

Aus dem Fachbereich Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

betreut an der  
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
Direktor: Prof. Dr. Roland Kaufmann

**Vergleich des immunologischen Phänotyps der chronisch-  
entzündlichen Dermatosen Acne inversa, Sinus pilonidalis und  
Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Johann Wolfgang Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

vorgelegt von  
Sonja Claudia Außner  
aus Grünstadt

Frankfurt am Main, 2023

Dekan: Prof. Dr. Stefan Zeuzem

Referent: PD Dr. Andreas Pinter

Korreferent: Prof. Dr. Frank Günther Behrens

Tag der mündlichen Prüfung: 26.07.2023

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	X
Abkürzungsverzeichnis .....	XI
Zusammenfassung.....	1
Abstract.....	3
1. Einleitung.....	5
2. Theoretische Grundlagen .....	8
2.1 Aufbau der Haut.....	8
2.1.1 Hautanhangsgebilde .....	11
2.2 Indikationen .....	14
2.2.1 Acne inversa .....	14
2.2.2 Sinus pilonidalis.....	18
2.2.3 Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens.....	21
2.2.4 Psoriasis vulgaris als Positivkontrolle der proinflammatorischen Zytokine.....	25
2.2.5 Untersuchte Zytokine .....	29
3. Material und Methoden.....	41
3.1 Verwendete Chemikalien, Antikörper, Geräte und Software.....	41

3.2 Immunhistochemie.....	46
3.2.1 Proben.....	46
3.2.2 Versuchsaufbau .....	51
3.3 Auswertung der Ergebnisse.....	56
4. Ergebnisse .....	58
4.1 Immunhistologische Färbungen.....	58
4.1.1 Immunhistologische Färbungen mit IL-1 $\beta$ -Antikörper.....	60
4.1.2 Immunhistologische Färbungen mit IL-17A-Antikörper.....	66
4.1.3. Immunhistologische Färbungen mit IL-22-Antikörper.....	72
4.1.4 Immunhistologische Färbungen mit IL-23-Antikörper.....	77
4.1.5 Immunhistologische Färbungen mit TNF- $\alpha$ -Antikörper.....	84
4.2 Semiquantitative Auswertung .....	90
4.2.1 Auswertung des IL-1 $\beta$ -Antikörpers .....	90
4.2.2 Auswertung des IL-17A-Antikörpers.....	91
4.2.3 Auswertung des IL-22-Antikörpers .....	92
4.2.4 Auswertung des IL-23-Antikörpers .....	93
4.2.5 Auswertung des TNF- $\alpha$ -Antikörpers.....	94
5. Diskussion.....	95
5.1 Ziel und Fragestellung der Arbeit.....	95
5.2 Diskussion der Ergebnisse .....	96

5.2.1 IL-1 $\beta$ -Expression .....	96
5.2.2 IL-17A-Expression.....	97
5.2.3 IL-22-Expression .....	98
5.2.4 IL-23-Expression .....	99
5.2.5 TNF- $\alpha$ -Expression .....	101
5.2.6 Fumarsäureester und PDE-4-Hemmer als therapeutische Option .	102
5.3 Unklare Ätiologie des SP - Was spricht für eine isolierte Form der AI?	104
5.4 Diskussion von Material und Methoden .....	106
5.4.1 Proben und Versuche.....	106
5.4.2 Auswertung .....	109
6. Ausblick.....	111
7. Literaturverzeichnis .....	112
8. Schriftliche Erklärung .....	127

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Aufbau der Epidermis .....	10
<b>Abbildung 2:</b> Histologischer Schnitt einer gesunden Haut.....	11
<b>Abbildung 3:</b> Schaubild zu Hautanhangsgebilden .....	12
<b>Abbildung 4:</b> Klinisches Bild einer AI .....	15
<b>Abbildung 5:</b> Histologischer Schnitt einer AI.....	17
<b>Abbildung 6:</b> Klinisches Bild eines SP .....	19
<b>Abbildung 7:</b> Histologischer Schnitt eines SP .....	20
<b>Abbildung 8:</b> Klinisches Bild einer PCAS.....	22
<b>Abbildung 9:</b> Histologischer Schnitt einer PCAS .....	24
<b>Abbildung 10:</b> Klinisches Bild einer PSO .....	26
<b>Abbildung 11:</b> Histologischer Schnitt einer PSO.....	27
<b>Abbildung 12:</b> Angenommene IL-23-/Th17-Achse bei PSO .....	36
<b>Abbildung 13:</b> Zytokine in der Immunpathogenese der AI.....	38
<b>Abbildung 14:</b> Gitterraster zur Auswertung eines PCAS-Schnitts.....	57
<b>Abbildung 15 a) - f):</b> IL-1 $\beta$ PSO mit IK.....	60
<b>Abbildung 16 a) - f):</b> IL-1 $\beta$ GH mit IK .....	61
<b>Abbildung 17:</b> IL-1 $\beta$ GH mit IK.....	61
<b>Abbildung 18 a) - f):</b> IL-1 $\beta$ AI mit IK .....	62
<b>Abbildung 19:</b> IL-1 $\beta$ AI mit IK.....	63

