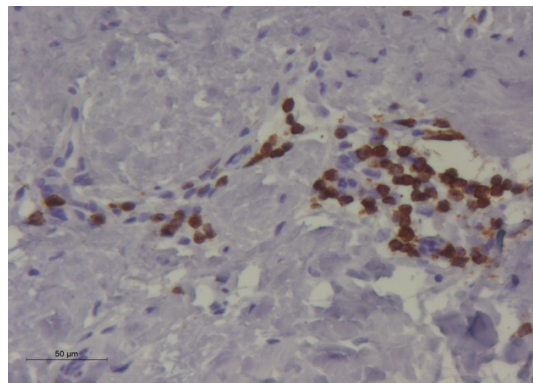
Abbildung 24: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 1, Fehlerindikator: Standardfehler

**4.2.14 Gesundes Individuum Nr. 2**

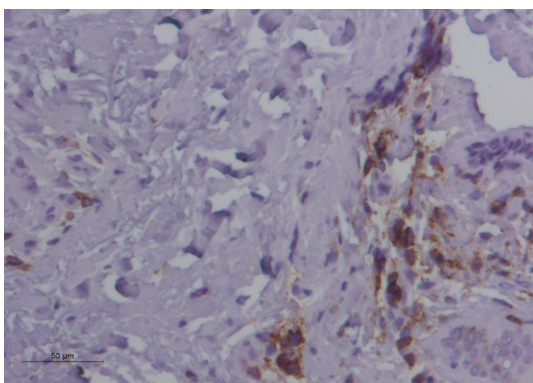
- Gruppe: Kontrollgruppe



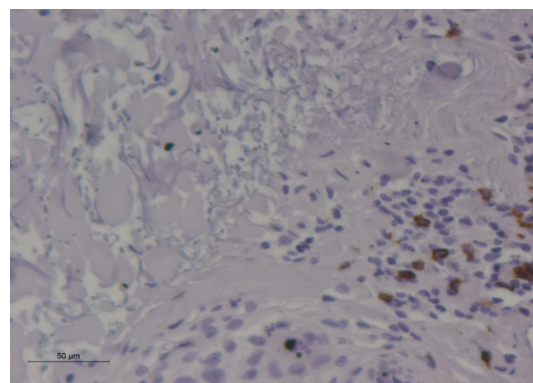
**CD1a**



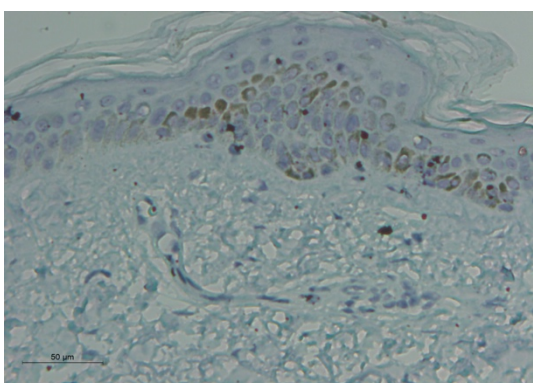
**CD3**



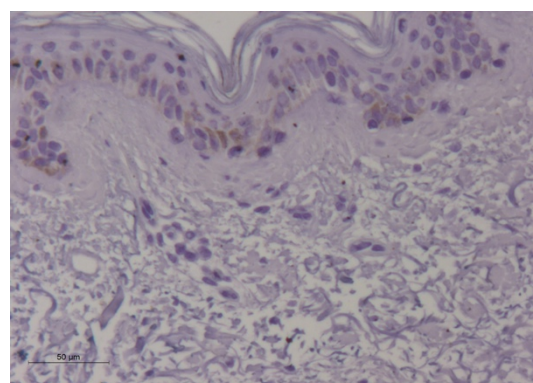
**CD4**



**CD8**

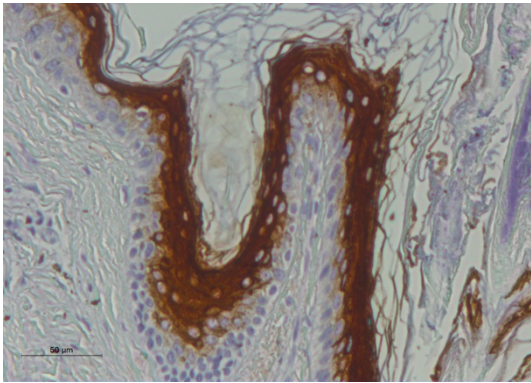


**CK 16**



**Ki-67**





## Involucrin

### Antikörperverteilung Kontrollgruppe gesundes Individuum Nr. 2

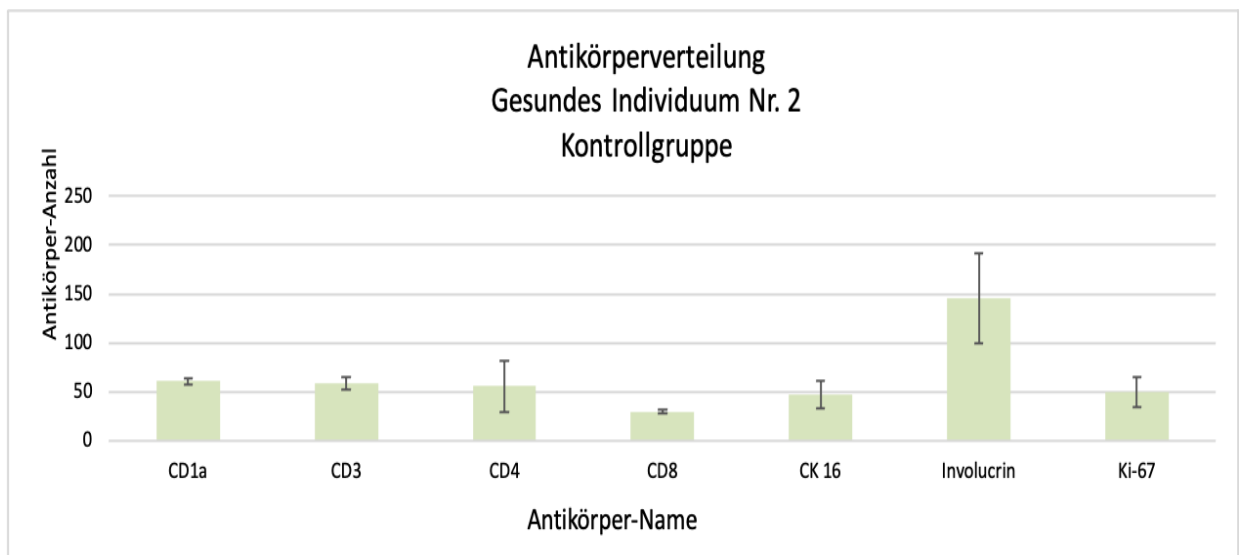
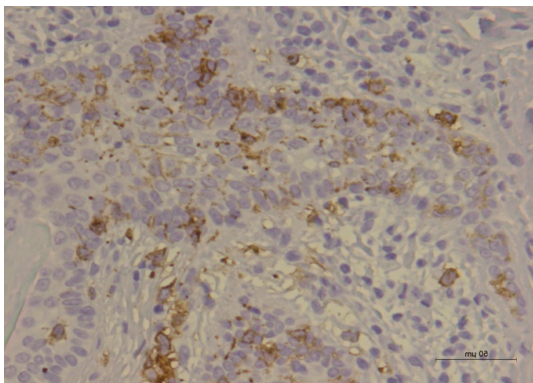


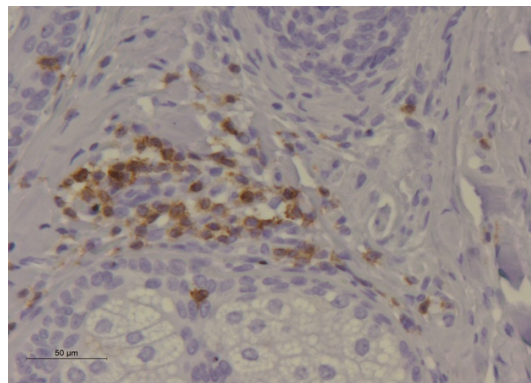
Abbildung 25: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 2, Fehlerindikator: Standardfehler

**4.2.15 Gesundes Individuum Nr. 3**

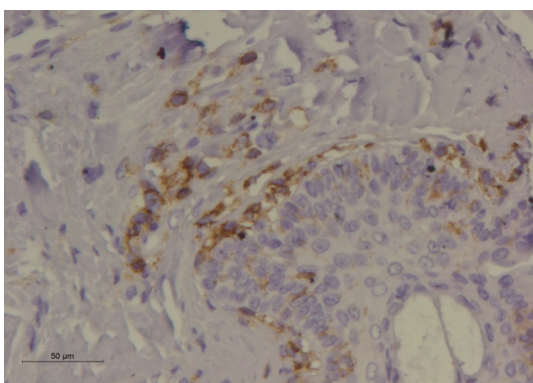
- Gruppe: Kontrollgruppe



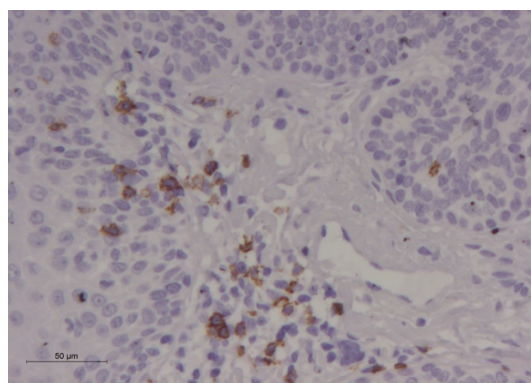
**CD1a**



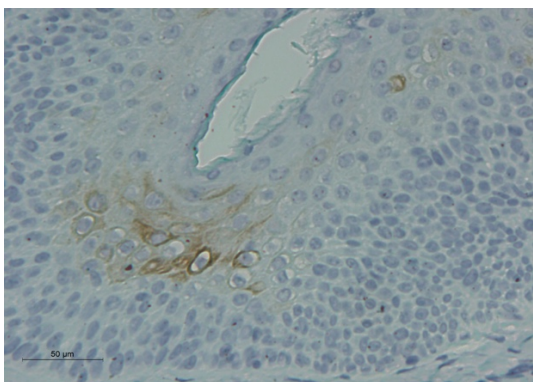
**CD3**



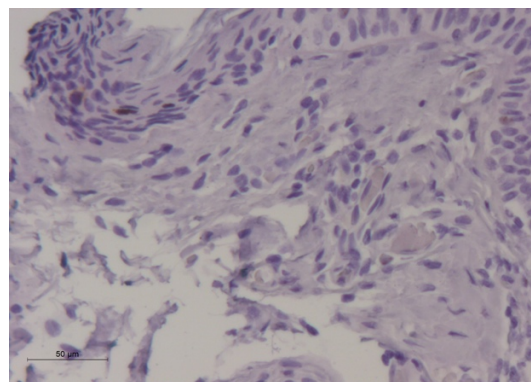
**CD4**



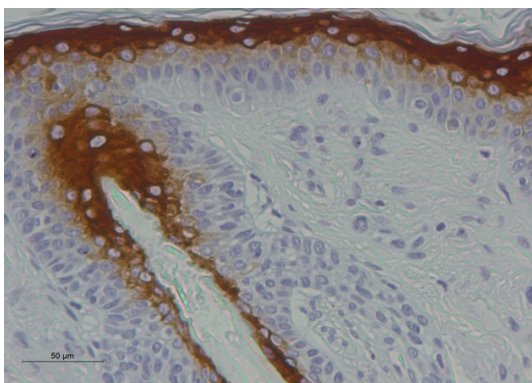
**CD8**



**CK 16**



**Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Kontrollgruppe gesundes Individuum Nr. 3

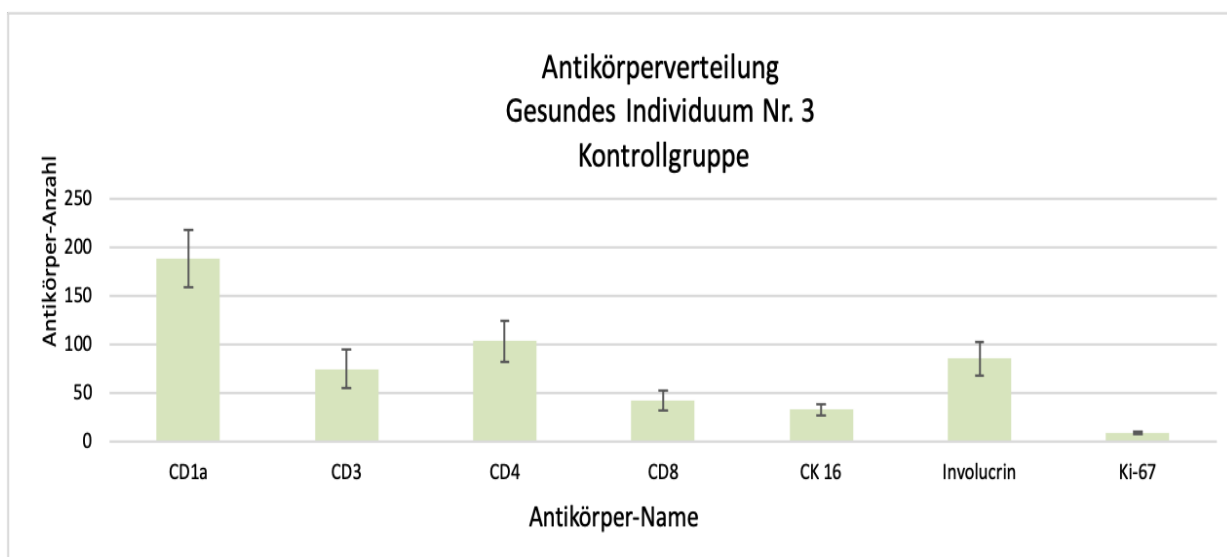
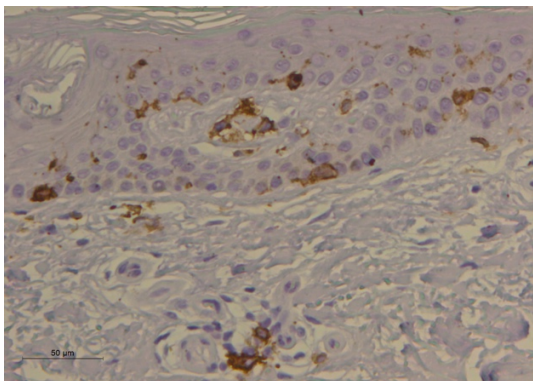
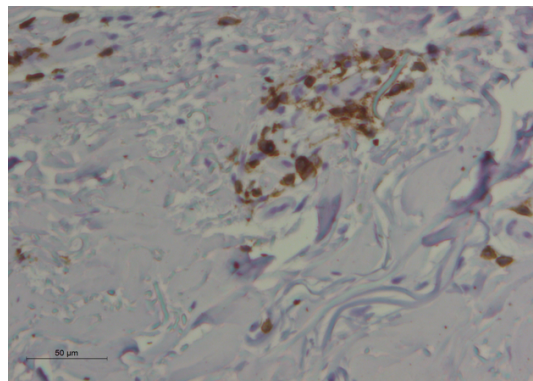
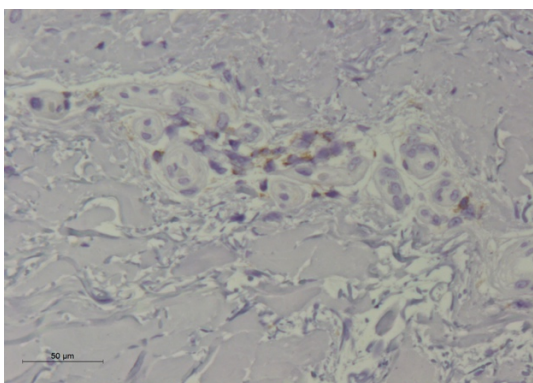
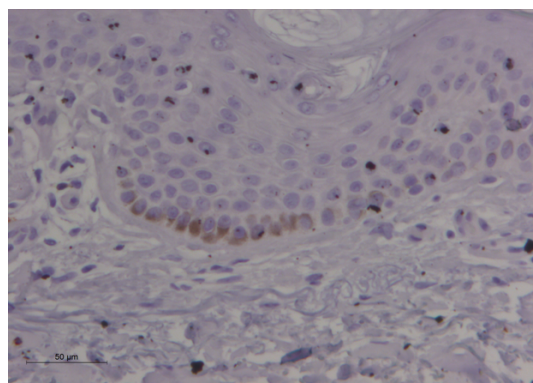
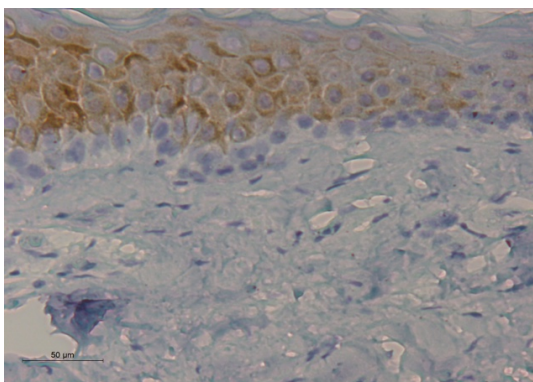
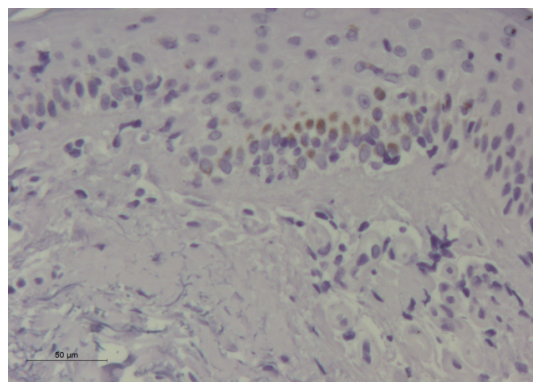


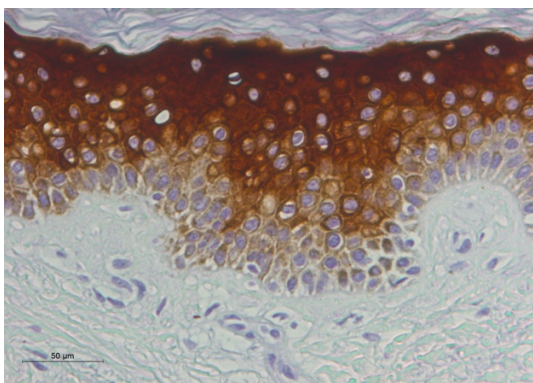
Abbildung 26: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 3, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.16 Gesundes Individuum Nr. 4**

- Gruppe: Kontrollgruppe

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Kontrollgruppe gesundes Individuum Nr. 4

