

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

**Immunhistochemische Analyse  
der erosiven pustulösen Dermatose der Kopfhaut**

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

Vorgelegt von

Lina Afghanyar  
aus Kabul, Afghanistan

Mainz, 2023

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. U. Föstermann

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion:

Widmung

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	I
Tabellenverzeichnis .....	II
Abbildungsverzeichnis .....	III
1 Einleitung .....	1
1.1 Ziel der Dissertation .....	2
2 Literaturdiskussion .....	3
2.2 Historisch .....	3
2.3 Epidemiologie .....	3
2.4 Komorbiditäten .....	3
2.5 Ätiologie .....	4
2.6 Manifestation .....	4
2.7 Pathogenese .....	5
2.8 Genetik .....	5
2.9 Klinisches Bild .....	6
2.10 Histologie .....	7
2.11 Differentialdiagnosen .....	10
2.12 Diagnostik .....	11
2.13 Therapie .....	12
Externe Therapie/ Topisch .....	12
Interne Therapie .....	12
Systemisch .....	12
2.14 Verlauf/ Prognose .....	13
3 Material und Methoden .....	14
3.1 Herstellung der Paraffinschnitte .....	14
3.2 Immunhistochemische Färbungen .....	14
3.2.1 <i>Material</i> .....	14
3.3 Auswertung .....	16
4.5.2.2 Methoden .....	17
4.1 Patientengruppe .....	17
4.2 Probeentnahme .....	17
4.3 Herstellung der Paraffinschnitte .....	18
4.4 Immunhistochemische Verfahren .....	18
4.4.1 Antikörperproduktion .....	18
4.4.2 Polymerkonjugat-Methode .....	19
4.5.2.2 Färbeverfahren .....	22
4.4.3.1 Deparaffinierung .....	22
4.4.3.2 Antigendemaskierung .....	22
4.4.3.3 Färbeprotokoll gemäß den Laborrichtlinien der Hautklinik und Histologie der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz .....	24
5. Analyse der Biopsien .....	25

.5.1. Bilddokumentation.....	25
.5.2. Bildanalyse.....	25
4.5.2.1    Bildbearbeitung mit dem ImageJ Plugin- IHC Profiler.....	26
4.5.2.2    Analyse mit ImageJ im Detail .....	26
5. Ergebnisse.....	27
5.1. Übersicht .....	27
5.1    Histologische Schnitte .....	28
5.1.1    Patient 1 .....	28
5.1.2    Patient 2 .....	29
5.1.3    Patient 3 .....	30
5.1.4    Patient 4 .....	31
5.1.5    Patient 5 .....	32
5.1.6    Patient 6 .....	33
5.1.7    Patient 7 .....	34
5.1.8    Patient 8 .....	35
5.1.9    Patient 9 .....	36
5.1.10    Patient 10 .....	37
5.1.11    Patient 11 .....	38
5.1.12    Patient 1 .....	39
5.1.13    Patient 2 .....	40
5.1.14    Patient 3 .....	41
5.1.15    Patient 4 .....	42
5.1.16    Patient 5 .....	43
5.1.17    Patient 6 (Kontrollgruppe).....	44
5.2    Antikörperauszählung .....	45
5.2.1    Absolute Antikörperauswahl der EPDK .....	45
5.2.2    Absolute Antikörperauswahl der Kontrollgruppe mit normaler Haut.....	46
5.2.3    Absolute Antikörperauswahl der EPDK und Kontrollgruppe.....	47
5.2.4    T-Test - Unterschiede zwischen EPDK und Kontrollgruppe.....	48
5.2.5    Heat- Map der Antikörperauszählung .....	49
6. Diskussion.....	50
6.1    Zusammenfassung der Ergebnisse .....	50
6.2    Diskussionen von Material/ Methoden .....	52
6.3    Diskussion der Ergebnisse .....	55
7. Zusammenfassung.....	60
8. Anhang histologische Übersichtsbilder; HE-Färbung.....	63
8.1    Patienten mit erosiver pustulöser Dermatitis .....	63
8.1.1    Patient 1 .....	63
8.1.2    Patient 2 .....	63
8.1.3    Patient 3 .....	64
8.1.4    Patient 4 .....	64

8.1.5	Patient 5 .....	64
8.1.6	Patient 6 .....	65
8.1.7	Patient 7 .....	65
8.1.8	Patient 8 .....	65
8.1.9	Patient 9 .....	66
8.1.10	Patient 10 .....	66
8.1.11	Patient 11 .....	66
8.2	Patienten mit normaler Haut .....	67
8.2.1	Patient 1 .....	67
8.2.2	Patient 2 .....	67
8.2.3	Patient 3 .....	67
8.2.4	Patient 4 .....	68
8.2.5	Patient 5 .....	68
10.	Tabellarischer Lebenslauf- <i>Curriculum Vitae</i> .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
11.	Eidesstattliche Erklärung .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
12.	Danksagung .....	<b>Fehler! Textmarke nicht definiert.</b>
13.	Literaturverzeichnis .....	69

## **Abkürzungsverzeichnis**

erosive pustulöse Dermatose der Kopfhaut (EPDK)

photodynamische Therapie (PDT)

Diaminobenzidin (DAB)

dest. = Destillata, Destilliertes Wasser

EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure

Fa.= Firma

HCL= Chlorwasserstoff

HLA =Human Leukocyte Antigen

IL Interleukin

MHC Major Histocompatibility Complex min Minute ml Milliliter

Sek.= Sekunde

SKALP= Skin-derived antileukoprotease, bekannt als Elafin

Th =T-Helferzellen

TNF= Tumor Nekrose Faktor

Tris =Tris(hydroxymethyl)aminomethane

CD =Cluster of differentiation

LPS = Lipopolysacchiride

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Analyse der Antikörper.....	27
Tabelle 2: T-Test für EPDK und Kontrollgruppe.....	48
Tabelle 3: Heat -Map der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit EPDK, Fehlerindikator: Standardabweichung .....	49

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Klinisches Bild 1	Abbildung 2 Klinisches Bild 2 .....	6
Abbildung 3 Klinisches Bild 3	Abbildung 4 6	KlinischesBild 6
Abbildung 5 Klinisches Bild 5	Abbildung 6 Klinisches Bild 6 .....	6
Abbildung 7 Überblick über die Histopathologie der EPDK in den verschiedenen Stadien der Erkrankung. (14).....		9
Abbildung 8: Polymerkonjugat-Methode: Indirekter Nachweis eines Antikörpers (22).....		20
Abbildung 9: Herstellung monoklonaler Antikörper durch Hybridom- Technik (23).....		21
Abbildung 10: Beispiel von fünf Verschiedenen Zonen bei 20x Vergrößerung.....		25
Abbildung 11: : Beispiel einer Farbenbearbeitung mit ImageJ – IHC-Profiler.....		26
Abbildung 12: Beispiel einer Bildanalyse mit ImageJ.....		26
Abbildung 13: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		28
Abbildung 14: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit EPDK; Fehlerindikator: Standardfehler .....		29
Abbildung 15: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		30
Abbildung 16: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit EPD; Fehlerindikator: Standardfehler .....		31
Abbildung 17: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		32
Abbildung 18: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 6 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		33
Abbildung 19: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 7 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		34
Abbildung 20: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 8 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		35
Abbildung 21: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 9 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		36
Abbildung 22: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 10 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		37
Abbildung 23: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 11 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler .....		38
Abbildung 24: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		39
Abbildung 25: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		40
Abbildung 26: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		41
Abbildung 27: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		42
Abbildung 28: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		43
Abbildung 29: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Kröber mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		44
Abbildung 30: absolute Anzahl der Antikörperverteilung bei EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler.....		45
Abbildung 31: absolute Anzahl der Antikörperverteilung bei Patienten mit normaler Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		46
Abbildung 32: absolute Anzahl der Antikörperverteilung bei der Kontrollgruppe, Fehlerindikator: Standardfehler .....		46
Abbildung 33: absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit EPDK und der Kontrollgruppe mit normaler Haut, Fehlerindikator: Standardfehler .....		47



## 1 Einleitung

Erosive Hautveränderungen an der Kopfhaut von Patienten sind ein zunehmend häufiges Krankheitsbild. Zu den möglichen Ursachen und Differentialdiagnosen (1) können zahlreiche Krankheitsbilder gehören wie z.B. Infektionen, spinozelluläre Karzinome, Pemphigoide (2), Lupus erythematodes und die erosive pustulöse Dermatose der Kopfhaut (EPDK).

Die Hautveränderungen der EPDK sind erosive Veränderungen, die an der kahlen Kopfhaut lokalisiert sind und bei denen sich histologisch kein Anhalt für Malignität zeigt (3).

Sowohl die Therapie als auch die diagnostische Einordnung dieser Hautveränderung stellt aktuell eine große Herausforderung dar.

Die Erkrankung wurde zuerst im Jahre 1977 beziehungsweise 1979 von Burton (4) und Pye (5) beschrieben.

Die erosive pustulöse Dermatose der Kopfhaut (EPDK) ist eine seltene chronische Entzündung der Kopfhaut, deren Ätiologie ungeklärt ist.(2) Anamnestisch wird häufig eine vorausgegangene Operation an dieser Stelle angegeben.(5) Die EPDK neigt dazu, spontan die kahle Kopfhaut der Patienten zu befallen.(2) In der Regel betrifft diese Erkrankung vor allem ältere weibliche(6) Patienten (>70 Jahre), wobei man von keiner sicheren Geschlechtspräferenz ausgehen kann.(6) Das klinische Bild dieser Erkrankung besteht in der Entwicklung schmerzhafter nicht- folliculärer Pusteln, flacher Erosionen und Verkrustungen auf der atrophischen Kopfhaut.(6) Diese Pusteln können eventuell zu einer narbigen Alopezie führen.(6) Die Erkrankung zeigt durch Erosionen und Ulzerationen häufig eine verzögerte Heilungstendenz, teilweise sogar einen therapierefraktären Verlauf. Die Erkrankung verläuft mit intermittierender Besserung und anschließender Narbenbildung. (1) Andere Erkrankungen/Diagnosen wie eine Koronare Herzerkrankung, ein cerebraler Insult, ein arterieller Hypertonus oder Diabetes mellitus und ernste Krebserkrankungen wurden ebenfalls häufig als Komorbidität diagnostiziert.(2) Histopathologie und direkte Immunfluoreszenz sind bei der Diagnosestellung von besonderer Bedeutung, da die EPDK ein Basalzellkarzinom oder ein spinozelluläres Karzinom imitieren kann. (2) Da die Erkrankung von vielen Differenzialdiagnosen abgegrenzt werden muss wie z.B. der Follikulitis decalvans, sollten großzügige Probenbiopsien durchgeführt werden. Für die EPDK gibt es derzeit keine allgemeinen Therapieempfehlungen. Die meisten Patienten zeigen trotz antiinflammatorischer Lokalthherapie einen schwankenden klinischen Verlauf. Als mögliche Therapieoptionen werden orale und topische Steroide (6), Tacrolimus (7), eine photodynamische Therapie (PDT) (8) sowie einfache Wundverbände mit antiseptischen Maßnahmen aufgeführt. Die Erkrankung sollte sowohl Klinikern wie auch Dermatopathologen bekannt sein, um sie korrekt einordnen und therapieren zu können.

In dieser Dissertation besprechen wir das Krankheitsbild der EPDK und präsentieren unsere eigenen klinischen und histopathologische Erfahrung mit dieser Erkrankung, da bisher wenig diagnostiziert wurde. Außerdem wird ein kleiner Ausblick in die Zukunft gegeben, inwieweit man diese Erkrankung therapeutisch beeinflussen kann.

Es wird eine Immunhistochemische-Analyse der EPDK mit acht verschiedenen Antikörpern durchgeführt. Nach immunhistochemischer Färbung der Antikörper wurde die Häufigkeit der Antikörper in den verschiedenen Patientengruppen nachgewiesen und somit die Expression der verschiedenen Antikörper bei EPDK-Patienten und gesunden Patienten verglichen. Des Weiteren wird untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der höchsten Expression der Antikörper mit der höchsten Wirkung nach aktueller Studienlage besteht. Dafür wurden Hautbiopsien von siebzehn Patienten entnommen, wobei die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt wurden. Die erste Gruppe besteht aus elf Patienten mit erosiver pustulöser Dermatose der Kopfhaut. Bei dieser Gruppe wurden Hautbiopsien aus der betroffenen Haut entnommen. Bei der zweiten Gruppe handelt es sich um sechs Patienten, die nicht erkrankt sind und eine normale Haut aufweisen.

Die Erkenntnis über die beteiligten Antikörper soll Rückschlüsse im Zusammenhang mit der Diagnostik und der Entwicklung von Therapiemöglichkeiten liefern. Außerdem kann die unterschiedliche Ausprägung der verschiedenen Antikörper dazu beitragen, deren Rolle im Pathomechanismus der erosiven pustulösen Dermatose der Kopfhaut besser zu verstehen. Dies könnte die Möglichkeit eröffnen, langfristig genauer und gezielter im Immunsystem einzugreifen.

## 1.1 Ziel der Dissertation

- das Krankheitsbild der erosiv pustulösen Dermatose (EPDK) zu präsentieren
- eigene klinische und histopathologische Erfahrungen von 17 Patienten zu vergleichen
- die Häufigkeit und das Verhältnis der vorgegebenen Antikörper bei der erosiven pustulösen Dermatose der Kopfhaut im Vergleich zur normalen Haut darzustellen
- eine First Line Therapie Empfehlung zu geben

## 2 Literaturdiskussion

### 2.1 Definition

Die EPDK ist eine seltene, ätiologisch ungeklärte, chronische, nicht mikrobiell induzierte, nicht-follikuläre Hauterkrankung der lichtgeschädigten Kopfhaut und /oder der Beine älterer Menschen mit konsekutiver, flächiger narbiger Alopezie.(6-10) Sie ist eine entzündliche Erkrankung mit Pusteln, (11)Erosionen und Krustenbildung auf der Kopfhaut, die zu einer narbigen Alopezie führt.(9, 10, 12, 13) Die Alopezie tritt sekundär durch die chronische Entzündung mit konsekutiver Zerstörung der Haarfollikel, insbesondere der follikulären Stammzellen auf.(14)

### 2.2 Historisch

Die Erkrankung wurde erstmals 1977 von Burton (10) und dann 1979 von Pye et al. beschrieben.(5, 10, 13, 15) (4) Insgesamt sind seitdem ca. 150 Fälle publiziert worden, wobei die meisten davon die Kopfhaut, deutlich weniger das Bein und nur Einzelfälle beide Bereiche gleichzeitig oder auch andere Lokalisationen betreffen.(8)

### 2.3 Epidemiologie

Diese bislang relativ selten beschriebene Erkrankung betrifft überwiegend Frauen im Alter zwischen 60 und 90 Jahren.(7, 16) Die EPD tritt typischerweise in höherem Alter mit einer weiblichen Prädominanz von ca. 2:1 auf.(8) Die EPDK wurde in einer Serie von sechs älteren weiblichen Patienten beschrieben. In den darauffolgenden Jahren wurde die Erkrankung auch bei Männern dokumentiert.(14)

### 2.4 Komorbiditäten

Die Koronare Herzerkrankung, der cerebrale Insult , der arterielle Hypertonus, der Diabetes mellitus und ernste Krebserkrankungen wurden häufig als Komorbidität angetroffen.(14)

## 2.5 Ätiologie

Die Ätiologie ist noch ungeklärt.(2)(17)

Auslösende Faktoren sind lokale mechanische und chemische Traumata oder chronische Sonnenexpositionen. (10, 15, 18)

Es gibt keine mikrobielle Komponente.

Vereinzelt wurde das Auftreten nach Herpes Zoster, Hauttransplantationen oder anderen chirurgischen Eingriffen beschrieben. (6)

Die Erkrankung tritt nach lokalen Verletzungen wie Verbrennungen, Kryotherapie, Strahlentherapie, photodynamischer Therapie, Hauttransplantationen und Haartransplantationen sowie nach der Behandlung mit topischen Medikamenten wie Retinoiden, Imiquimod und 5-Fluorouracil auf.(9, 13)

Es wird aber auch von Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis, Autoimmunhepatitis, Hashimoto-Thyreoiditis und Takayasu-Aortitis als auslösenden Faktoren berichtet.(9)

## 2.6 Manifestation

Die Erkrankung betrifft meist ältere Personen (Durchschnittsalter: 70 Jahre).(15)

Es gibt keine sichere Geschlechtspräferenz, (15) jedoch tritt die EPDK typischerweise in höherem Alter mit einer weiblichen Prädominanz von ca. 2:1 auf.(8)

Die Erkrankung neigt dazu, in aktinisch geschädigter Haut aufzutreten.

Typischerweise tritt die EPDK an Beinen mit Veneninsuffizienz oder an atrophischer Haut auf, die durch aktinische Schäden auf der Kopfhaut verursacht wurden.(17)

## 2.7 Pathogenese

Die Pathogenese der chronischen erosiven Kopfhaut ist nicht gut verstanden und nicht vollständig geklärt, aber neben anderen Faktoren werden epidermale Atrophien jeglicher Art, ein Mangel an Stammzellen des Haarwulstes, Autoimmunmechanismen und Fremdkörperreaktionen auf abgebrochene Haare in Betracht gezogen.(19)

Eine gestörte Hautbarriere, chronische Entzündungen, Sekundärinfektionen, übermäßige Angiogenese, gestörte Bildung, Erhaltung und Differenzierung von Basalzellen und die Hochregulierung von Matrixmetalloproteinasen wurden als mögliche pathogenetische Faktoren vorgeschlagen.(18)

Die Pathologie bei der EDKP beschreibt eine massive Fibrose der Dermis mit erheblicher Reduzierung der Haarfollikeldichte und Fehlen von Talgdrüsen mit einem neutrophilen Infiltrat um die Haarfollikel auf Höhe des Isthmus.

Prädisponierende Faktoren wie kürzliche oder vergangene lokale Traumata, Hauttransplantationen und übermäßige Sonneneinstrahlung auf der kahlen Kopfhaut wurden bei dieser Erkrankung berichtet. Darüber hinaus wurden Autoimmunerkrankungen im Zusammenhang mit der EPDK wie die rheumatoide Arthritis, die Hashimoto-Thyreoiditis, Autoimmunhepatiten und die Takayasu-Aortitis beschrieben, was die Möglichkeit einer häufigen immunologischen Dysfunktion bedeutet. Es wird angenommen, dass eine physische Schädigung der Haut die Produktion von Autoantikörpern gegen epidermale und dermale Strukturen mit einer sekundären Entzündungsreaktion induzieren kann. Darüber hinaus kann die EPDK-Reaktionsfähigkeit auf Steroide und entzündungshemmende Medikamente eine Autoimmunhypothese bestätigen.(19)

## 2.8 Genetik

Soweit festgestellt werden konnte ist eine familiäre Prädisposition für eine EPDK in der Literatur bisher nicht dokumentiert worden. Da die EPDK jedoch bei älteren Menschen auftritt, dürfte es sehr schwierig sein, nach zwei oder mehr Jahrzehnten weitere Nachweise für familiäre Fälle zu erbringen.(20)

## 2.9 Klinisches Bild

Das klinische Bild dieser Erkrankung sind herdförmige, erythematöse, haarlose Areale am Kapillitium mit zentraler Atrophie und meist randständigen, follikulär gebundenen Papeln und Pusteln mit starkem Juckreiz und ohne Ansprechen auf antibiotische und -mykotische Therapie.(6) Die Hautveränderungen am Kapillitium verlaufen chronisch und schubweise. Es treten flache Pusteln, Erosionen und Krusten auf. Die Pusteln sind nicht an die Haarfollikel gebunden. Die Veränderungen gehen in eine umschriebene vernarbende Alopezie über. Neuerdings wurde eine besondere Variante der erosiven pustulösen Dermatose der unteren Extremitäten beschrieben.(13, 15, 16)



Abbildung 1 Klinisches Bild 1



Abbildung 2 Klinisches Bild 2



Abbildung 3 Klinisches Bild 3



Abbildung 4 Klinisches Bild



Abbildung 5 Klinisches Bild 5



Abbildung 6 Klinisches Bild 6

Bilder mit freundlicher Genehmigung der Universitätsmedizin Mainz :Patienten der Hautklinik

## 2.10 Histologie

Die histologischen Befunde bei einer EPDK sind unspezifisch, zeigen aber typischerweise eine epidermale Atrophie, fokale Erosionen und ein gemischtes entzündliches Infiltrat in der oberen Dermis.(9)

Es sind oft hochsitzende, nicht folliculäre gebundene intraepidermale bis subkorneale Pusteln.(6) Zudem ist eine hyperplastische, teils erosive Epidermis mit subkornealer Pustulation festzustellen. In der Dermis zeigen sich lymphozytäre, neutrophilenreiche Infiltrate mit Zeichen einer leukozytoklastischen Vaskulitis. Im späteren Stadium kommt es zu einer Vernarbung mit Verlust der Haarfollikel. Die direkte Immunfluoreszenz ist negativ.(16)

Histologisch zeigt die EPDK je nach Krankheitsstadium unterschiedliche Befunde wie eine unspezifische Entzündungsreaktion mit atrophischer Epidermis und chronischer Entzündung, beginnend mit einer spongiotischen pustulösen oberflächlichen Reaktion im Frühstadium, gefolgt von einem gemischten entzündlichen Infiltrat aus Neutrophilen, Lymphozyten und Plasmazellen bis hin zu Riesenzellen in den späten Stadien.(21)(10)(18)

Die histologischen Merkmale bei der Untersuchung einer Biopsieprobe der Kopfhautläsionen sind nicht diagnostisch, bestehen aber aus perifollikulären und intrafollikulären neutrophilen und lymphoplasmatischen Infiltraten und "nackten" Haarschäften, die von granulomatösen Infiltraten und Bereichen mit narbiger Alopezie umgeben sind.(18) Also ein dermales Infiltrat von Neutrophilen und Lymphozyten mit Verlust der normalen Kollagenarchitektur, Vasodilatation und Angiogenese.(13)

Im Wesentlichen zeigt sich ein dichter dermaler Entzündungsprozess mit Kruste oder Erosion und späterer Vernarbung. Ein dermales Ödem mit Teleangiektasien kann ebenfalls vorkommen. Neben Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten werden häufig auch Plasmazellen im entzündlichen Infiltrat angetroffenen. Jedoch sind diese histopathologischen Befunde unspezifisch. Daher ist die klinisch-pathologische Korrelation entscheidend für die Diagnosestellung. (15)

Die Histologie ist meist unspezifisch und nicht hilfreich bei der Diagnosefindung, wichtig jedoch um DD auszuschließen.