<b>Abbildung 20 a) - f): IL-1<math>\beta</math> SP mit IK.....</b>	<b>64</b>
<b>Abbildung 21: IL-1<math>\beta</math> SP mit IK .....</b>	<b>64</b>
<b>Abbildung 22 a) - f): IL-1<math>\beta</math> PCAS und IK.....</b>	<b>65</b>
<b>Abbildung 23: IL-1<math>\beta</math> PCAS mit IK .....</b>	<b>65</b>
<b>Abbildung 24 a) - f): IL-17A PSO mit IK.....</b>	<b>66</b>
<b>Abbildung 25 a) - f): IL-17A GH mit IK.....</b>	<b>67</b>
<b>Abbildung 26: IL-17A GH mit IK .....</b>	<b>67</b>
<b>Abbildung 27 a) - f): IL-17A AI mit IK.....</b>	<b>68</b>
<b>Abbildung 28: IL-17A AI mit IK .....</b>	<b>68</b>
<b>Abbildung 29 a) - f): IL-17A SP mit IK .....</b>	<b>69</b>
<b>Abbildung 30: IL-17A SP mit IK .....</b>	<b>70</b>
<b>Abbildung 31 a) - f): IL-17A PCAS mit IK .....</b>	<b>71</b>
<b>Abbildung 32: IL-17A PCAS mit IK.....</b>	<b>71</b>
<b>Abbildung 33 a) - f): IL-22 PSO mit IK.....</b>	<b>72</b>
<b>Abbildung 34 a) - f): IL-22 GH mit IK.....</b>	<b>72</b>
<b>Abbildung 35: IL-22 GH mit IK.....</b>	<b>73</b>
<b>Abbildung 36 a) - f): IL-22 AI mit IK.....</b>	<b>73</b>
<b>Abbildung 37: IL-22 AI mit IK.....</b>	<b>74</b>
<b>Abbildung 38 a) - f): IL-22 SP mit IK.....</b>	<b>75</b>
<b>Abbildung 39: IL-22 SP mit IK .....</b>	<b>75</b>

<b>Abbildung 40 a) - f): IL-22 PCAS mit IK.....</b>	<b>76</b>
<b>Abbildung 41: IL-22 PCAS mit IK .....</b>	<b>76</b>
<b>Abbildung 42 a) - f): IL-23 PSO mit IK.....</b>	<b>77</b>
<b>Abbildung 43 a) - f): IL-23 GH mit IK.....</b>	<b>78</b>
<b>Abbildung 44: IL-23 GH mit IK.....</b>	<b>78</b>
<b>Abbildung 45 a) - f): IL-23 AI mit IK.....</b>	<b>79</b>
<b>Abbildung 46: IL-23 AI mit IK.....</b>	<b>80</b>
<b>Abbildung 47 a) - f): IL-23 SP mit IK.....</b>	<b>80</b>
<b>Abbildung 48: IL-23 SP mit IK .....</b>	<b>81</b>
<b>Abbildung 49 a) - f): IL-23 PCAS mit IK.....</b>	<b>82</b>
<b>Abbildung 50: IL-23 PCAS mit IK .....</b>	<b>83</b>
<b>Abbildung 51 a) - f): TNF-<math>\alpha</math> PSO mit IK.....</b>	<b>84</b>
<b>Abbildung 52 a) - f): TNF-<math>\alpha</math> GH mit IK.....</b>	<b>85</b>
<b>Abbildung 53: TNF-<math>\alpha</math> GH mit IK.....</b>	<b>85</b>
<b>Abbildung 54 a) - f): TNF<math>\alpha</math> AI mit IK.....</b>	<b>86</b>
<b>Abbildung 55: TNF-<math>\alpha</math> AI mit IK.....</b>	<b>87</b>
<b>Abbildung 56 a) - f): TNF-<math>\alpha</math> SP mit IK .....</b>	<b>88</b>
<b>Abbildung 57: TNF-<math>\alpha</math> SP mit IK .....</b>	<b>88</b>
<b>Abbildung 58 a) - f): TNF-<math>\alpha</math> PCAS mit IK .....</b>	<b>89</b>
<b>Abbildung 59: TNF-<math>\alpha</math> PCAS mit IK.....</b>	<b>89</b>