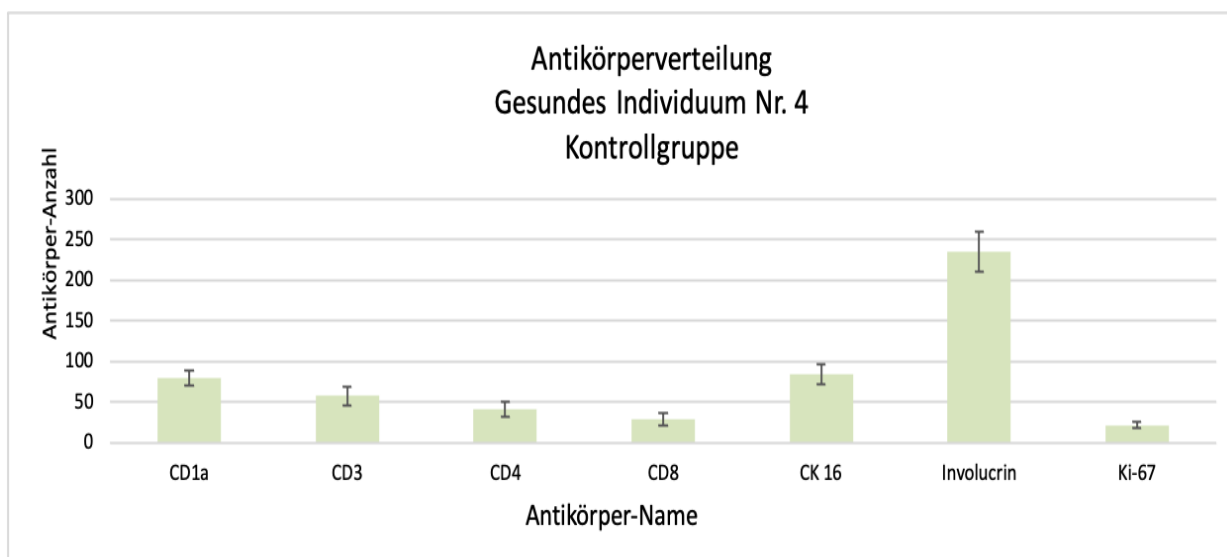
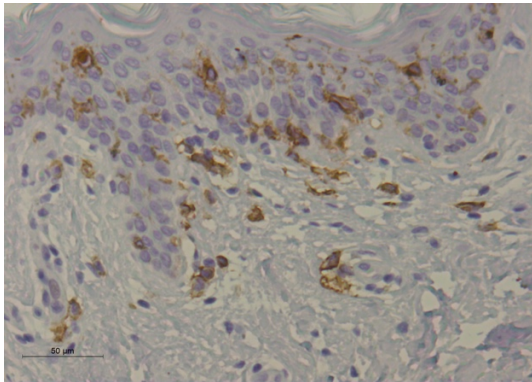
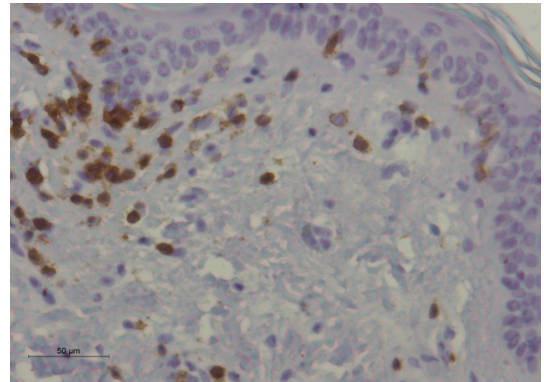
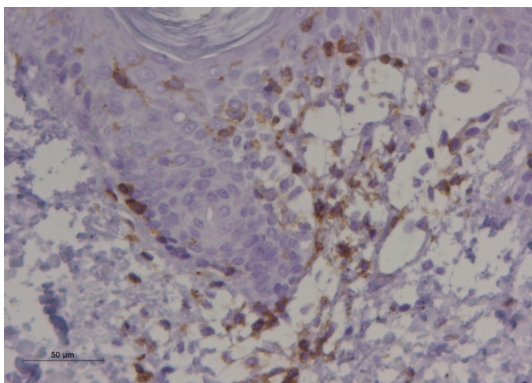
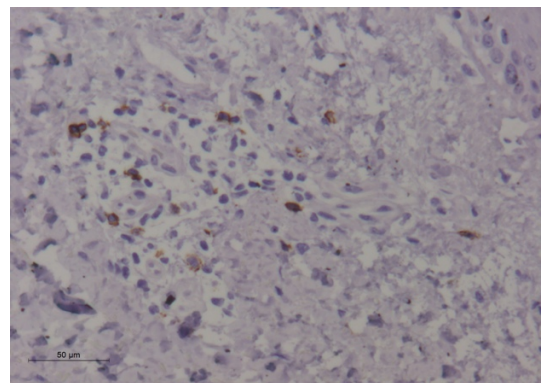
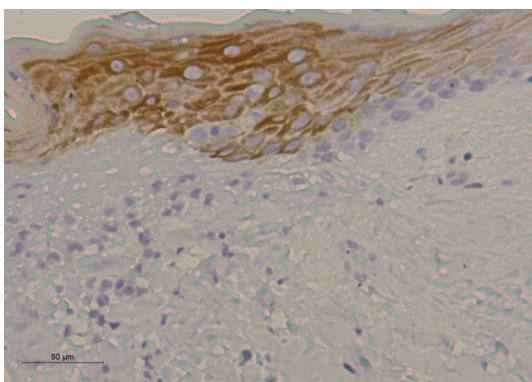
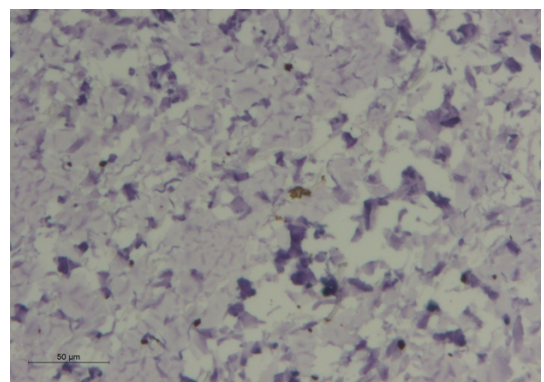


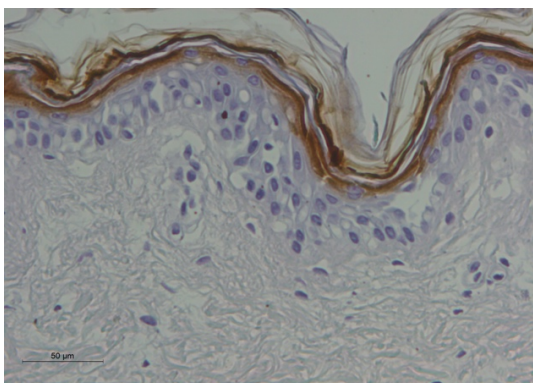
Abbildung 27: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 4, Fehlerindikator: Standardfehler



**4.2.17 Gesundes Individuum Nr. 5**

- Gruppe: Kontrollgruppe

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**



## Involucrin

### Antikörperverteilung Kontrollgruppe gesundes Individuum Nr. 5

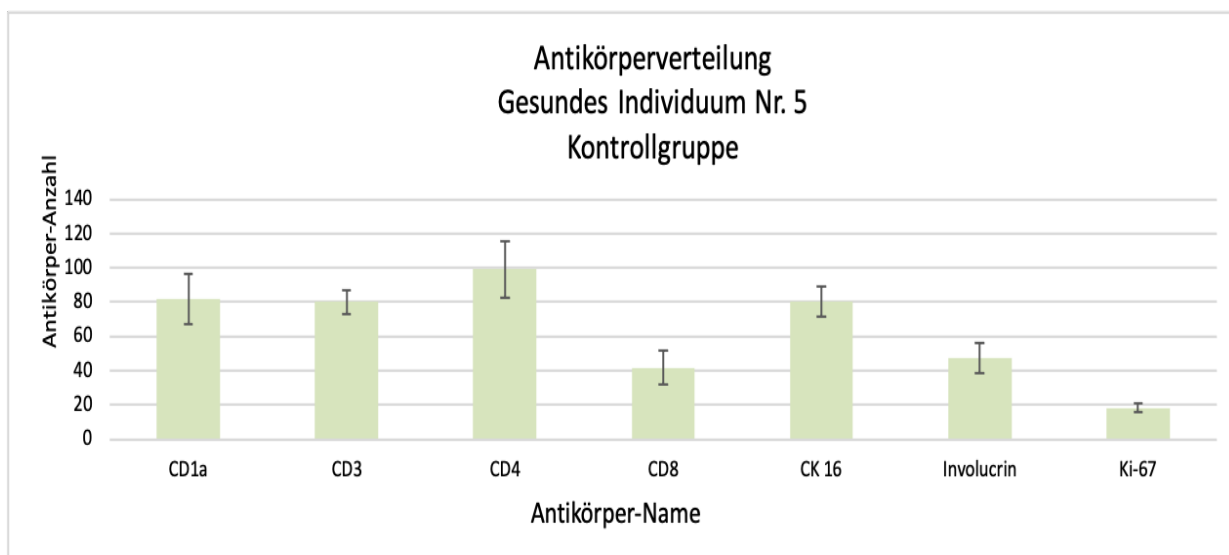
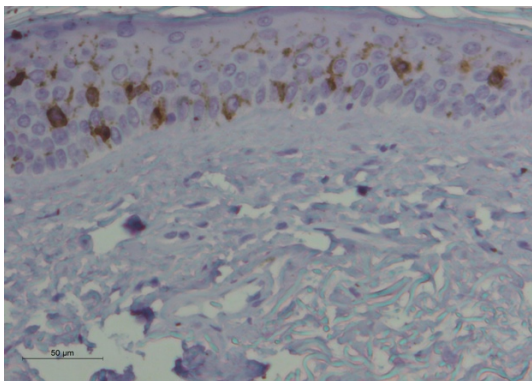
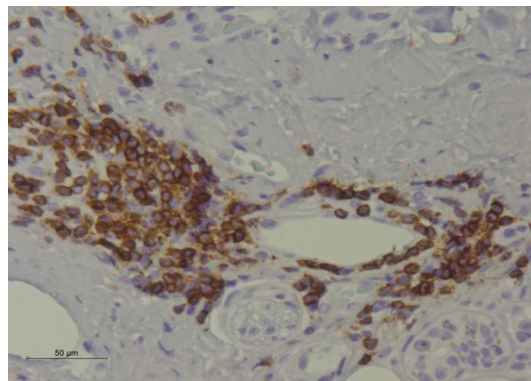
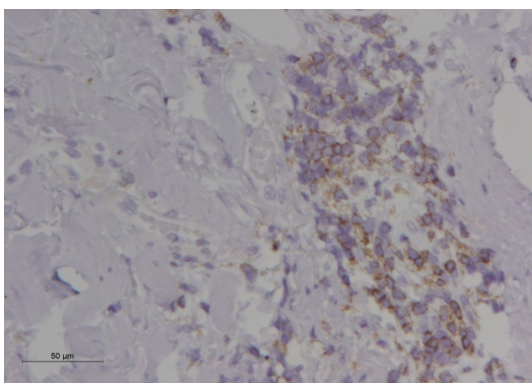
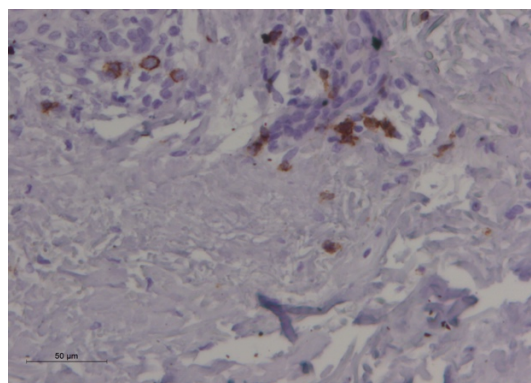
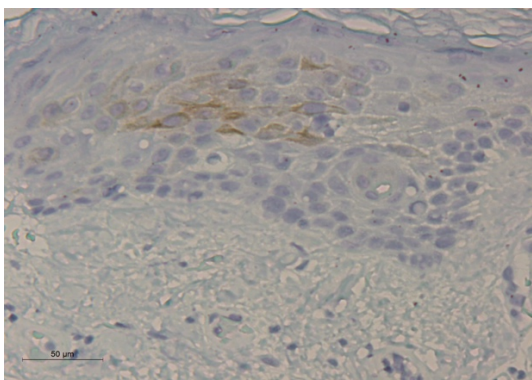
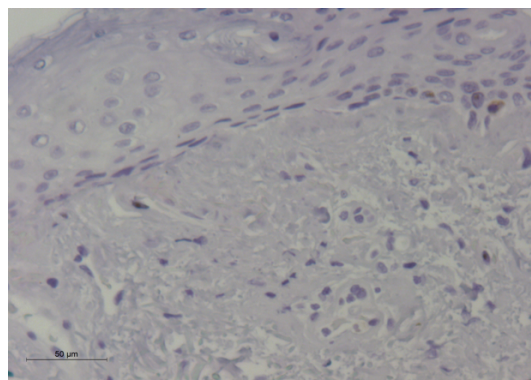


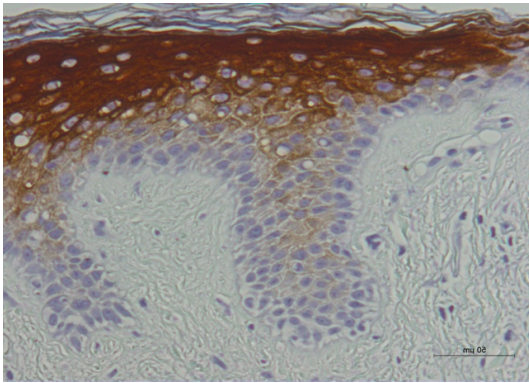
Abbildung 28: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 5, Fehlerindikator: Standardfehler

**4.2.18 Gesundes Individuum Nr. 6**

- Gruppe: Kontrollgruppe

**CD1a****CD3****CD4****CD8****CK 16****Ki-67**





## Involucrin

### Antikörperverteilung Kontrollgruppe gesundes Individuum Nr. 6

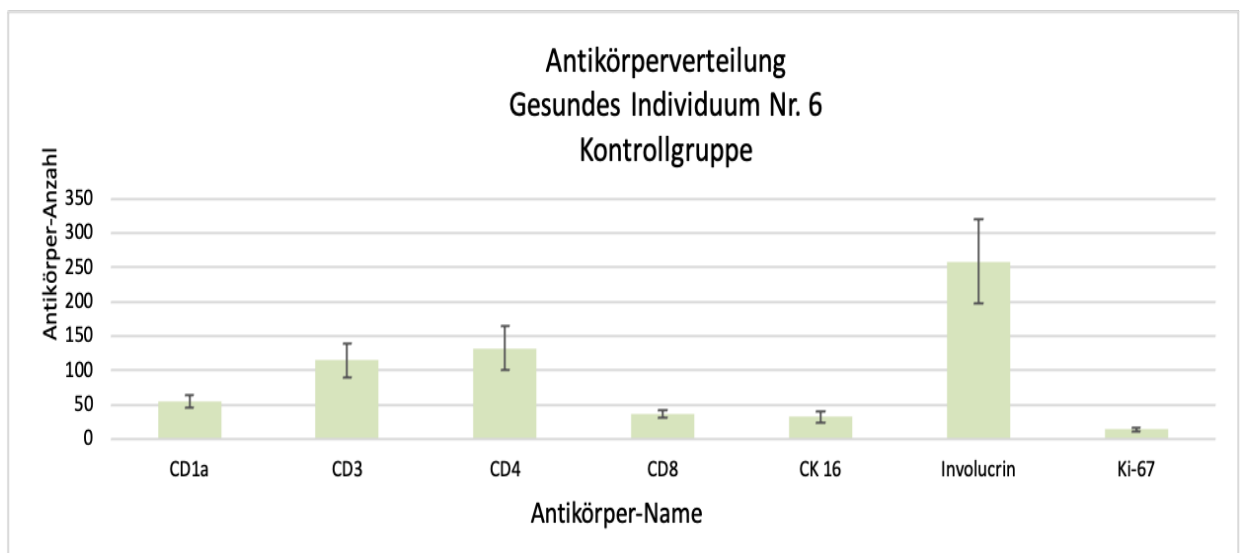


Abbildung 29: Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei gesundem Individuum Nr. 6, Fehlerindikator: Standardfehler

## 4.3 Antikörperauszählung

### 4.3.1 Antikörperauszählung bei allen Patienten mit Porokeratosis

#### 4.3.1.1 Übersicht der Mittelwerte der Antikörperauszählungen

	CD1a	CD3	CD4	CD8	CK 16	Involucrin	Ki-67
Patient 1	171,8	288,4	541,6	257	70,4	388,2	196,6
Patient 2	85,2	125	238,2	80,4	16,6	306,6	70
Patient 3	210,2	210,8	320	43,2	264	388	190,6
Patient 4	187,2	284,2	538,4	184,6	237,6	701,2	198,4
Patient 5	301,2	452,2	513,4	381	344,2	838,6	114,8
Patient 6	109,2	281,6	466,8	108	445,8	1802,2	127,8
Patient 7	73,2	126,6	299,2	135	25	354	104,2
Patient 8	169	255,4	398,8	132	112	210,4	25,4
Patient 9	82	573,4	581,8	318,6	380,8	656,2	141,6
Patient 10	163,2	147,6	355,2	80,2	0	656,4	144,6
Patient 11	212	459,4	593,2	231	113,8	436,8	80
Patient 12	137	624,2	710,4	379,4	420,2	1258,4	117,8
<b>Mittelwert</b>	<b>158,4333333</b>	<b>319,0666667</b>	<b>463,0833333</b>	<b>194,2</b>	<b>202,5333333</b>	<b>666,4166667</b>	<b>125,9833333</b>

Tabelle 1: Mittelwerte der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Porokeratosis

#### 4.3.1.2 Graphische Darstellung: Antikörperverteilung bei Porokeratosis Patienten

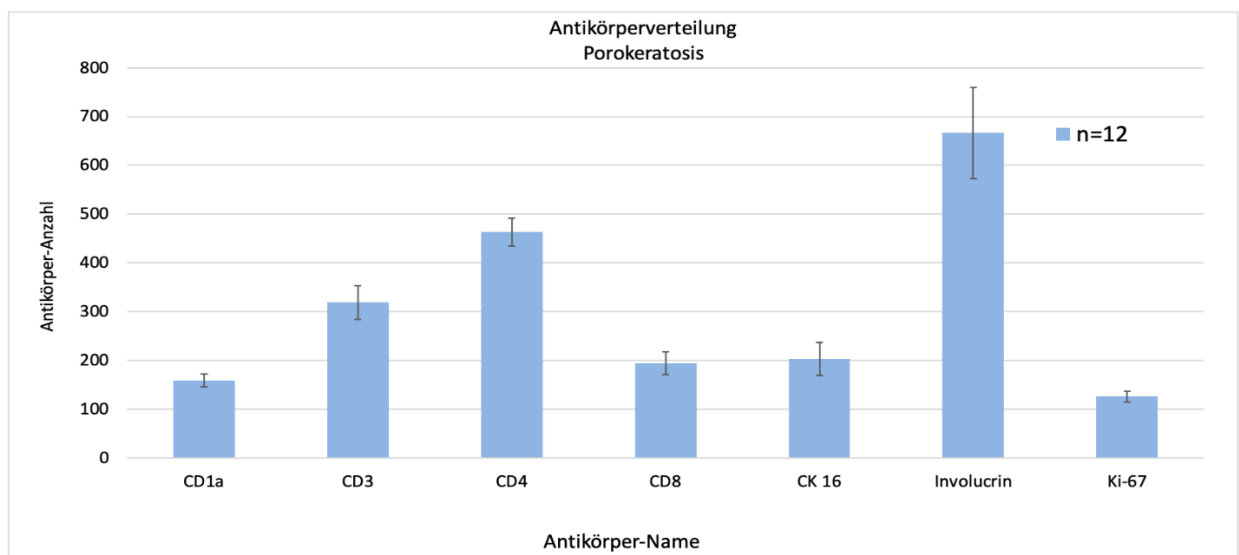


Abbildung 30: Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Porokeratosis; Fehlerindikator: Standardfehler

## 4.3.2 Antikörperauszählung bei allen Individuen mit gesunder Haut (Kontrollgruppe)

### 4.3.2.1 Übersicht der Mittelwerte der Antikörperauszählungen

	CD1a	CD3	CD4	CD8	CK 16	Involucrin	Ki-67
Patient 13	40,8	59,2	65	26,4	76,6	278	36,4
Patient 14	61	58,8	55,4	29,6	47,2	145,4	49,6
Patient 15	188,8	75,2	103,8	42,4	33,2	85,6	9,8
Patient 16	79,8	57,8	41,4	28,6	83,8	235	21,4
Patient 17	81,6	80	99,2	41,8	80,2	47,4	18,4
Patient 18	54,6	114,8	132,4	36,4	32	258,6	14
<b>Mittelwert</b>	<b>84,43333333</b>	<b>74,3</b>	<b>82,86666667</b>	<b>34,2</b>	<b>58,83333333</b>	<b>175</b>	<b>24,93333333</b>

Tabelle 2: Mittelwerte der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Individuen mit gesunder Haut (Kontrollgruppe)

### 4.3.2.2 Graphische Darstellung: Antikörperverteilung der Kontrollgruppe

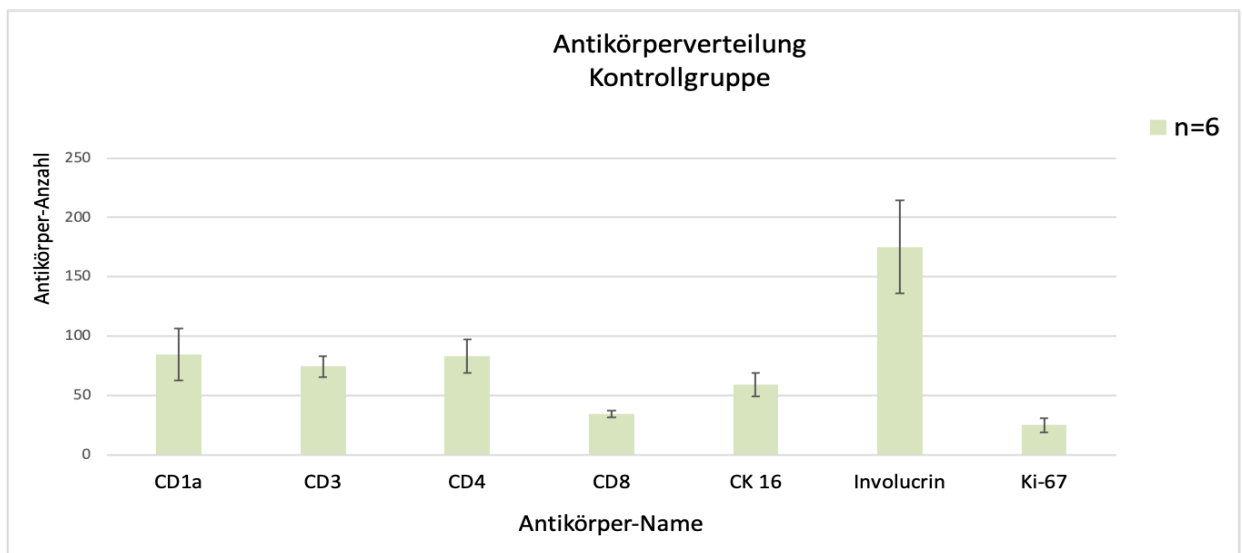


Abbildung 31: Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Individuen mit gesunder Haut (Kontrollgruppe); Fehlerindikator: Standardfehler