Zusammengefasst :

- handelt es sich um intraepitheliale neutrophile Infiltrate bzw. subcorneale Pusteln (nicht follikulär gebunden)
- Atrophie und Erosionen
- follikuläre Destruktion
- ggf. polymorphe dermale Entzündungsinfiltrate
- negative direkte Immunfluoreszenz
- eine minimale leukozytoklastische Vaskulitis kann sich darstellen (10)

Die histologische Übersichtsaufnahme einer aktiven Läsion zeigt einen entzündlichen Prozess der gesamten Dermis (a). Man erkennt eine diskrete Parakeratose, Spongiose und Lymphozyten innerhalb der Epidermis. Die obere und mittlere Dermis wird von einem dichten und diffusen entzündlichen Infiltrat durchzogen, das sich aus Lymphozyten, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und reichlich Plasmazellen zusammensetzt (b). In tieferen Regionen zeigt sich eine Fibrose mit drahtförmigen Bündeln kollagenen Bindegewebes (c). In einer weiteren Biopsie vom Rande einer aktiven Läsion sind auffallend viele eosinophile Granulozyten neben Lymphozyten und Plasmazellen (d). Das ist ein erosives, aktives Stadium der Erkrankung. Bei fehlender Epidermis imponiert in der oberen und mittleren Dermis ein Ödem begleitet von Teleangiektasien und einem spärlichen entzündlichen Infiltrat, das sich vorwiegend aus neutrophilen Granulozyten zusammensetzt (e). Alle Abbildungen zeigen eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung. Histopathologisch findet sich eine Kruste oder Erosion mit Granulationsgewebe-ähnlichen Veränderungen im Korium mit späterer Entstehung einer Narbe. (14)

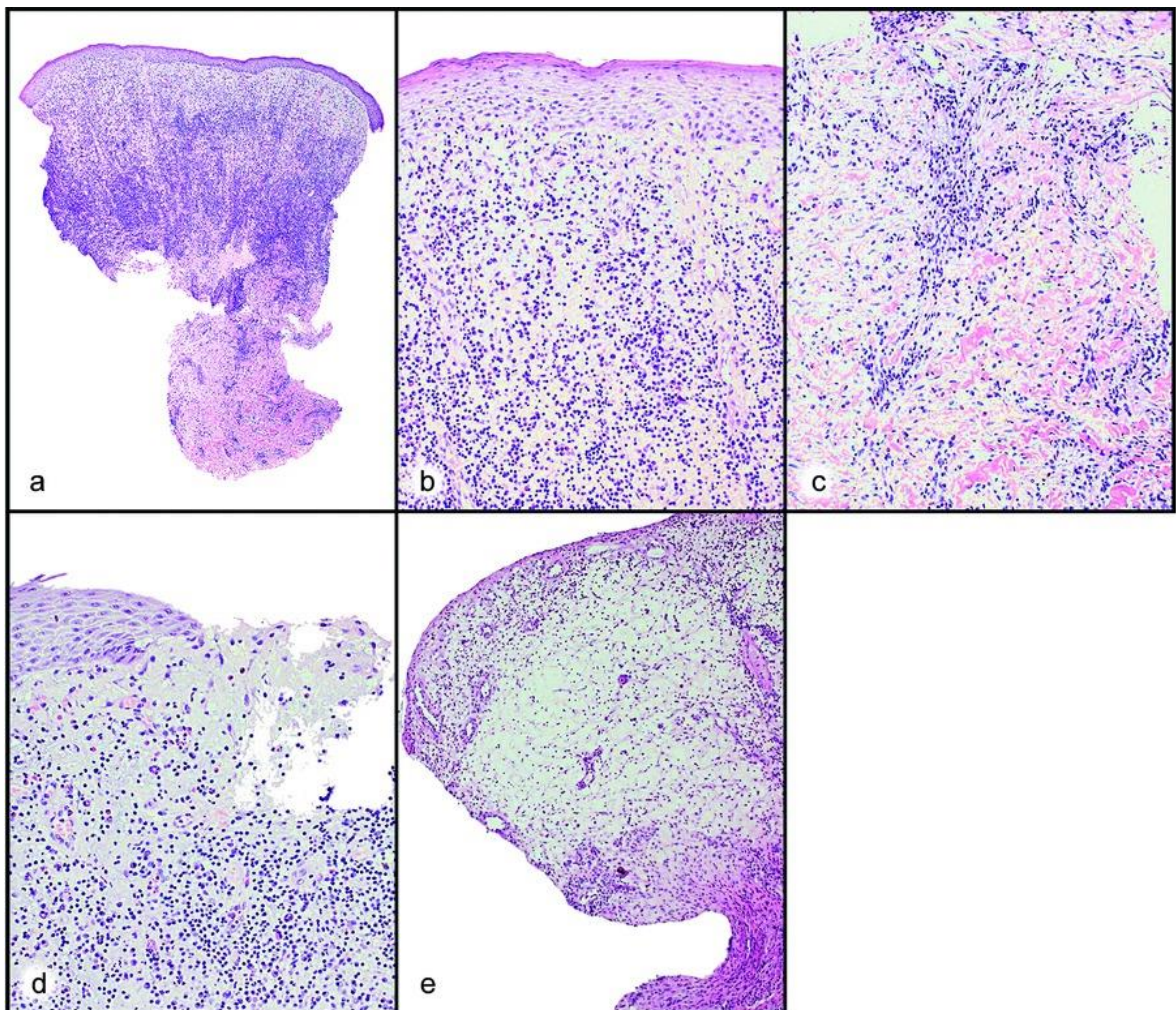


Abbildung 7 Überblick über die Histopathologie der EPDK in den verschiedenen Stadien der Erkrankung. (14)

## 2.11 Differentialdiagnosen

- impetiginisierte Kopfekzem häufigste Differenzialdiagnose
- chronisch-vegetierende Pyodermie
- Pyoderma gangraenosum,
- pustulöse Psoriasis
- subkorneale pustulöse Dermatose (Sneddon-Wilkinson)
- **Folliculitis decalvans**
- **Primär bakterielle Follikulitis** : follikulär gebundener Prozess; mikrobiologischer Nachweis von Bakterien
- **Psoriasis pustulosa generalisata**: Pustelbildungen stets auch außerhalb des Capillitiums
- **Tinea capitis superficialis**: bei Erwachsenen selten
- **Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens**
- **Sterile eosinophile Pustulose (Ofuji)**: disseminierte, stark juckende und gerötete Papeln und Plaques mit Entwicklung steriler (follikulärer) Pusteln. Konfluenz zu größeren Herden ist möglich; auch anuläre und polyzyklische Herde mit zentraler Regression und peripherer Progression können auftreten. Histologisch eosinophile Dermatitis. Häufig auch Hämatoeosinophilie. (6)
- irritierte solare Keratosen
- Plattenepithelkarzinome
- pustulöse Psoriasis
- narbiges Pemphigoid nach Brunsting-Perry
- Lupus erythematoses
- Pemphigus foliaceus
- Lichen planus

(8-10, 16)

## 2.12 Diagnostik

Die Diagnose der EPDK wird in der Regel durch den Ausschluss anderer Erkrankungen gestellt.(9)-12)

Laborchemisch sind bakteriologische und mykologische Untersuchungen des Pustelinhalts meist negativ, teilweise findet sich ein Nachweis von *Staphylococcus aureus*, das von vielen Autoren jedoch als Sekundärinfekt gedeutet wird.(17) Routinelaboruntersuchungen einschließlich der Autoantikörper waren mit Ausnahme leicht erhöhter Entzündungsmarker normal.(13)

Die Diagnose wird histopathologisch bestätigt.(15)

Eine Diagnostik über die, kürzlich berichtet wurde, die Dermoskopie (oder Trichoskopie). Sie ist ein nützliches Hilfsmittel für die Diagnose, da sie fehlende folliculäre Ostien mit ausgeprägter Hautatrophie zeigt und somit die dermalen Gefäße sichtbar macht, obwohl die Histologie für die endgültige Diagnose zwingend erforderlich ist.(10)

Das Vorhandensein von sichtbaren Haarzwiebeln bei der EPDK wurde in der Literatur noch nie beschrieben und scheint einzigartig und diagnostisch für diese Krankheit zu sein. Die Trichoskopie kann bei der Diagnose der EPDK hilfreich sein, da sie atrophische und eine dünne Kopfhaut, das Fehlen von Follikelostien, offensichtliche oberflächliche Blutgefäße und vor allem sichtbare Haarfollikelzwiebeln zeigt.(15)

## 2.13 Therapie

Es gibt bisher keine publizierten Fallberichte über eine klare Präferenz für die Therapiewahl noch für die Therapiedauer.(8)

Nach 6 Wochen wurde oft eine Abheilung mit verbleibender narbiger Alopezie festgestellt.(12)

### Externe Therapie/ Topisch

Eine Therapiemöglichkeit ist das Ablösen der Krusten mit wässriger Chinolinol-Lösung und anschließender Behandlung mit antientzündliche und abtrocknende Externa wie Glukokortikoid-haltigen Tinkturen sowie feuchten Umschlägen mit antiseptischen Zusätzen wie Kaliumpermanganat (hellrosa) oder Chinosol.

Ggf. Versuch mit Tacrolimus (Protopic 0,1%) oder Calcipotriol (Psorcutan).

Topische Antibiotika haben keinerlei Wirkung. Bei Sekundärinfektion sollte mit lokalen Desinfizienzien gearbeitet werden.

Zu den berichteten Behandlungen für eine EPDK gehören topische hochwirksame Kortikosteroide(18), Retinoide, Calcipotriol, Dapson und topisches Tacrolimus. (18)

### Interne Therapie

Zusätzlich zur externen Behandlung orale Zinktherapie. Bei stark entzündlicher Ausprägung können kurzfristig Glukokortikoide intern wie Prednison (z.B. Decortin) 40-80 mg/Tag eingesetzt werden; zügige Dosisreduktion.

### Systemisch

Es gibt keine befriedigende systemische Therapie bei dieser Erkrankung. Antibiotika bringen nur wenig Verbesserung. Bei der Behandlung mit Glukokortikoiden zeigt sich zwar eine prompte Besserung, die aber nach Absetzen der Medikation sofort zum Wiederaufflammen der Erkrankung führt. (16) Die photodynamische Therapie ist bei einigen Patienten wirksam, hat aber bei anderen die Krankheit ausgelöst.(9)

In der Regel werden bei der Therapiewahl erstmal Maßnahmen zur Vermeidung von Superinfektionen und die Verwendung von milden Emollienzien empfohlen, wobei Mikroorganismen wahrscheinlich keine wichtigen pathogenen Faktoren sind.

Obwohl häufig Antibiotika eingesetzt werden, profitieren die Patienten in der Regel nicht von einer Antibiotikabehandlung, es sei denn, es liegt eine offensichtliche Infektion vor.

Niedrigpotente topische Steroide wurden gelegentlich ohne nennenswerten Nutzen eingesetzt. Chirurgische Eingriffe scheinen zu einer Verschlimmerung zu führen und werden generell abgelehnt. (18)

## **2.14 Verlauf/ Prognose**

Der klinische Verlauf ist verzögert mit intermittierenden Besserungen und einer Tendenz zur Vernarbung und konsekutiver Alopezie.(15) Die Erkrankung verläuft chronisch. Häufig kleben die Haare an getrocknetem Exsudat zusammen, was vom Patienten als schmerzhaft und kosmetisch störend empfunden wird. Bei einigen Patienten entwickelte sich später ein spinozelluläres Karzinom.(16) Bei manchen Patienten tritt auch eine Spontanheilung auf.

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Herstellung der Paraffinschnitte**

- Tissue-Tek III Vakuum-Infiltrationsprozessor Vogel Gießen
- ROTI-Histofix 4,5% säurefrei mit pH7 phosphatpuffat Fa. Roth Karlsruhe
- Rotationsmikrotom MIKRTOM LEICA RM 2245
- Feather Microtome Blade A35
- SuperFrost® Plus Objektträger; Fa. Menzel, Braunschweig

#### **3.2 Immunhistochemische Färbungen**

##### **3.2.1 *Material***

- Deckgläser Fa. Menzel, Braunschweig
- Alkohol (1): 70 % Alkohopharm 70 Brüggemann Alcohol, Heilbronn;
- Alkohol (2): 96 % Ethanol vergällt Martin & Werner Mundo oHG, Mainz Kostheim
- Alkohol (3): 100% Isopropylalkohol Hedinger, Stuttgart
- Xylol AppliChem, Darmstadt
- Citrat-Puffer zur Dampfgererbehandlung von Paraffinschnitten: Fa Medac
- PMB1-250
- Tris-Pufferstammlösung: EnVision Flex Dako. Tris-Puffer-(Spülung): EnVisio
- Flex Dako-Spülpuffer
- Tris-Puffer-(Spülung): 1:10 Verdünnung der Stammlösung mit Aqua dest
- EDTA- Puffer für Dampfgererbehandlung von Paraffinschnitten (pH 8,0)
- Citrat-Puffer für Dampfgererbehandlung von Paraffinschnitten (pH 6,0)
- Antikörperverdünnungspuffer: Dako S2022 Innovative Diagnostik-System, Hamburg
- Detektionskit: Dako Real TM EnVision Detection System-K5007, Peroxidase/ DAB+, Rabbit/Mouse
  - Flasche A: Dako Real TM DAB+ Chromogen
  - Flasche B: Dako Real TM Substrate Buffer
  - Flasche C: Dako Real TM EnVision TM/HRP, Rabbit/Mouse Sekundärer (gebrauchsfertiger) Antikörper
- Gegenfärbung: Saures Hämalaun nach Meyer
- Dampfgerer (Fa. Braun)
- Sonstiges: Pipetten, Spritzen, Eppendorfgefäße, Färbeküvetten

### **3.2.1.1 Antikörper**

#### **CD 1A**

- Verdünnung 1:100
- Antigendemaskierung mit EDTA
- Firma Dako Deutschland GmH Agilent Technologies

#### **CD 3**

- Verdünnung 1:100
- Antigendemaskierung mit EDTA
- Firma: Leica Biosystems Nussloch GmbH

#### **CD 4**

- Verdünnung 1:50
- Antigendemaskierung mit EDTA
- Firma CellMarque (Sigma-Aldrich Co.LLC)

#### **CD 8**

- Verdünnung 1 :100
- Antigendemaskierung mit EDTA
- Firma : Dako Deutschland GmbH Aglient Technologies

#### **CD 14**

- Monoclonal rabbit antibody
- Cell Marque ; Produkt Code 114R-14
- Verdünnung : Gebrauchsfertig
- Vorbehandlung : EDTA -Puffer im Damfgarer
- Monozyten/Makrophagen
- Anti Human CD1

#### **CD 207**

- Verdünnung 1:100
- Antigendemaskierung mit EDTA
- Firma: Leica Biosystems Nussloch GmbH

**IL17(A)**

- Verdünnung 1:500
- Antigendemaskierung mit Citrat
- Firma: Bioss Antibodies

**IL36-Gamma**

- Polyklonat Rabbit Antibody
- Antibodies-online Abin 2856607
- Verdünnung 1:250
- Vorbehandlung: Citrat

**3.3 Auswertung**

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

## **4.5.2.2 Methoden**

### **4.1 Patientengruppe**

Es werden insgesamt 17 Patienten in dieser immunhistochemischen Analyse mit einbezogen, die in den Jahren 2015 bis 2018 in der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz behandelt wurden.

Diese werden in zwei Gruppen eingeteilt:

Die erste Gruppe besteht aus 11 Patienten mit einer erosiven pustulösen Dermatose des Kapillitiums.

Die zweite Gruppe dient als Kontrollgruppe und umfasst sechs Patienten, die nicht erkrankt sind.

### **4.2 Probeentnahme**

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

### 4.3 Herstellung der Paraffinschnitte

1. Fixierung der Biopsien in Formalin
2. Entwässerung durch alkoholische Reihen mittels Tissue-Tek®Vakuum-Infiltrationsprozessor
3. Einbettung im Tissue-Tek® Tissue Embedding Console System
4. Kühlung der Blöcke
5. Zuschnitt der Biopsien mittels Mikrotom Leica 2245 (Schnittbreite: 2-2.5 Mikrometer)
6. Wasserbad GFL 1052 zum Strecken
7. Aufbringen der Schnitte auf adhäsive Objektträger (Super Frost Plus)
8. Auflegen der Objektträger auf Wärmeplatte zur Vermeidung von Schrumpfarfakten
9. Trocknen der Schnitte (Brutschrank; 60 Minuten, 60 Grad Celsius)

### 4.4 Immunhistochemische Verfahren

#### 4.4.1 Antikörperproduktion

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

**Monoklonale Antikörper:** Monoklonale Antikörper sind das Produkt eines einzelnen Klons von Plasmazellen und reagieren nur mit einem bestimmten Epitop des Antigens. Sie haben in der Immunhistologie bestimmte Vorteile gegenüber polyklonalen Antikörpern. Dazu gehören folgende Aspekte: hohe Homogenität, wesentlich empfindlicher gegenüber jeglichen Veränderungen, das Fehlen unspezifischer Antikörper und geringe chargenabhängigen Qualitätsschwankungen. Zur Herstellung monoklonaler Antikörper werden hauptsächlich Mäuse herangezogen.

**Polyklonale Antikörper:** Polyklonale Antikörper werden von verschiedenen Zellen gebildet und reagieren mit verschiedenen Epitopen des Antigens. Sie sind folglich immunchemisch verschieden. Zur Herstellung dieser Antikörper werden hauptsächlich Kaninchen herangezogen.

#### 4.4.2 Polymerkonjugat-Methode

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

Schritt 1: Inkubation des zu untersuchenden Gewebes mit dem Primärantikörper.

Dadurch kommt es zur Bildung des Antigen-Primär-Antikörperkomplexes.

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

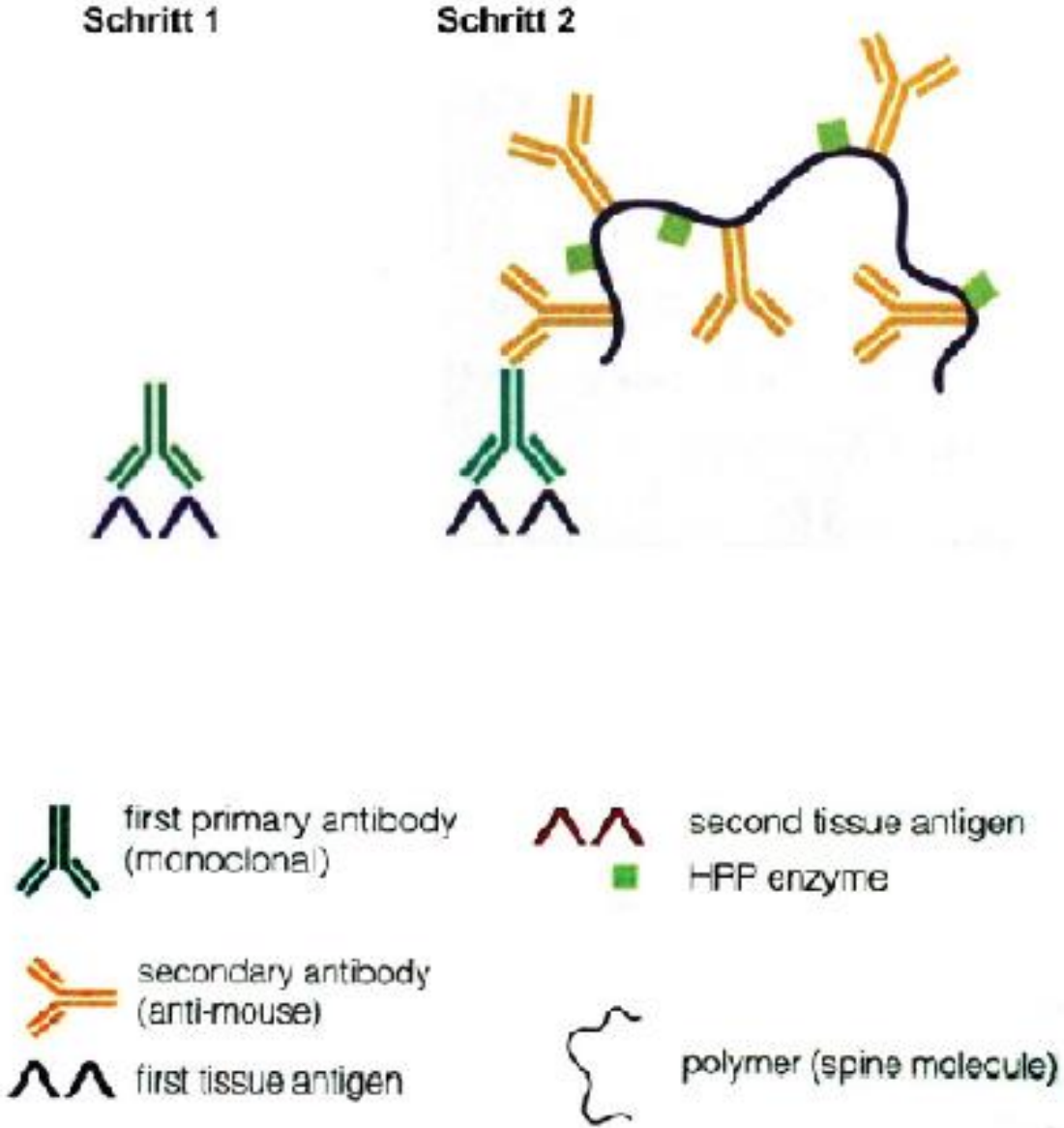
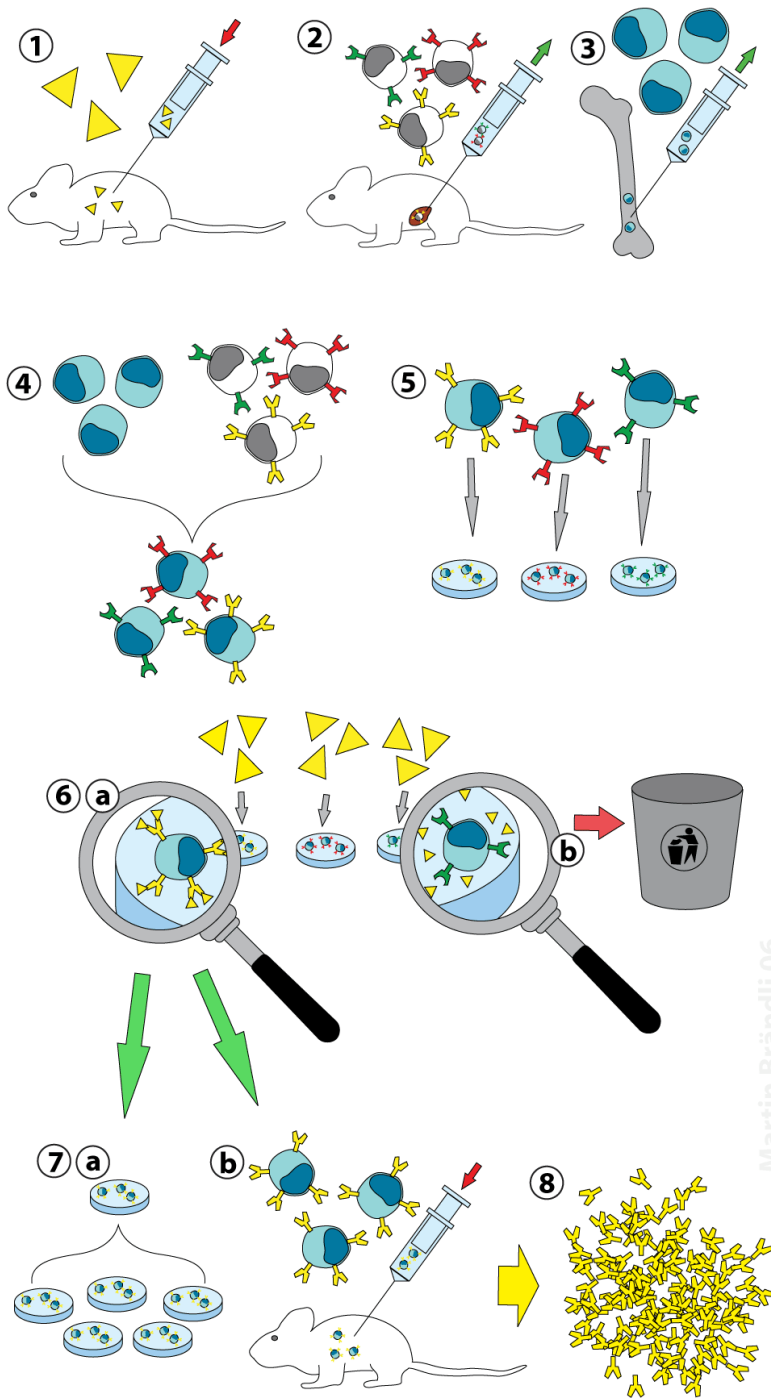


Abbildung 8: Polymerkonjugat-Methode: Indirekter Nachweis eines Antikörpers (22)

# Hybridom - Technik



Martin Brändli 06

Abbildung 9: Herstellung monoklonaler Antikörper durch Hybridom- Technik (23)

#### 4.5.2.2 Färbeverfahren

##### 4.4.3.1 Deparaffinierung

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

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

##### 4.4.3.2 Antigendemaskierung

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

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

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

Behandlung mit Citrat:

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

Behandlung mit EDTA:

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

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

- Entparaffinierung
- Antigendemaskierung
- Tris-Puffer (3 min)
- Ermittlung des Verhältnisses von Primärantikörper und Antikörperverdünnungspuffer
- Inkubation des Primärantikörpers mit einem Antikörperverdünnungspuffer der Firma DAKO (60 min)
- Spülen mit Tris-Puffer (2x4 min)
- Inkubation mit Sekundärantikörper (30 min): Dako Real EnVision -K5007 TM/ HRP, Rabbit/Mouse Flasche A
- Spülen mit Tris Puffer (2x4 min)
- Vorbereiten der DAB + Chromogenlösung: Flasche B (Dako REAL TM Substrate Buffer; 1 ml) + Flasche C (Dako Real TM DAB+Chromogen 1 Tropfen)
- Färbung mit DAB-Chromogen-Lösung (7 min)
- Spülen mit Leitungswasser (5 min)
- Spülen mit Aqua dest. (30 sek.)
- Hämatoxylin-Gegenfärbung (30 sek)
- Spülen mit Leitungswasser (10 min) • Spülen mit Aqua dest. (30 sek.)
- Schwenken in aufsteigender Alkoholreihe zur Entwässerung (je 10 Sek.)
- 1x 96% iger Alkohol
- 2x 100% iger Alkohol
- Xylol
- Eindecken mit Eukitt Sigma 03989 – 500 ml

## **.5. Analyse der Biopsien**

Zur Bearbeitung und Erfassung der Antikörper der Schnitte wurde das Programm ImageJ verwendet.