<b>Abbildung 60:</b> Grafische Darstellung der Auswertung des IL-1 $\beta$ -Antikörpers .	90
<b>Abbildung 61:</b> Grafische Darstellung der Auswertung des IL-17A-Antikörpers .....	91
<b>Abbildung 62:</b> Grafische Darstellung der Auswertung des IL-22-Antikörpers .	92
<b>Abbildung 63:</b> Grafische Darstellung der Auswertung des IL-23-Antikörpers .	93
<b>Abbildung 64:</b> Grafische Darstellung der Auswertung des TNF- $\alpha$ -Antikörpers	94

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Einteilung des Schweregrades der Erkrankung nach Hurley .....	16
<b>Tabelle 2:</b> In dieser Arbeit für Immunhistochemie verwendete Chemikalien und Puffer.....	41
<b>Tabelle 3:</b> In dieser Arbeit für Immunhistochemie verwendete Antikörper.....	43
<b>Tabelle 4:</b> In dieser Arbeit für Immunhistochemie verwendete Geräte und zugehörige Software .....	44
<b>Tabelle 5:</b> Übersicht der Proben: AI, SP und PCAS, .....	48
<b>Tabelle 6:</b> Demografische Übersicht Acne inversa, Sinus pilonidalis, PCAS...	50
<b>Tabelle 7:</b> Demografische Übersicht Kontrollen.....	50
<b>Tabelle 8:</b> Scoring-System zur Bildauswertung .....	57
<b>Tabelle 9:</b> Auswertung des IL-1 $\beta$ -Antikörpers.....	90
<b>Tabelle 10:</b> Auswertung des IL-17A-Antikörpers .....	91
<b>Tabelle 11:</b> Auswertung des IL-22-Antikörpers.....	92
<b>Tabelle 12:</b> Auswertung des IL-23-Antikörpers.....	93
<b>Tabelle 13:</b> Auswertung des TNF- $\alpha$ -Antikörpers.....	94

## Abkürzungsverzeichnis

°C:	Grad Celsius
AI:	Acne inversa
ALA-PDT:	5-Aminolävulinsäure - induzierte photodynamische Therapie
AMP:	Antimikrobielle Proteine
Aqua dest.:	Destilliertes Wasser
cAMP:	zyklisches (cyclic) Adenosinmonophosphat
CED:	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
DAMPS:	Damage Associated Molecular Patterns
d. h.:	das heißt
DLQI:	Dermatology Life Quality Index
ELISA:	Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay
et al.:	et alii – und andere (umfasst die Mitautoren)
FO:	Folliculitis, hier synonym für PCAS verwendet
GH:	Gesunde Haut
h:	Stunde
HE-Färbung:	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HS-PGA:	Hidradenitis Suppurativa Physician Global Assessment
IgG:	Immunglobulin G

IHC:	Immunhistochemie
IHS4:	International Hidradenitis Suppurativa Severity Score System
IK:	Isotypkontrolle
IL:	Interleukin
IL-22-BP:	IL-22 binding protein
IFN- $\gamma$ :	Interferon-gamma
KDVA:	Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
KGF:	Keratinocyte Growth Factor
Ktrl:	Kontrolle
$\mu$ g:	Mikrogramm
$\mu$ l:	Mikroliter
min:	Minute
mRNA:	Messenger Ribonucleic Acid
nm:	Nanometer
NF $\kappa$ B:	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
NK-Zellen:	Natürliche Killer Zellen
o. g.:	oben genannt
OT:	Objektträger
PAMPS:	Pathogen Associated Molecular Patterns