### 4.3.3 Gegenüberstellung der Antikörperauszählung: Porokeratosis vs Kontrollgruppe

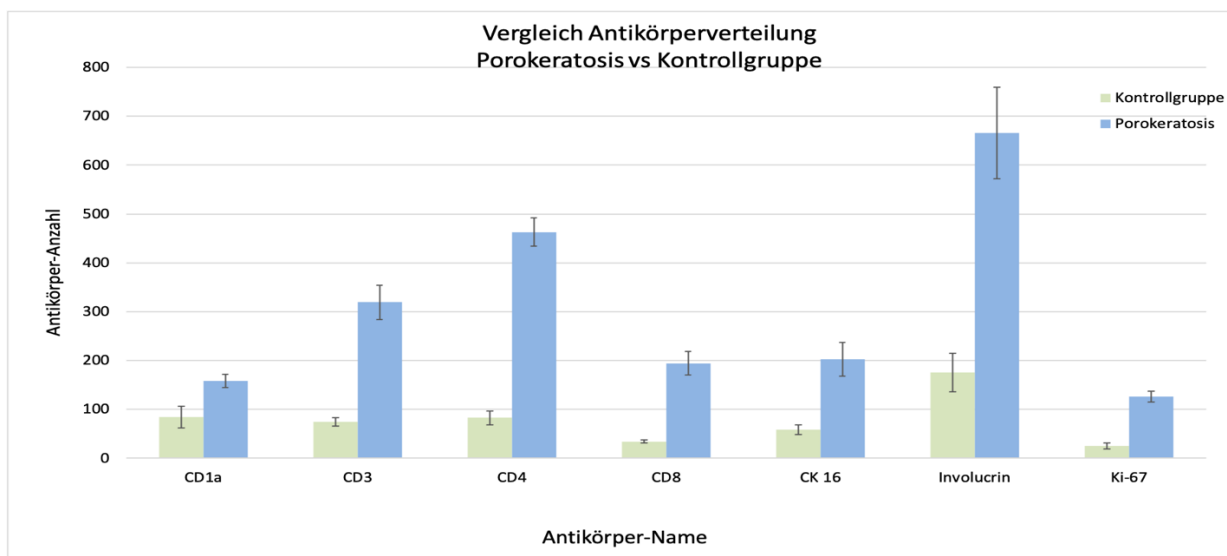


Abbildung 32: Antikörperauszählung. Vergleich der Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit Porokeratosis und allen gesunden Individuen (Kontrollgruppe), Fehlerindikator: Standardfehler

#### 4.3.4 T-Test: Signifikanz der Unterschiede bei Porokeratosis und der gesunden Haut (Kontrollgruppe)

Antikörper	p- Wert	
CD1a	0,025009693	statistisch relevanter Unterschied
CD3	0,000391804	statistisch relevanter Unterschied
CD4	0,000000634247	statistisch relevanter Unterschied
CD8	0,000653606	statistisch relevanter Unterschied
CK 16	0,012632511	statistisch relevanter Unterschied
Involucrin	0,0035802	statistisch relevanter Unterschied
Ki-67	0,0000264385	statistisch relevanter Unterschied

*Tabelle 3: T- Test (statistisch relevante Unterschiede bei Porokeratosis und der Kontrollgruppe)*

## 5 Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurden an zwei Gruppen eine immunhistochemische Analyse durchgeführt. Die erste Gruppe umfasst zwölf Patienten, die unter einer Porokeratosis leiden. Bei der zweiten Gruppe handelt es sich um die Kontrollgruppe mit sechs gesunden Individuen, die nicht an Porokeratosis erkrankt sind und somit eine normale Haut aufweisen.

Die Entnahme der Hautproben erfolgte im Rahmen der Behandlung in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz.

Die Hautproben wurden anschließend mittels immunhistochemischer Methoden angefärbt. Die immunhistochemische Färbung wurde mit sieben verschiedenen Antikörpern (CD1a, CD3, CD4, CD8, CK 16, Involucrin, Ki-67) durchgeführt.

Durch die immunhistochemische Färbung der Hautproben konnten die Zellen, die an der Immunreaktion beteiligt waren, farblich dargestellt werden.

Mithilfe eines automatisierten computergestützten Programmes erfolgte anschließend die Auszählung der angefärbten Zellen. Somit konnte in beiden Gruppen die Häufigkeit der verschiedenen Antikörper ermittelt werden. Die Mittelwerte der Antikörperauszählungen beider Patientengruppen wurden bestimmt und miteinander verglichen.

Folgende Häufigkeitsverteilung der angefärbten Zellen ergab sich bei den Porokeratosis Patienten in absteigender Reihenfolge:

Involucrin> CD4> CD3> CK 16> CD8> CD1a> Ki-67

Folgende Häufigkeitsverteilung der angefärbten Zellen zeigte sich bei der Kontrollgruppe in absteigender Reihenfolge:

Involucrin> CD1a> CD4> CD3> CK 16> CD8> Ki-67

Der Vergleich beider Gruppen verdeutlicht, dass Involucrin sowohl bei der Gruppe der Porokeratosis Patienten als auch bei der Kontrollgruppe am häufigsten vorkommt. Involucrin weist also bei beiden Patientengruppen die höchsten Mittelwerte auf. Zu betonen ist, dass der Mittelwert für Involucrin bei den Porokeratosis Patienten (Involucrin Mittelwert: 666,4) im Gegensatz zur Kontrollgruppe (Involucrin Mittelwert: 175) wesentlich höher liegt.

Die Ergebnisse der Auswertung zeigen außerdem, dass Ki-67 bei beiden Patientengruppen am wenigsten vorkommt. Auch hierbei liegen die Mittelwerte für Ki-67 bei den Porokeratosis Patienten (Ki-67 Mittelwert: 125,98) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Ki-67 Mittelwert: 24,9) höher.

In der Häufigkeit von CD8 (Mittelwert: 194,2) und CK 16 (Mittelwert: 202,5) sind bei den Porokeratosis Patienten nur geringe Unterschiede zu beobachten.

Auffallend ist, dass alle Antikörper bei den Porokeratosis Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich höher exprimiert sind.

Der im Rahmen der statistischen Auswertung angewendete T-Test ermöglicht einen Vergleich der Mittelwerte der angefärbten Antikörper zwischen der Gruppe der Porokeratosis Patienten und der Kontrollgruppe (gesunde Haut). Bei allen hierbei angewendeten sieben Antikörpern ergeben sich p-Werte von unter 0,05. Dementsprechend sind bei allen sieben Antikörpern von statistisch relevanten Unterschieden auszugehen.

CD4 (p-Wert= 0,000000634247) weist im Gegensatz zu allen anderen Antikörpern den größten statistisch relevanten Unterschied auf. Wohingegen bei CD1a (p-Wert= 0,025009693) der geringste statistisch relevante Unterschied erkennbar ist.

In absteigender Reihenfolge ergeben sich folgende statistisch relevanten Unterschiede:

CD4 (p-Wert= 0,000000634247)

Ki-67 (p-Wert= 0,0000264385)

CD3 (p-Wert= 0,000391804)

CD8 (p-Wert= 0,000653606)

Involucrin (p-Wert= 0,0035802)

CK 16 (p-Wert= 0,012632511)

CD1a (p-Wert= 0,025009693)

## **5.2 Diskussion der Methoden**

In der vorliegenden Arbeit wurden Hautproben von Patienten mit Porokeratosis und von Individuen mit normaler Haut (Kontrollgruppe) entnommen. Zunächst erfolgte die histologische Bearbeitung der Hautproben. Die anschließenden immunhistochemischen Färbungen der Gewebeschnitte wurden unter vorgegebenen

Handlungsabläufen mit verschiedenen Antikörpern durchgeführt. Hierbei wurde mit großer Genauigkeit gearbeitet. Mithilfe von Stoppuhren und Zeittafeln wurden die Herstellerangaben zu den einzelnen Arbeitsabläufen und Einwirkzeiten genau eingehalten. Allerdings sind trotz Genauigkeit und sorgfältigem Arbeiten Fehler nicht zu verhindern. Schließlich sind Fehler durch Umgebungsfaktoren wie Änderung der Luftfeuchtigkeit und Lufttemperatur oder personenabhängige Fehler wie Ermüdung, Stress und Unaufmerksamkeit nicht auszuschließen. Es wurde aber vor der immunhistochemischen Färbung darauf geachtet, Fehler durch entsprechende Vorbereitung der benötigten Materialien und Chemikalien zu minimieren. Bei jedem Färbedurchgang wurde eine Positiv- und Negativkontrolle mitgeführt, um die Spezifität der Reaktion sicher zu stellen.

Nach immunhistochemischer Antikörperfärbung erfolgte die mikroskopische Auswertung der eingedeckten Objektträger. Hierfür wurden pro Objektträger fünf Bildausschnitte, die die größte Antikörpermenge des Gewebeschnittes aufwiesen, manuell abfotografiert. Bereiche mit der größten Antikörpermenge waren an der starken Färbung erkennbar. Diese wurden mit einer Negativfärbung verglichen, um angefärbte Bereiche in den Negativfärbungen nicht mit in die Auswertung aufzunehmen. Da unterschiedliche Ansichten über die am stärksten angefärbten Areale bestehen, sind Fehler nicht auszuschließen. Auch sind Gefäße im Gewebeschnitt durch eine stärkere Färbung gekennzeichnet. Diese sind allerdings für die vorliegende Arbeit nicht bedeutsam und sollten somit nicht ausgewertet werden. Aus diesem Grund wurde beim Abfotografieren der Bildabschnitte darauf geachtet, Bereiche, die Gefäße beinhalten möglichst nicht zu erfassen.

Die anschließende automatisierte Analyse und Auswertung der abfotografierten Bilder erfolgte mit den Programmen ImageJ Plugin IHC- Profiler und ImageJ. Diese computergestützten Verfahren bieten im Vergleich zur manuellen Auszählung der Antikörper einige Vorteile. Da hierbei eine manuelle Auszählung der Antikörper vermieden wird, ist bei der automatisierten Analyse mit einem geringeren zeitlichen Aufwand zu rechnen. Es können durch das schnellere Auszählen der Antikörper in derselben Zeit mehrere Gewebeschnitte ausgewertet werden. Hierdurch kann mithilfe der automatisierten Analyse ein wesentlich größeres Patientenkollektiv hinsichtlich der Antikörperverteilung untersucht werden. Vorteilhaft ist außerdem, dass menschliche Fehler wie Müdigkeit oder Unachtsamkeit, die eventuell bei einer manuellen Auszählung der Antikörper entstehen könnten, bei dieser automatisierten Analyse

möglichst minimiert werden können. Darüber hinaus ermöglicht die automatisierte Analyse eine deutlich schnellere und vereinfachte Auszählung von vielen Antikörpern. Somit kann dieses Verfahren im Rahmen der Forschung dazu beitragen, dass man schneller zu Ergebnissen kommt, die wiederum zu einem besseren Verständnis der Pathogenese von bestimmten Krankheiten dienen kann. Schließlich kann dies dann dazu führen, dass die Forschung schneller neue Therapieansätze für bestimmte Krankheiten entwickelt. Das automatisierte Auszählen der Antikörper kann außerdem auch bei vielen anderen Krankheitsbildern angewendet werden. Dadurch ist auch ein schneller Vergleich der Antikörperverteilung bei unterschiedlichen Krankheitsbildern möglich. Ein weiterer Vorteil vom automatisierten Auszählen der Antikörper ist die genaue sowie schnelle Überprüfung und Wiederholung der Ergebnisse. Bei dem manuellen Auszählen der Antikörper können bestimmte Fehler wie das komplette Übersehen oder doppeltes Auszählen von Antikörpern entstehen. Diese Fehler werden mithilfe der automatisierten Analyse der Antikörper verhindert.

Die Arbeitsweise des Programmes ImageJ kann allerdings das automatisierte Auszählen der Antikörper negativ beeinflussen. Nach der manuellen Einstellung erkennt das Programm ImageJ die angefärbten Antikörper. Allerdings ist hierbei nachteilig, dass dieses Programm gelegentlich auch Strukturen mitzählt, die denselben Farbton wie die Antikörper aufweisen. Aufgrund von hierdurch entstehenden Ungenauigkeiten beim Auszählen der Antikörper werden die Ergebnisse verfälscht. Diese Fehler können allerdings minimiert werden, indem eine präzise Einstellung des Auswertungsbereichs in ImageJ vorgenommen wird. Dafür wird das Programm auf die genaue Farbe der Antikörper eingestellt. Für bessere und genauere Ergebnisse wurde jedes von ImageJ bearbeitete Bild manuell mit dem Originalbild verglichen. Bei Abweichungen vom Originalbild wurden die Farben angepasst, indem das automatisch analysierte Bild nochmals manuell bearbeitet wurde. Auf diese Weise können falsche Auswertungen verhindert werden. Die begrenzte Anzahl der Bildausschnitte ist ein weiterer Nachteil der angewendeten Methode. In der vorliegenden Arbeit wurden pro Antikörper fünf Bildausschnitte abfotografiert und ausgewertet, die repräsentativ für den gesamten Gewebeschnitt stehen. Hierdurch ist ein exaktes Auszählen der Antikörper nicht gewährleistet. Letztendlich müssten mehr als fünf Bildausschnitte in die Auswertung einbezogen werden, um genauere Ergebnisse zu erzielen.



Bei der statistischen Auswertung handelt es sich um eine explorative Datenanalyse, d.h. es wird keine Korrektur für multiples Testen durchgeführt. Aus diesem Grund sind die p-Werte mit besonderer Vorsicht zu interpretieren. Ein p-Wert von unter 0,05 wird deshalb in einem Test nur als statistisch relevant, jedoch nicht als statistisch signifikant bezeichnet.

### **5.3 Diskussion der Ergebnisse**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Rolle des Immunsystems im Rahmen einer Porokeratosis Erkrankung näher untersucht. Hierfür wurde eine immunhistochemische Analyse der proinflammatorischen Zellen des Immunsystems herangezogen. Hautproben von zwölf Patienten, die an einer Porokeratosis leiden, wurden histologisch aufgearbeitet und anschließend mit sieben verschiedenen Antikörpern angefärbt. Die Kontrollgruppe als Vergleich hierzu besteht aus sechs Individuen, die lediglich eine gesunde Haut aufweisen.

Da in der Literatur kaum vergleichbare Studien vorliegen, in denen mit bestimmten Antikörpern eine immunhistochemische Analyse bezüglich einer Porokeratosis Hauterkrankung durchgeführt wurde, ist es interessant zu analysieren, welche proinflammatorischen Zellen des Immunsystems in welcher Menge bei Porokeratosis Patienten vorkommen. Da einige Antikörper im Vergleich zu anderen Antikörpern mit einer höheren Häufigkeit vorkommen, kann man daraus schlussfolgern, dass die höhere Expression von diesen Antikörpern einen Zusammenhang mit der Pathophysiologie der Porokeratosis haben kann. Niedrig exprimierte Antikörper spielen demzufolge eine nur untergeordnete Rolle im Rahmen der Pathophysiologie der Porokeratosis.

Im Folgenden werden die immunhistochemischen Marker, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, näher beschrieben.

#### **Involucrin**

Involucrin ist ein stäbchenförmiger Proteinvorläufer des „cornified envelope“. Dieses Protein enthält mehrere reaktive Glutaminreste, die kovalente Isopeptidbindungen bilden. Involucrin bildet ein Gerüst für den Einbau anderer Vorläufer und ist in der Bildung des „cornified envelope“ vernetzt (95).

Exprimiert wird Involucrin im oberen Stratum spinosum, allerdings vor allem im Stratum granulosum (96).

Stimuliert wird die Expression von Involucrin durch bestimmte Wirkstoffe wie Calcium und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D3. Diese Wirkstoffe regulieren außerdem den Differenzierungsprozess der Keratinozyten.

Als Hauptbestandteil des „cornified envelope“ spielt Involucrin eine wesentliche Rolle für die differenzierte Funktion der Epidermis. Somit besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Expression von Involucrin und der Differenzierung von Keratinozyten. Es kommt zu einer Zunahme der Expression von Involucrin, wenn der Keratinozyt das Stratum basale verlässt, um sich zu differenzieren. Dies führt schließlich zu seinem Tod und seinem Einbau in das Stratum corneum. Involucrin dient letztendlich als weit verbreiteter Marker für die Differenzierung von Keratinozyten (97).

Zudem ist Involucrin am Anfangsschritt der Bildung des „cornified envelope“ beteiligt (96). Über die Wirkung von Transglutaminase wird Involucrin in der Übergangszone als Bestandteil des „cornified envelope“ eingebaut (95). Hierbei ist Involucrin durch die Transglutaminase 1 mit den Periplakin-, Envoplakin- und Keratinfilamenten vernetzt (96).

In der vorliegenden Studie war im Rahmen der immunhistochemischen Auswertung die Expression von Involucrin bei den Porokeratosis Patienten (Mittelwert: 666,42) im Vergleich zu den anderen verwendeten Antikörpern deutlich erhöht. Bei diesen Patienten kam also Involucrin am häufigsten vor. Somit war hierbei die Antigen-Antikörper-Reaktion am deutlichsten ausgefallen. Im Gegensatz hierzu beinhalten die Areale der Kontrollgruppe deutlich weniger Involucrin (Mittelwert: 175).

Bei den untersuchten Vergleichen bezüglich der Mittelwerte von den Porokeratosis Patienten und der Kontrollgruppe zeigten sich statistisch relevante Unterschiede. Allerdings waren diese Unterschiede bei Involucrin im Vergleich zu CD4, Ki-67, CD3 und CD8 kleiner.

Anhand der Studie von Shen et al. konnte dieses Ergebnis bestätigt werden. Auch in dieser Studie war Involucrin in der läsionalen Epidermis diffus exprimiert. Es wurde hierbei ebenfalls eine Überexpression von Involucrin in der Epidermis der Läsion beobachtet. Hierfür wurde ebenso eine immunhistochemische Untersuchung durchgeführt, um die Expression von Loricrin und Involucrin näher zu analysieren. Mithilfe der TUNEL-Methode wurde die Apoptose von Keratinozyten bei Porokeratosis Patienten beobachtet. Diese Studie kam zu dem Ergebnis, dass bei allen untersuchten Porokeratosis Patienten Keratinozyten unter der kornoiden Lamelle apoptotisch sind.

Die vorzeitige fokale Apoptose von Keratinozyten in der Epidermis der Läsion kann bei Porokeratosis Patienten zu einer abnormalen terminalen Differenzierung von Keratinozyten führen. Auch eine Dysregulation der Expression von Loricrin kann dies zur Folge haben, da ihre Expression in diesem Bereich unterbrochen war. Der Mechanismus der frühzeitigen Apoptose von Keratinozyten ist noch unbekannt. Allerdings vermutet man, dass die Lebensfähigkeit von Keratinozyten in einem frühen Stadium der Differenzierung durch veränderte genetische Anomalien oder Immunsuppression beeinträchtigt werden. Als Reaktion auf die Apoptose von Keratinozyten infiltrieren Entzündungszellen die Läsionen. Letztendlich wird anhand dieser Studie festgehalten, dass an der Pathogenese der Porokeratosis eine abnormale frühe Apoptose der Keratinozyten, die mit einer Fehlsteuerung der Differenzierung dieser Zellen einhergeht, beteiligt sein könnte. Laut dieser Studie führt die frühe Apoptose epidermaler Keratinozyten zu einer Dysregulation des Keratinisierungsprozesses (21).

In der Studie von Hohl konnte festgehalten werden, dass unter Verwendung der Immunhistologie die Expression von Loricrin bei agranulotischer, parakeratotischer Keratinisierung im Rahmen einer Porokeratosis im Vergleich zu Involucrin deutlich herunterreguliert war. Vergleichbar mit der vorliegenden Studie war dementsprechend die Expression von Involucrin hochreguliert (98).

In der Literatur wird dargelegt, dass die dyskeratotischen Zellen aggregierte Tonofilamente und eine höhere Expression von Involucrin enthalten (15).

Die erhöhte und unregelmäßige Expression von Involucrin in der Epidermis unterhalb der kornoiden Lamelle kann durch eine weitere Studie bestätigt werden. Hierbei konnte zudem gezeigt werden, dass die Bildung der kornoiden Lamelle durch hyperproliferative atypische Keratinozyten erfolgt. Diese Keratinozyten keratinisieren unregelmäßig und schnell. Außerdem weisen sie eine fehlerhafte Abschuppung auf (99).

#### **CD4**

CD4 ist ein Oberflächenmarker. Die Expression von CD4 erfolgt auf den T-Helferzellen, Makrophagen und dendritischen Zellen. Hauptfunktion von CD4 ist die Bindung an MHC-II (100). An Makrophagen, Antigenpräsentierenden Zellen, Dendriten und B-Zellen befinden sich die MHC-II-Rezeptoren. Ihre Aufgabe ist die Bindung an Fremdartigene und die Aktivierung von CD4-Lymphozyten.