### **.5.1. Bilddokumentation**

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

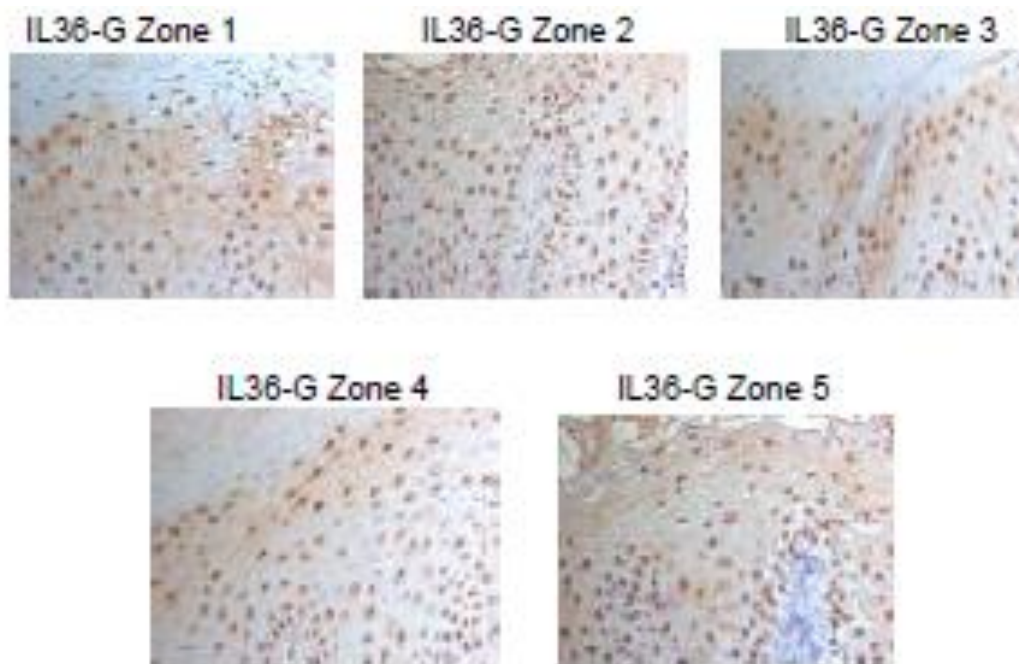


Abbildung 10: Beispiel von fünf verschiedenen Zonen bei 20x Vergrößerung

### **.5.2. Bildanalyse**

Die Analyse der Biopsien erfolgte in zwei Schritten:

1. Vorbereitung der Bilder mit dem ImageJ Plugin – IHC-Profiler ([https:// sourceforge.net/projects/ihcprofiler/](https://sourceforge.net/projects/ihcprofiler/))
2. Analyse der Bilder mit ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>)

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

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

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

Bearbeitungsprotokoll:

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

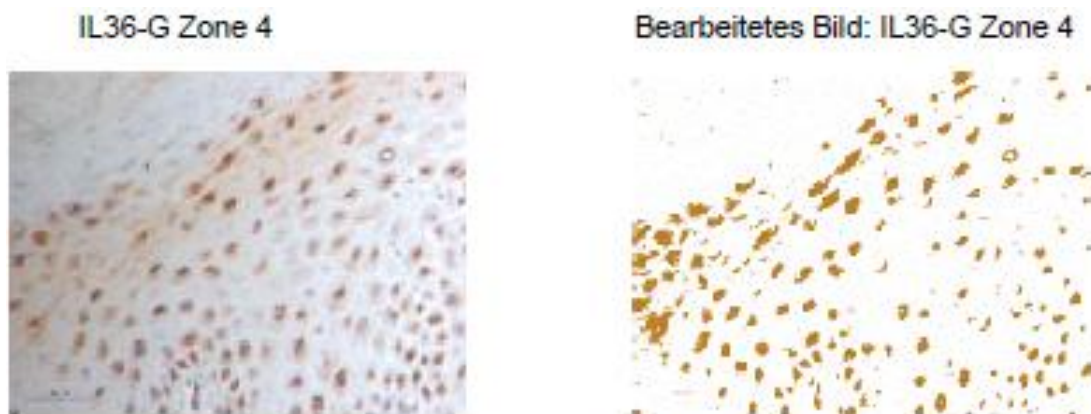


Abbildung 11: Beispiel einer Farbenbearbeitung mit ImageJ – IHC-Profiler

#### 4.5.2.2 Analyse mit ImageJ im Detail

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

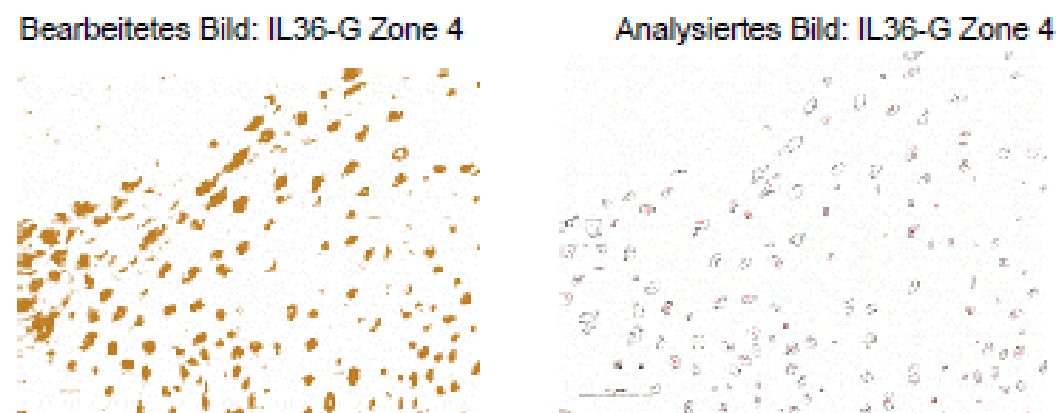


Abbildung 12: Beispiel einer Bildanalyse mit ImageJ

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Übersicht

Die Analyse mit Hilfe von ImageJ ermöglicht die Auszählung der Antikörper.

Antikörper:

CD-Antigen	Zelluläre Expression	Molekulares Gewicht (kDa)	Funktion
CD1A	Kortikale Thymozyten, Antigen-präsentierende Zellen(Dendritische Zelle, Langerhans)	43-49	MHC Klasse I-ähnliches Molekül, Präsentation lipider Antigene
CD3	Thymozyten, T-Zellen	Drei Peptide: 20-28	Assoziiert mit dem T-Zellantigen-rezeptor, Signaltransduktion
CD4	Thymozyten, T-Zellen, Monozyten, Makrophagen	55	KO-Rezeptor für MHC-Klasse-II, Moleküle, Signaltransduktion
CD8	Thymozyten, Subpopulation, Regulatorische T-Zellen	30-38	CO-Rezeptor für MHC Klasse I Moleküle
CD14	Myelomonozytische Zellen/ Makrophagen	53-55	Rezeptor für Lipopolysaccharid-Komplex und Lipopolysaccharid-Bindungsprotein
CD207	Langerhans Zellen	40	Birbeck Granula Formation
Zytokine/Interferone	Zellen, die das Zytokind sezernieren	Zielzellen	Immunologische Effekte
IL17	T-Zellen	Stromazellen u. Fibroblasten	Proinflammatorische Zytokine, Chemokineigenschaften für Neutrophile, Regulation der Hämatopoese
IL36G	T-Zellen	Keratinozyten	T-Zell-Proliferation

Tabelle 1: Analyse der Antikörper

## 5.1 Histologische Schnitte

### 5.1.1 Patient 1

(660-17, weiblich, 77 Jahre, DD : Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

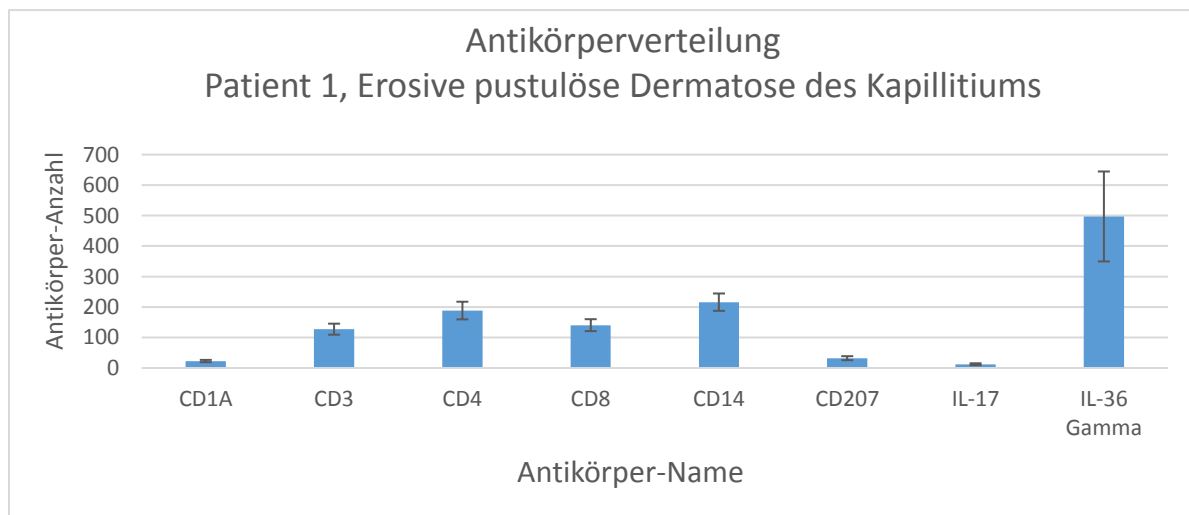
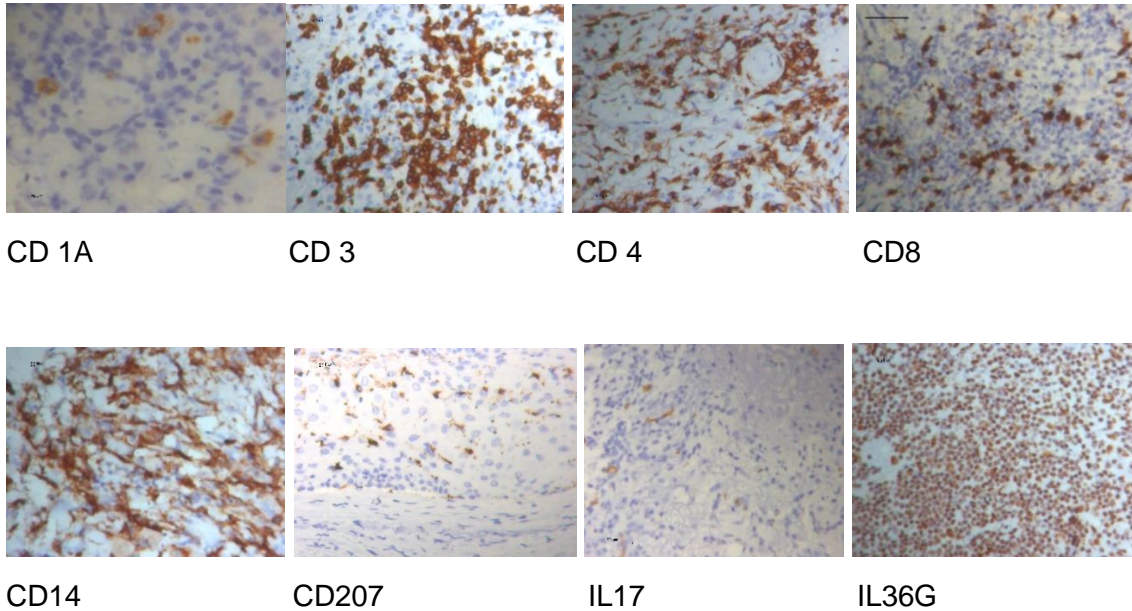


Abbildung 13: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.2 Patient 2

(3464-17, männlich, 80 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

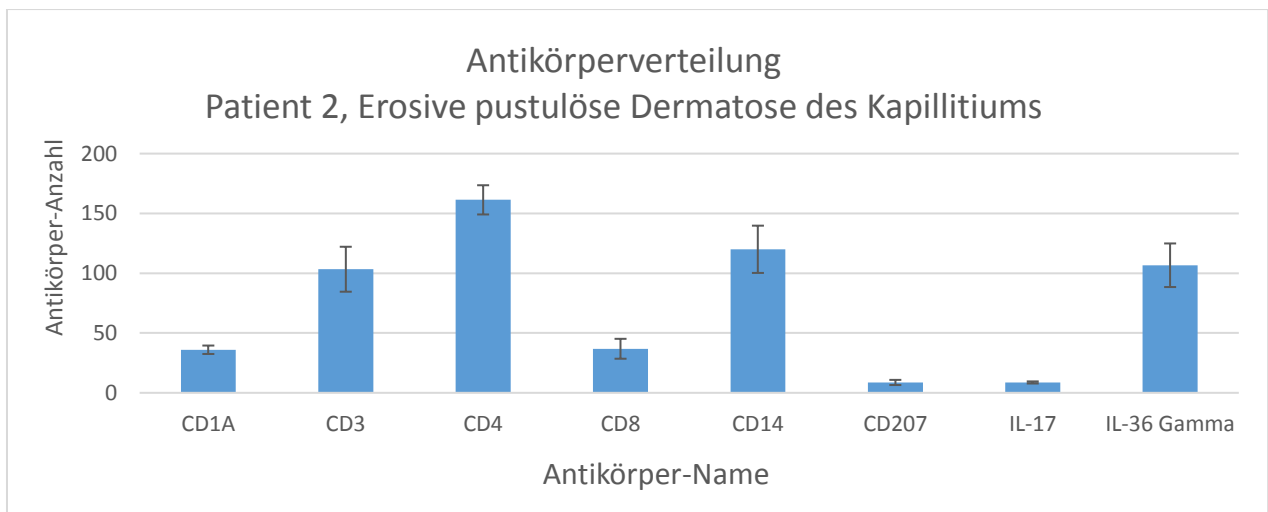
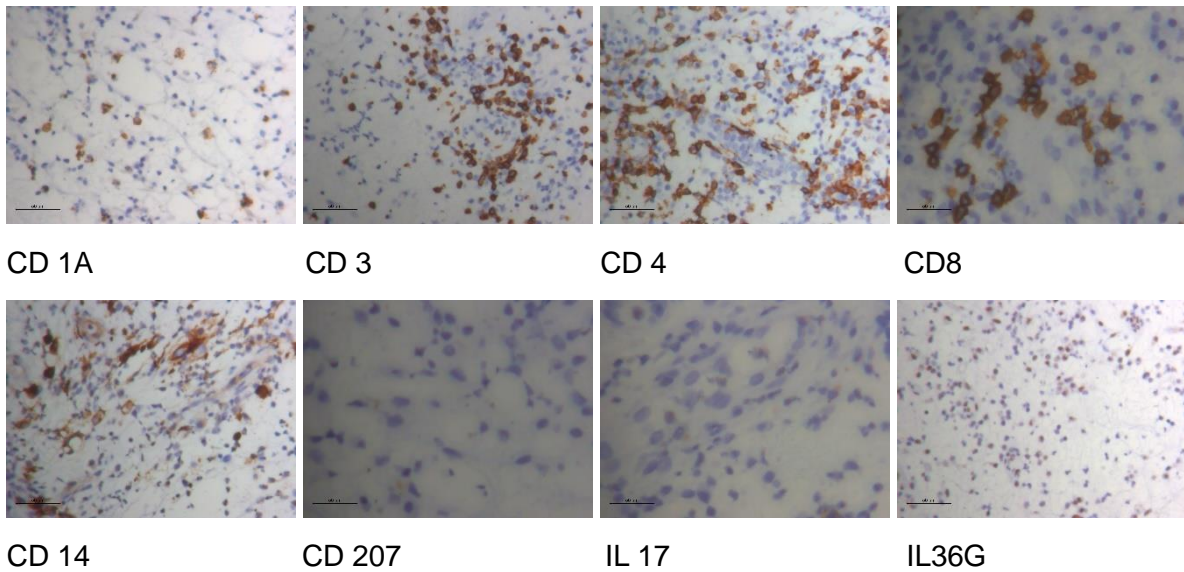


Abbildung 14: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit EPDK; Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.3 Patient 3

(4989-17, weiblich, 66 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums)

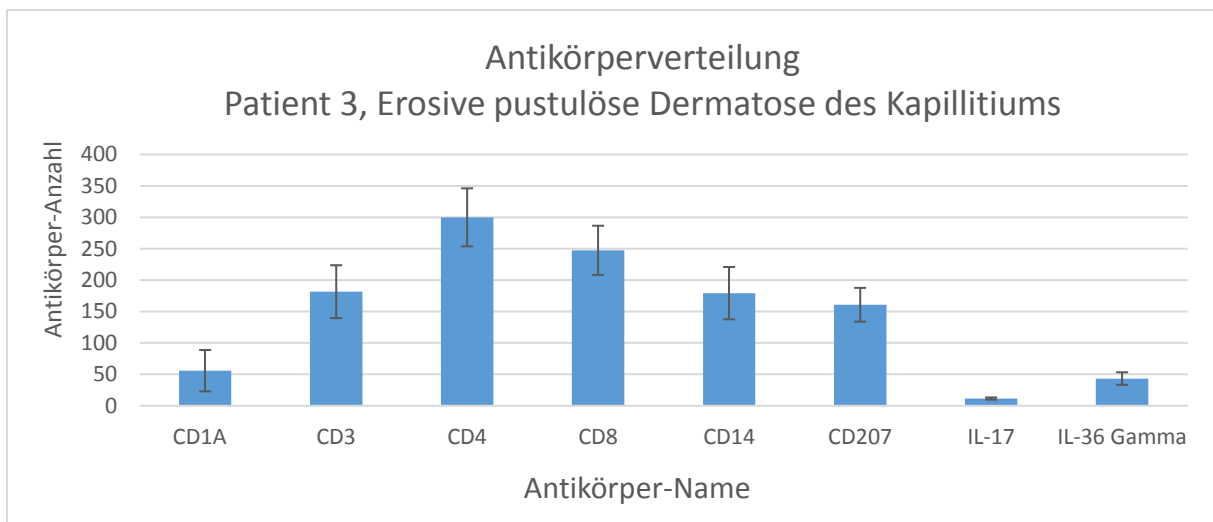
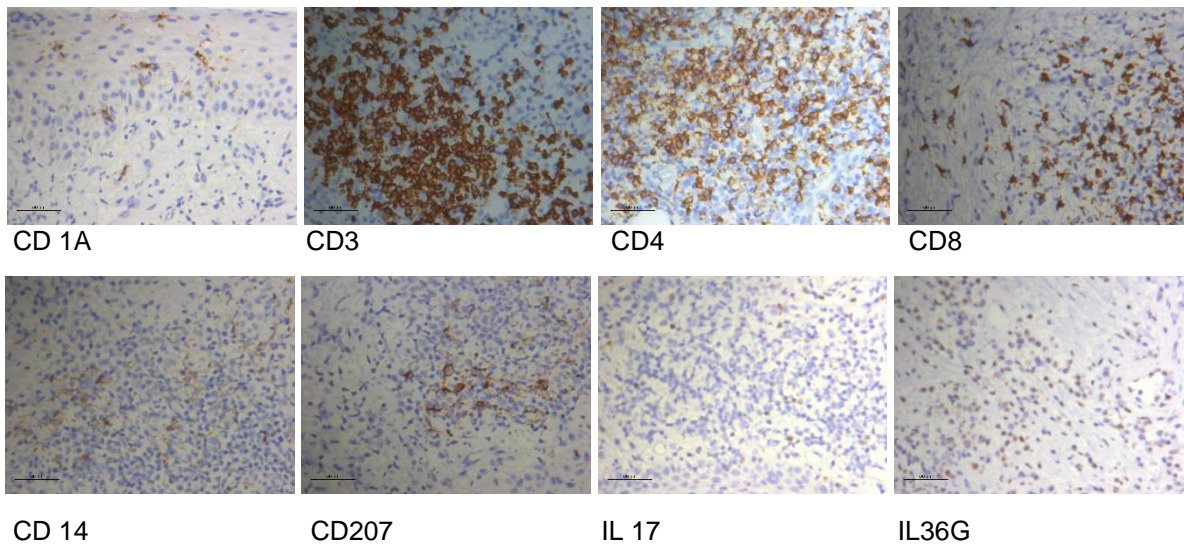


Abbildung 15: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.4 Patient 4

(0705-18, weiblich, 83 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums)

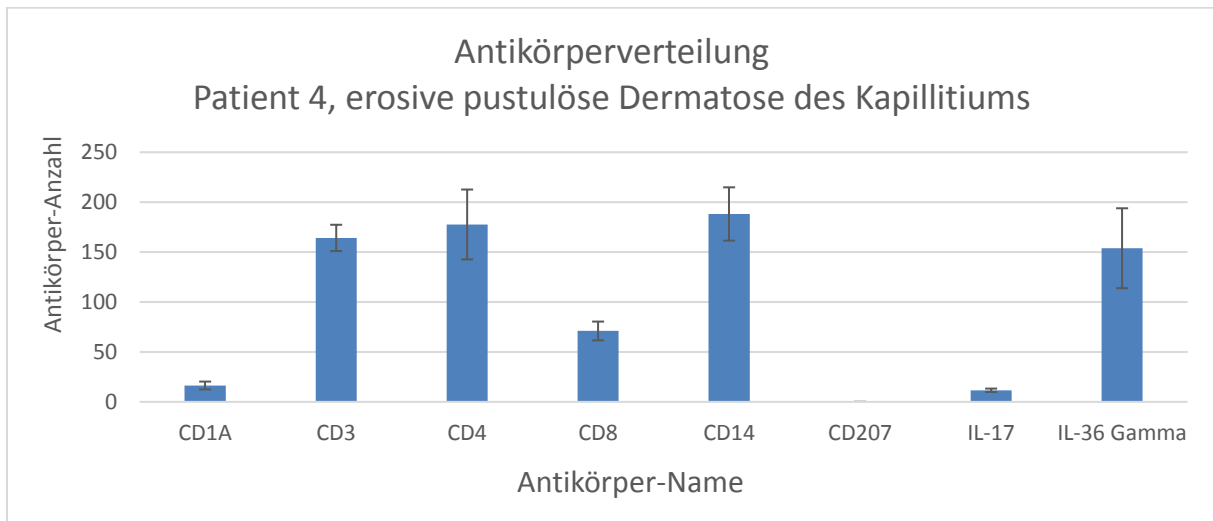
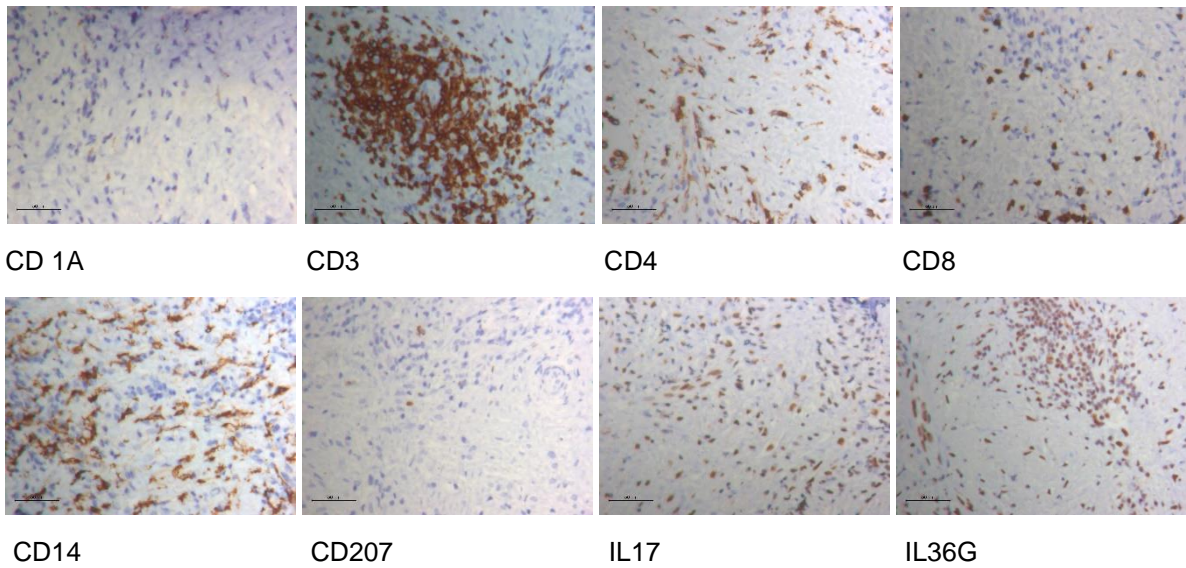