PBS:	Phosphate buffered saline
PBS-T:	Phosphate buffered saline + Tween <sup>®</sup> 20 (Polysorbat)
PDE-4:	Phosphodiesterase-4
PCAS:	Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens
PSO:	Psoriasis vulgaris
PUVA:	Psoralen + UV-A-Strahlen
RA:	Rheumatoide Arthritis
RT:	Raumtemperatur
RT-qPCR:	Real Time-quantitative Polymerase Chain Reaction
sec:	Sekunden
sog.:	sogenannt/e/er
SP:	Sinus pilonidalis, Pilonidalsinus
TGF $\beta$ -1:	Transforming Growth Factor beta -1
Th:	T-Helfer-Zelle
TNF $\alpha$ :	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
u.a.:	unter anderem
UVB:	Ultraviolett-B
VAS:	Visuelle Analogskala
VEGF:	Vascular Endothelial Growth Factor
z.B.:	zum Beispiel

z.T.:

zum Teil

## Zusammenfassung

Chronisch-entzündliche Dermatosen sind in Deutschland weit verbreitet und haben einen enormen Einfluss auf die Lebensqualität der Erkrankten. Ferner stellen sie eine große Belastung für das Gesundheitssystem dar. Das umfassende Verständnis der molekularen Prozesse und Signalwege bildet die Basis, um mögliche Beziehungen zwischen den Hauterkrankungen aufzudecken. Der Nachweis von Ähnlichkeit und Übereinstimmung in den Signalwegen bietet die Aussicht, dass etablierte Therapien auch bei anderen Erkrankungen helfen können.

Der Zweck dieser Arbeit ist der Nachweis der Expression von IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22, IL-23 und TNF- $\alpha$  in drei chronisch-entzündlichen Dermatosen: Acne inversa (AI), Sinus pilondalis (SP) und Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens (PCAS). Bei allen untersuchten Diagnosen handelt es sich um potentiell verwandte Erkrankungen der Haarfollikel, die durch Verlegung der Ausführungsgänge zu ausgedehnten Entzündungsreaktionen mit Bildung von Knoten, Abszessen und Fisteln führen.<sup>1</sup> Bereits nachgewiesen ist, dass IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22, IL-23 und TNF- $\alpha$  eine wichtige Rolle in der Pathogenese von Acne inversa spielen und Antikörpertherapien an einigen dieser Zielproteine spezifisch angreifen, um den Verlauf der Erkrankung zu verbessern.<sup>2,3</sup>

Die Expression der Proteine wurde in Läsionen von Patienten mit den drei Indikationen immunhistochemisch an paraffiniertem Gewebe untersucht. Wie erwartet, zeigten sich in der überwiegenden Anzahl der Proben große entzündliche Infiltrate und hier wurde die Expression aller untersuchten Zytokine in unterschiedlicher Intensität nachgewiesen. Vielversprechend war insbesondere die Expression von IL-17A und IL-23 in SP und PCAS. Die Expression von IL-1 $\beta$  war insgesamt eher gering ausgeprägt; bei AI noch etwas höher als in SP und PCAS. Die Färbungen auf IL-22 zeigten sich kräftig in allen untersuchten Dermatosen. Allerdings gibt es bisher keine zugelassene Therapie zur Modulation dieses speziellen Zytokins. IL-22 scheint eine zentrale Rolle in

der Pathogenese der AI zu spielen.<sup>4</sup> Mit TNF- $\alpha$ -Blockern wurden schon gute therapeutische Ergebnisse bei AI und PCAS erzielt.<sup>5,6</sup> Deshalb ist der Nachweis von TNF- $\alpha$  in den entzündlichen Läsionen zu erwarten gewesen. Auch bei den SP-Proben fanden sich deutlich erhöhte Protein-Level, sodass auch hier eine gezielte Therapie von Vorteil sein könnte. Wegen des geringen Probenumfangs und der Methodik sind weitere gezielte Untersuchungen notwendig. Dennoch konnten viele Gemeinsamkeiten der Zytokinexpression ausgemacht werden, was vielversprechende Hinweise auf mögliche Behandlungsansätze bei AI, SP und PCAS zulässt. Diese Arbeit bietet einen ersten Blick auf den immunologischen Phänotyp der verwandten Dermatosen.