Die Produktion von Zytokinen, Immunaktivierung und das Erkennen von Antigenen zählen zu den Aufgaben von T-Helferzellen (CD4) (101).

CD4 ist ein Marker für T-Helferzellen, die eine Untergruppe von T-Lymphozyten darstellt. Es existieren verschiedene T-Helfer-Lymphozyten, bei denen CD4 als Marker agiert. Hierzu gehören die Typ1-T-Helferzellen, Typ2-T-Helferzellen, Typ3-T-Helferzellen, Typ17-T-Helferzellen, Typ22-T-Helferzellen, Typ9-T-Helferzellen und die Typ25-T-Helferzellen.

Lokalisiert sind die TH1-Zellen und TH2-Zellen hauptsächlich in der Dermis und selten in der Epidermis. Die TH3-, TH17-, TH22-, TH9- und TH25-Zellen kommen in der Dermis vor. All diese T-Helferzellen koordinieren die Immunfunktion und produzieren bestimmte Zytokine (102).

Der Nachweis von Antigenen durch CD4<sup>+</sup>-T-Zellen ist auf MHC-II beschränkt. Sie werden auf Antigenpräsentierenden Zellen, B-Zellen, Makrophagen und dendritischen Zellen exprimiert. Antigenpräsentierende Zellen nehmen ständig Proteine auf und präsentieren davon angeleitete Peptide auf ihrer Oberfläche. Aktiviert werden sie, wenn pathogene Strukturen von gestörten Zellen freigesetzt werden. Schließlich wandern die Antigenpräsentierenden Zellen in die sekundären lymphatischen Organe und aktivieren dort die CD4<sup>+</sup>-T-Zellen (103).

TH1-Zellen generieren eher eine zelluläre Immunantwort (100). Sie sind vor allem für die Produktion von INF- $\gamma$  zuständig (102). INF- $\gamma$  aktiviert CD8-T-Zellen, Makrophagen und NK-Zellen. Zudem bewirkt INF- $\gamma$  eine Verstärkung der Antigenpräsentation durch HLA-Moleküle (101). TH1-Zellen setzen im Rahmen einer Infektion durch intrazelluläre Mikroorganismen vor allem Lymphotoxine und INF- $\gamma$  frei. Folglich führt dies zur Aktivierung von Makrophagen mit mikrobizider Aktivität. Es besteht eine Assoziation der TH1-Lymphozyten mit der Entstehung von Infektionen in der Haut und der Pathogenese von immunvermittelten Krankheiten oder Autoimmunerkrankungen (102).

TH2-Zellen lösen eine humorale Immunreaktion aus (100). Sie produzieren die Zytokine IL-4, IL-5 und IL-13. TH2-Zellen spielen eine wichtige Rolle bei immungeschwächten Patienten im Rahmen einer Entzündungsreaktion auf Infektionserreger. Man geht von einem Zusammenhang zwischen TH2-Zellen und allergischen Erkrankungen aus.

Die Produktion der Zytokine IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  erfolgt durch TH3-Zellen. Diese Zellen sind für die Umstellung von B-Zellen zur IgA-Produktion zuständig. TH3-Zellen haben eine hemmende Wirkung auf TH1- und TH2-Lymphozyten.

TH17-Zellen fördern die Zytokine IL-17 und IL-22. Diese Zellen dienen als erste Verteidigungslinie des Körpers gegen Infektionen durch bestimmte Bakterien und Pilze (102). TH17-Zellen spielen also eine wichtige Rolle im frühen Stadium einer Entzündung (100).

Außerdem werden IL-22, FGF- $\beta$ , IL-13 und TNF- $\alpha$  durch TH22-Zellen produziert.

TH9-Zellen fördern die Produktion von IL-9, IL-10 und IL-21. Beteiligt sind diese Zellen an der parakrinen und autokrinen Kontrolle lokaler Entzündungsreaktionen.

TH25-Zellen sind für die Expression von IL-4, IL-13 und IL-25 zuständig. Beteiligt sind diese Zellen an der Mastzellen Degranulation und Freisetzung von IgE (102).

In der vorliegenden Studie konnte unter den Porokeratosis Patienten die zweithäufigste Antigen-Antikörper-Reaktion bei CD4 beobachtet werden. Im Rahmen der Antikörperauszählung lag hierbei der Mittelwert bei 463,08. Im Vergleich hierzu lag der Mittelwert für CD4 (Mittelwert: 82,9) bei der Kontrollgruppe deutlich niedriger.

Bei dem Marker CD4 war ein statistisch relevanter Unterschied feststellbar. Zu betonen ist, dass dieser Unterschied bei CD4 im Vergleich zu den anderen verwendeten Markern mit einem p-Wert von 0,000000634247 am größten war.

Ebenso wurde in der Studie von Matsuyama et al. eine immunhistochemische Färbung bei Porokeratosis Patienten durchgeführt. Hierfür wurden verschiedene Marker verwendet, darunter auch CD4. Unterschiedliche Bereiche der Läsionen wurden dabei bezüglich des Färbungsverhaltens verglichen. Diese Studie kam zu dem Ergebnis, dass T-Zellen in der Dermis unterhalb der kornoiden Lamelle hochreguliert sind (104).

Vergleichbar ist diese Feststellung mit der vorliegenden Studie, da auch hierbei in den histologischen Bildern bei CD4 eine starke Färbung in der Dermis zu beobachten war. Wohingegen CD4+-T-Zellen die Epidermis wie in der vorliegenden Studie nur selten infiltrierten.

Schlussfolgernd kam die Studie von Matsuyama et al. zu dem Ergebnis, dass eine Herunterregulierung von Langerhans-Zellen in der Epidermis sowie die Hochregulierung von T-Zellen und dendritische Zellen in der Dermis über Zytokine an

der Pathogenese der Porokeratosis beteiligt sind. Man geht davon aus, dass die Zytokine durch mutierte Klone von Keratinozyten induziert werden (104).

In einer Studie postulierten Tanaka et al. einen Zusammenhang zwischen der Porokeratosis und den CD4<sup>+</sup>-T-Zellen. Hierbei wurde davon ausgegangen, dass eine Regression der Porokeratosis auf eine CD4<sup>+</sup>-T-Zell- vermittelte Immunreaktion gegen abnormale Klone der Epidermis zurück zu führen ist (105). Tanaka et al. zeigten ebenso, dass CD4<sup>+</sup>-T-Zellen und CD1a-Zellen in der Dermis vorherrschen (106).

Jurecka et al. führten in einer Studie ebenso eine immunhistochemische Analyse bei Porokeratosis Patienten durch, um die zelluläre Zusammensetzung des entzündlichen Infiltrats der Epidermis zu untersuchen. Vergleichbar mit der vorliegenden Studie stellten auch Jurecka et al. fest, dass in den Infiltraten T-Helferzellen vorherrschen. Diese Zellen waren mit CD1a<sup>+</sup>-Zellen vermischt (72).

Nachdem Nachweis von Langerhans-Zellen und T-Helfer-Zellen in Porokeratosis Mibelli Läsionen besteht eine Vermutung, dass an der Pathogenese immunologische Mechanismen beteiligt sein können. Durch systemische oder lokale Veränderungen der Immunfunktion könnte es zu einer verminderten Immunüberwachung kommen. Dies wiederum würde das Erkennen pathologischer Keratinozyten-Klone verhindern und immunologisch abstoßen. Somit könnte sich so ein mutiertes Keratinozytenklon entwickeln und vermehren (15).

In der Literatur liefern Studien erfolgreiche Ergebnisse bezüglich der Porokeratosis-Therapie mithilfe von Imiquimod (12, 61, 107, 108). Imiquimod wirkt als Modifikator der Immunantwort (47). Es induziert Zytokine wie INF- $\gamma$ , INF- $\alpha$ , IL-12 und TNF- $\alpha$ . Diese Zytokine fördern eine zellvermittelte Immunantwort über TH1-Zellen (12). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass bereits in der Therapie der Porokeratosis gezielt in das Immunsystem eingegriffen wurde und man hiermit gute Ergebnisse erzielte.

### **CD3**

Als Oberflächenmarker erfolgt die Expression von CD3 auf T-Zellen (100). T-Lymphozyten (CD3) wirken im Rahmen der Immunregulierung und Zytotoxizität (101). CD3 bewirkt die Expression des T-Zellrezeptors (100).

In der vorliegenden Arbeit konnte bei CD3 unter den Porokeratosis Patienten die dritthäufigste Antigen-Antikörper-Reaktion festgestellt werden. Anhand der



Antikörperzählung kam man hierbei zu einem Mittelwert von 319,07. Die Areale der Kontrollgruppe beinhalteten deutlich weniger CD3 (Mittelwert: 74,3).

Beim Vergleich der Mittelwerte zwischen den Porokeratosis Patienten und der Kontrollgruppe konnten statistisch relevante Unterschiede beobachtet werden.

Bezüglich dieses Ergebnisses liegen in der Literatur keine vergleichbaren Studien vor.

Allerdings zeigt die Studie von Matsuyama et al., dass bei Porokeratosis Patienten CD3+-T-Zellen selten die Epidermis infiltrierten, wohingegen ihre Infiltration in der Dermis unterhalb der kornoiden Lamelle zu beobachten ist (104). Diese Erkenntnis kann anhand der vorliegenden Studie bestätigt werden. Schließlich konnten in den histologischen Schnitten eine starke Infiltration von CD3 in der Dermis und eine sehr schwache Infiltration in der Epidermis festgestellt werden.

Zhang et al. stellten in einer Studie die Vermutung auf, dass Gene, die an der Aktivierung von Keratinozyten und der T-Zell-vermittelten Immunantwort beteiligt sind, eine entscheidende Rolle im Rahmen der Pathogenese der Porokeratosis spielen. Somit wurde gezeigt, dass die T-Zell-vermittelte Immunantwort mit der Pathogenese der Porokeratosis zusammenhängt (109).

Ein Bericht von Stewart et al. legte dar, dass bei einem Patienten nach einer Etanercept Behandlung die Porokeratosis superficialis disseminata festgestellt wurde. Etanercept, ein rekombinantes Fusionsprotein des TNF-Rezeptors, bindet und hemmt TNF. Eine wichtige Rolle spielt der Tumornekrosefaktor für apoptotische, entzündliche und zelluläre Proliferationswege. Durch die Hemmung von TNF bewirkt Etanercept eine Abnahme der Anzahl der T-Zellen. Wichtig sind die T-Zellen zur Verhinderung der bei Porokeratosis superficialis disseminata auftretenden abnormalen klonalen Proliferation von Keratinozyten und zur Immunüberwachung (110).

Man vermutet, dass wahrscheinlich die immunsuppressiven Effekte von Etanercept zur Entwicklung der Porokeratosis superficialis disseminata beigetragen haben. Der Entstehungsmechanismus einer Porokeratosis superficialis disseminata durch eine immunsuppressive Therapie ist noch unklar. Vermutlich unterbreche eine solche Therapie das Wachstum der Epidermis und fördere die Proliferation klonaler Zellen oder löse direkt die Expression abnormaler Klone von Epidermiszellen aus. Eine immunsuppressive Therapie kann zu einer Verringerung der Immunüberwachung beitragen und eine Vermehrung der abnormalen Klone ermöglichen. Letztendlich geht

man davon aus, dass eine solche Immunsuppressionstherapie möglicherweise bei vielen Patienten zu einer Porokeratosis superficialis disseminata führen kann (110).

### **Zytokeratin 16 (CK16)**

Zytokeratine sind intermediäre Filamentproteine und dienen als Marker für die Differenzierung von Epithelzellen (111). Es existieren weiche und harte Keratine. Weiche Keratine werden hauptsächlich in Epithelzellen exprimiert. Harte Keratine kommen in Haaren und Nägeln vor (112). Zytokeratine bestehen aus 20 Polypeptiden und bilden das Zytoskelett der Epithelzellen (113). Man unterteilt also Zytokeratine in CK1 bis CK20 (114).

Sie sorgen für eine mechanische Stabilität und Integrität des Epithelgewebes (115). Zuständig sind sie also für die Aufrechterhaltung der interzellulären Kontakte, den Widerstand, die Form und Struktur der Epithelzellen. Außerdem dienen sie im Haarfollikel als Marker für die Zytodifferenzierung und Follikelreifung.

Unterteilt werden Zytokeratine in Typ 1 und Typ 2. Bei Typ 1 handelt es sich um saure Keratine und bei Typ 2 um basische Keratine (116). Diese Einteilung erfolgt nach ihrem isoelektrischen Punkt und ihrem Molekulargewicht. Ein Paar Zytokeratin besteht aus einem basischen und einem sauren Zytokeratin. Sie können die Proliferationskapazität, das Differenzierungsstadium der Keratinozyten, die Wachstumsbedingungen und den Standort bestimmen (113).

Assoziiert ist CK16 mit einem hohen Zellumsatz. Man geht davon aus, dass CK16 bei hyperproliferativen Erkrankungen wie Psoriasis in suprabasalen Keratinozyten vorkommt (111).

CK16 ist vor allem in der Epidermis zu finden und agiert als Marker für die Hyperproliferation. Exprimiert werden sie konstitutiv in mukosalen geschichteten Plattenepithelien (114). CK16 ist zudem ein „stressinduzierbares“ Keratin. Nach Entzündungen und Verletzungen wird CK16 schnell eingeschaltet (117).

In der vorliegenden Arbeit konnte im Rahmen der immunhistochemischen Auswertung festgestellt werden, dass die Gruppe der Porokeratosis Patienten die vierthäufigste Antigen-Antikörper-Reaktion ausweisen. Hierbei lag der Mittelwert für CK16 bei 202,5, wohingegen dieser Wert bei der Kontrollgruppe (Mittelwert: 58,8) deutlich geringer war.

Der Vergleich der Mittelwerte zwischen den Porokeratosis Patienten und der Kontrollgruppe ergab einen statistisch signifikanten Unterschied. In der Literatur liegen keine vergleichbaren Studien bezüglich dieses Ergebnisses vor.

### **CD8**

CD8+-Lymphozyten zählen zu den zytotoxischen Zellen (101). Die Expression von CD8 erfolgt auf den zytotoxischen T-Zellen (100). CD8 kommt in der Dermis und Epidermis vor. Die Eliminierung von infizierten Zellen und intrazellulären Mikroorganismen gehören zu ihren Aufgaben. Sie produzieren das Zytokin INF- $\gamma$  (102).

Bei einer Reinfektion intrazellulärer Krankheitserreger wie Viren und beim Schutz vor Infektionen spielen CD8+-T-Zellen eine zentrale Rolle (118). Außerdem binden sie an MHC-I (100). Diese aktivieren wiederum CD8-Lymphozyten (101). MHC-I präsentieren Antigene, die von CD8+-T-Zellen erkannt werden. Sie können die Zellen entweder durch Sekretion von zytolytischen Molekülen wie Granzymen und Perforin eliminieren oder eine Apoptose induzieren (103).

In der vorliegenden Arbeit führte die Antikörperfärbung mit CD8 bei den Porokeratosis Patienten zu der fünfthäufigsten Antigen-Antikörper-Reaktion. Hierbei lag der Mittelwert bei 194,2. Bei der Kontrollgruppe konnte man für CD8 einen Mittelwert von 34,2 berechnen. Schlussfolgernd konnte man beim Vergleich dieser Mittelwerte einen statistisch relevanten Unterschied ermitteln.

In der Studie von Kanekura et al. wurde ebenso eine immunhistochemische Färbung bei Porokeratosis Patienten durchgeführt. Hierbei kam man vergleichbar mit der vorliegenden Studie zu dem Ergebnis, dass es sich bei den Infiltraten um CD4+-T-Helferzellen handelte. Diesen Zellen waren CD8+-zytotoxische-T-Zellen und nur eine kleine Anzahl von CD1a+-Zellen beigemischt. Bei einem Porokeratosis Patienten konnte man wiederum CD4+-T-Zellen und CD1a+-Zellen beobachten. Allerdings waren keine CD8+-T-Zellen in der Dermis zu beobachten (106). Tanaka et al. kamen aber in einer Studie zu dem Ergebnis, dass CD8+-T-Zellen in den Infiltraten vorliegen (106).

### **CD1a**

CD1-Moleküle spielen für die Präsentation von Lipidantigenen gegenüber T-Zellen eine wichtige Rolle.

Sie werden eingeteilt in Gruppe I (CD1a, CD1b, CD1c) oder Gruppe II (CD1d und CD1e). Langerhans-Zellen exprimieren CD1a (119). Ihre Expression erfolgt auch auf dendritischen Zellen (100).

CD1a ist für die Regulation von TH17-vermittelten Entzündungsreaktionen in der Haut zuständig (119). CD1a ist ein Marker für Langerhans-Zellen und befindet sich in der Epidermis. Langerhans-Zellen gehören zu den Antigenpräsentierenden Zellen. Ihre Aufgabe ist die Migration und Rekrutierung in die sekundären lymphoiden Organe (102). Hierbei handelt es sich um mononukleare Phagozyten.

Langerhans-Zellen sind an der Schnittstelle zur äußeren Umgebung und dienen als Wächter der Epidermis. Durch amöbenartige Bewegungen können sie ihre Dendriten zwischen den Keratinozyten ausdehnen und zurückziehen. Hierdurch können sie die Umgebung untersuchen. In der Epidermis präsentieren Langerhans-Zellen den T-Zellen ein Antigen, wodurch eine lokale Immunantwort ausgelöst wird. Darüber hinaus können sie zum Lymphknoten wandern und Immunreaktionen initiieren (120).

Aufgrund neuartiger Erkenntnisse weiß man, dass Langerhans-Zellen nicht nur eine wichtige Funktion bei der Homöostase und Immunüberwachung haben, sondern auch einen Einfluss auf die Pathologie ausüben. Dies geschieht, indem Langerhans-Zellen die Toleranz induzieren oder Entzündungen vermitteln (121). Langerhans-Zellen sind die einzigen Antigenpräsentierenden Zellen in der Epidermis, die MHC-II exprimieren (122). Als Antigenpräsentierende Zellen aktivieren Langerhans-Zellen CD8<sup>+</sup>-zytotoxische T-Lymphozyten und CD4<sup>+</sup>-Helfer-T-Lymphozyten (119).

In der vorliegenden Studie zeigte die Antikörperauszählung der Porokeratosis Patienten bei CD1a die sechshäufigste Antigen-Antikörper-Reaktion. Der Mittelwert lag hierbei bei 158,4. Bei der Kontrollgruppe konnte man für CD1a einen Mittelwert von 84,4 ermitteln.

In den untersuchten Vergleichen zwischen der Gruppe der Porokeratosis Patienten und der Kontrollgruppe ließ sich ein statistisch relevanter Unterschied finden. Im Gegensatz zu den anderen verwendeten Antikörpern konnte bei CD1a ( $p$ -Wert= 0,025009693) der geringste Unterschied beobachtet werden.

In der Studie von Matsuyama et al. wurde mithilfe der immunhistochemischen Färbung von CD1a festgestellt, dass in der Epidermis die Anzahl der CD1a<sup>+</sup>-Langerhans-Zellen verringert war. Im Vergleich zur normalen Haut war die Anzahl der CD1a<sup>+</sup> dermalen dendritischen Zellen in der kornoiden Lamelle deutlich erhöht. Langerhans-Zellen

waren vergleichbar mit der vorliegenden Studie in der Epidermis herunterreguliert, wohingegen dendritische Zellen und T-Zellen in der Dermis hochreguliert waren. Schlussfolgernd kamen Matsuyama et al. zu der Erkenntnis, dass die veränderte Verteilung von Langerhans-Zellen, Immunzellen und dermalen dendritischen Zellen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese der Porokeratosis spielen kann (104). In der Regel sei die Anzahl der epidermalen Langerhans-Zellen verringert (15).

Anhand einer licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung bei verschiedenen Formen der Porokeratosis konnte beobachtet werden, dass in der Epidermis die Langerhans-Zellen in engem Kontakt mit früh degenerierenden Keratinozyten stehen (72).

### **Ki-67**

Ki-67 ist ein Proliferationsmarker, der in der Immunhistochemie eingesetzt wird (123). Meistens wird es als Proliferationsmarker für menschliche Tumorzellen eingesetzt (124).

Es wird von proliferierenden Zellen, also während der G1-, der S-, der G2- und der M-Phase des Zellzyklus exprimiert (104). Dementsprechend kommt das Ki-67 Protein in allen aktiven Phasen des Zellzyklus vor (125). In der G0-Phase, also in ruhenden Zellen, kommen sie nicht vor (123, 125). Aus diesem Grund ist Ki-67 ein bedeutender Marker zum Bestimmen des wachsenden Anteils einer Zellpopulation (125). Im Laufe des Zellzyklus verändert sich die Zellverteilung von Ki-67 sehr stark (124).