Abbildung 16: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit EPD; Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.5 Patient 5

(0721-18, weiblich, 54 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

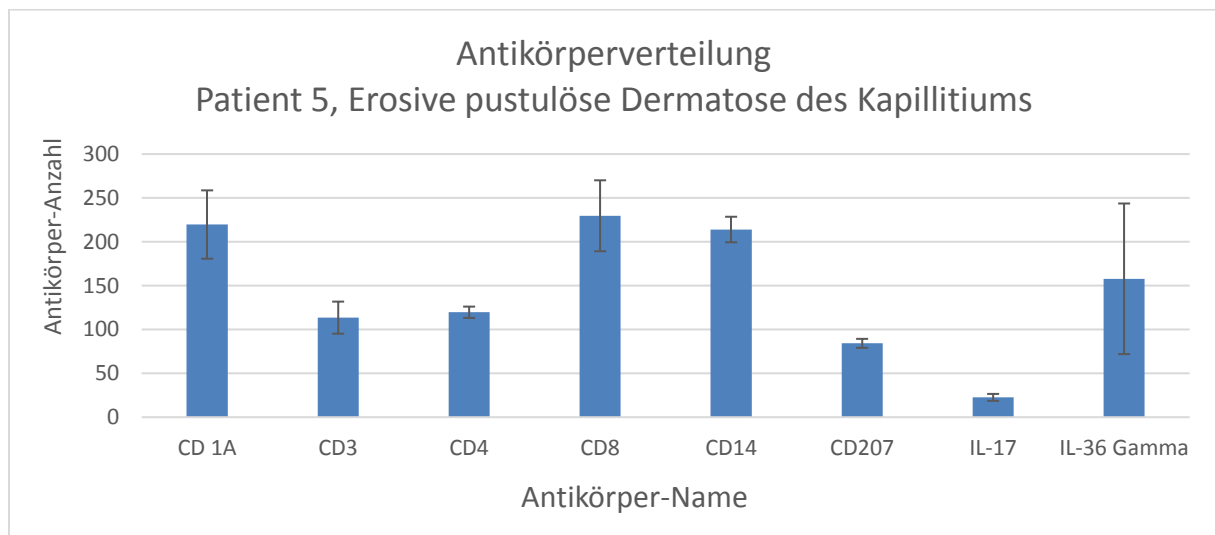
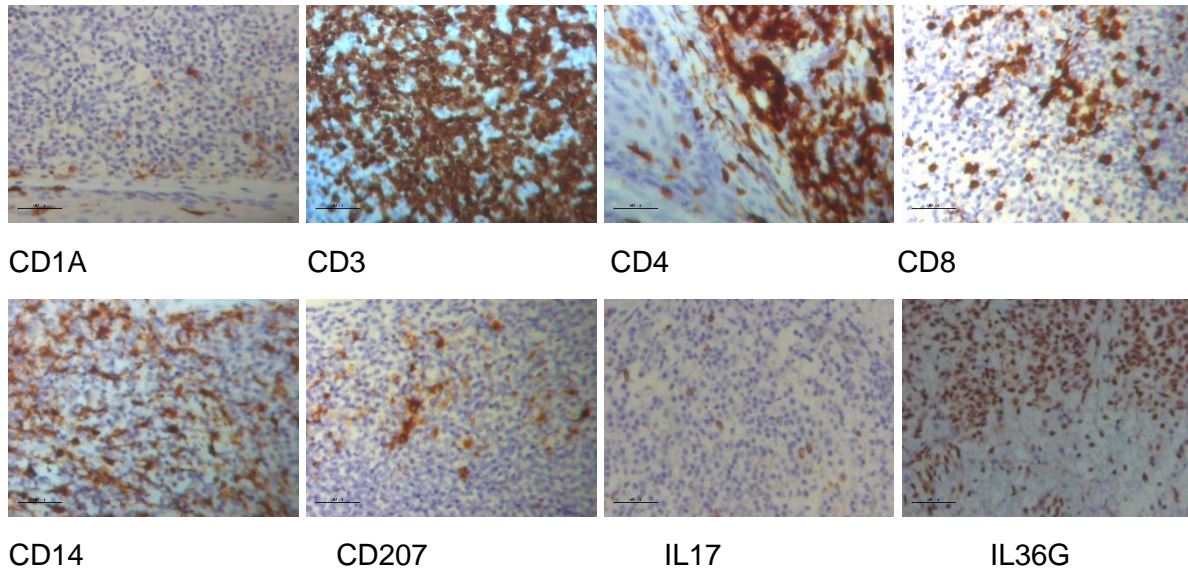


Abbildung 17: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.6 Patient 6

(1379-18, weiblich, 90 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

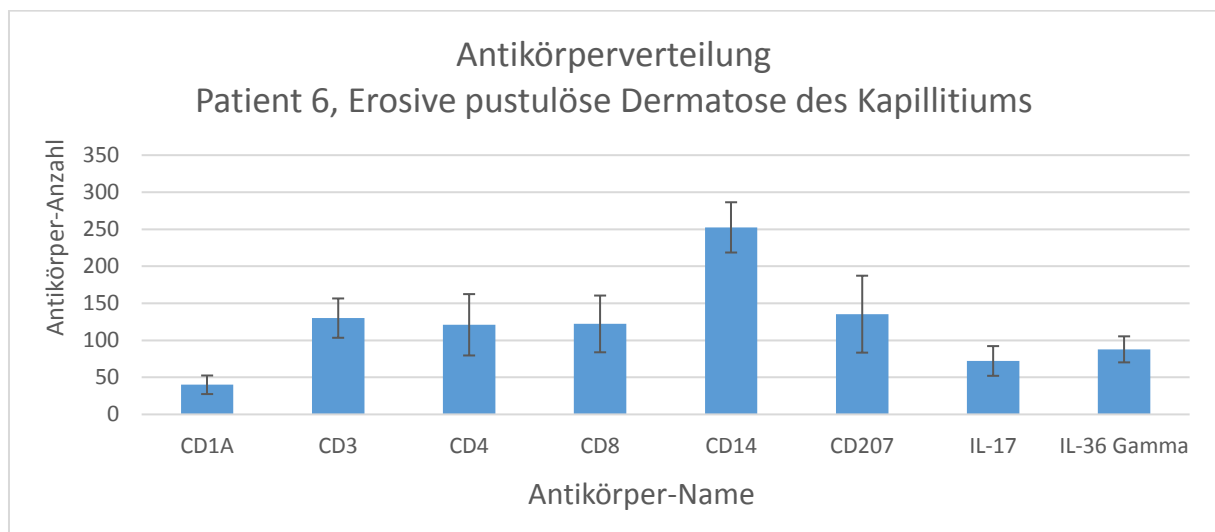
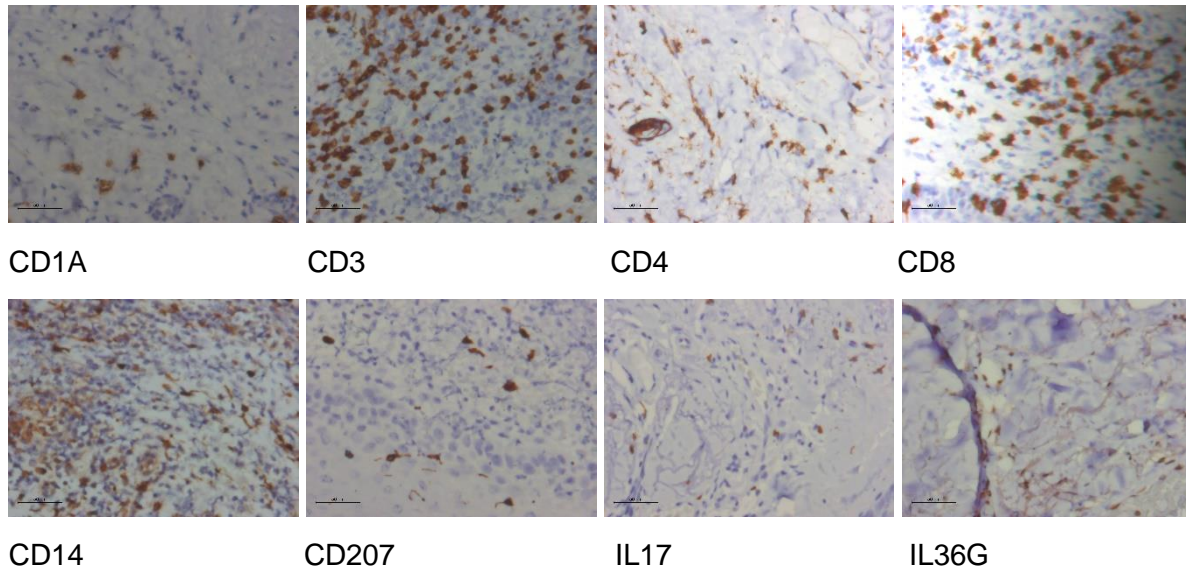


Abbildung 18: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 6 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.7 Patient 7

(1380-18, weiblich, 90 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

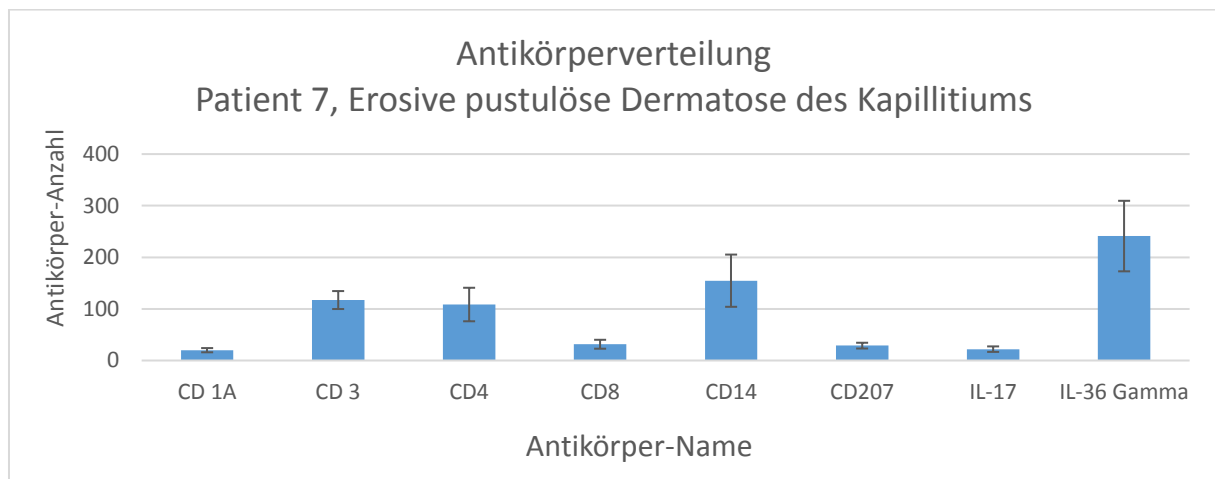
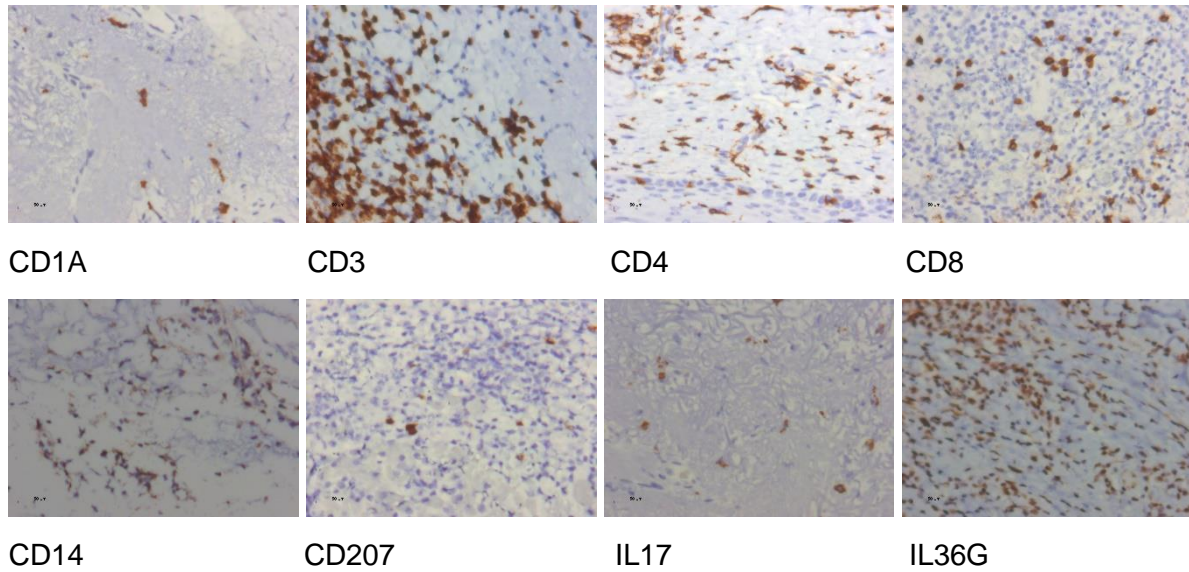


Abbildung 19: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 7 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.8 Patient 8

(1450-18, weiblich, 71 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

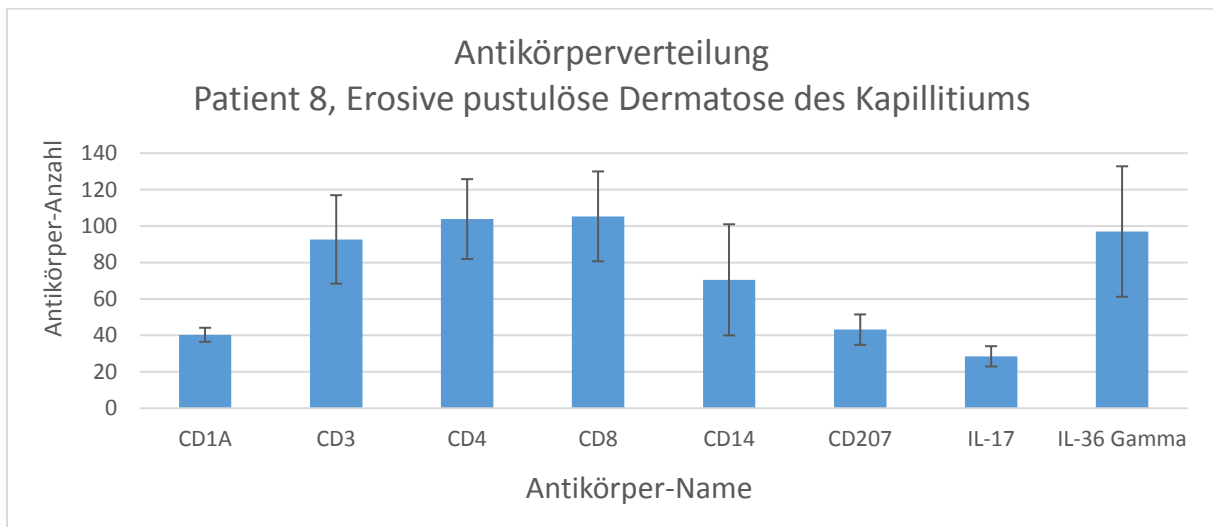
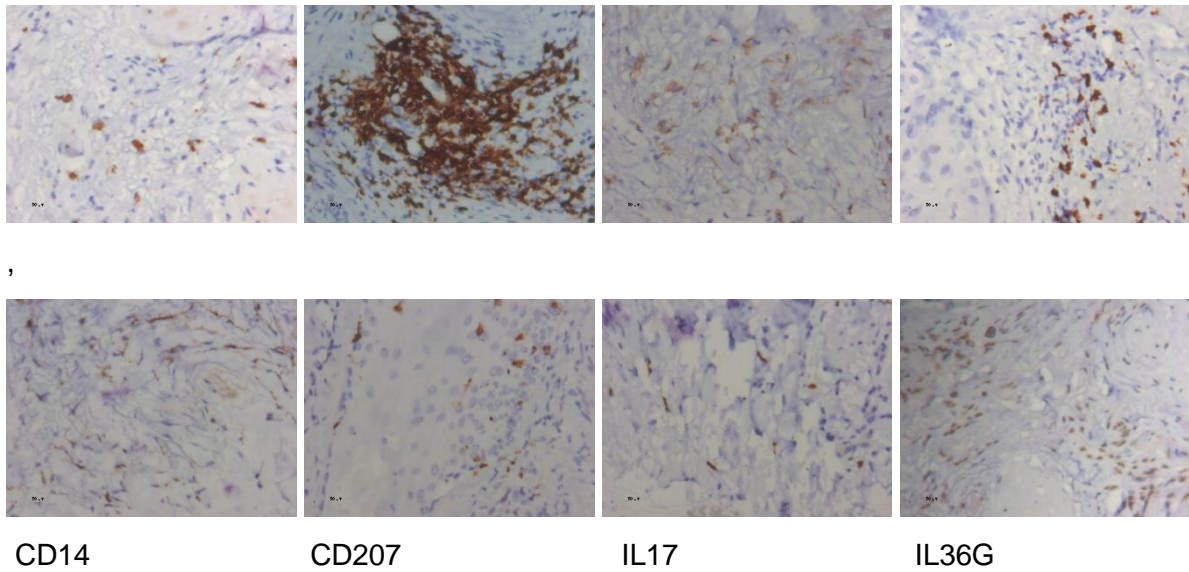


Abbildung 20: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 8 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.9 Patient 9

(1451-18, weiblich, 71 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

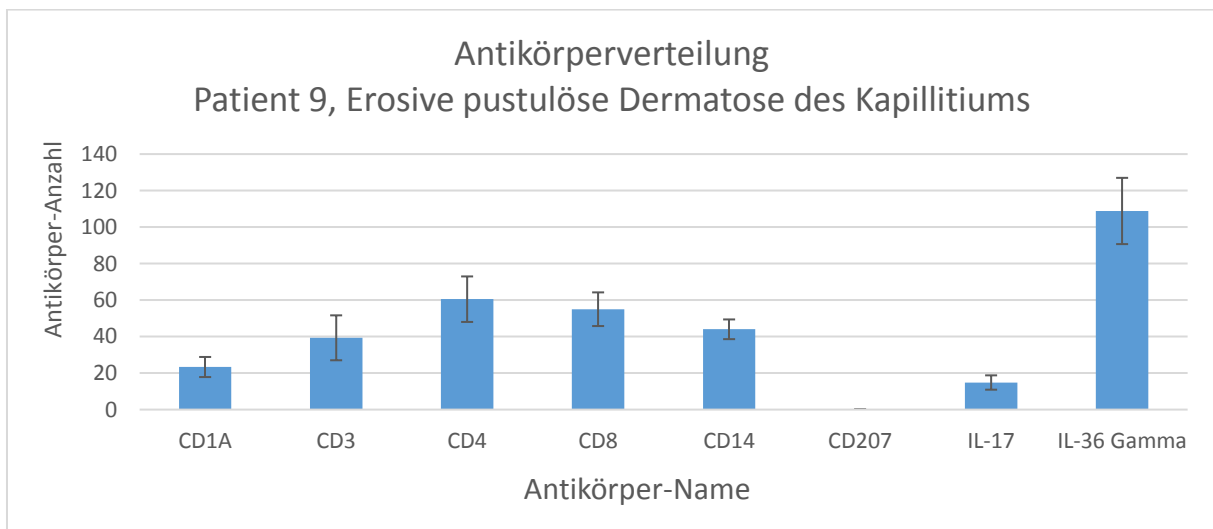
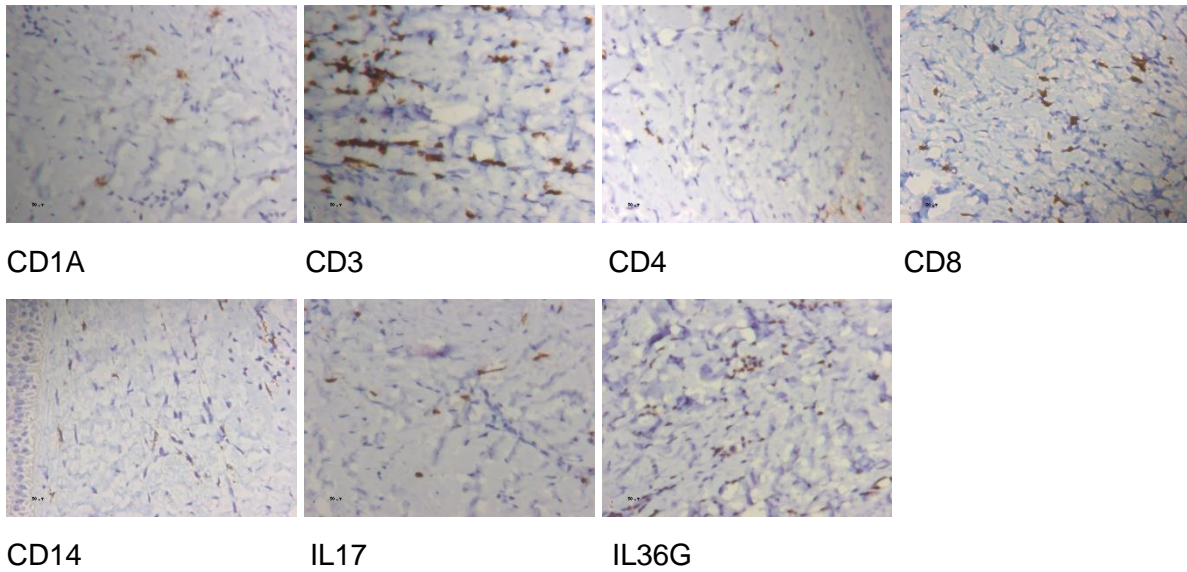


Abbildung 21: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 9 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.10 Patient 10