## Abstract

Chronic or recurrent inflammatory dermatoses are widespread in Germany and have an enormous impact on quality of life for patients. Additionally, they are a financial burden for healthcare and social care systems. Comparison and detailed understanding of the molecular processes and underlying pathways are of significant interest to uncover connections between different skin diseases. Revealing resemblances in the disease-driving pathways, open up the chance to redirect established treatment options of related skin conditions.

The objective of this thesis was to detect the expression of IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22, IL-23 and TNF- $\alpha$  in three different chronic dermatoses [Hidradenitis suppurativa/Acne inversa – (“AI”), Pilonidal sinus – (“PS”) and Dissecting folliculitis – (“DC”)]. All of the investigated skin conditions are based on the occlusion of hair follicles which leads to local inflammatory reactions with occurrence of nodules, abscesses and sinus tracts.<sup>1</sup> The expression of the five cytokines has already been shown in AI lesions.<sup>2</sup> Furthermore, therapies specifically targeting cytokines like anti-TNF- $\alpha$  biologics are already successfully used in AI patients.<sup>2,3</sup> Immunohistochemical staining on lesional samples of the dermatoses was performed to investigate the expression of IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22, IL-23 and TNF- $\alpha$ . Most samples showed great areas of inflammation and all cytokines could be found in differing intensity.

IL-1 $\beta$  expression was over all rather low but IL-17A and IL-23 expression in PS and DC showed promising results. Stainings of IL-22 were relatively intense in all three dermatoses and although IL-22 seems to play a crucial role in AI pathogenesis<sup>4</sup> a specific medication for its modulation is yet to be found and approved. Since anti-TNF- $\alpha$  biologics are already used for treatment of AI and partly DC,<sup>5,6</sup> TNF- $\alpha$  expression in all samples is no surprise. Additionally, high TNF- $\alpha$  expression in PS samples indicate a possible advantage from such individual therapy.

This examination gives a first look at the immunological phenotype of the three dermatoses. Due to small sample size and modalities of the method further specific investigations regarding these cytokines are necessary. Nevertheless, many similarities were found and give leads to additional plus achievable treatment options for AI, PS and DC.

## 1. Einleitung

Das Immunsystem schützt den Körper vor Krankheitserregern durch diverse Effektorzellen und Moleküle. Verantwortlich für die angeborene und erworbene Immunantwort sind die Aktivitäten der verschiedenen weißen Blutkörperchen (Leukozyten). Die Zellen der angeborenen Immunantwort umfassen Makrophagen, Granulozyten und natürliche Killerzellen; die der erworbenen (adaptiven) Immunantwort B- und T-Zellen.<sup>7(chap13)</sup> Bei einem gesunden Immunsystem regen externe Pathogene, z.B. Bakterienbestandteile, diese Zellen dazu an Zytokine und Chemokine auszuschütten, um eine Entzündungsreaktion hervorzurufen und der potentiellen Erkrankung optimal entgegenzuwirken.<sup>8(chap1)</sup> Die Durchlässigkeit der Gefäßwände wird erhöht, sodass Flüssigkeit, Proteine und Zellen in das Gewebe eindringen können. Die Anhaftungsfähigkeit der Gefäßwände wird gesteigert, damit weitere Zellen des Immunsystems sich anheften und an der Entzündungsreaktion beteiligen können. Dies führt zu sichtbaren Reaktionen des Gewebes wie Rötung, Schwellung, Überwärmung und Schmerz. Zytokine wirken in diesem Zusammenhang als Botenstoffe zwischen den Zellen.<sup>8(chap1)</sup>

Autoimmunerkrankungen basieren auf dem erworbenen Teil des Immunsystems, dabei wird ein Gewebeschaden durch die adaptive Immunreaktion auf körpereigene Antigene induziert.<sup>8(chap15)</sup> Autoinflammatorische Erkrankungen hingegen fußen auf dem angeborenen Immunsystem. Hierbei versagen die Prozesse zur Regulierung und Begrenzung der Entzündungsreaktion in beiden Anteilen des Immunsystems.<sup>8(chap13)</sup>

AI, SP und PCAS haben makroskopisch und mikroskopisch viele Gemeinsamkeiten. Es handelt sich bei allen Erkrankungen um chronisch entzündliche Prozesse, die unterschiedlich lokalisiert sind. Autoinflammatorische Mechanismen in Kombination mit opportunistischer und pathogener Keimbesiedlung spielen bei ihnen eine zentrale Rolle.<sup>1</sup>