In der vorliegenden Studie konnte im Rahmen der Antikörperauszählung bei Ki-67 die am seltensten auftretende Antigen-Antikörper-Reaktion unter den Porokeratosis Patienten festgestellt werden. Der Mittelwert lag hierbei bei 125,98. Bei der Kontrollgruppe war der Mittelwert mit 24,9 auch am geringsten. Der Unterschied zwischen den Porokeratosis Patienten und der Kontrollgruppe war statistisch relevant.

Vergleichbar mit der vorliegenden Studie kamen Matsuyama et al. zu der Erkenntnis, dass die Expression von Ki-67 in der Epidermis der kornoiden Lamelle erhöht war, aber nicht in der normalen Haut. Hierbei stellten sie die Vermutung auf, dass eine Assoziation zwischen der Expression von Ki-67 und der Proliferation von Keratinozyten in der kornoiden Lamelle besteht (104).

In der Studie von Fernandez-Flores wurde eine immunhistochemische Analyse mit MIB-1, welches das Protein Ki-67 erkennt, durchgeführt. Man konnte hierbei keine

Erhöhung der Proliferation unter der kornoiden Lamelle feststellen (126). Vergleichbar ist dieses Ergebnis mit der vorliegenden Studie, da Ki-67 im Vergleich zu den anderen verwendeten Antikörpern eine nur geringe Expression aufweist und somit am seltensten vorkam.



## 6 Zusammenfassung

Porokeratosis ist eine seltene Hautkrankheit mit verschiedenen klinischen Formen, die auf eine Keratinisierungsstörung zurückzuführen ist. Die kornoide Lamelle ist das histopathologische Merkmal der Porokeratosis. Eine maligne Transformation ist möglich. Die Ätiologie ist bisher nicht bekannt. In der Literatur wurden bisher systemische, topische und chirurgische Behandlungsmöglichkeiten beschrieben. Allerdings liegen keine randomisierten, kontrollierten Studien bezüglich der Behandlungsstandards vor. Demzufolge ist die Erstellung von europäischen und internationalen Richtlinien bisher nicht möglich (45).

In der vorliegenden Arbeit wurden die Häufigkeiten von T-Zellen (T-Helferzellen, zytotoxische T-Zellen), antigenpräsentierenden Zellen (Langerhans-Zellen, dendritischen Zellen), Differenzierungsmarkern (Involucrin, CK16) und vom Proliferationsmarker (Ki-67) in zwei Gruppen untersucht. Die erste Gruppe besteht aus 12 Porokeratosis Patienten und die zweite aus 6 gesunden Individuen mit normaler Haut, die lediglich als Kontrollgruppe dient. Für die Untersuchung wurden die Biopsien paraffiniert, histologisch zugeschnitten und mit Antikörpern immunhistochemisch angefärbt. Nach der anschließenden lichtmikroskopischen Untersuchung wurden fünf Bildausschnitte mit der größten Anzahl an Färbungen abfotografiert und die Antikörper mit Hilfe eines Bildanalyseprogrammes ausgezählt. Die Ergebnisse wurden anhand von Tabellen und graphisch durch Balkendiagramme dargestellt. Zuletzt erfolgte mit Hilfe des T-Test ein Vergleich der Mittelwerte zwischen beiden Gruppen. Hierbei konnte bei allen verwendeten Antikörpern ein statistisch relevanter Unterschied festgestellt werden. Der außerordentlich statistisch relevanteste Unterschied konnte bei CD4 beobachtet werden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass Involucrin und T- Zellen (CD4, CD3) bei Porokeratosis Patienten im Vergleich zur normalen Haut eine erhöhte Häufigkeit aufweisen. Ihre starke Expression bei den Porokeratosis Patienten deutet darauf, dass vermutlich Involucrin und bestimmte Immunzellen (CD4, CD3) in der Pathogenese der Porokeratosis eine zentrale Rolle übernehmen. Diese Erkenntnisse können als Wegweiser für Forschungen dienen und letztendlich bei der Entwicklung von Therapien herangezogen werden. Es bleibt zu klären, ob Antikörper gegen Involucrin und T- Zellen in der Therapie der Porokeratosis zu empfehlen sind.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Abbott-Frey AM, Coromilas AJ, Niedt GW, Lewin JM. Recurrent Squamous Cell Carcinoma Arising Within a Linear Porokeratosis. *J Drugs Dermatol*. 2020;19(2):205-6.
2. Fritsch P, Schwarz T. *Dermatologie Venerologie : Grundlagen. Klinik. Atlas*. 3. Auflage. Springer: Berlin, 2018.
3. Braun-Falco's *Dermatologie, Venerologie und Allergologie : Band 1* / Gerd Plewig, Thomas Ruzicka, Roland Kaufmann, Michael Hertl Herausgeber. In: Plewig G, Ruzicka T, Kaufmann R, Hertl M, 7. Auflage. Springer: Berlin, 2018.
4. Sengupta S, Das JK, Gangopadhyay A. Multicentric squamous cell carcinoma over lesions of porokeratosis palmaris et plantaris disseminata and giant porokeratosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2005;71(6):414-6.
5. Oliveira RTG, Simoneti FS, Agostinho G, Abdalla BMZ, Locatelli DS, Pincelli T, et al. A rare case of multiple variants of porokeratosis in the same patient: The clue of dermoscopy for diagnosis and therapeutical update. *Dermatol Ther*. 2020:e13274.
6. Kanitakis J. Porokeratoses: an update of clinical, aetiopathogenic and therapeutic features. *Eur J Dermatol*. 2014;24(5):533-44.
7. Guo H, Gao XH, Chen HD, Li JH. Coexistence of multiple variants of porokeratosis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2015;81(4):402-3.
8. Trabelsi S, Badri T, Mokni M, Ben Tekaya N, Cherif F, Azaiz MI, et al. [Porokeratosis. A study about 6 cases]. *Tunis Med*. 2007;85(9):752-5.
9. Raychaudhuri SP, Smoller BR. Porokeratosis in immunosuppressed and nonimmunosuppressed patients. *Int J Dermatol*. 1992;31(11):781-2.
10. Kaur S, Thami GP, Mohan H, Kanwar AJ. Co-existence of variants of porokeratosis: a case report and a review of the literature. *J Dermatol*. 2002;29(5):305-9.
11. Nelson C, Cowper S, Morgan M. p53, mdm-2, and p21 waf-1 in the porokeratoses. *Am J Dermatopathol*. 1999;21(5):420-5.
12. Agarwal S, Berth-Jones J. Porokeratosis of Mibelli: successful treatment with 5% imiquimod cream. *Br J Dermatol*. 2002;146(2):338-9.
13. Mukhopadhyay AK. Simultaneous occurrence of disseminated superficial, linear and hypertrophic verrucous forms of porokeratosis in a child. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2004;70(6):364-6.
14. Sasson M, Krain AD. Porokeratosis and cutaneous malignancy. A review. *Dermatol Surg*. 1996;22(4):339-42.

15. Sertznig P, von Felbert V, Megahed M. Porokeratosis: present concepts. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26(4):404-12.
16. Williams GM, Fillman EP. Porokeratosis. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
17. Han YW, Kim YJ, Kim HO, Park YM. Clinical Study of Porokeratosis Associated with Immunosuppressive Therapy in Renal Transplant Recipients. *Ann Dermatol*. 2008;20(4):167-71.
18. Pérez-Crespo M, Betlloch I, Lucas-Costa A, Bañuls-Roca J, Niveiro de Jaime M, Mataix J. Unusual evolution of giant porokeratosis developing in two renal transplant patients. *Int J Dermatol*. 2008;47(7):759-60.
19. Koley S, Sarkar J, Choudhary S, Dhara S, Choudhury M, Bhattacharya S. Different morphological variants of hypertrophic porokeratosis and disseminated lesions of porokeratosis of Mibelli: a rare co-existence. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2011;77(2):199-202.
20. Le C, Bedocs PM. Disseminated Superficial Actinic Porokeratosis. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
21. Shen CS, Tabata K, Matsuki M, Goto T, Yokochi T, Yamanishi K. Premature apoptosis of keratinocytes and the dysregulation of keratinization in porokeratosis. *Br J Dermatol*. 2002;147(3):498-502.
22. Rémond B, Dompmartin A, Mandard JC, Leroy D. [Squamous cell carcinoma and disseminated superficial actinic porokeratosis]. *Ann Dermatol Venereol*. 1994;121(1):50-2.
23. Hartman R, Mandal R, Sanchez M, Stein JA. Porokeratosis plantaris, palmaris, et disseminata. *Dermatol Online J*. 2010;16(11):22.
24. Lederman JS, Sober AJ, Lederman GS. Immunosuppression: a cause of porokeratosis? *J Am Acad Dermatol*. 1985;13(1):75-9.
25. *Klinikleitfaden Dermatologie*. In: Dirschka T, 3. Auflage. Urban & Fischer in Elsevier: München, 2011.
26. Gutiérrez Paredes E, Bella Navarro R, Montesinos Villaescusa E, Jordá Cuevas E. Porokeratosis of Mibelli: a new indication for photodynamic therapy? *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104(3):259-61.
27. Sarma N, Boler AK, Bhattacharya SR. Familial disseminated plaque type porokeratosis with multiple horns and squamous cell carcinoma involving anal skin. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2009;75(5):551.
28. Murase J, Gilliam AC. Disseminated superficial actinic porokeratosis co-existing with linear and verrucous porokeratosis in an elderly woman: Update on the genetics and clinical expression of porokeratosis. *J Am Acad Dermatol*. 2010;63(5):886-91.

29. Dover JS, Phillips TJ, Burns DA, Krafchik BR. Disseminated superficial actinic porokeratosis. Coexistence with other porokeratotic variants. *Arch Dermatol.* 1986;122(8):887-9.
30. Chen TJ, Chou YC, Chen CH, Kuo TT, Hong HS. Genital porokeratosis: a series of 10 patients and review of the literature. *Br J Dermatol.* 2006;155(2):325-9.
31. Verma KK, Singh OP. Dexamethasone pulse treatment in disseminated porokeratosis of Mibelli. *J Dermatol Sci.* 1994;7(1):71-2.
32. Dereli T, Ozyurt S, Ozturk G. Porokeratosis of Mibelli: successful treatment with cryosurgery. *J Dermatol.* 2004;31(3):223-7.
33. Giuliadori K, Campanati A, Ganzetti G, Conocchiaro L, Cataldi I, Simonetti O, et al. The successful off-label use of photodynamic therapy for classic porokeratosis of Mibelli: case report. *Dermatol Ther.* 2011;24(5):501-4.
34. Schamroth JM, Zlotogorski A, Gilead L. Porokeratosis of Mibelli. Overview and review of the literature. *Acta Derm Venereol.* 1997;77(3):207-13.
35. Scappaticci S, Lambiase S, Orecchia G, Fraccaro M. Clonal chromosome abnormalities with preferential involvement of chromosome 3 in patients with porokeratosis of Mibelli. *Cancer Genet Cytogenet.* 1989;43(1):89-94.
36. Rothman IL, Wirth PB, Klaus MV. Porokeratosis of Mibelli following heart transplant. *Int J Dermatol.* 1992;31(1):52-4.
37. Vlachou C, Kanelleas AI, Martin-Clavijo A, Berth-Jones J. Treatment of disseminated superficial actinic porokeratosis with topical diclofenac gel: a case series. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008;22(11):1343-5.
38. Ulrich M, Forschner T, Röwert-Huber J, González S, Stockfleth E, Sterry W, et al. Differentiation between actinic keratoses and disseminated superficial actinic porokeratoses with reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol.* 2007;156 Suppl 3:47-52.
39. Holmes G, Sidhu S, Wakelin SH, Orton D, Marren P. Disseminated superficial actinic porokeratosis occurring in two members of an Asian family. *Clinical and experimental dermatology.* 1997;22(6):280-2.
40. Aird GA, Sitenga JL, Nguyen AH, Vaudreuil A, Huerter CJ. Light and laser treatment modalities for disseminated superficial actinic porokeratosis: a systematic review. *Lasers Med Sci.* 2017;32(4):945-52.
41. Parks AC, Conner KJ, Armstrong CA. Long-term clearance of linear porokeratosis with tacrolimus, 0.1%, ointment. *JAMA Dermatol.* 2014;150(2):194-6.
42. Curnow P, Foley P, Baker C. Multiple squamous cell carcinomas complicating linear porokeratosis. *Australas J Dermatol.* 2003;44(2):136-9.
43. Rahbari H, Cordero AA, Mehregan AH. Linear porokeratosis. A distinctive clinical variant of porokeratosis of Mibelli. *Arch Dermatol.* 1974;109(4):526-8.

44. Irisawa R, Yamazaki M, Yamamoto T, Tsuboi R. A case of porokeratosis plantaris palmaris et disseminata and literature review. *Dermatol Online J.* 2012;18(8):5.
45. Weidner T, Illing T, Miguel D, Elsner P. Treatment of Porokeratosis: A Systematic Review. *Am J Clin Dermatol.* 2017;18(4):435-49.
46. Ruocco V, Satriano RA, Florio M, Pettinato G, Pisani M. [Porokeratosis palmaris et plantaris disseminata with squamous cell carcinoma]. *G Ital Dermatol Venereol.* 1990;125(1-2):53-8.
47. Sauder DN. Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. *J Am Acad Dermatol.* 2000;43(1 Pt 2):S6-11.
48. Harrison S, Sinclair R. Porokeratosis of Mibelli: successful treatment with topical 5% imiquimod cream. *Australas J Dermatol.* 2003;44(4):281-3.
49. Simpson D, Noble S. Tacrolimus ointment: a review of its use in atopic dermatitis and its clinical potential in other inflammatory skin conditions. *Drugs.* 2005;65(6):827-58.
50. Barnett JH. Linear porokeratosis: treatment with the carbon dioxide laser. *J Am Acad Dermatol.* 1986;14(5 Pt 2):902-4.
51. Kim HS, Baek JH, Park YM, Kim HO, Lee JY. Photodynamic Therapy Combined with CO(2) Laser Vaporization on Disseminated Superficial Actinic Porokeratosis: A Report of 2 Cases on the Face. *Ann Dermatol.* 2011;23(Suppl 2):S211-3.
52. Lolis MS, Marmur ES. Treatment of disseminated superficial actinic porokeratosis (DSAP) with the Q-switched ruby laser. *J Cosmet Laser Ther.* 2008;10(2):124-7.
53. Liu HT. Treatment of lichen amyloidosis (LA) and disseminated superficial porokeratosis (DSP) with frequency-doubled Q-switched Nd:YAG laser. *Dermatol Surg.* 2000;26(10):958-62.
54. Rosenblum J, Roenigk HH, Jr. Erbium laser for the treatment of disseminated superficial actinic porokeratosis: a case report. *Dermatol Surg.* 2013;39(10):1543-5.
55. Chrastil B, Glaich AS, Goldberg LH, Friedman PM. Fractional photothermolysis: a novel treatment for disseminated superficial actinic porokeratosis. *Arch Dermatol.* 2007;143(11):1450-2.
56. Alster TS, Nanni CA. Successful treatment of porokeratosis with 585 nm pulsed dye laser irradiation. *Cutis.* 1999;63(5):265-6.
57. Ramelyte E, Bylaite-Bucinskiene M, Dummer R, Imhof L. Successful Use of Grenz Rays for Disseminated Superficial Actinic Porokeratosis: Report of 8 Cases. *Dermatology.* 2017;233(2-3):217-22.
58. Ricci C, Rosset A, Panizzon RG. Bullous and pruritic variant of disseminated superficial actinic porokeratosis: successful treatment with grenz rays. *Dermatology.* 1999;199(4):328-31.

59. Levitt J, Emer JJ, Emanuel PO. Treatment of porokeratosis of mibelli with combined use of photodynamic therapy and Fluorouracil cream. *Arch Dermatol*. 2010;146(4):371-3.
60. Fernández-Guarino M, Harto A, Pérez-García B, Martín-González M, Urrutia S, Jaén P. Photodynamic therapy in disseminated superficial actinic porokeratosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(2):176-7.
61. Gracia-Cazaña T, Vera-Álvarez J, García-Patos V, Gilaberte Y. Imiquimod and Photodynamic Therapy Are Useful in the Treatment of Porokeratosis in Children with Bone Marrow Transplantation. *Pediatr Dermatol*. 2015;32(6):e291-3.
62. Curkova AK, Hegyi J, Kozub P, Szep Z, D'Erme AM, Simaljakova M. A case of linear porokeratosis treated with photodynamic therapy with confocal microscopy surveillance. *Dermatol Ther*. 2014;27(3):144-7.
63. García-Navarro X, Garcés JR, Baselga E, Alomar A. Linear porokeratosis: excellent response to photodynamic therapy. *Arch Dermatol*. 2009;145(5):526-7.
64. Garrido-Colmenero C, Ruiz-Villaverde R, Martínez-García E, Aneiros-Fernández J, Tercedor-Sánchez J. Photoletter to the editor: Response of linear porokeratosis to photodynamic therapy in an 11-year-old girl. *J Dermatol Case Rep*. 2015;9(4):118-9.
65. Piccolo D, Di Marcantonio D, Crisman G, Cannarozzo G, Sannino M, Chiricozzi A, et al. Unconventional use of intense pulsed light. *Biomed Res Int*. 2014;2014:618206.
66. Spencer JM, Katz BE. Successful treatment of porokeratosis of Mibelli with diamond fraise dermabrasion. *Arch Dermatol*. 1992;128(9):1187-8.
67. Cohen PR, Held JL, Katz BE. Linear porokeratosis: successful treatment with diamond fraise dermabrasion. *J Am Acad Dermatol*. 1990;23(5 Pt 2):975-7.
68. Scheiba N, Enk A, Proske S, Hartschuh W. Porokeratosis ptychotropica: successful treatment with the dermatome. *Dermatol Surg*. 2010;36(2):257-60.
69. Robinson JB, Im DD, Jockle G, Rosenshein NB. Vulvar porokeratosis: case report and review of the literature. *Int J Gynecol Pathol*. 1999;18(2):169-73.
70. Bhushan M, Craven NM, Beck MH, Chalmers RJ. Linear porokeratosis of mibelli: successful treatment with cryotherapy. *Br J Dermatol*. 1999;141(2):389.
71. Vergara G, Bañuls J, Botella R, Silvestre JF, Belinchón I, Betlloch I. Porokeratosis of the lower lip. *Eur J Dermatol*. 2002;12(5):500-2.
72. Jurecka W, Neumann RA, Knobler RM. Porokeratoses: immunohistochemical, light and electron microscopic evaluation. *J Am Acad Dermatol*. 1991;24(1):96-101.

73. Wade TR, Ackerman AB. Cornoid lamellation. A histologic reaction pattern. *Am J Dermatopathol.* 1980;2(1):5-15.
74. Reed RJ, Leone P. Porokeratosis--a mutant clonal keratosis of the epidermis. I. Histogenesis. *Arch Dermatol.* 1970;101(3):340-7.
75. Happle R. Cancer proneness of linear porokeratosis may be explained by allelic loss. *Dermatology.* 1997;195(1):20-5.
76. Magee JW, McCalmont TH, LeBoit PE. Overexpression of p53 tumor suppressor protein in porokeratosis. *Arch Dermatol.* 1994;130(2):187-90.
77. Gray MH, Smoller BS, McNutt NS. Carcinogenesis in porokeratosis. Evidence for a role relating to chronic growth activation of keratinocytes. *Am J Dermatopathol.* 1991;13(5):438-44.
78. Coskey RJ, Mehregan A. Bowen Disease Associated With Porokeratosis of Mibelli. *Archives of Dermatology.* 1975;111(11):1480-1.
79. Chernosky ME, Rapini RP. Squamous Cell Carcinoma in Lesions of Disseminated Superficial Actinic Porokeratosis: A Report of Two Cases. *Archives of Dermatology.* 1986;122(8):853-5.
80. Lin JH, Hsu MM, Sheu HM, Lee JY. Coexistence of three variants of porokeratosis with multiple squamous cell carcinomas arising from lesions of giant hyperkeratotic porokeratosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2006;20(5):621-3.
81. Otsuka F, Shima A, Ishibashi Y. Porokeratosis as a premalignant condition of the skin. Cytologic demonstration of abnormal DNA ploidy in cells of the epidermis. *Cancer.* 1989;63(5):891-6.
82. Key M. *Handbuch Immunchemische Färbemethoden 3. Auflage, 2003.*
83. Bogen SA, Vani K, Sompuram SR. Molecular mechanisms of antigen retrieval: antigen retrieval reverses steric interference caused by formalin-induced cross-links. *Biotech Histochem.* 2009;84(5):207-15.
84. Hanack K, Messerschmidt K, Listek M. Antibodies and Selection of Monoclonal Antibodies. *Adv Exp Med Biol.* 2016;917:11-22.
85. Nelson PN, Reynolds GM, Waldron EE, Ward E, Giannopoulos K, Murray PG. Monoclonal antibodies. *Mol Pathol.* 2000;53(3):111-7.
86. Boenisch T. *Handbuch Immunchemische Färbemethoden 2003.*
87. Buss NA, Henderson SJ, McFarlane M, Shenton JM, de Haan L. Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Curr Opin Pharmacol.* 2012;12(5):615-22.
88. Ecker DM, Jones SD, Levine HL. The therapeutic monoclonal antibody market. *MAbs.* 2015;7(1):9-14.