(1456-18, männlich, 76 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

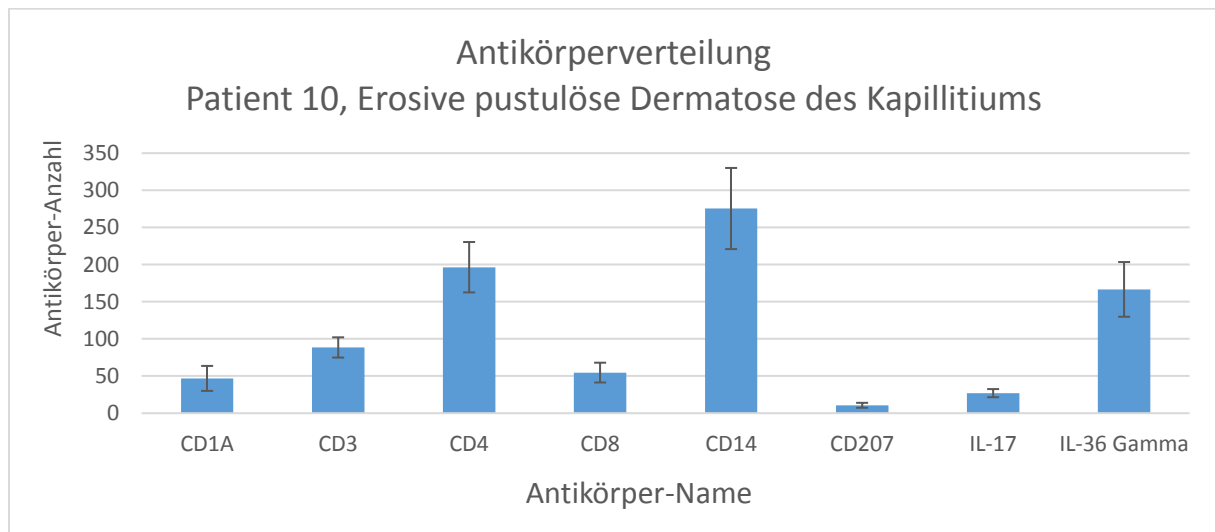
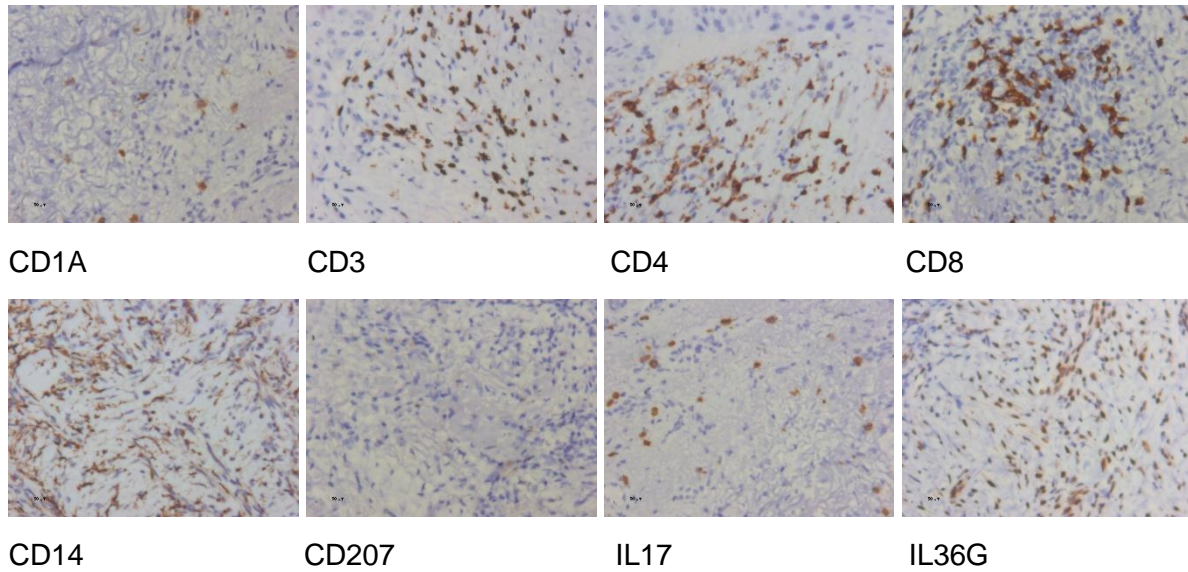


Abbildung 22: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 10 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.11 Patient 11

(1775-18 II, männlich, 81 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):

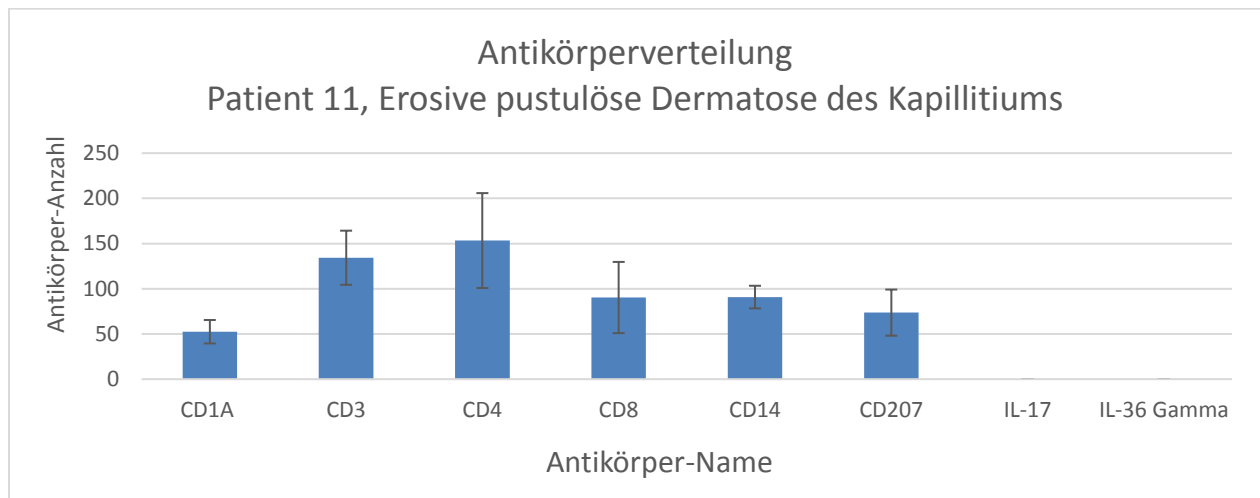
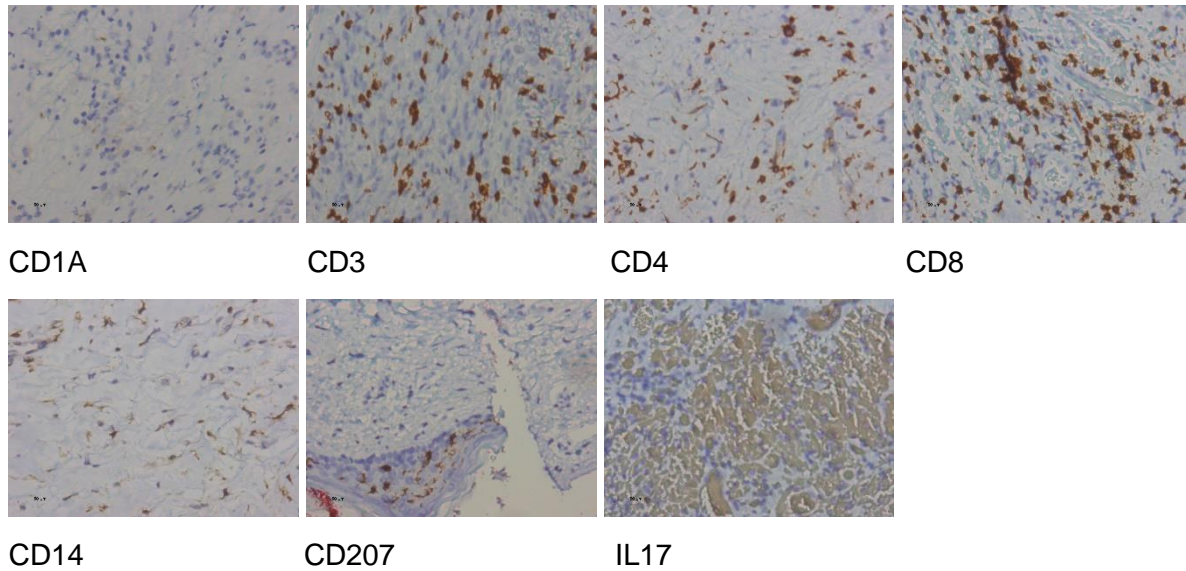


Abbildung 23: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 11 mit EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.12 Patient 1

(2548-16, Kontrollgruppe):

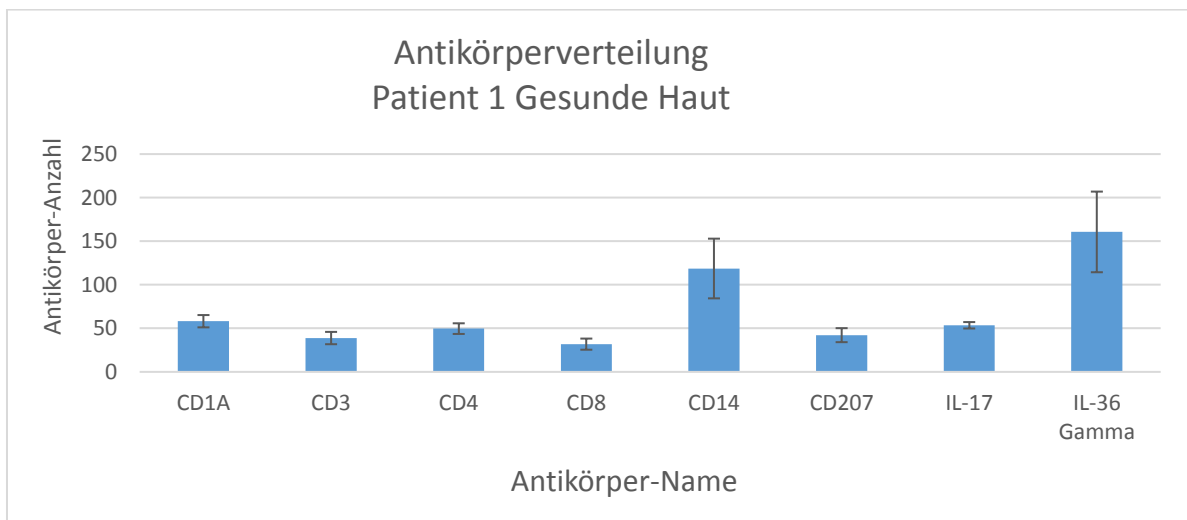
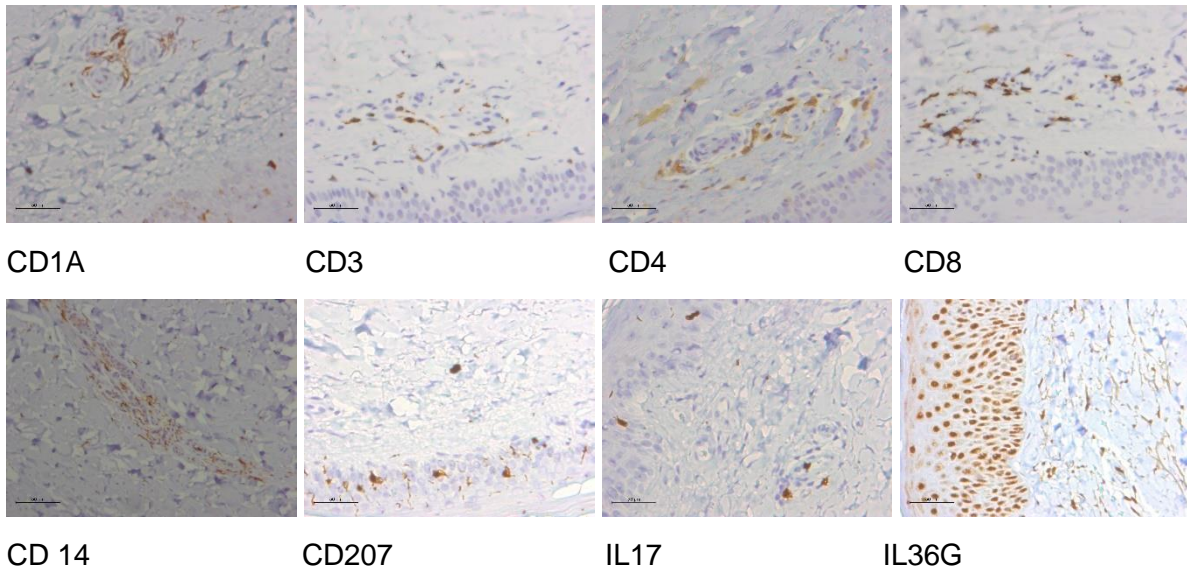


Abbildung 24: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 1 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.13 Patient 2

(5811-15, Kontrollgruppe):

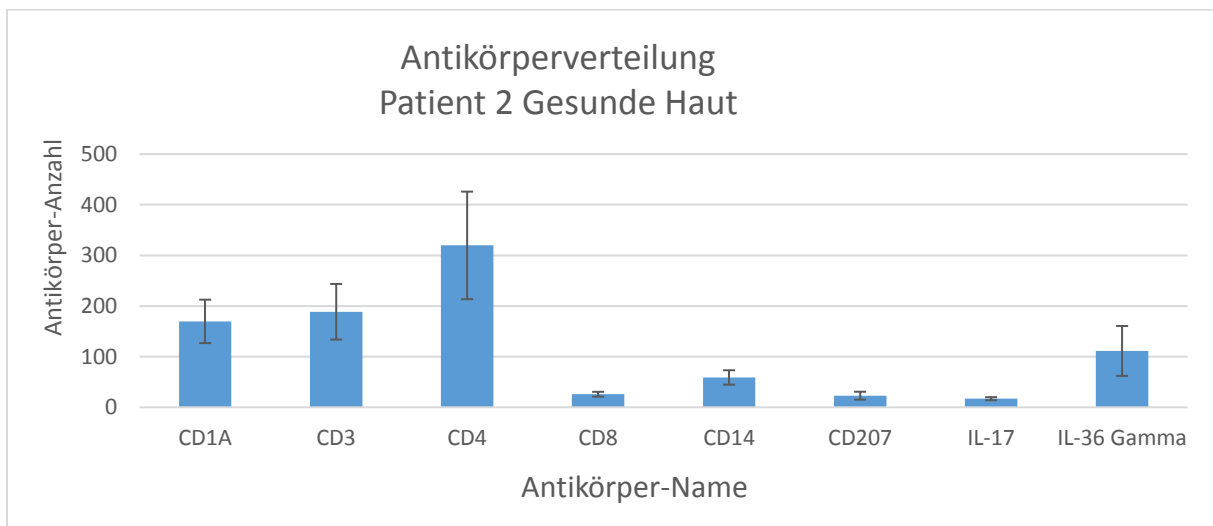
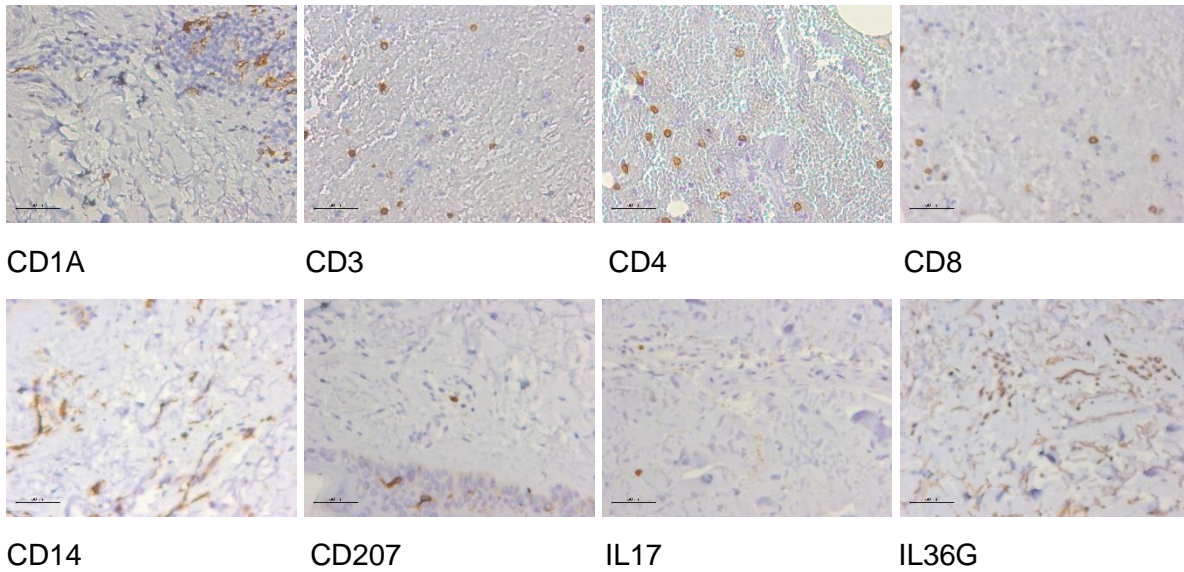


Abbildung 25: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 2 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.14 Patient 3

(5775-15, Kontrollgruppe) :

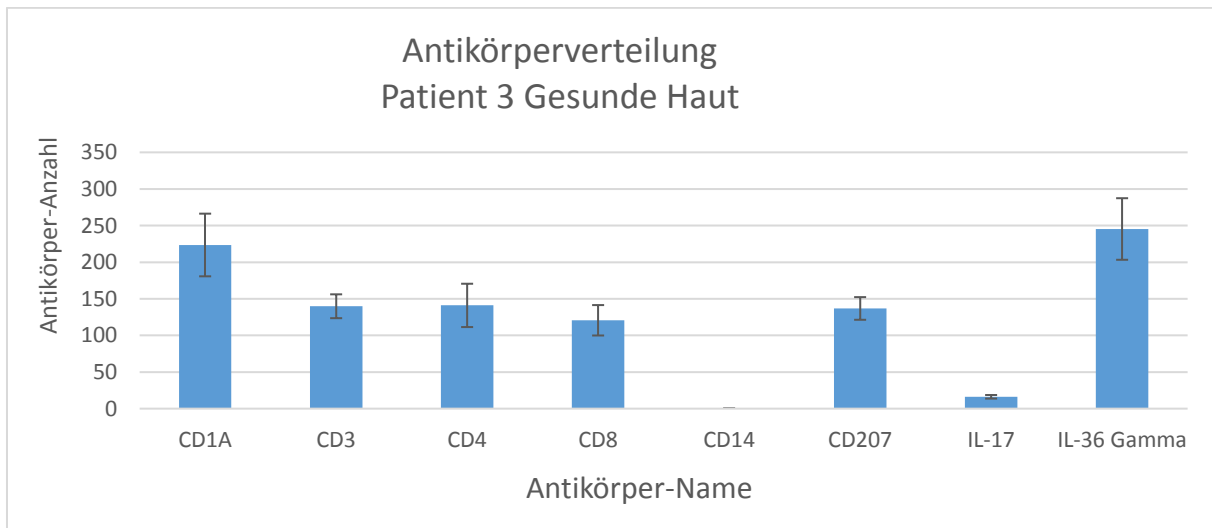
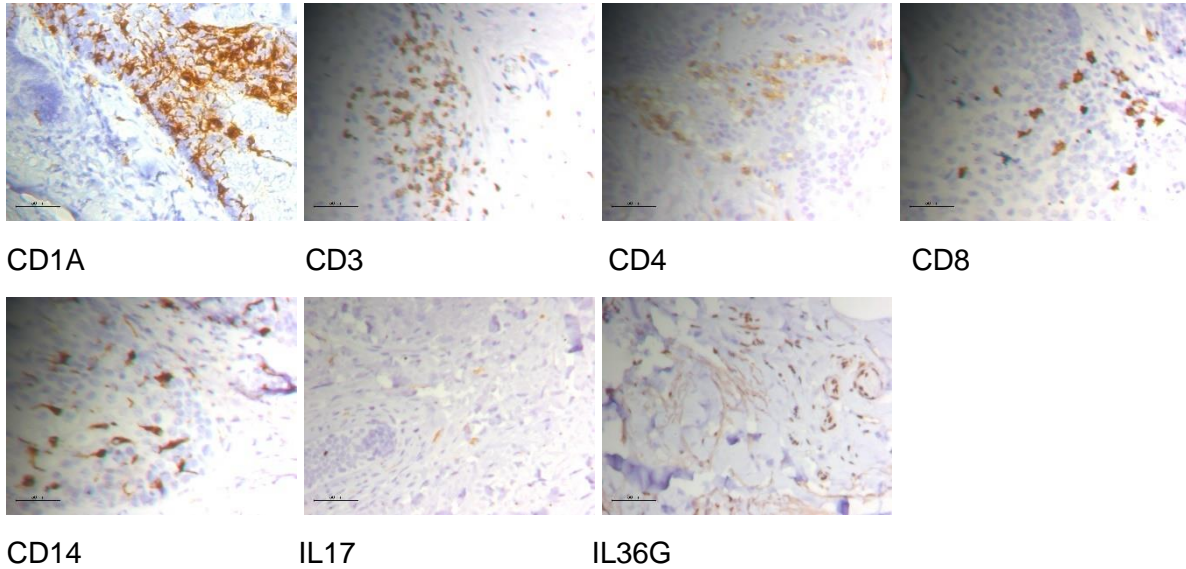
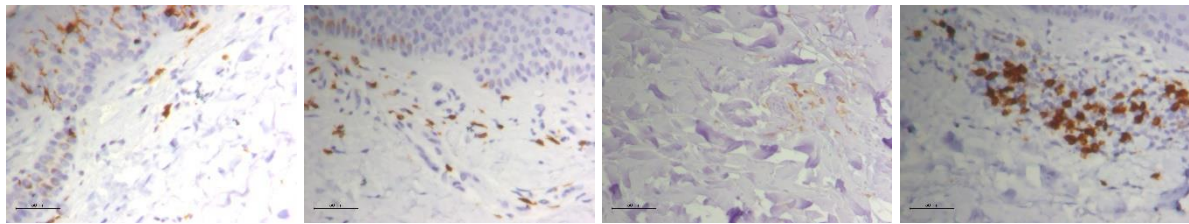


Abbildung 26: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 3 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.15 Patient 4

(5763-15, Kontrollgruppe):

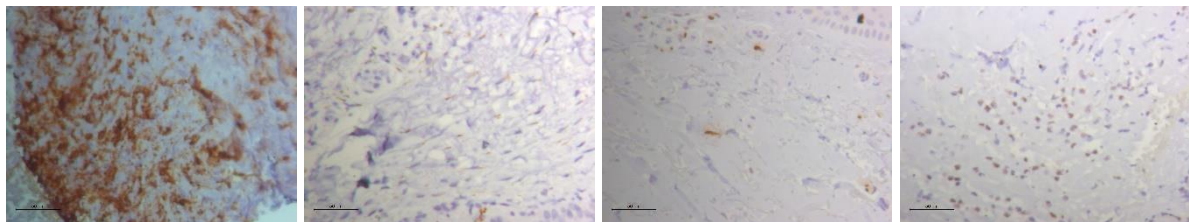


CD1A

CD3

CD4

CD8



CD14

CD207

IL17

IL36G

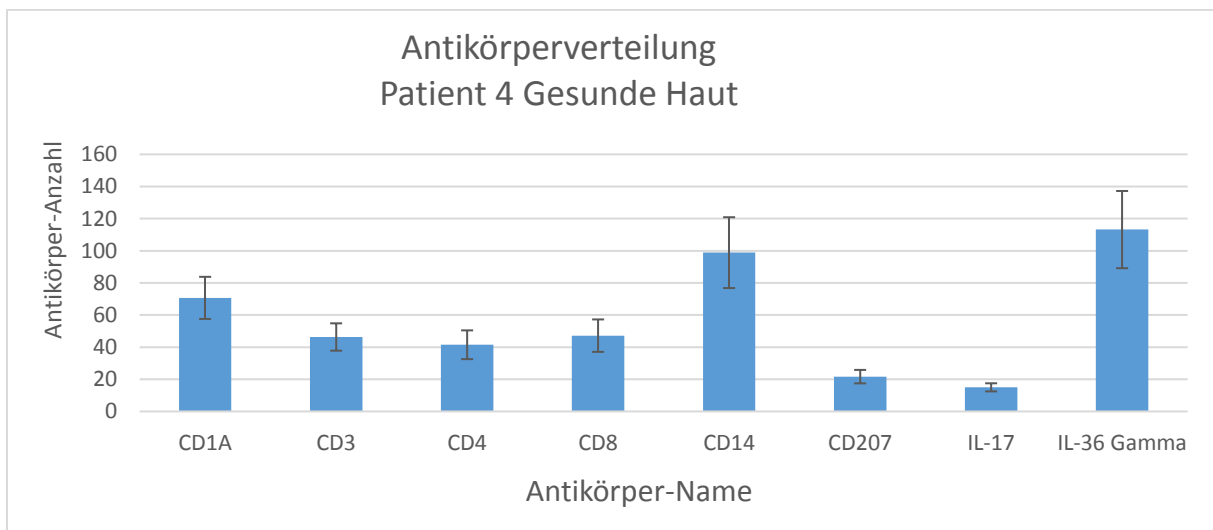


Abbildung 27: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 4 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.16 Patient 5

(4510-15, Kontrollgruppe):