Die morphologischen Gemeinsamkeiten liegen in der Bildung von schmerzhaften Knoten, tiefliegenden Abszessen und der Ausprägung von Fistelgängen. Im Verlauf kommt es zu Eiter- und Sekretabsonderungen sowie nach Ausbrennen der Entzündung zu ausgedehnter Narbenbildung, was an der Kopfhaut sekundär zu kahlen Stellen (Alopezie) führt.<sup>9</sup>

Da die AI sehr häufig multilokulär auftritt, haben verschiedene Autoren bereits die These aufgestellt, dass es sich bei den anderen beiden Erkrankungen um erweiterte Manifestationsorte oder pathophysiologisch eng verwandte Erkrankungen handeln könnte.<sup>6,10</sup>

Die klinischen Veränderungen der Haut führen zu Vorurteilen in der Bevölkerung, welche mit weitreichenden sozialen und psychischen Folgen für die Erkrankten einhergehen können.<sup>11</sup> Die Nachfrage nach wirksamen, sicheren und verträglichen Therapien ist dementsprechend hoch. Besonders von den Erkrankungen stark Betroffene, haben meist keine andere Wahl als die chirurgische Therapie. Der komplikationslose Erfolg und die Rezidivrate dieser Therapie können deutlich variieren.<sup>5,10</sup>

Die Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22 und IL-23 nehmen Schlüsselpositionen in entzündlichen Prozessen der Haut ein, was im Kapitel 2.2.5 *Untersuchte Zytokine* erläutert wird. Außerdem hat es aufgrund der Erforschung der Zytokinkonstellationen bei Psoriasis vulgaris (PSO) in den letzten beiden Dekaden eine Erweiterung der Therapiemöglichkeiten mit Antikörpertherapien gegeben (IL-23- und IL-17-Blocker).<sup>12</sup> Die molekularen Grundlagen sind umfassend erforscht worden.<sup>13</sup>

Es stellt sich die Frage, ob bei primärem oder rezidivierendem Auftreten von SP oder PCAS Antikörpertherapien ebenfalls eine Therapieoption darstellen könnten. Um weiter in diese Richtung zu forschen, ist die fundierte Kenntnis der zugrunde liegenden biochemischen Vorgänge und Signalwege notwendig. Nachdem die Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22 und IL-23 in AI-Proben bereits nachgewiesen wurden<sup>2</sup> (siehe auch Kapitel 2.2.1 *Acne inversa* und 2.2.5

*Untersuchte Zytokine*), ist das Ziel dieser Arbeit, in SP- und PCAS-Proben diese Zytokine ebenfalls mittels Immunhistochemie aufzuspüren.

## 2. Theoretische Grundlagen

### 2.1 Aufbau der Haut

Die Haut besteht aus drei Schichten: der Epidermis, der Dermis und der Subkutis. Der Begriff „Kutis“ fasst dabei die Epidermis und die Dermis zusammen (Vgl. **Abbildung 3**). Die Aufgaben der Haut sind vielfältig. Sie dient als Barriere gegen äußere Einflüsse, schützt vor Austrocknung und ist verantwortlich für die Thermoregulation. Da in der Haut zahlreiche Nerven enden, spielt sie außerdem eine wichtige Rolle in der Tastwahrnehmung und ist entscheidend bei Temperatur- und Schmerzempfinden.<sup>1</sup>