89. Parola C, Neumeier D, Reddy ST. Integrating high-throughput screening and sequencing for monoclonal antibody discovery and engineering. *Immunology*. 2018;153(1):31-41.
90. Frenzel A, Schirrmann T, Hust M. Phage display-derived human antibodies in clinical development and therapy. *MAbs*. 2016;8(7):1177-94.
91. Sack U, Emmrich F. Monoklonale Antikörper. *Der Internist*. 2008;49(8):919-28.
92. Ledsgaard L, Kilstrup M, Karatt-Vellatt A, McCafferty J, Laustsen AH. Basics of Antibody Phage Display Technology. *Toxins (Basel)*. 2018;10(6).
93. Koschack J. Standardabweichung und Standardfehler: der kleine, aber feine Unterschied. *Zeitschrift für Allgemeinmedizin*. 2008;84(6):258-60.
94. Kim TK. T test as a parametric statistic. *Korean journal of anesthesiology*. 2015;68(6):540.
95. Eckert RL, Crish JF, Efimova T, Dashti SR, Deucher A, Bone F, et al. Regulation of involucrin gene expression. *J Invest Dermatol*. 2004;123(1):13-22.
96. Furue M. Regulation of Filaggrin, Loricrin, and Involucrin by IL-4, IL-13, IL-17A, IL-22, AHR, and NRF2: Pathogenic Implications in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15).
97. Bikle DD, Ng D, Oda Y, Hanley K, Feingold K, Xie Z. The vitamin D response element of the involucrin gene mediates its regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Invest Dermatol*. 2002;119(5):1109-13.
98. Hohl D. Expression patterns of loricrin in dermatological disorders. *Am J Dermatopathol*. 1993;15(1):20-7.
99. Ito M, Fujiwara H, Maruyama T, Oguro K, Ishihara O, Sato Y. Morphogenesis of the cornoid lamella: histochemical, immunohistochemical, and ultrastructural study of porokeratosis. *J Cutan Pathol*. 1991;18(4):247-56.
100. Lauffer F, Ring J. Das Immunsystem der Haut. *Aktuelle Rheumatologie*. 2015;40(02):118-23.
101. Roth E, Schober-Halper B, Wessner B. Immunsystem. *Molekulare Sport- und Leistungsphysiologie*: Springer; 2018. p. 265-88.
102. Quaresma JAS. Organization of the Skin Immune System and Compartmentalized Immune Responses in Infectious Diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(4).
103. Sabat R, Wolk K, Loyal L, Döcke WD, Ghoreschi K. T cell pathology in skin inflammation. *Semin Immunopathol*. 2019;41(3):359-77.
104. Matsuyama K, Mizutani Y, Takahashi T, Shu E, Kanoh H, Miyazaki T, et al. Enhanced dendritic cells and regulatory T cells in the dermis of porokeratosis. *Arch Dermatol Res*. 2017;309(9):749-56.

105. Tanaka M, Terui T, Kudo K, Tagami H. Inflammatory disseminated superficial porokeratosis followed by regression. *British Journal of Dermatology*. 1995;132(1):153-5.
106. Kanekura T, Yoshii N. Eruptive pruritic papular porokeratosis: a pruritic variant of porokeratosis. *The Journal of Dermatology*. 2006;33(11):813-6.
107. Rodríguez-Tejero A, Bueno-Rodríguez A, Montero-Vílchez T, Arias-Santiago S, Molina-Leyva A. Genitogluteal porokeratosis: An unusual presentation treated successfully with the novel combination of imiquimod 5% cream and photodynamic therapy. *Dermatol Ther*. 2020;33(4):e13656.
108. Kawakami Y, Mitsui S. A case of porokeratosis ptychotropica: successful treatment with topical 5% imiquimod cream. *Clinical and experimental dermatology*. 2017;42(7):839-41.
109. Zhang ZH, Wang ZM, Crosby ME, Wang HF, Xiang LH, Luan J, et al. Gene expression profiling of porokeratosis. *J Cutan Pathol*. 2008;35(11):1058-62.
110. Stewart L, Howat A, Coulson I. Disseminated superficial porokeratosis secondary to immunosuppression induced by etanercept for extensive psoriasis. *Arch Dermatol*. 2010;146(10):1193-4.
111. da Silva Fonseca LM, do Carmo MA. Identification of the AgNORs, PCNA and ck16 proteins in oral lichen planus lesions. *Oral Dis*. 2001;7(6):344-8.
112. Adegboyega PA, Qiu S. Immunohistochemical profiling of cytokeratin expression by endometrial stroma sarcoma. *Hum Pathol*. 2008;39(10):1459-64.
113. Caliman e Gurgel JD, Pereira SB, Alves AL, Ribeiro FQ. Hyperproliferation markers in ear canal epidermis. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2010;76(5):667-71.
114. Sesterhenn AM, Mandic R, Dünne AA, Werner JA. Cytokeratins 6 and 16 are frequently expressed in head and neck squamous cell carcinoma cell lines and fresh biopsies. *Anticancer Res*. 2005;25(4):2675-80.
115. Viana AG, Domingos PL, Kaminagakura E, Botelho AC, Martelli H, Jr., Bonan PR. Immunohistochemical profile of cytokeratins in pseudoepitheliomatous hyperplasia of cutaneous leishmaniasis. *Int J Dermatol*. 2011;50(12):1470-4.
116. Silva LMA, Hsieh R, Lourenço SV, Valente NYS, Paiva GR, Fernandes JD. Immunostaining study of cytokeratins in human hair follicle development. *An Bras Dermatol*. 2020;95(3):278-82.
117. Nittayananta W, Mitarnun W, Talungchit S, Sriplung H. Changes in oral cytokeratin expression in HIV-infected subjects with long-term use of HAART. *Oral Dis*. 2012;18(8):793-801.
118. Gerritsen B, Pandit A. The memory of a killer T cell: models of CD8(+) T cell differentiation. *Immunol Cell Biol*. 2016;94(3):236-41.

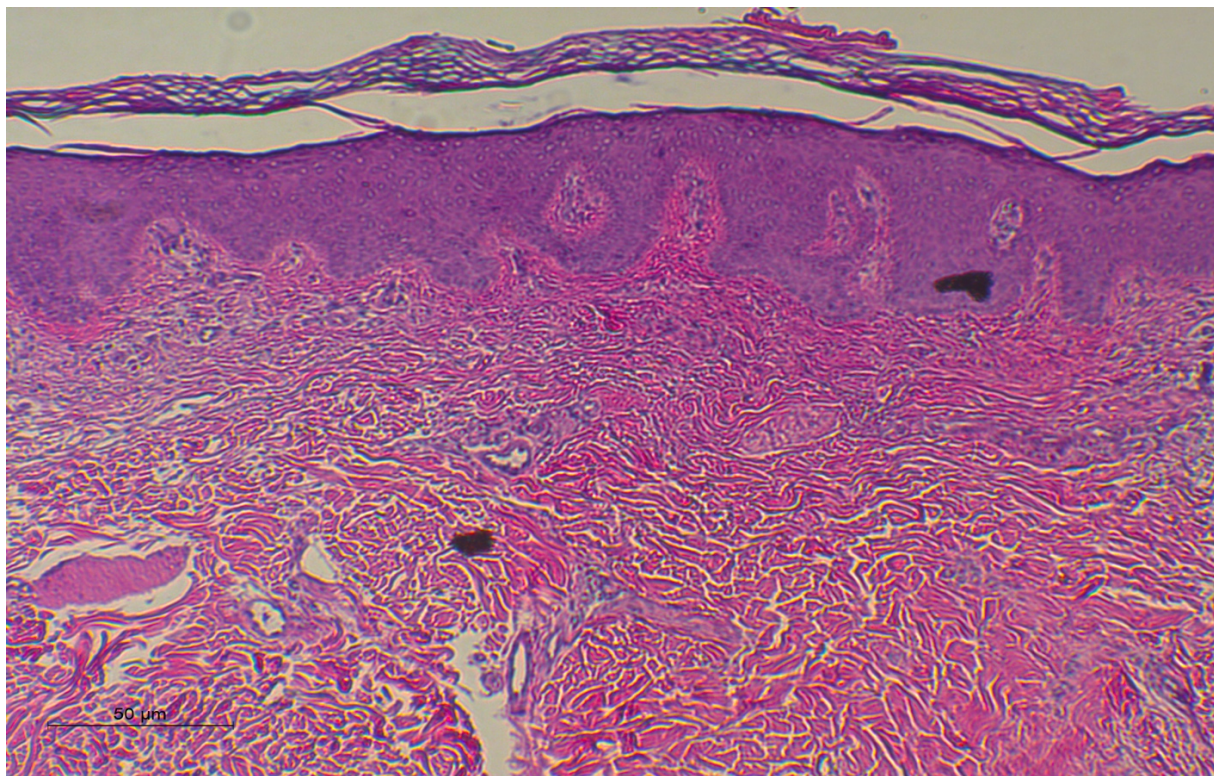
119. Nguyen AV, Soulika AM. The Dynamics of the Skin's Immune System. *Int J Mol Sci.* 2019;20(8).
120. Chambers ES, Vukmanovic-Stejic M. Skin barrier immunity and ageing. *Immunology.* 2020;160(2):116-25.
121. Deckers J, Hammad H, Hosten E. Langerhans Cells: Sensing the Environment in Health and Disease. *Front Immunol.* 2018;9:93.
122. Kaplan DH. Ontogeny and function of murine epidermal Langerhans cells. *Nat Immunol.* 2017;18(10):1068-75.
123. Gerdes J. Ki-67 and other proliferation markers useful for immunohistological diagnostic and prognostic evaluations in human malignancies. *Semin Cancer Biol.* 1990;1(3):199-206.
124. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma.* 2018;127(2):175-86.
125. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182(3):311-22.
126. Fernandez-Flores A. Small lesions of porokeratosis show a normal proliferation rate with MIB-1. *ACTA DERMATOVENEROLOGICA ALPINA PANONICA ET ADRIATICA.* 2008;17(1):22.



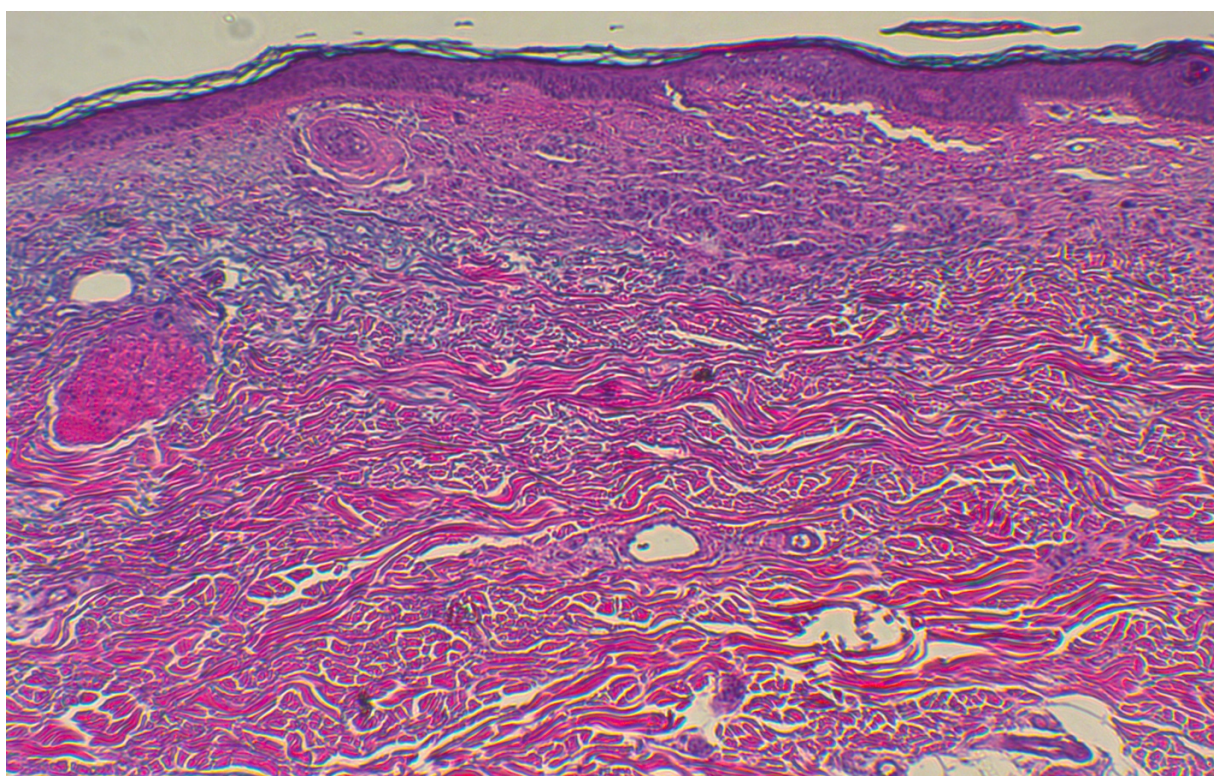
## 8 Anhang

### 8.1 Histologische Übersichtsbilder; HE-Färbung

Patient 1 (männlich, 41 Jahre, Porokeratosis)

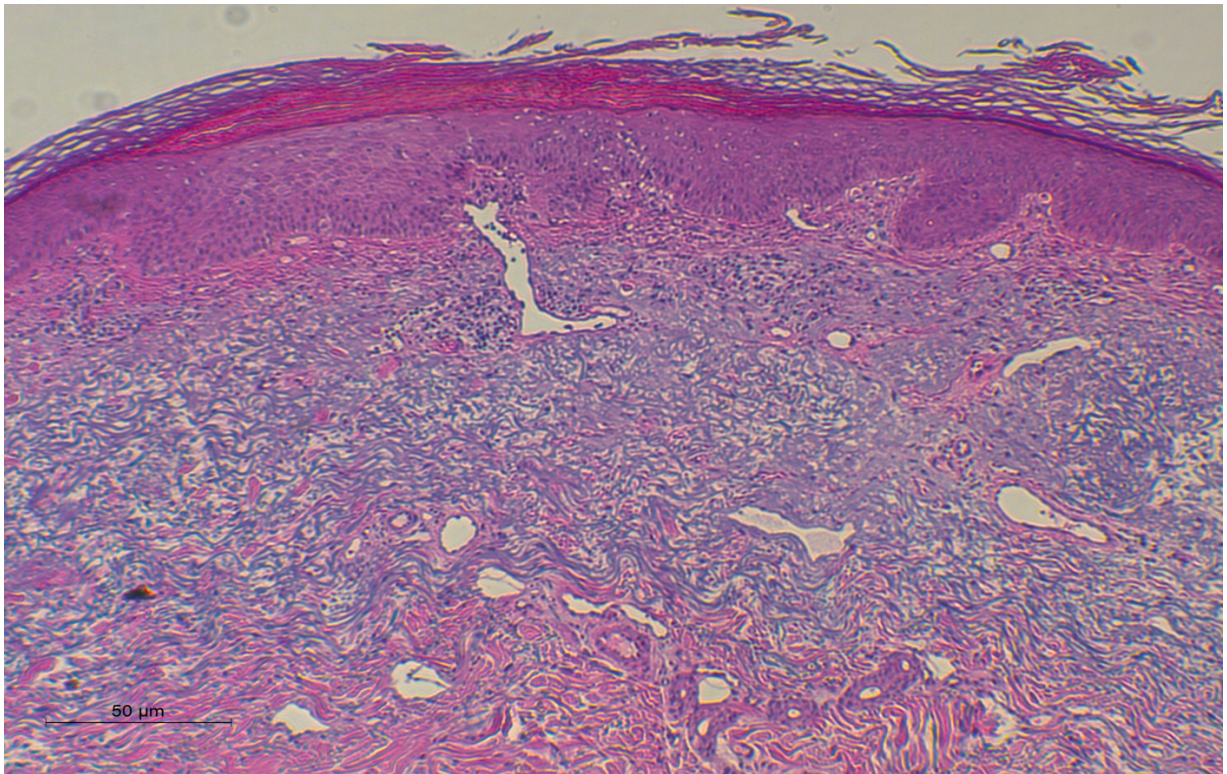


Patient 2 (weiblich, 76 Jahre, Porokeratosis)

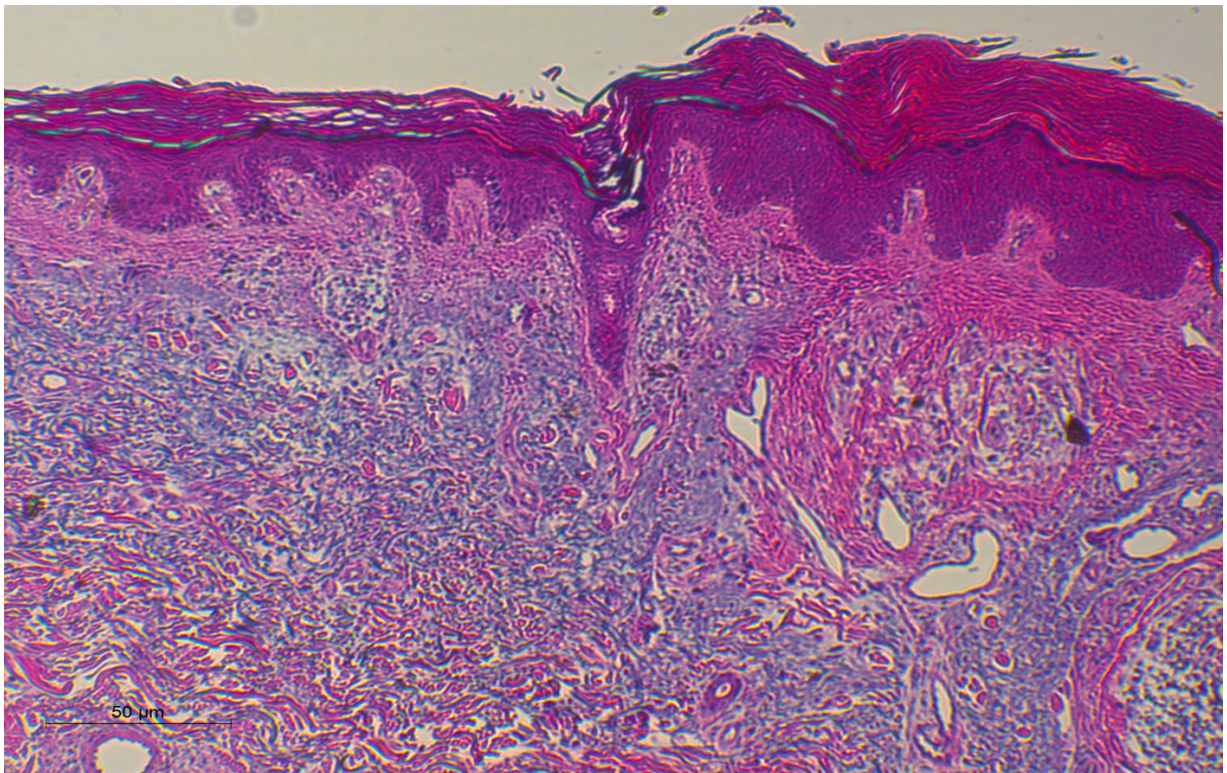




Patient 3 (weiblich, 60 Jahre, Porokeratosis)

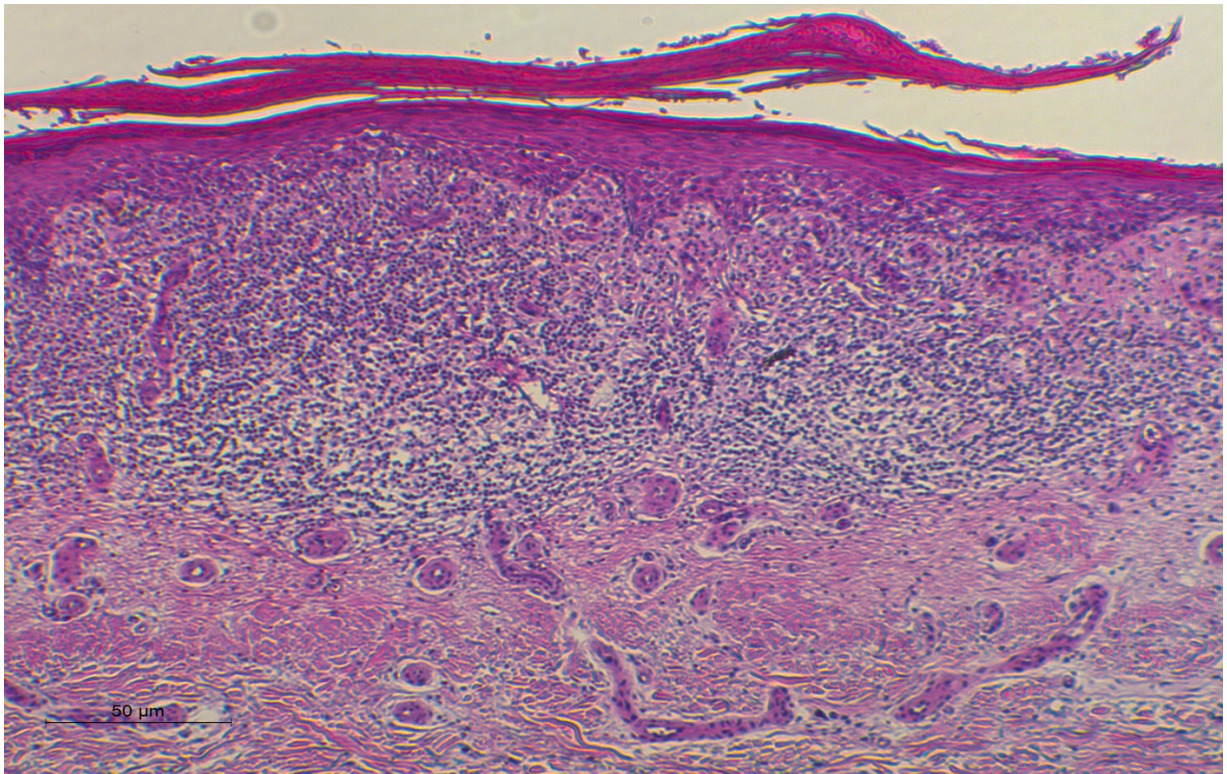


Patient 4 (männlich, 52 Jahre, Porokeratosis)