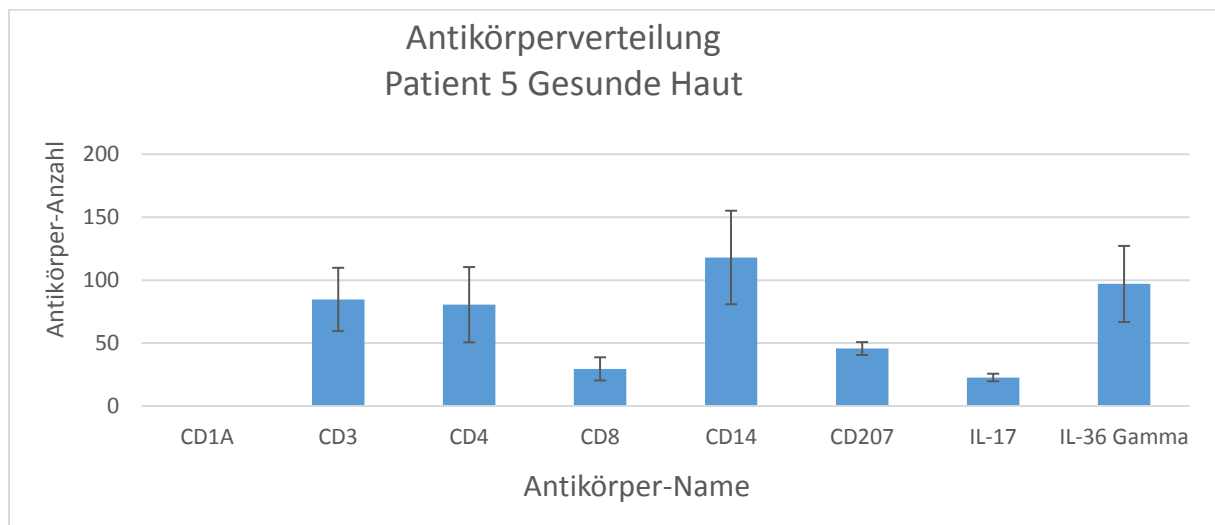
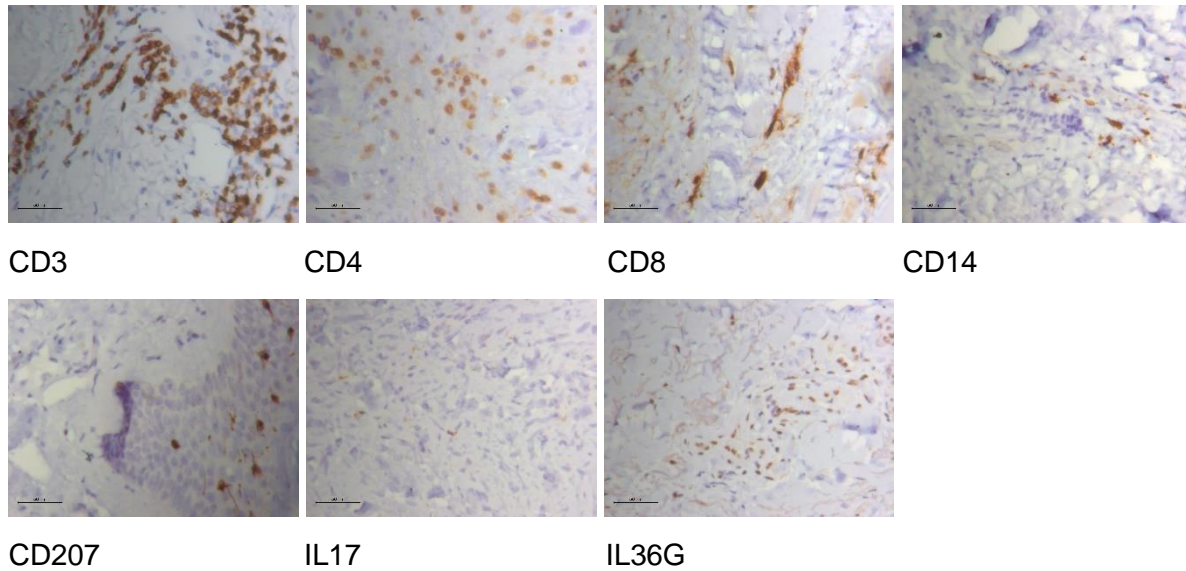


Abbildung 28: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Patient 5 mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.1.17 Patient 6 (Kontrollgruppe)

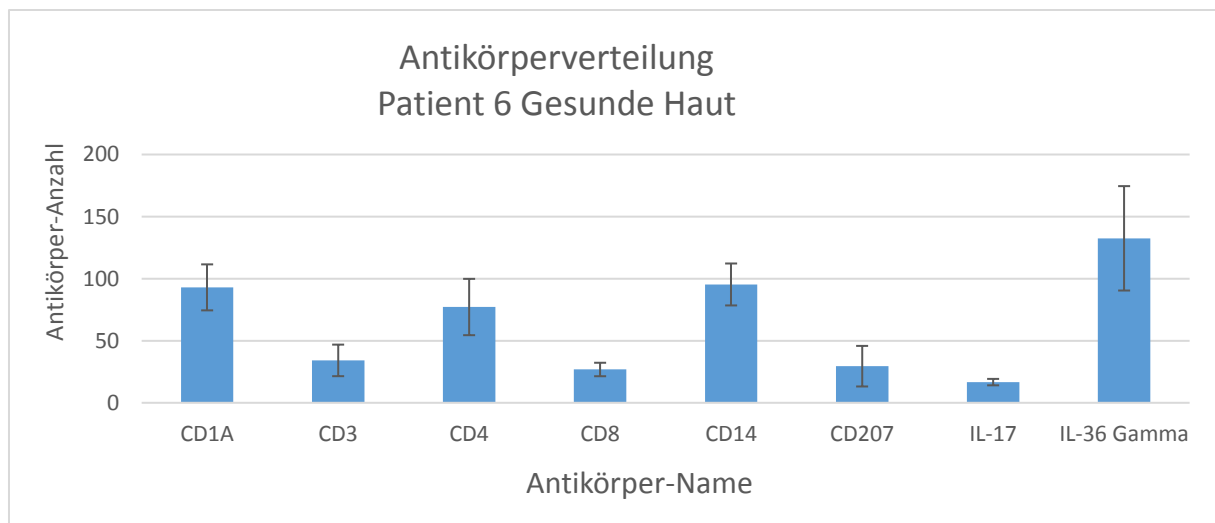
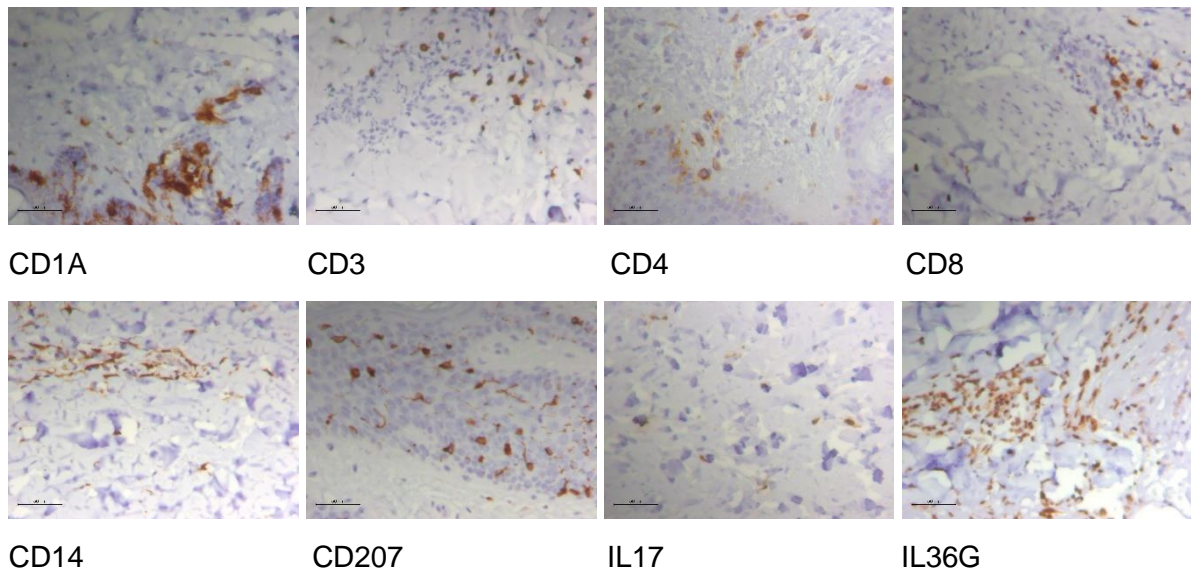


Abbildung 29: Absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei Kröber mit gesunder Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

## 5.2 Antikörperauszählung

### 5.2.1 Absolute Antikörperauswahl der EPDK

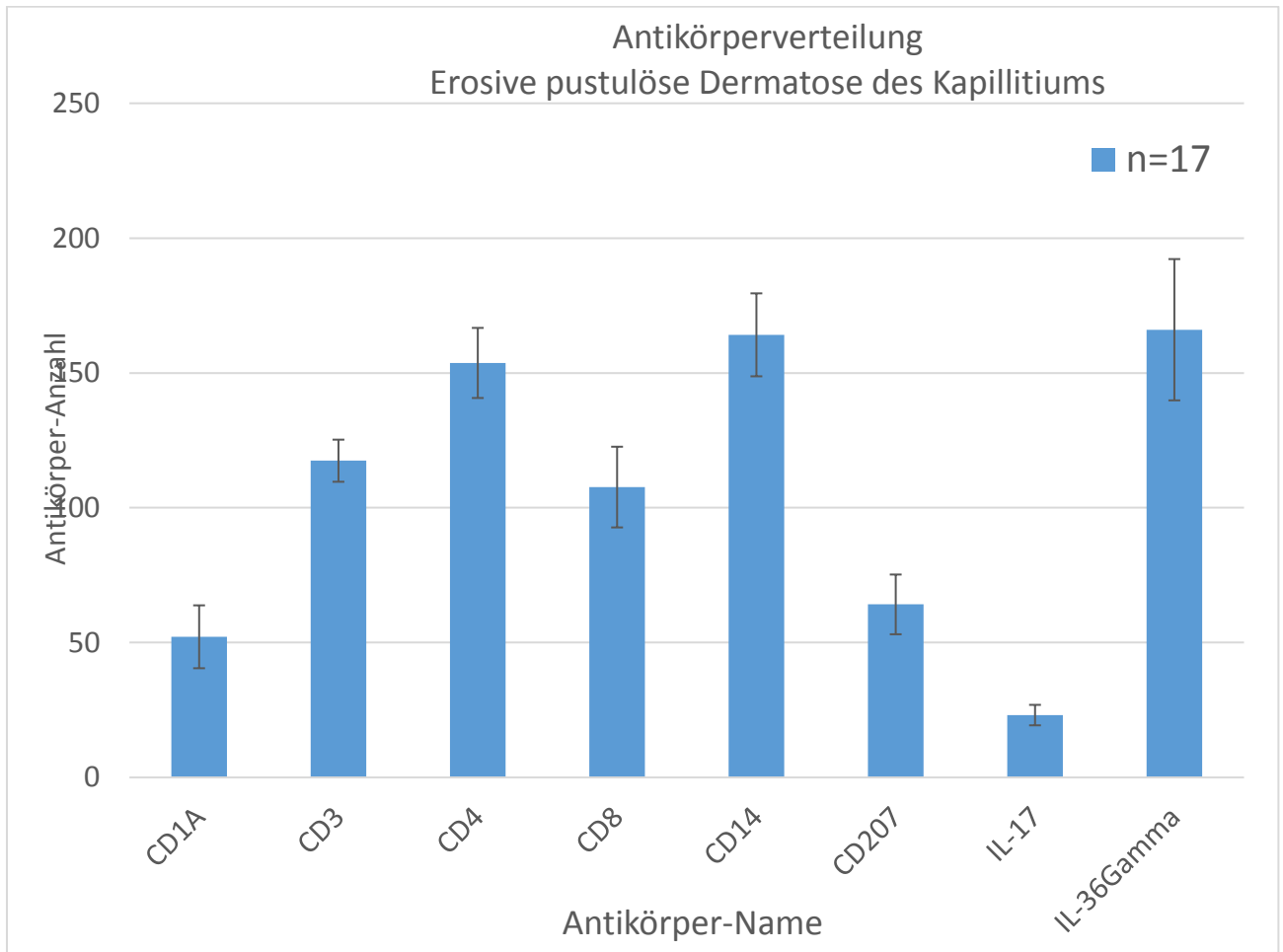


Abbildung 30: absolute Anzahl der Antikörperverteilung bei EPDK, Fehlerindikator: Standardfehler

5.2.2 Absolute Antikörperauswahl der Kontrollgruppe mit normaler Haut

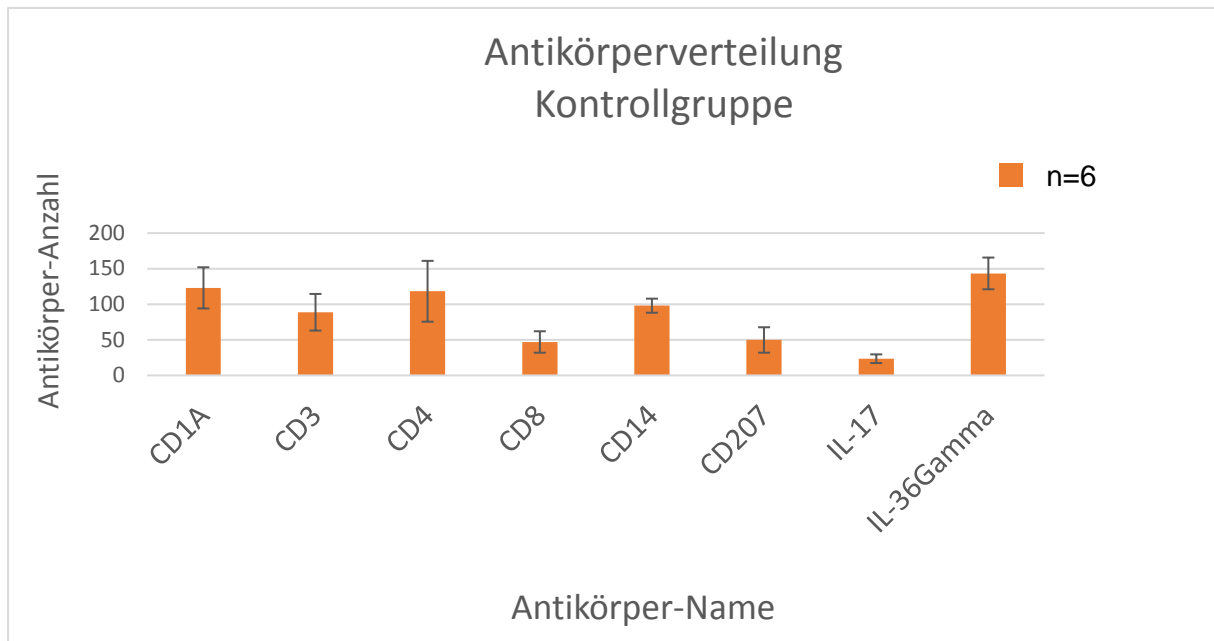


Abbildung 31: absolute Anzahl der Antikörperverteilung bei Patienten mit normaler Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

5.2.3 Absolute Antikörperauswahl der EPDK und Kontrollgruppe

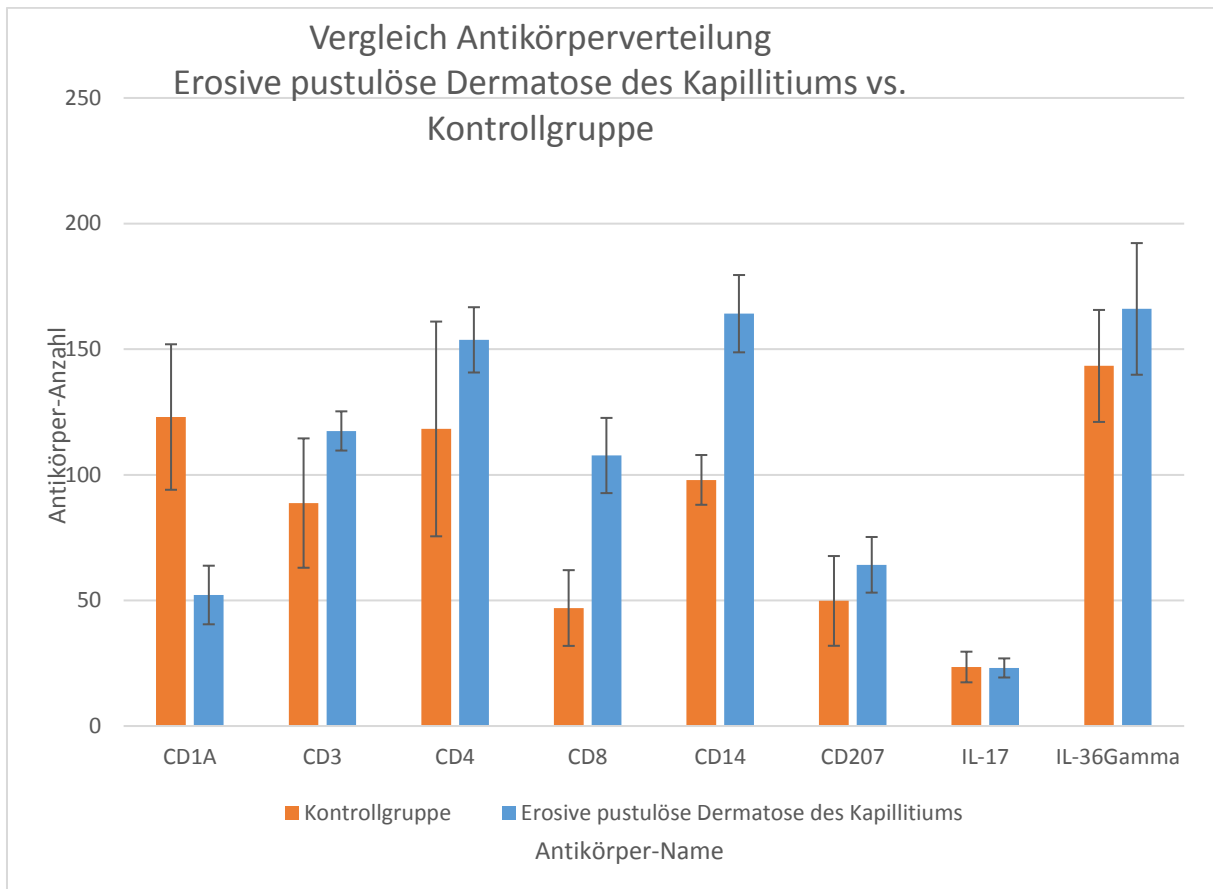


Abbildung 33: absolute Anzahl der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit EPDK und der Kontrollgruppe mit normaler Haut, Fehlerindikator: Standardfehler

### 5.2.4 T-Test - Unterschiede zwischen EPDK und Kontrollgruppe

p-Value		
	CD1A	0,093753057
	CD3	0,342357903
	CD4	0,473527763
	CD8	0,038505423
	CD14	0,020520504
	CD207	0,5821234
	IL17	0,964928198
	IL36G	0,632109768

*Tabelle 2: T-Test für EPDK und Kontrollgruppe*

5.2.5 Heat- Map der Antikörperauszählung

	CD1A	CD3	CD4	CD8	CD14	CD207	IL-17	IL-36Gamma
P1	22,83333333	127,3333333	188,5	140,5	216	32,16666667	12,33333333	497,1666667
P2	16,4	164,2	177,6666667	71	188,1666667		11,6	153,8333333
P3	219,6666667	113,5	119,6666667	229,6666667	214	84,2	22,6	157,8
P4	40	130	121	122,1666667	252,5	135,3333333	72,16666667	87,83333333
P5	20	117,1666667	108,5	31,5	154,6666667	28,83333333	22	241,1666667
P6	40,33333333	92,66666667	103,8333333	105,3333333	70,5	43,16666667	28,5	97
P7	23,33333333	39,33333333	60,5	55	44		14,83333333	108,8333333
P8	46,83333333	88,5	196,5	54,66666667	275,5	10,66666667	27	166,6666667
P9	52,5	134,3333333	153,3333333	90,33333333	90,83333333	73,66666667		
P10	36	103,3333333	161,3333333	36,83333333	120	8,666666667	8,666666667	106,6666667
P11	55,83333333	181,6666667	300	247,5	179,3333333	160,8333333	11,5	43,33333333
P12	58,16666667	38,83333333	49,66666667	31,83333333	118,6666667	42,16666667	53,5	160,6666667
P13		84,66666667	80,5	29,5	118	45,66666667	22,66666667	97
P14	70,66666667	46,33333333	41,5	47,16666667	98,83333333	21,66666667	15	113,1666667
P15	223,5	139,8333333	141	120,6666667		136,8333333	16,16666667	245,3333333
P16	169,6666667	188,6666667	319,6666667	25,83333333	59	23	17	111,3333333
P17	93	34,16666667	77,16666667	26,83333333	95,33333333	29,5	16,66666667	132,5
Mittelwert	74,29583333	107,3254902	141,1960784	86,25490196	143,4583333	58,42444444	23,2625	157,51875
Standardabweichung	68,32529695	48,54013593	79,13539372	68,42161771	70,33866488	49,18731522	16,79079499	104,9056987
Standardfehler	13,94684284	9,908213755	16,1534446	13,96650423	14,35781985	10,04031868	3,427406674	21,41378608

Tabelle 3: Heat-Map der Antikörperauszählung. Dargestellt sind die Mittelwerte der verschiedenen Antikörper bei allen Patienten mit EPDK, Fehlerindikator: Standardabweichung

## 6. Diskussion

### 6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe des digitalen Leica Systems fotografisch ausgewerteten Hautproben der Patienten entstammen aus der Haut- und Poliklinik der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

Die Probanden teilten sich in zwei Gruppen. Die eine Gruppe schloss elf Patienten ein, welche an einer EPDK mit einer erkrankten Haut litten. Die zweite Gruppe beinhaltete sechs Patienten mit normaler Haut (Kontrollgruppe).

Innerhalb dieser Arbeit wurden Gewebe mit immunhistochemischen Methoden angefärbt. Durch die immunhistochemische Färbung der Hautproben konnten die Zellen, die an der Immunreaktion beteiligt waren, dargestellt werden.

Dabei werden Zell- oder Gewebestrukturen, die an Antikörper gekoppelt sind, über Farbstoffe dargestellt.

Es wurden Färbungen mit acht verschiedenen Antikörpern (CD1A, CD3, CD4, CD8, CD14, CD207, IL17, IL36G) durchgeführt und die Anzahl der an der Immunreaktion beteiligten Zellen anschließend ausgezählt.

Die selektierten Antikörper wurden nach der Färbung jeweils sechsmal unter dem Mikroskop fotografiert und danach durch ein selbständiges Programm ausgewertet. Dadurch wurde die Häufigkeit der verschiedenen Antikörper in beiden Patientengruppen bestimmt.

Bei den EPDK-Patienten zeigt sich folgende Häufigkeitsverteilung in absteigender Reihenfolge:

IL-36G, **CD14**, CD4, CD3, CD8, CD207, **CD1a**, IL-17.

Die Kontrollgruppe hatte folgende Häufigkeiten in absteigender Form:

IL-36G, **CD1a**, CD4, CD 14, CD3, CD207, CD8, IL-17.

Auffällig in beiden Gruppen war CD1A, welcher bei EPDK-Patienten als vorletzter in der Rangfolge auftritt und bei der Kontrollgruppe als zweithäufigster Wert in der Rangfolge folgt.

CD14 zeigte sich bei den Erkrankten häufiger im Vergleich zu der Kontrollgruppe.

Auch fällt auf, dass IL-36G in beiden Gruppen am häufigsten auftritt und IL-17 in beiden Gruppen in niedriger Anzahl vorhanden ist.

Keinen großen Unterschied zeigten CD3, CD4 und CD207. Sie sind bei EPDK-Patienten sowie in der Kontrollgruppe in gleicher Anzahl vorhanden.

Der im Rahmen der statistischen Auswertung angewendete T-Test ermöglicht einen Vergleich der Mittelwerte an Antikörper zwischen den verschiedenen Gruppen.

Mit Hilfe des T-Test zeigte sich bei beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied.

Das Ergebnis des T-Test konnte mit Hilfe von niedrigen P-werten bestätigt werden:

1. **IL-17 >> 0,965**
2. **IL-36G >> 0,632**
3. **CD207 >> 0,582**
4. **CD 4 >> 0,474**
5. **CD3 >> 0,342**
6. **CD1A >> 0,094**
7. **CD8 >> 0,039**
8. **CD14 >> 0,021**

Bei dem T-Test haben drei der acht getesteten Antikörper eine ausgeprägte Signifikanz in aufsteigender Reihenfolge: CD14, CD8 und CD1A.