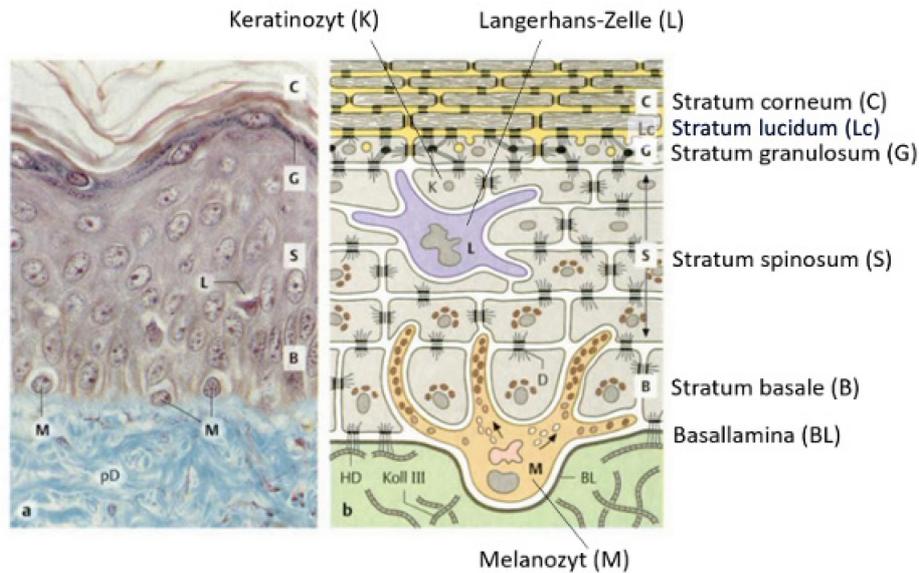
Die Epidermis, die oberste Hautschicht, ist durch eine ständige Zellerneuerung gekennzeichnet. Die gänzliche Erneuerung dauert bei einem gesunden Menschen durchschnittlich 28 Tage. Die Epidermis besteht aus einem mehrschichtig, verhorntem Plattenepithel. Sie wird wiederum in fünf Schichten unterteilt. Diese werden Stratum basale, Stratum spinosum, Stratum granulosum, Stratum lucidum und Stratum corneum genannt. Die untersten drei Schichten bestehen aus vitalen Keratinozyten, während das Stratum corneum aus abgestorbenen Hornzellen besteht. Durch diese Schichten passiert eine permanent andauernden Zellwanderung von der Basalmembran zum Stratum corneum, während derer sich die Zellen differenzieren.<sup>7(chap22)</sup>

Auf der Basallamina fußt das Stratum basale und schließt sich somit an die Dermis an. In dieser Schicht befinden sich die epidermalen Stammzellen. In gesunder Haut finden ausschließlich hier Mitosen statt. Durch die Proliferation ist der konstante Nachschub an Keratinozyten für die Erneuerung der obersten Hautschicht gewährleistet. Außerdem beginnt hier die Differenzierung der Zellen. In den Schichten Stratum spinosum und Stratum granulosum entwickeln sich die Zellen weiter und es werden die für den Verhornungsprozess nötigen Stoffe, wie z.B. Keratin, eingelagert. Das abschließende Stratum corneum besteht aus abgestorbenen Keratinozyten.<sup>9</sup>

Die Zellen verlieren bei ihrer Transition einen Großteil ihres Wassers, den Zellkern und die Zellorganellen. Wie in **Abbildung 1** zu erkennen ist, flachen sie durch diesen Prozess ab und sind deutlich von den vorherigen Schichten zu unterscheiden. Diese abgestorbenen Hautzellen werden an der Oberfläche ständig abgetragen und durch nachfolgende Zellen ersetzt.<sup>7(chap22)</sup>

Die Differenzierung dient dem Aufbau der äußerst widerstandsfähigen Hornschicht (Stratum corneum). Durch sie fungiert die Haut als Schutz vor mechanischen und chemischen Reizen, sowie als wasserdichte Diffusionsbarriere, die den Menschen vor dem Austrocknen schützt. Zugleich bietet sie eine antimikrobielle Schutzschicht und bewahrt vor dem Eindringen hydrophiler Stoffe.<sup>7(chap22)</sup>

Keratinocyten im gleichen Differenzierungsstadium, befinden sich auf der gleichen Ebene innerhalb der Epidermis. **Abbildung 1** zeigt den Aufbau der Epidermis. Sie besteht hauptsächlich aus Keratinocyten. Daneben sind zu 10 % Melanozyten (Pigmentierung), Langerhanszellen (Immunabwehr) und Merkel-Zellen (Tastsinn) vorhanden.<sup>7(chap22),9</sup>



**Abbildung 1:** Aufbau der Epidermis

a) Histologischer Aufbau b) Schematische Darstellung. Modifiziert nach Lüllmann-Rauch<sup>7(chap22)</sup>

a) Histologische Färbung der Epidermis am Beispiel einer Wangenhaut. Epidermis bräunlich gefärbt, Stratum papillare der Dermis bläulich gefärbt. b) Schematische Darstellung der vier Schichten der Epidermis: Stratum corneum (C), Stratum lucidum (Lc), Stratum granulosum (G), Stratum spinosum (S) und Stratum basale (B). Zelltypen der Epidermis: Keratinozyten (K) in unterschiedlichen Differenzierungsstadien, Langerhans-Zelle (L) und Melanozyt (M). Abtrennung von Epidermis zu Dermis durch Basallamina (BL).