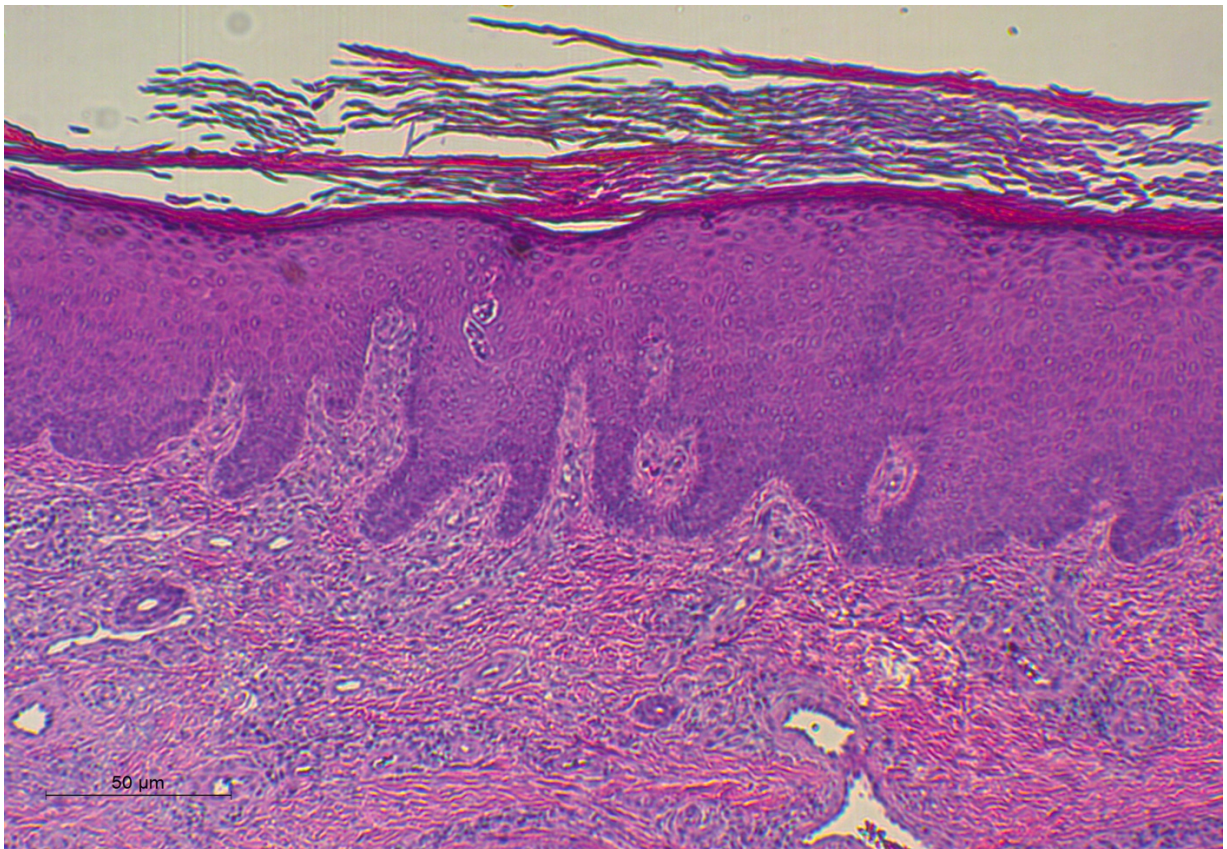




Patient 5 (männlich, 80 Jahre, Porokeratosis)

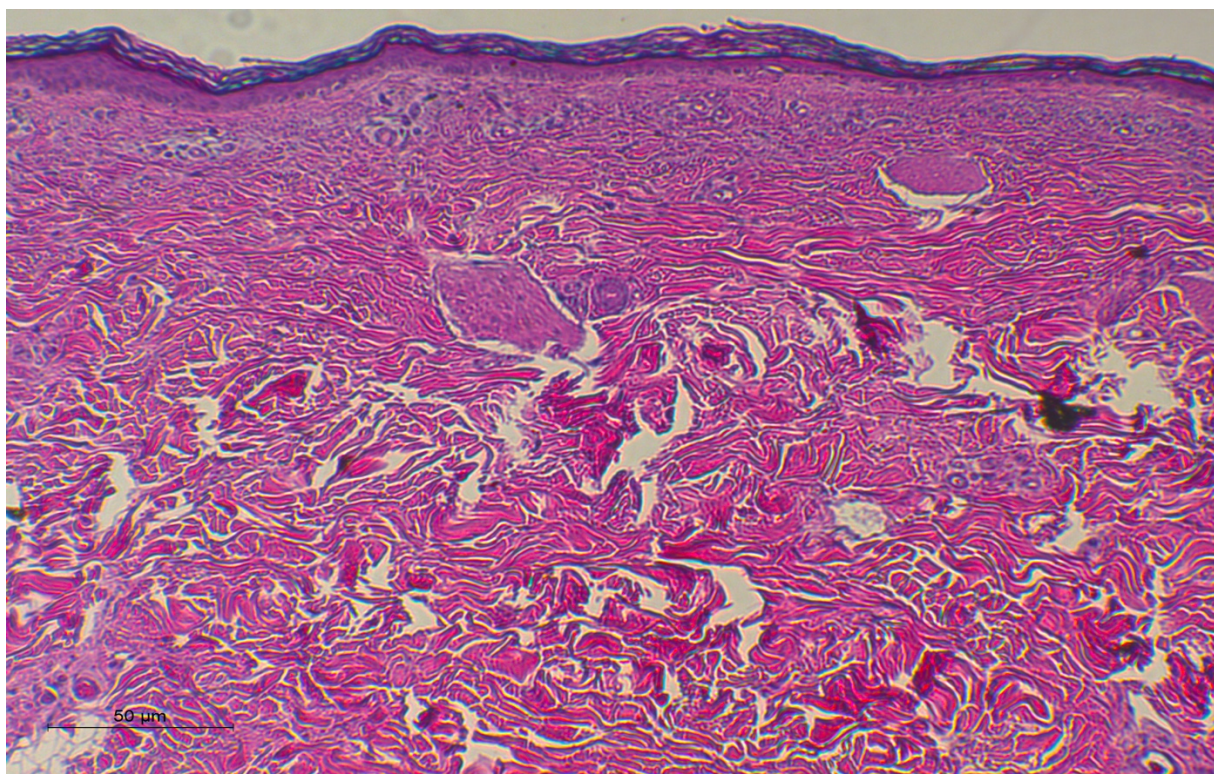


Patient 6 (männlich, 76 Jahre, Porokeratosis)

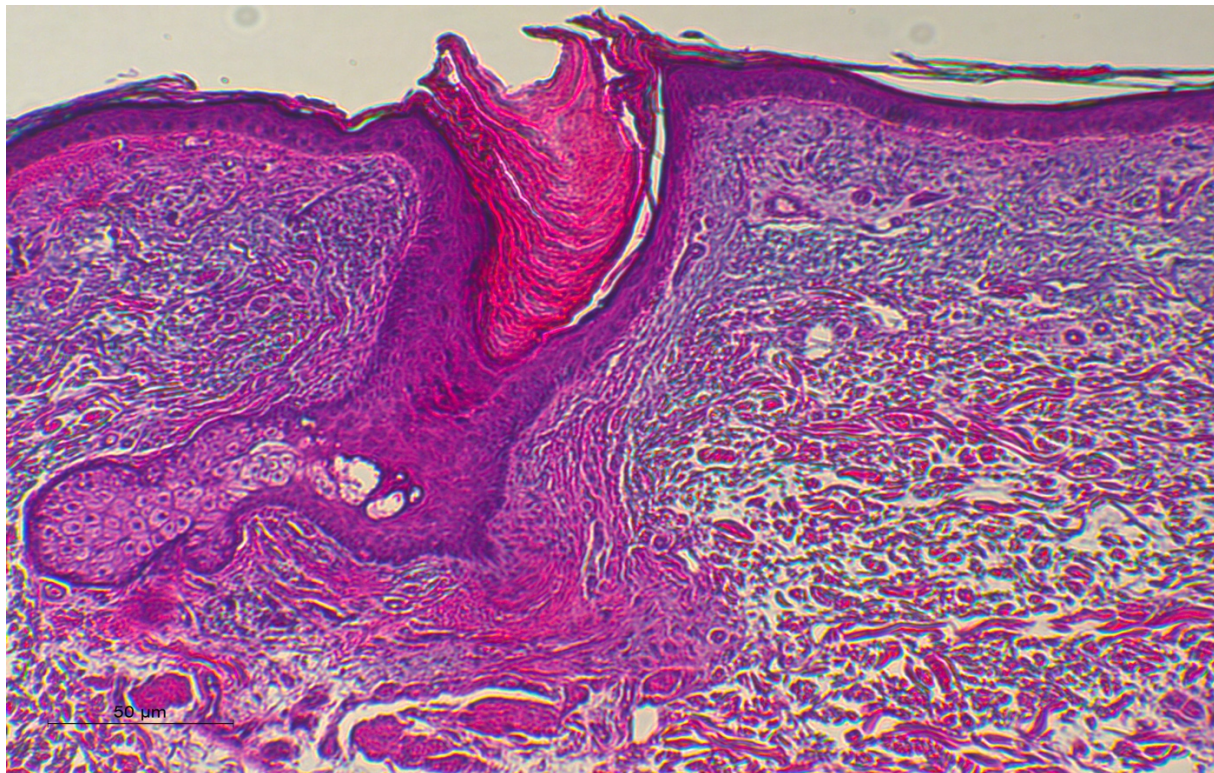




Patient 7 (männlich, 44 Jahre, Porokeratosis)

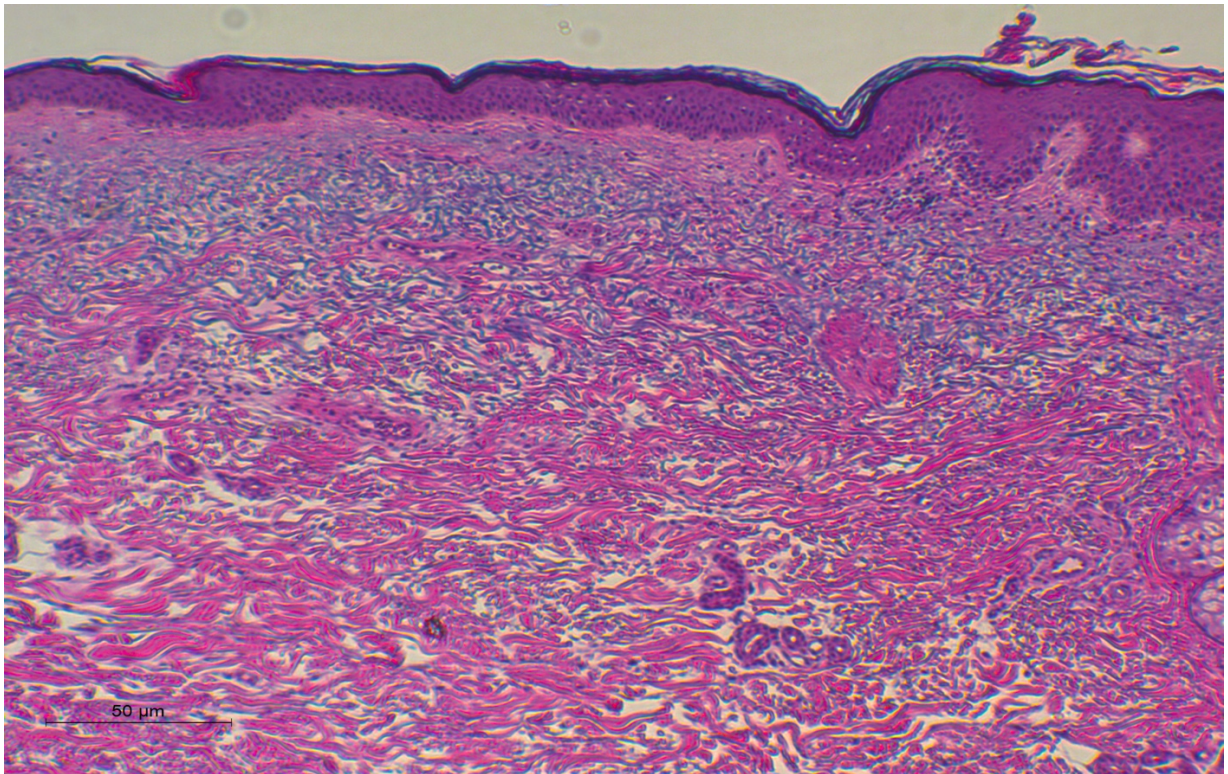


Patient 8 (männlich, 80 Jahre, Porokeratosis)

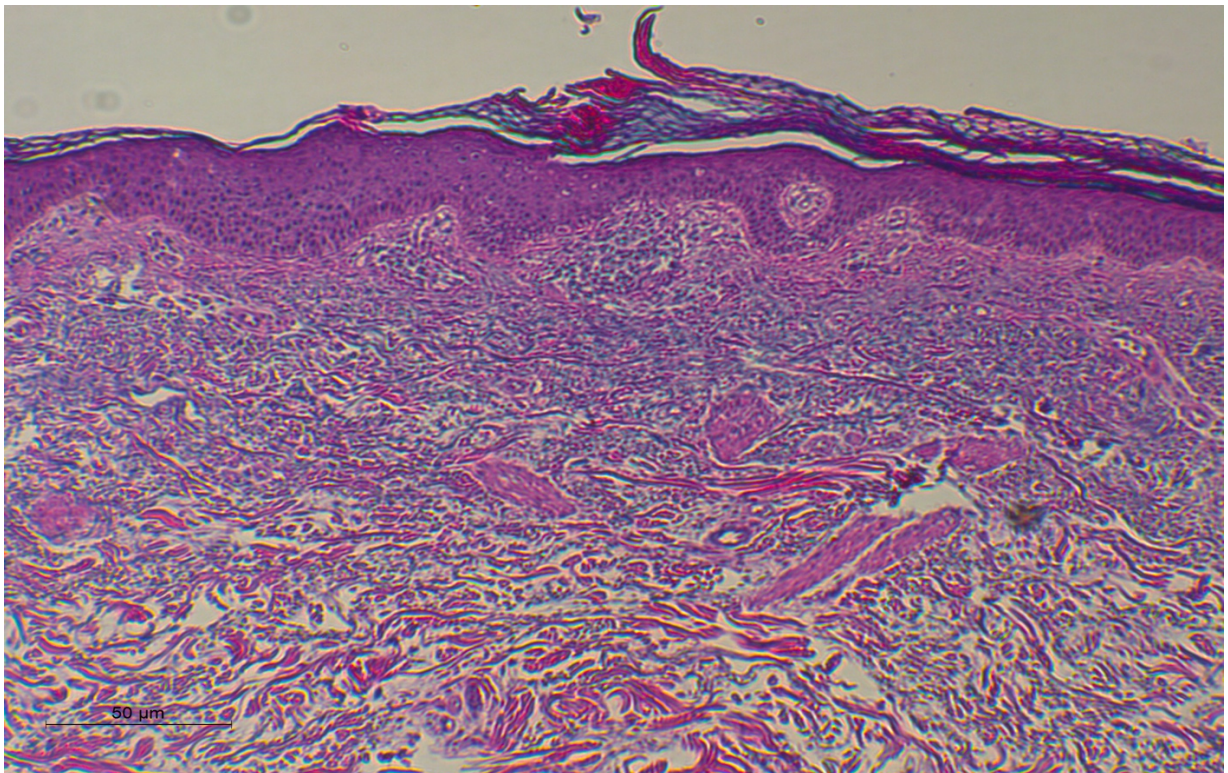




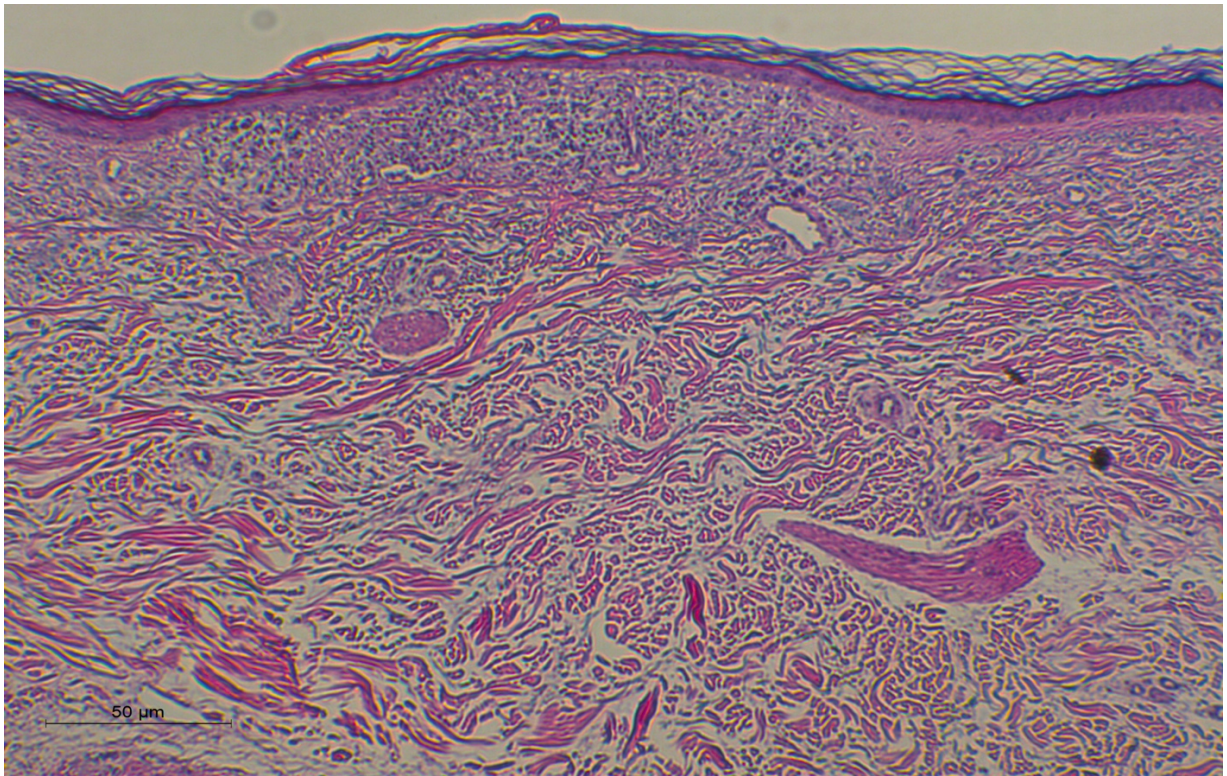
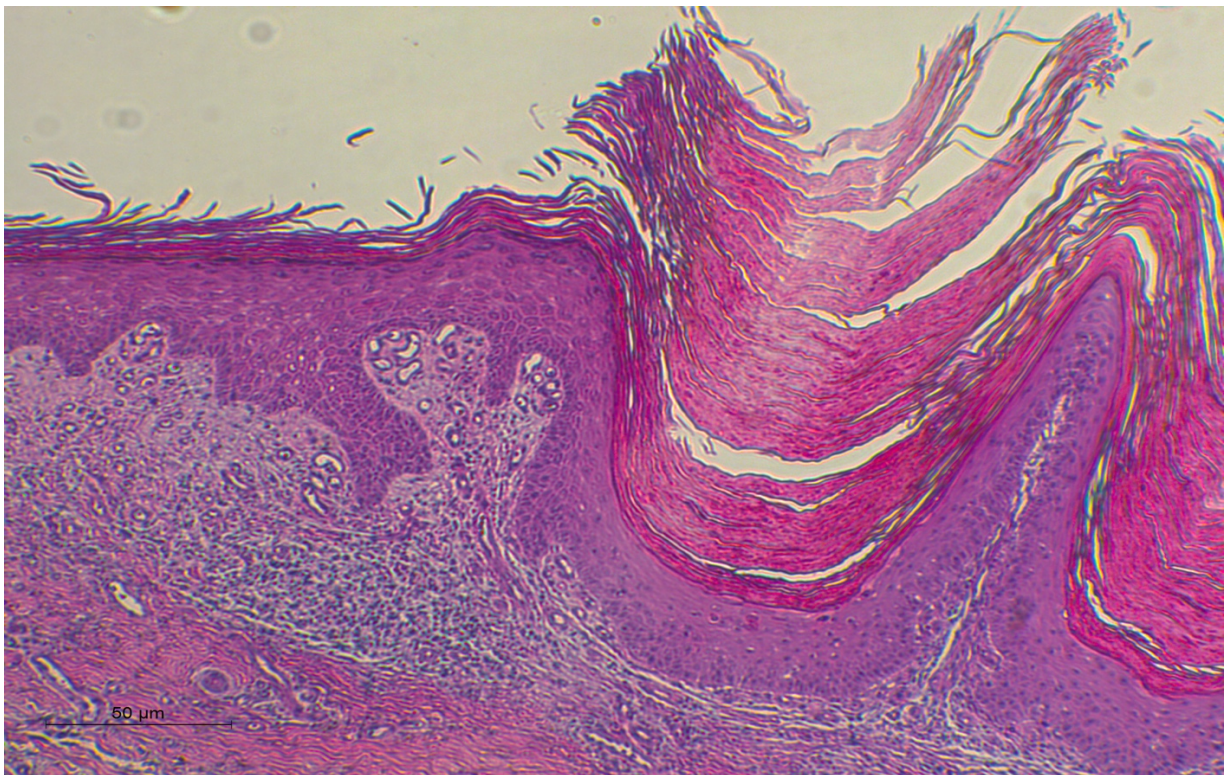
Patient 9 (weiblich, 52 Jahre, Porokeratosis)