Jedoch weisen CD14 und CD8 mit dem niedrigstem P-Wert einen außerordentlichen Unterschied auf.

## 6.2 Diskussionen von Material/ Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden Hautproben von Patienten mit einer EPD und 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 vermeiden. 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 der immunhistochemischen 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 eingefärbten 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 müssen 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 wie auch einer geringeren Fehlerquote 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 vieler Antikörper.

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 des automatisierten Auszählens der Antikörper ist die genaue sowie schnelle Überprüfung und Wiederholung der Ergebnisse. Bei dem manuellen Auszählen der Antikörper können bestimmte Fehler wie das vollständige Übersehen oder doppeltes Auszählen von Antikörpern entstehen. Diese Fehler werden mithilfe der automatisierten Analyse der Antikörper verhindert.

Die Arbeitsweise des Programms 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 es 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 sind. 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.

Die Seltenheit dieser Krankheit ist eine Einschränkung und die geringe Anzahl an Patienten stellt ebenfalls eine Einschränkung dar.

### 6.3 Diskussion der Ergebnisse

In dieser Dissertation wurde die Rolle des Immunsystems im Rahmen der EPDK näher untersucht. Dabei spielte eine immunhistochemische Analyse der proinflammatorischen Zellen des Immunsystems eine wesentliche Rolle. Hautproben von elf erkrankten Patienten und sechs gesunden Patienten wurden histologisch aufgearbeitet und anschließend mit acht verschiedenen Antikörpern eingefärbt. Da in der Literatur keine vergleichbaren Studien vorliegen, in denen mit bestimmten Antikörpern eine immunhistochemische Analyse bezüglich einer Hauterkrankung durchgeführt wurde, ist es interessant zu analysieren, welche proinflammatorischen Zellen des Immunsystems in welcher Menge bei EPDK-Patienten vorkommen. Da einige Antikörper im Vergleich zu anderen Antikörpern mit einer höheren Häufigkeit vorkommen, lässt sich daraus schlussfolgern, dass die höhere Expression dieser Antikörper einen Zusammenhang mit der Pathophysiologie und der nachfolgenden Therapie haben kann. Niedrig exprimierte Antikörper spielen demzufolge eine nur untergeordnete Rolle im Rahmen der Pathophysiologie. Im Folgenden werden die immunhistochemischen Marker, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, näher beschrieben.

Der Begriff **Cluster of Differentiation** („Unterscheidungsgruppen“), abgekürzt CD, bezeichnet eine Gruppe von Zellen mit verschiedenen Oberflächenmerkmalen.

Im Gegensatz zu der normalen Haut sind CD14 und CD8 in der Haut der EPDK-Patienten hoch exprimiert.

Das CD14-Antigen wurde erstmalig 1982 beschrieben.(14) Einige CDs haben eine Rezeptor- oder Signalfunktion, während bei anderen enzymatische Aktivität nachgewiesen werden konnte; darüber hinaus wird einigen Clustermolekülen eine zentrale Rolle bei der interzellulären Kommunikation zugeschrieben.(24)

Beim CD14-Liganden handelt es sich meistens um ein membrangebundenes Glykoproteine (Oberflächenprotein),(25) das sowohl über einen GPI-Anker gebunden an der Zellmembran als auch in löslicher Form vorliegen kann, und hauptsächlich auf Monozyten, Makrophagen oder neutrophilen Granulozyten exprimiert wird.(26) CD14 selbst kann Signale nicht nach intrazellulär leiten, weshalb der Toll-like Rezeptor-4 (TLR) als transmembraner Ko-Rezeptor in Verbindung mit MD2 das Immunsystem aktiviert.(27)

Als CD8-Rezeptor oder einfach CD8 bezeichnet man Erkennungsmoleküle, die an den MHC-I-Komplex (Major Histocompatibility Complex) binden. Sie spielen im Immunsystem eine wichtige Rolle, da Abwehrzellen mit ihrer Hilfe körpereigene von körperfremden Peptiden unterscheiden können.

T-Zellen erkennen Antigene über einen spezifischen Rezeptor, den sogenannten T-Zell-Rezeptor (TCR). Dafür muss das Antigen allerdings von einer antigenpräsentierenden Zelle (APC) angeboten werden. Die stabile Bindung der T-Zelle an die antigenpräsentierende Zelle erfordert die Beteiligung sog. Auxilliärproteine. Zu diesen gehören CD4 und CD8.

CD8 ist in die Zellmembran von zytotoxischen T-Zellen eingelagert und für diesen Zelltyp und seine direkten Vorläufer charakteristisch. Daneben kommt CD8 auch auf regulatorischen T-Zellen, NK-Zellen, Thymozyten und dendritischen Zellen vor.(28-30)

CD8-Lymphozyten zählen zu den zytotoxischen Zellen. (31) Die Expression von CD8 erfolgt auf den zytotoxischen T-Zellen.(32) 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- $\gamma$ .(33) Bei einer Reinfektion intrazellulärer Krankheitserreger wie Viren und beim Schutz vor Infektionen spielen CD8+-T-Zellen eine zentrale Rolle.(34) Außerdem binden sie an MHC-I.(32) Diese aktivieren wiederum CD8-Lymphozyten.(31) 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.(35) In der vorliegenden Arbeit führte die Antikörperfärbung mit CD8 bei den EPDK-Patienten zu einer häufigen Antigen-Antikörper-Reaktion.

Der ausschlaggebende Pathomechanismus der EDKP ist zwar unklar, aber es zeigt sich eine Entzündungsreaktion, welche teils auf einer autoimmunen Komponente, teils auf einer genetischen Prädisposition beruht und sowohl durch unspezifische als auch durch adaptive Immunantworten veranlasst wird. Die primäre T-Zell-Aktivierung ist jedoch noch nicht vollständig erläutert. Bereits erwähnte Traumata oder Medikamentreaktionen könnten die Aktivierung der Zellen veranlassen, welche in weiterer Folge vor allem durch Interferonexpression-Freisetzung reagieren und die Rekrutierung von Th1- und Th17-Lymphozyten induzieren. Forschungen lassen im Rahmen anderer Erkrankungen wie die Psoriasis darauf schließen, dass sowohl CD4+, als auch CD8+ T-Zellen, wesentlich an der Immunreaktion beteiligt sind.(36, 37) Jedoch erweist sich der auslösende Mechanismus als Inhalt noch offener Forschungsfragen.

Patienten mit akuten oder chronisch inflammatorischen Erkrankungen zeigten eine erhöhte Expression von CD14 auf phagozytotischen Zellen. (38) In keinen Studien wurde gezeigt, dass CD-14 eine bedeutsame Schlüsselrolle für EPDK spielt; jedoch zeigten verschiedene Studien, dass CD-14 vor allem in Zusammenspiel mit dem humanen Toll-like-Rezeptor als Zielmolekül für das Endotoxin Lipopolysaccharid (LPS) von gram-negativen Bakterien dient. Wenn der CD14-Rezeptor mit Lipopolysacchariden in Berührung kommt, aktiviert er seine Zelle zur Ausschüttung von TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  und vermittelt so eine entsprechende Entzündungsreaktion. Die CD14-Expression selber wird durch TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  verstärkt, solange Lipopolysaccharide anwesend sind.(25) Die LPS-induzierte TLR-Aktivierung löst eine Entzündung des Wirts aus, indem sie die zelluläre Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, Chemokinen und Zelladhäsionsmolekülen antreibt. An der lokalen Infektionsstelle ist die entzündungsfördernde Signalgebung, die sich aus dem CD14-Shuttle ergibt, schützend und führt zu einer lokalen Beseitigung eindringender Bakterien. Eine weit verbreitete Infektion und Aktivierung dieses entzündungsfördernden Signalsystems kann jedoch zum Tod durch Sepsis führen.(39) Dies weist darauf hin, dass diese Entzündungsachse ein potenter Treiber der Krankheitspathologie der EPDK sein könnte.

Es stellt sich die Hypothese, dass das Immunsystem mit zunehmendem Alter an Treue und Effizienz abnimmt, was zu einer erhöhten Anfälligkeit für Immun- und Barrieredysfunktionen und pathologischen Zuständen im Zusammenhang mit Entzündungen oder Autoreaktivität führt. Diese allgemeine Veränderung der Immunität wird als „Immunoseneszenz“ bezeichnet. Mit der Immunoseneszenz ist das Immunsystem weniger in der Lage, auf fremde Antigene zu reagieren und die Toleranz gegenüber sich selbst aufrechtzuerhalten.(40)

Der Begriff „Inflamm-Aging“ wurde geprägt, um das Phänomen einer chronischen Aktivierung des angeborenen Immunsystems auf niedrigem Niveau zu beschreiben, was zu erhöhtem oxidativem Stress führt.(40) Es ist bekannt, dass das alternde Immunsystem eine geringere Toleranz gegenüber sich selbst und eine erhöhte Autoreaktivitätsrate aufweist.(40) Eine EPDK kann mit anderen Autoimmunerkrankungen assoziiert sein.(40)

Die bereits in der Literatur beschriebenen Behandlungen befassen sich mit der zugrunde liegenden Pathophysiologie der Immundysregulation, die mit einer schlechten Wundheilung bei einer EPDK einhergeht. Die Hauptstütze der Behandlung ist die Immunsuppression mit topischen superpotenten Kortikosteroiden oder systemischem Prednison oder anderen topische Therapien wie Calcineurin-Inhibitoren. Als weitere Therapie wurde Dapson eingesetzt, um die abnorm übertriebene Immunreaktion bei diesen Patienten zu bekämpfen. Auch Retinoide, die das Immunsystem unterdrücken, indem sie die Toll-like-Rezeptor-2-vermittelte Immunantwort normalisieren, haben sich in einigen Fällen als wirksam erwiesen.(40)

Einige sehr aktuelle Studien zeigen außergewöhnliche Ergebnisse in der Therapie von dermatologischen Erkrankungen mit monoklonalen Antikörpern, welche die Wirkung des Interleukins blockieren. Die in dieser Arbeit nachgewiesene, sehr starke und signifikante Expressierung von CD-14 bei EPDK-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe deutet darauf hin, dass CD-14 eine außerordentlich wichtige und bedeutsame Rolle in der Pathogenese der EPDK spielt.

Die therapeutische Reaktion auf Biologicals unterstützt die zentrale Rolle der Tumor-Nekrose-Alpha / Interleukin (IL)-Achse bei der Pathogenese der EPDK. In Studien wurde beobachtet, dass Biologicals wie Anti-Interleukin-17-Agents, Ustekinumab (IL12/23-Antibody) und Phosphodiesterase Typ-4 Inhibitoren, bei der langfristigen Bekämpfung von refraktären Fällen, vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung von Psoriasis gezeigt haben, so kann angeregt werden, diese Methode ebenfalls bei EPDK-Patienten anzuwenden.

Besetzt man die CD14-Moleküle mit blockierenden anti-CD14 monoklonalen Antikörpern (also Antikörpern, die die Ligandenbindungsstelle des Rezeptors verdecken), so kann man die Infektionskaskade blockieren oder mit einem TNF-alpha-Hemmer therapieren.

Aktuell gibt es auf dem Markt TNF-alpha-Antikörper/Biologicals wie z.B.

Infliximab (Remicade®)

Adalimumab (Humira®)

Certolizumab (Cimzia®).

Es handelt sich hierbei um pharmazeutisch hergestellte Antikörper, d.h. Eiweiße, die sich an Botenstoffe der Entzündung im Körper (d.h. TNF-alpha) heften und so Entzündungsreaktionen bremsen können. Diese Medikamente kommen bei verschiedenen menschlichen Entzündungskrankheiten zum Einsatz: v.a. bei rheumatischen Erkrankungen des Skelettsystems und bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sowie bei der Psoriasis.(41)

Der ausschlaggebende Pathomechanismus der EDKP ist zwar unklar, aber im Rahmen dieser Arbeit basiert der gemeinsame Hauptaspekt auf einer fehlregulierten Immunantwort, welche durch teils nachgewiesene, teils noch unbekannte Ursachen zu Stande kommt und auf einem Zusammenspiel von vielen verschiedenen ätiologischen Faktoren beruht. Es zeigen sich gehäuft Triggermechanismen, welche die Immunreaktion beeinflussen.

Hauptaugenmerk der Forschung bei der Therapie von Dermatosen sollten pathogenetisch relevante Mechanismen als Angriffspunkt für pharmakotherapeutische Interventionen sein.

Sowohl Lokalthérapien mit Calcineurininhibitoren als auch topische Kortikosteroide weisen wesentliche dermatologische Nebenwirkungen auf. Calcineurininhibitoren gehen mit einem erhöhten Malignomrisiko einher und sollten mit besonderer Vorsicht gehandhabt werden. Ziel der Systemtherapie ist eine Immunmodulation durch Immunsuppression, wodurch es zu einem erhöhten Risiko für gravierende Infekte und maligne Entartungen kommen kann. Im Rahmen einer Kortikosteroid Therapie kann es als Nebenwirkung zum Cushing-Syndrom sowie zu einer opportunistischen Infektion kommen. Der therapeutische Nutzen der anti-hyperkeratotischen Retinoidwirkung überwiegt im Vergleich zu dessen möglichen Problematiken, wodurch mit regelmäßigen Kontrolluntersuchungen Retinoide als eine Therapieoption der ersten Wahl für solche Prozesse Anwendung finden könnten.(42-46)

Die vorliegende Auswertung verdeutlicht durch die sehr hohe Signifikanz die bedeutende Rolle dieser regulatorischen Proteine CD8/14 in der Pathogenese der EPDK. Demzufolge können die wesentlichen immunologischen Einflussfaktoren als neue Wirkungsorte für pharmakologische Interventionen erforscht werden, um in weiteren Schritten die Entwicklung neuartiger pharmakologischer Wirkstoffe zu ermöglichen oder auch bereits entwickelte Medikationen gezielter einsetzen zu können. Somit liegt das Hauptaugenmerk auf der Erweiterung des pathogenetischen Verständnisses, um folglich Medikationen unter bestmöglichem Nutzen-Risikoverhältnis für EPDK-Patienten anzuwenden.

## 7. Zusammenfassung

Die EPDK ist eine selten chronische entzündliche Erkrankung. Sie kommt häufig in höherem Lebensalter und öfter bei Frauen vor. Die Hautveränderungen der EPDK sind erosive, krustige, konturlose pustulöse Veränderungen an der kahlen Kopfhaut. Die Patienten klangen nicht über Schmerzen, sondern lediglich über einen anhaltenden Juckreiz.

Die EPDK tritt häufig bei Menschen mit lichtgeschädigter Kopfhaut spontan oder nach Infektionen bzw. Wundheilungsstörungen auf.

Das Wissen über die Existenz dieser Erkrankung ist sehr begrenzt und wird selten als Differenzialdiagnose in Betracht gezogen.

Die Erkrankung zeigt eine verzögerte Heilungstendenz bis hin zu einem therapierefraktären Verlauf.

Für EPDK-Patienten gibt es derzeit keine allgemeinen Therapieempfehlungen. Als mögliche Therapieoptionen werden orale und topische Steroide, Tacrolimus, eine photodynamische Therapie (PDT) und einfache Wundverbände mit antiseptischen Maßnahmen aufgeführt.

Der genaue Pathomechanismus wie auch die genaue Ätiologie dieser Erkrankung sind noch ziemlich unklar und in der Literatur sind kaum genaue Daten vorhanden.

Die erosive pustulöse Dermatose der Kopfhaut wird oft falsch diagnostiziert, jedoch zeigt die EPDK charakteristische trichoskopische Merkmale, nämlich eine schwere Hautatrophie mit Erosionen, Krusten und Haarzwiebeln, die durch die Epidermis sichtbar sind, was eine Diagnose ermöglichen kann.

Die EPDK spricht sehr gut auf eine topische Therapie mit hochwirksamen Steroiden oder Tacrolimus an, die in diesem Zustand als Erstlinienbehandlung in Betracht gezogen werden sollten. Laborchemisch zeigen sich keine Auffälligkeiten.

Diese Arbeit befasst sich jedoch mit den Immun-Zellen, die häufig in den infizierten Arealen gegenüber der normalen Haut vorkommen und bei der Krankheitsentstehung, Diagnostik und Therapie in Zukunft eine wichtige Rolle spielen werden.

Hierfür wurden Biopsien der normalen Haut von sechs Patienten gegenüber elf Biopsien der infizierten Haut untersucht.

Die Biopsien wurden durch Verfahren der Gewebeaufbereitung für die mikroskopische Untersuchungen als Gewebeschnitte hergestellt. Diese Schnitte wurden danach immunhistochemisch angefärbt und im Anschluss fünf bis sechs Bildzonen mit der maximalen Anzahl von Antigenpräsentierten Arealen abfotografiert und durch ein computergesteuertes Aufzählungssystem erfasst und in Excel-tabellen übertragen. Die Häufigkeiten wurden anschließend in Form von Diagrammen dargestellt.

Zum Schluss ergibt sich ein Vergleich aus diesen beiden Gruppen.

Die Untersuchung basierte auf der Anzahl der häufigen Antikörper in den jeweiligen Gruppen.

Bei der EPDK zeigte sich eine hohe Anzahl an CD-14 und CD8.

Zukunftsorientiert ermöglicht der Zugewinn dieser Neuerkenntnisse sowie der Ansatz eines tieferen Einblicks in die Pathogenese der Dermatosen, einen erweiterten Ansatz in Bezug auf eine Therapieoption, da diese Erkrankung und vor allem deren Therapie eine große Herausforderung darstellt.

Demzufolge können die wesentlichen immunologischen Einflussfaktoren als neue Wirkungsorte für pharmakologische Interventionen erforscht werden, um in weiteren Schritten die Entwicklung neuartiger pharmakologischer Wirkstoffe zu ermöglichen oder bereits entwickelte Medikationen gezielt einsetzen zu können. Somit liegt ein Hauptaugenmerk auf der Erweiterung des pathogenetischen Verständnisses, um folglich Medikationen unter bestmöglichem Nutzen-Risikoverhältnis für EPDK-Patienten anzuwenden.

Die Grundlage der beschriebenen Pathomechanismen basiert vor allem auf einer Dysregulation der Immunreaktion.

Für die Unterbindung einer fehlgesteuerten Immunantwort erweist sich im Rahmen eines zukunftsorientierten Behandlungsschemas insbesondere die Anwendung von Biologikapräparaten als erfolgsversprechend, da diese gezielt wesentliche Komponenten der Entzündungskaskade inhibieren.

Vor allem werden die Medikamente noch im Off-label-use, wie anfangs Omalizumab bei Urtikaria, meist für die Behandlung schwerwiegender dermatologischer Krankheitsbilder angewendet, könnten diese Wirkstoffe zukünftig einen wertvollen Bestandteil der etablierten Standardtherapieoptionen bilden. Daraus würde in weiterer Folge eine wünschenswerte Erweiterung des Spektrums an verfügbaren Therapieoptionen resultieren.

Im Zuge geringer Inzidenzzahlen und der einhergehenden geringen Studienlage liegen oftmals keine definierten Behandlungswege als Standardtherapieschema vor, wodurch die Wahl eines Standardtherapeutikums bereits Hürden mit sich bringt. Auf Grund dieser geringen Datenlage finden neue Präparate, hierbei vor allem biologische Wirkstoffe, trotz des hohen Erfolgspotentials vor allem im Off-label-use oder als Alternativoptionen nur aktuell eine Anwendung. Um die Zulassung für neue Pharmakotherapeutika zu ermöglichen und einen standardisierten Therapieweg zu entwickeln, bedarf es an umfassenderen Fallstudien mit Einbeziehung eines größeren Patientenkollektives.

Bei der langfristigen Bekämpfung von refraktären Fällen sollte ein Therapieansatz die Verwendung von blockierenden anti-CD14 Antikörpern sein (also Antikörpern, die die Ligandenbindungsstelle des Rezeptors verdecken), so kann eine Blockade der Infektionskaskade bewirkt werden.

Die vorliegende Auswertung verdeutlicht durch die sehr hohe Signifikanz die bedeutende Rolle dieser regulatorischen Proteine in der Pathogenese von EPDK.

Es sollten gemeinsame Standpunkte betreffend ätiologischer, pathogenetischer und therapeutischer Ansichtsweisen erhoben werden, da eine überregulierte Fehlreaktion der Immunantwort die Basis entzündlicher, nicht-infektiöser Hautkrankheiten bildet. Es zeigen sich wesentliche Gemeinsamkeiten wie eine immunologische Triggerung, Antigenreaktionen, sowie eine überschießende Reaktion des umliegenden Gewebes, welche die fehlregulierten Immunantworten darstellen, deren Ätiologie und Pathomechanismen jedoch noch unklar sind. Dementsprechend sollten pharmakologische Immunmodulatoren als gemeinsame Therapieoption in Betracht gezogen werden, deren Ziel eine Reduktion wie auch Unterbindung der immunologischen Fehlreaktionen sein sollte.

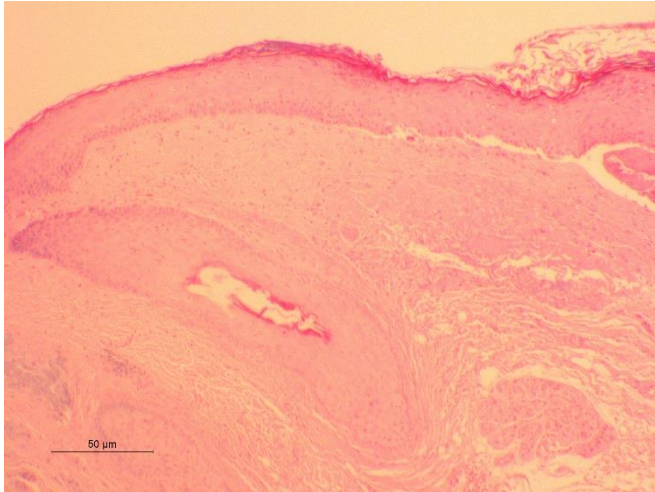
Aufgrund eines geringen Patientenkollektivs, das von Dermatosen betroffen ist, existieren keine einheitlichen therapeutischen Richtlinien. Darüber hinaus kommen insbesondere Therapeutika wie Biologicals im Off-label-use zu vermehrtem Einsatz und die Etablierung und Zulassung neuartiger Medikation stellt aufgrund der geringen Studienlage eine Herausforderung dar. Schlussendlich zeigen biologische und nicht-biologika-basierende Therapieoptionen Potential für die zukünftige Anwendung im klinischen Alltag, sobald eine ausreichende Datenlage vorgelegt werden kann. Ebenso könnten experimentelle Ansätze sowie ein erweitertes Verständnis über immunologische Hintergründe zukünftig zu einer Neuorientierung in der dermatologischen Pharmakotherapie beitragen und die Etablierung von Therapierichtlinien begünstigen.

## 8. Anhang histologische Übersichtsbilder; HE-Färbung

### 8.1 Patienten mit erosiver pustulöser Dermatitis

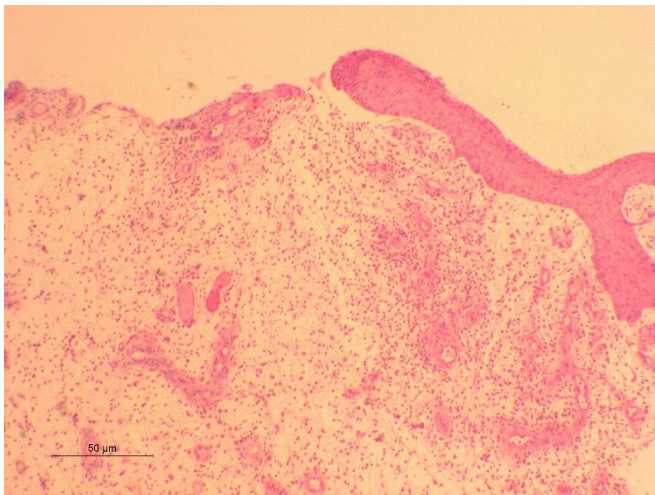
#### 8.1.1 Patient 1

(660-17, weiblich, 77 Jahre, DD: Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



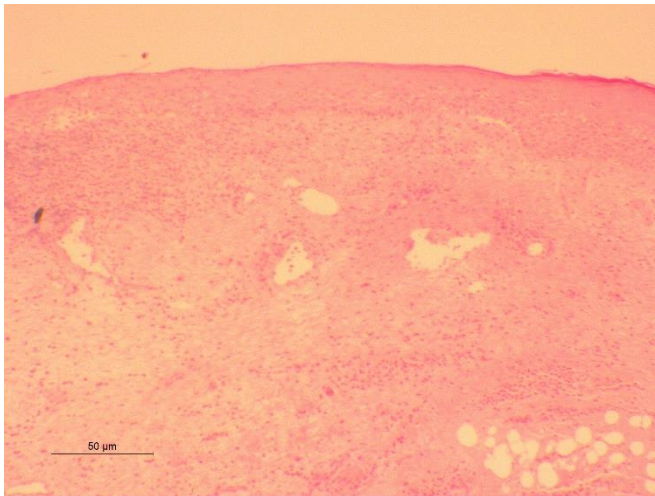
#### 8.1.2 Patient 2

(3464-17, männlich, 80 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



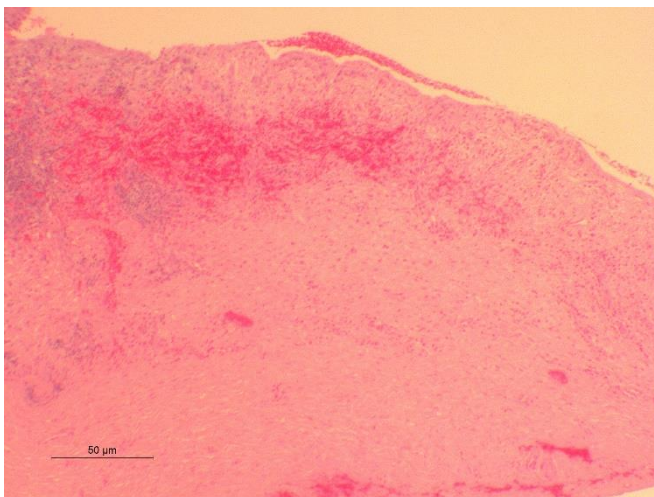
8.1.3 Patient 3

(4989-17, weiblich, 66 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums)



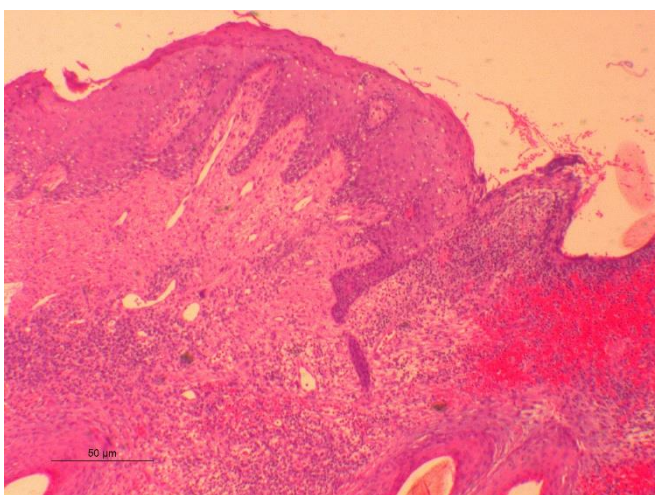
8.1.4 Patient 4

(0705-18, weiblich, 83 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums)



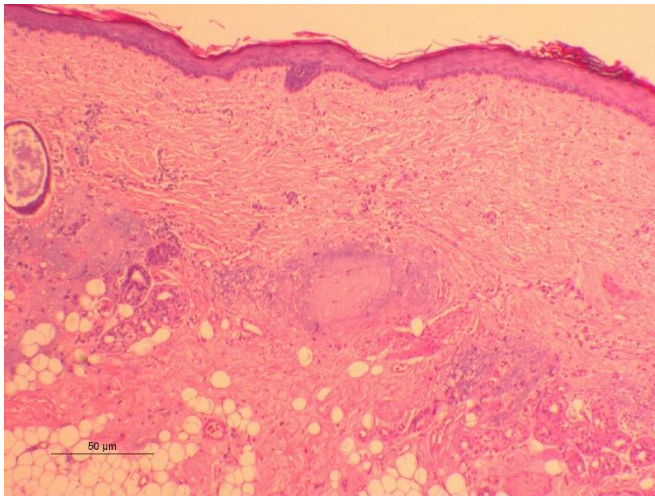
8.1.5 Patient 5

(0721-18, weiblich, 54 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums)



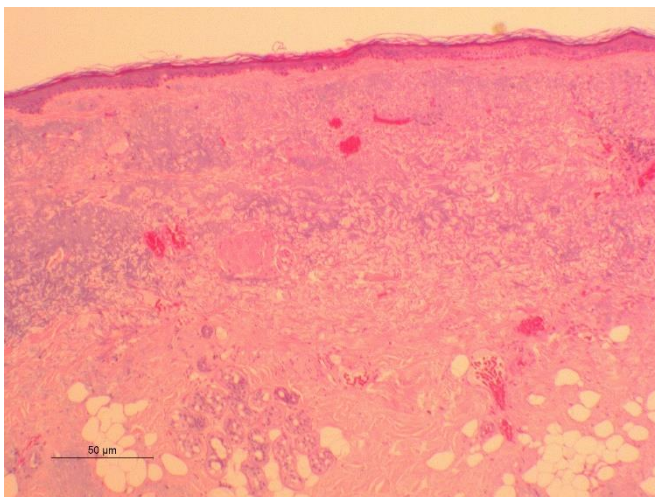
8.1.6 Patient 6

(1379-18, weiblich, 90 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



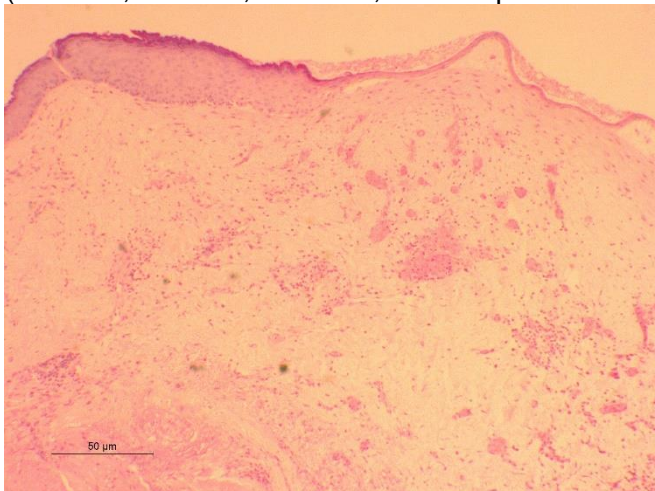
8.1.7 Patient 7

(1380-18, weiblich, 90 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



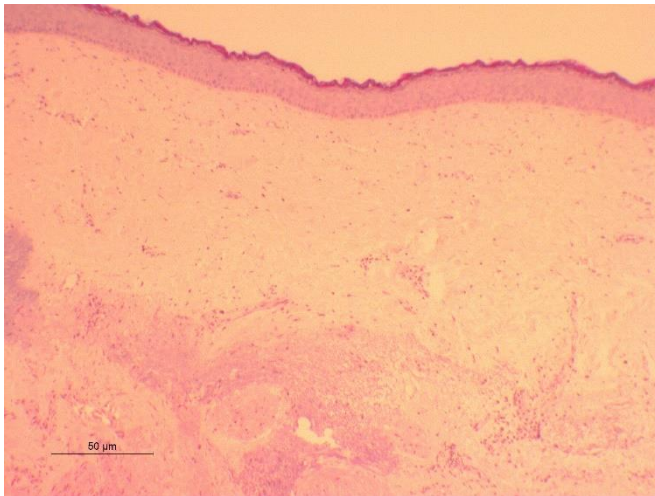
8.1.8 Patient 8

(1450-18, weiblich, 71 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



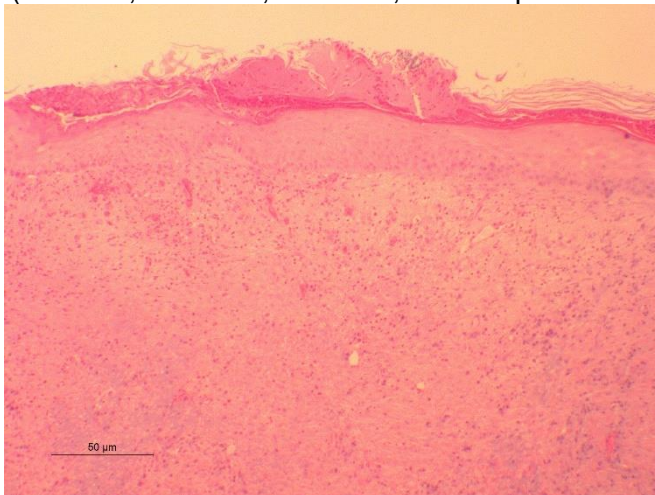
8.1.9 Patient 9

(1451-18, weiblich, 71 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



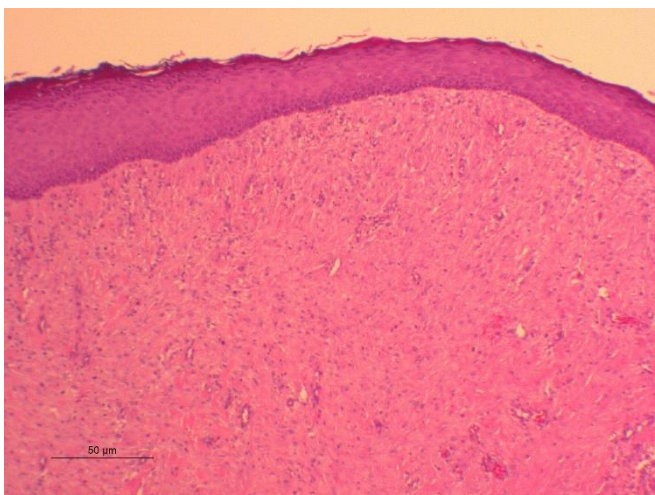
8.1.10 Patient 10

(1456-18, männlich, 76 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



8.1.11 Patient 11

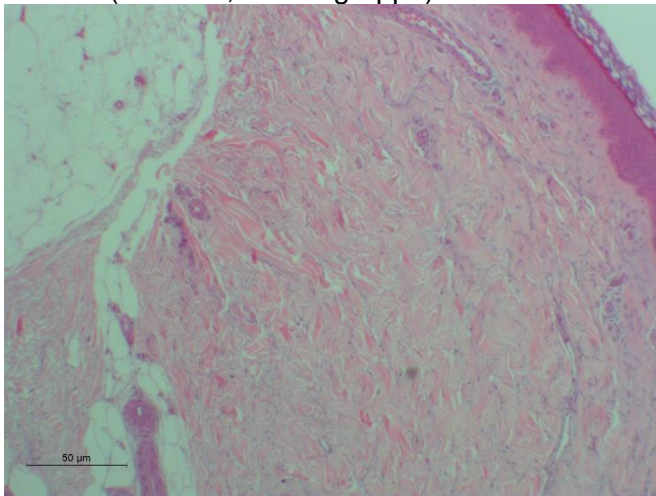
(1775-18 II, männlich, 81 Jahre, Erosive pustulöse Dermatose des Kapillitiums):



## 8.2 Patienten mit normaler Haut

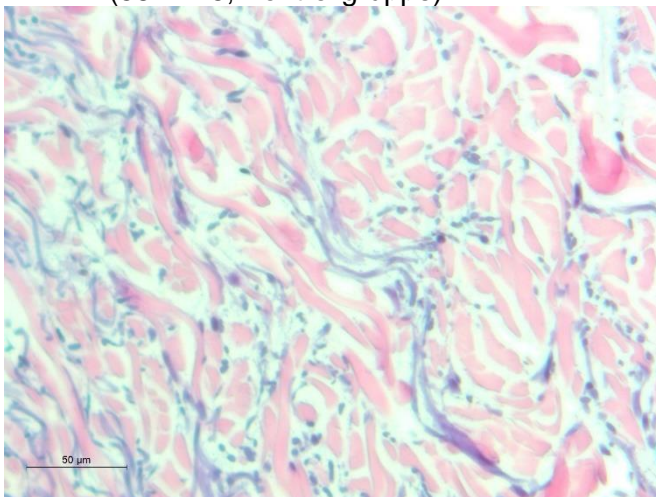
### 8.2.1 Patient 1

(2548-16, Kontrollgruppe):



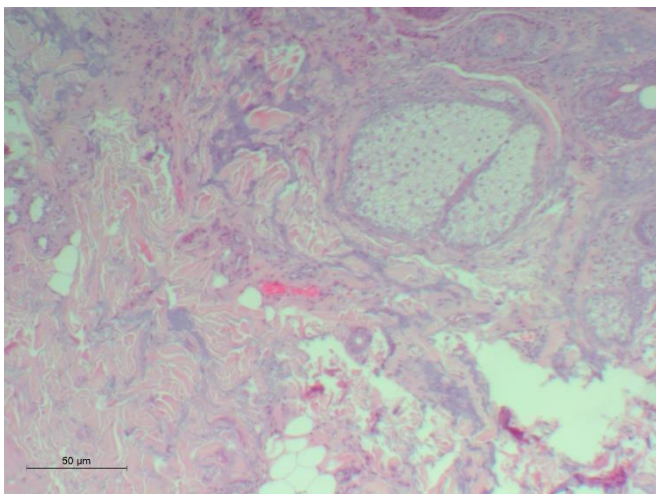
### 8.2.2 Patient 2

(5811-15, Kontrollgruppe):



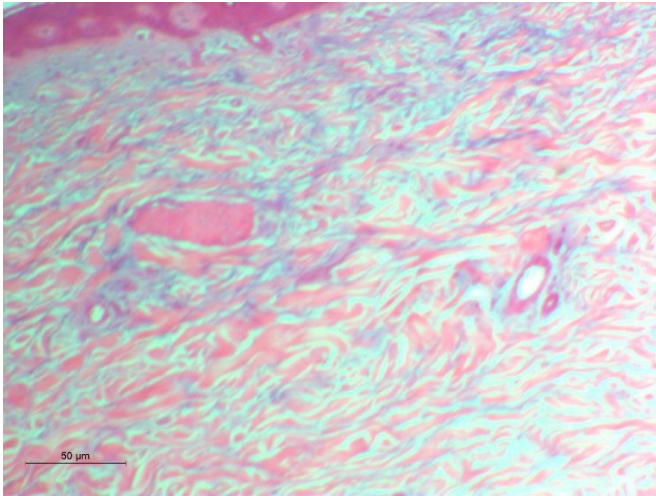
### 8.2.3 Patient 3

(5775-15, Kontrollgruppe):



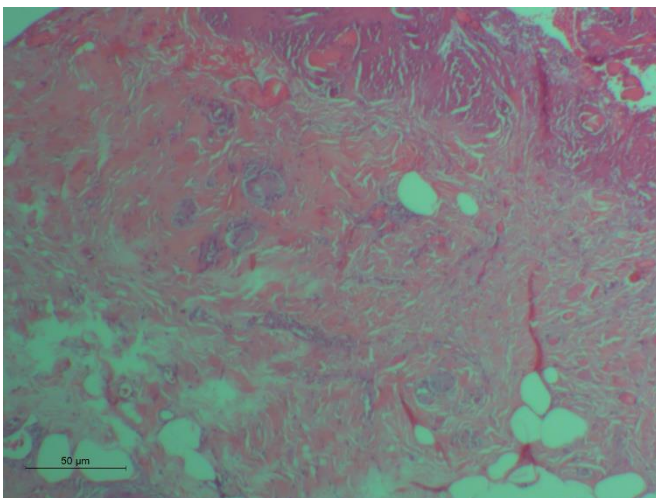
#### 8.2.4 Patient 4

( 5763-15, Kontrollgruppe):



#### 8.2.5 Patient 5

(4510-15, Kontrollgruppe):



## 13. Literaturverzeichnis

1. <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/a-1015-4768#JR075-15>.
2. Wilk M, Zelger BG, Hauser U, Höpfl R, Zelger B. Erosive pustulöse Dermatose der Kopfhaut: Neubewertung einer zu wenig beachteten Entität. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2018;16(1):15-20.
3. Mehmi M, Abdullah A. Erosive pustular dermatosis of the scalp occurring after partial thickness skin graft for squamous cell carcinoma. *Br J Plast Surg.* 2004;57(8):806-7.
4. Burton JL. Case for diagnosis. Pustular dermatosis of scalp. *Br J Dermatol.* 1977;97 Suppl 15:67-9.
5. Pye RJ, Peachey RD, Burton JL. Erosive pustular dermatosis of the scalp. *Br J Dermatol.* 1979;100(5):559-66.
6. <https://www.altmeyers.org/de/dermatologie/erosive-pustulose-dermatose-des-capillitiums-960>.
7. Karanfilian KM, Wassef C. Erosive pustular dermatosis of the scalp: causes and treatments. *Int J Dermatol.* 2021;60(1):25-32.
8. <https://de.slideshare.net/klinikumlippe/die-erosive-pustulose-dermatose-der-kopfhaut-epds-zu-hufig-als-wundheilungsstrung-fehlinterpretiert>.
9. Herbst JS, Herbst AT. Erosive pustular dermatosis of the scalp after contact dermatitis from a prosthetic hair piece. *JAAD case reports.* 2017;3(2):121-3.
10. Piccolo V, Russo T, Bianco S, Ronchi A, Alfano R, Argenziano G. Erosive Pustular Dermatitis of the Scalp: Why Do We Miss It? *Dermatology.* 2019;235(5):390-5.
11. Wantz M, Perceau G, Goeldel AL, Grange F, Bernard P. [Erosive pustular dermatosis of the legs: retrospective study of 16 cases]. *Ann Dermatol Venerol.* 2011;138(2):93-9.
12. Vaccaro M, Barbuzza O, Borgia F, Cannavò SP. Erosive pustular dermatosis of the scalp following topical latanoprost for androgenetic alopecia. *Dermatol Ther.* 2015;28(2):65-7.
13. Guarneri C, Cannavò SP. Erosive pustular dermatosis of the scalp from topical minoxidil 5% solution. *Int J Dermatol.* 2013;52(4):507-9.
14. Wilk M, Zelger BG, Hauser U, Höpfl R, Zelger B. Erosive pustulöse Dermatose der Kopfhaut: Neubewertung einer zu wenig beachteten Entität. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft.* 2018;16(1):15-20.
15. Starace M, Patrizi A, Piraccini BM. Visualization of Hair Bulbs through the Scalp: A Trichoscopic Feature of Erosive Pustular Dermatitis of the Scalp. *International journal of trichology.* 2016;8(2):91-3.
16. Bieber T. Pustulöse Erkrankungen. In: Plewig G, Ruzicka T, Kaufmann R, Hertl M, editors. *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 721-5.
17. Roche-Kubler B, Monnin C, Aubin F, Dupond AS. Erosive pustular dermatosis of the scalp and thigh associated with skin graft recipient and donor sites. *Eur J Dermatol.* 2015;25(3):269-71.
18. Theiler M, Frieden IJ. High-Potency Topical Steroids: An Effective Therapy for Chronic Scalp Inflammation in Rapp-Hodgkin Ectodermal Dysplasia. *Pediatr Dermatol.* 2016;33(2):e84-7.
19. Mastroianni A, Cota C, Ardigò M, Minutilli E, Berardesca E. Erosive Pustular Dermatitis of the Scalp: A Case Report and Review of the Literature. *Dermatology.* 2005;211(3):273-6.
20. Di Lerna V, Ricci C. Familial erosive pustular dermatosis of the scalp and legs successfully treated with ciclosporin. *Clinical and Experimental Dermatology.* 2016;41(3):334-5.
21. Starace M, Alessandrini A, Baraldi C, Piraccini BM. Erosive pustular dermatosis of the scalp: challenges and solutions. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2019;12:691-8.
22. Boenisch T HC, DakoCytomation GmbH. *Handbuch immunchemische Färbemethoden.* 3. Aufl. ed. Hambudrg2003.85 S p.

23. Brändli M.  
<https://de.wikipedia.org/wiki/Hybridom-Technik#/media/Datei:Hybridomtechnik.png>.
24. [https://de.wikipedia.org/wiki/Cluster\\_of\\_differentiation](https://de.wikipedia.org/wiki/Cluster_of_differentiation).
25. [https://www.chemie.de/lexikon/CD14-Rezeptor.html#\\_note-Rivest/](https://www.chemie.de/lexikon/CD14-Rezeptor.html#_note-Rivest/).
26. Pugin J, Heumann ID, Tomasz A, Kravchenko VV, Akamatsu Y, Nishijima M, Glauser MP, Tobias PS, Ulevitch RJ (1994) CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1:509-516.
27. Jiang Q, Akashi S, Miyake K, Petty HR (2000) Lipopolysaccharide induces physical proximity between CD14 and toll-like receptor 4 (TLR4) prior to nuclear translocation of NF-kappa B. *J Immunol* 165:3541-3544.
28. <https://flexikon.doccheck.com/de/CD8-Rezeptor#:~:text=Als%20CD8%2DRezeptor%20oder%20einfach,von%20k%C3%B6rperfremden%20Peptiden%20unterscheiden%20k%C3%B6rnerzellen>.
29. <https://www.chemie.de/lexikon/CD8-Rezeptor.html>.
30. <https://de.wikipedia.org/wiki/CD8-Rezeptor>.
31. Roth E, Schober-Halper B, Wessner B. *Immunsystem. Molekulare Sport- und Leistungsphysiologie*: Springer; 2018. p. 265-88.
32. Lauffer F, Ring J. *Das Immunsystem der Haut. Aktuelle Rheumatologie*. 2015;40(02):118-23.
33. Quaresma JAS. Organization of the Skin Immune System and Compartmentalized Immune Responses in Infectious Diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2019;32(4).
34. 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.
35. Sabat R, Wolk K, Loyal L, Döcke WD, Ghoreschi K. T cell pathology in skin inflammation. *Semin Immunopathol*. 2019;41(3):359-77.
36. MediaJet. An arm covered with plaque type psoriasis [Internet]. 2013. Verfügbar unter: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:An\\_Arm\\_Covered\\_With\\_Plaque\\_Type\\_Psoriasis.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:An_Arm_Covered_With_Plaque_Type_Psoriasis.jpg) [zitiert 30. April 2020]
37. Chiricozzi A, Romanelli P, Volpe E, Borsellino G, Romanelli M. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 8. Januar 2018;19(1):179. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5796128/> [zitiert 25. März 2020];.
38. Nockher WA, Scherberich JE (1997) Expression and release of the monocyte lipopolysaccharide receptor antigen CD14 are suppressed by glucocorticoids in vivo and in vitro. *J Immunol* 158:1345-1352.
39. Kelley SL, Lukk T, Nair SK, Tapping RI. The crystal structure of human soluble CD14 reveals a bent solenoid with a hydrophobic amino-terminal pocket. *J Immunol*. 2013;190(3):1304-11.
40. Thuraisingam T, Mirmirani P. Erosive Pustular Dermatitis: A Manifestation of Immunosenescence A Report of 8 Cases. *Skin Appendage Disord*. 2018;4(3):180-6.
41. <https://www.medius-kliniken.de/standorte/medius-klinik-ostfildern-ruit/fachbereiche/innere-medizin-gastroenterologie-und-tumormedizin/fuer-patienten/behandlung-mit-biologika-tnf-alpha-hemmern/>.
42. Fritsch P. *Dermatologie Venerologie: Grundlagen. Klinik. Atlas*. 2. Aufl. 2004. Berlin: Springer; 2003. 5–400 S.
43. Lüllmann H, Mohr K, Wehling M, Hein L. *Pharmakologie und Toxikologie: Arzneimittelwirkungen verstehen - Medikamente gezielt einsetzen*. 18. überarbeitete. Stuttgart New York: Thieme; 2016.

44. Sarkar R, Chugh S, Garg VK. Acitretin in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 11. Januar 2013;79(6):759.
45. Quist SR, Kraas L. Therapieoptionen beim Pyoderma gangraenosum. *JDDG J Dtsch Dermatol Ges.* 2017;15(1):34–41.
46. Sbidian E, Chaimani A, Garcia-Doval I, Do G, Hua C, Mazaud C, u. a. Systemic pharmacological treatments for chronic plaque psoriasis: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 22. Dezember 2017;2017(12):CD011535. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6486272/>[zitiert 3. Mai 2020]; .