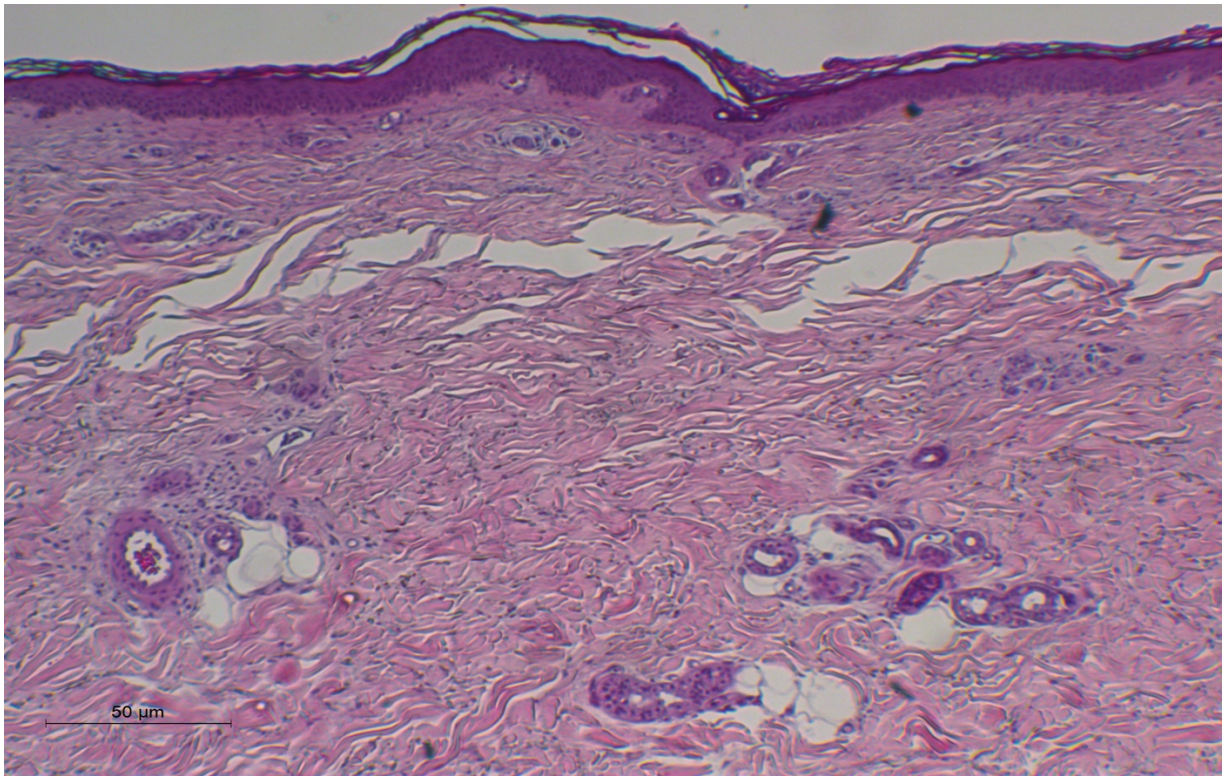
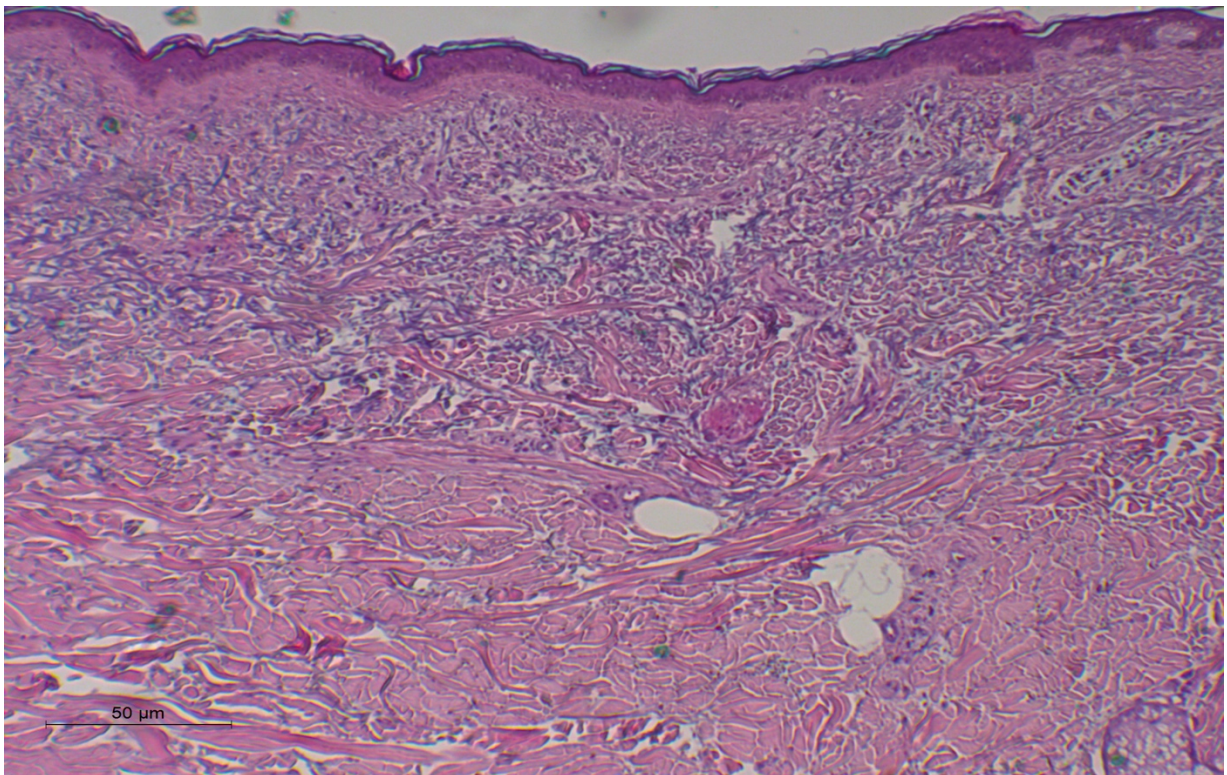
Patient 10 (weiblich, 63 Jahre, Porokeratosis)





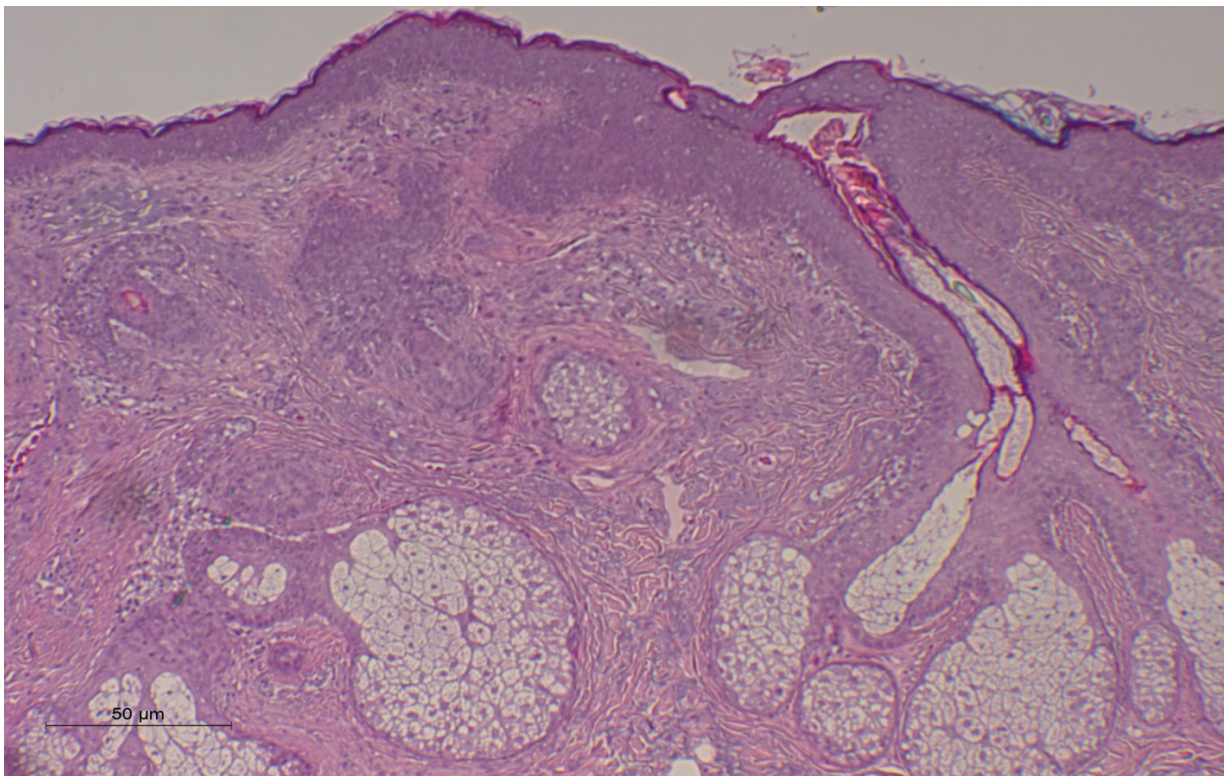
Patient 11 (männlich, 55 Jahre, Porokeratosis)Patient 12 (männlich, 78 Jahre, Porokeratosis)



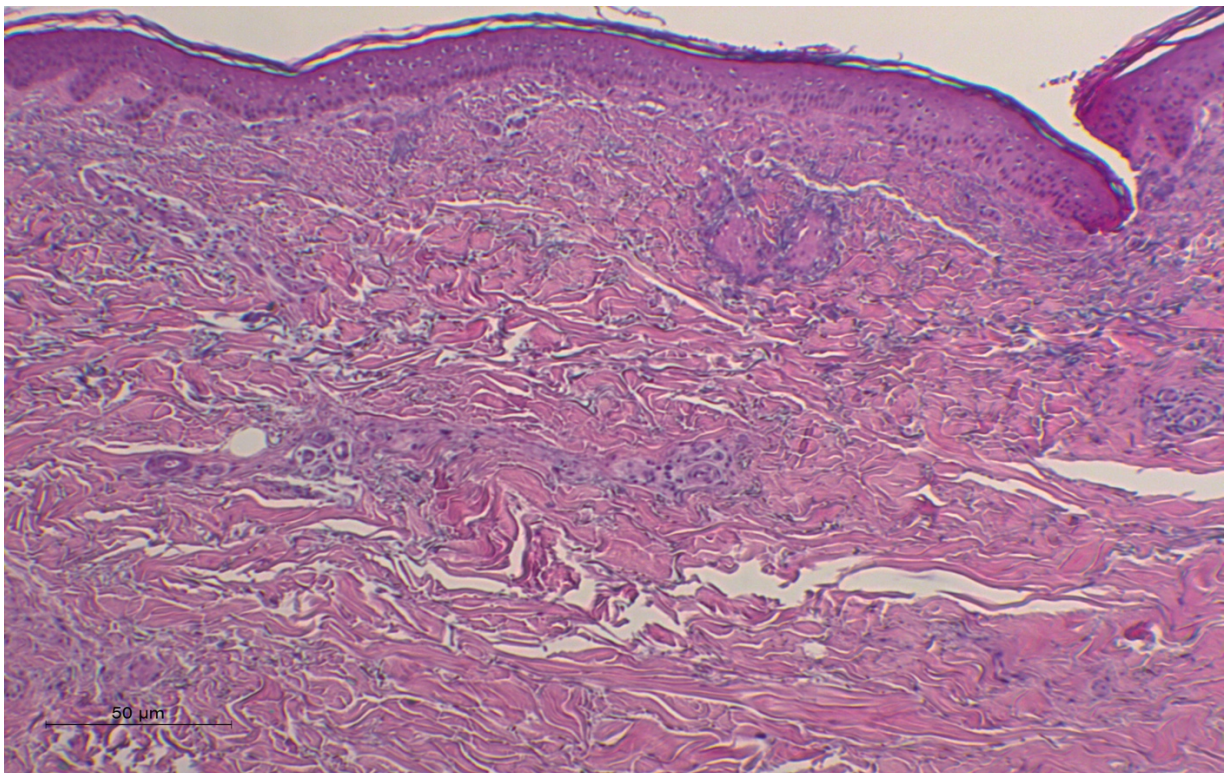
Gesundes Individuum Nr. 1 (Kontrollgruppe)Gesundes Individuum Nr. 2 (Kontrollgruppe)



Gesundes Individuum Nr. 3 (Kontrollgruppe)

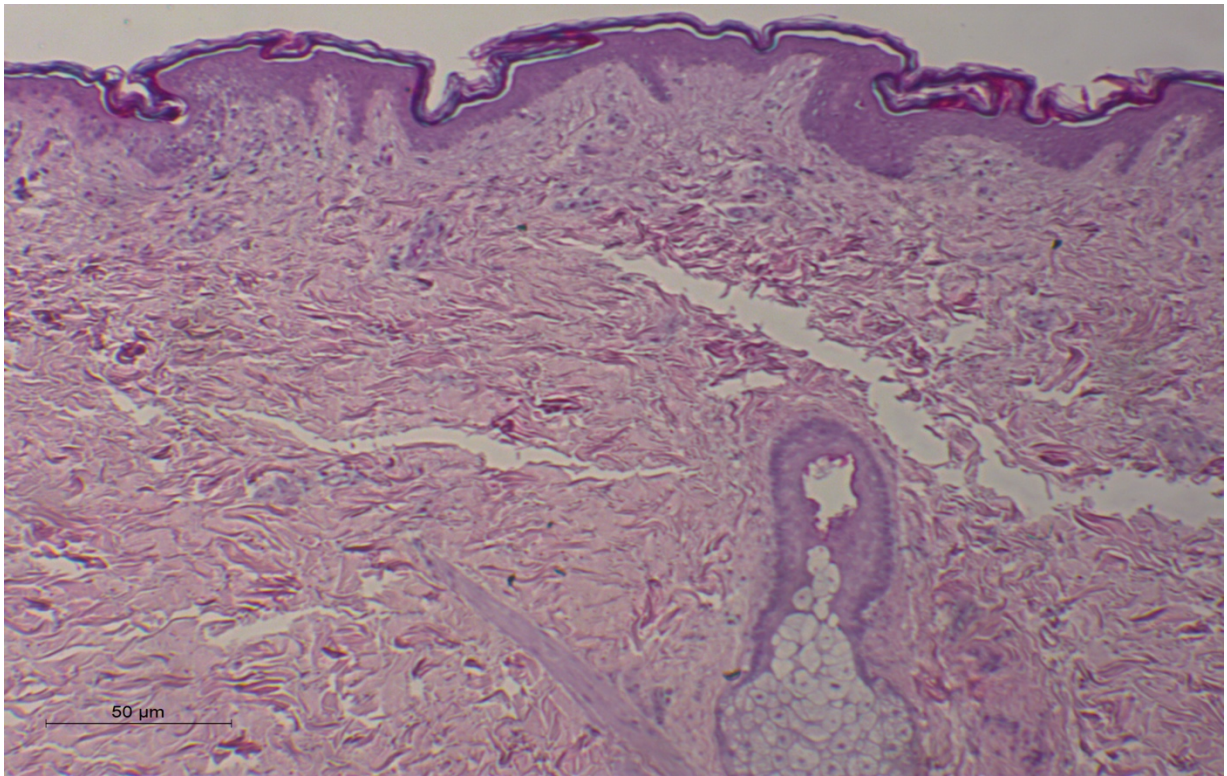


Gesundes Individuum Nr. 4 (Kontrollgruppe)

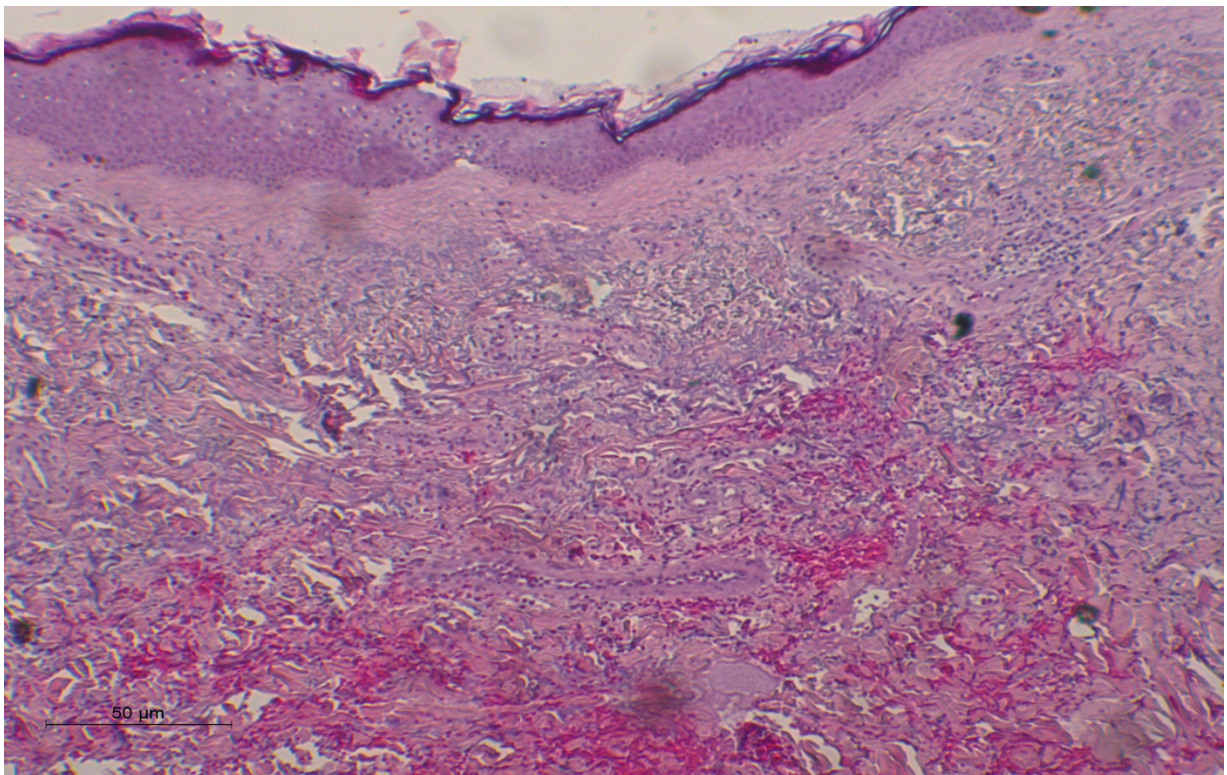




Gesundes Individuum Nr. 5 (Kontrollgruppe)



Gesundes Individuum Nr. 6 (Kontrollgruppe)



## Danksagung

Ganz herzlich bedanke ich mich bei meinem Doktorvater für die Vergabe dieser Dissertation über ein äußerst interessantes Thema, die freundliche Betreuung und für seine Unterstützung.

Ferner möchte ich mich bei [REDACTED] aus dem histologischen Labor der Dermatologie der Universitätsmedizin Mainz für ihre freundliche Betreuung und die investierte Zeit beim Erstellen der histologischen Schnitte und der Antikörperfärbungen bedanken.

Vielen Dank an meine Eltern und meine Familie, die mich immer liebevoll unterstützt haben. Ohne ihren jahrelangen Rückhalt wäre das Erreichen meiner Ziele nicht möglich gewesen.



# Lebenslauf