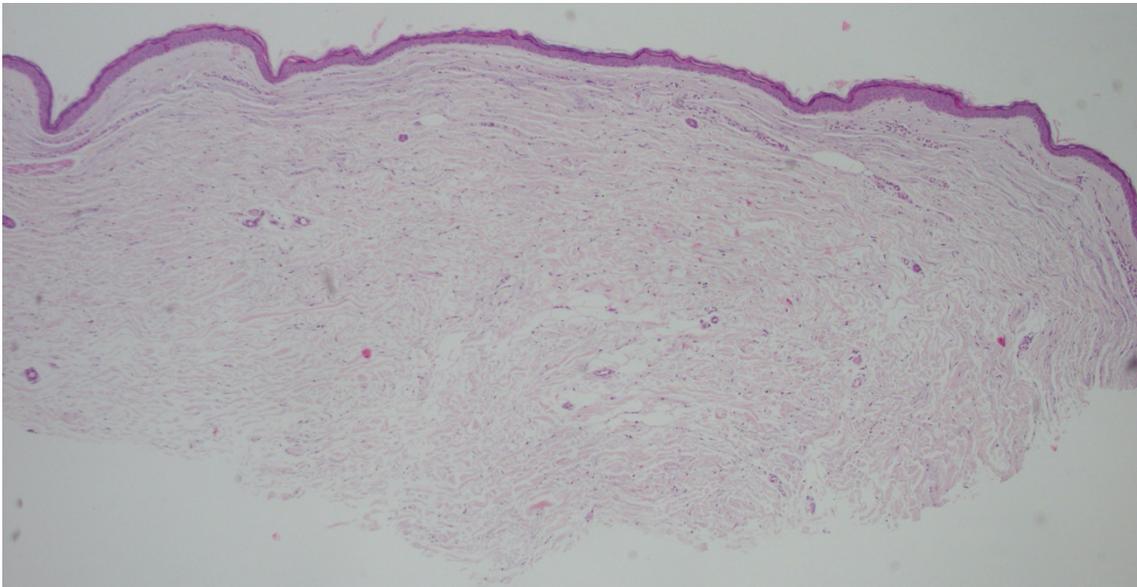
Über die dermo-epidermale Junctionszone ist die Epidermis fest mit der darunterliegenden Dermis verbunden. Es kommt zu einer Verzahnung der Dermis in die Reteleisten der Epidermis.<sup>7(chap22)</sup> Wird dieser Prozess gestört, ist eine verminderte Haftung der Epidermis auf der Dermis die Folge. Dies ist bei einigen Krankheitsbildern der Fall, zum Beispiel bei blasenbildenden Hauterkrankungen.<sup>14</sup>

Die Dermis setzt sich aus den zwei Schichten Stratum papillare und Stratum reticulare zusammen. Das Stratum papillare besteht aus lockerem Bindegewebe, das von dünnen Kollagen- und elastischen Fasern gebildet wird. Sie enthält außerdem viele lymphatische Zellen, wie Lymphozyten, Mastzellen und Makrophagen, sowie freie Nervenenden. Letztere verursachen den bei vielen Hauterkrankungen obligatorischen Juckreiz oder Schmerz. Im Gegensatz zum Stratum papillare handelt es sich beim Stratum reticulare um ein straffes,

geflechtartiges Bindegewebe mit kräftigen Kollagen- und elastischen Fasern. Es ist verantwortlich für die mechanische Belastbarkeit der Haut.<sup>7(chap22)</sup>

Außerdem befinden sich in der Dermis die endständigen Blutgefäße, sowie Hautdrüsen und Haarfollikel. Diese können zum Teil in die dritte Schicht, die Subkutis, übergehen. Diese Unterhaut wird aus einer subkutanen Fettschicht gebildet und dient als Verschiebeschicht und Druckpolster. Außerdem ist sie essentielle Energiereserve für unseren Körper.<sup>9</sup> Ferner sind die in dieser Arbeit untersuchten Entzündungen überwiegend in der Dermis lokalisiert.

**Abbildung 2** zeigt einen histologischen Schnitt einer gesunden Haut-Probe.



**Abbildung 2:** Histologischer Schnitt einer gesunden Haut

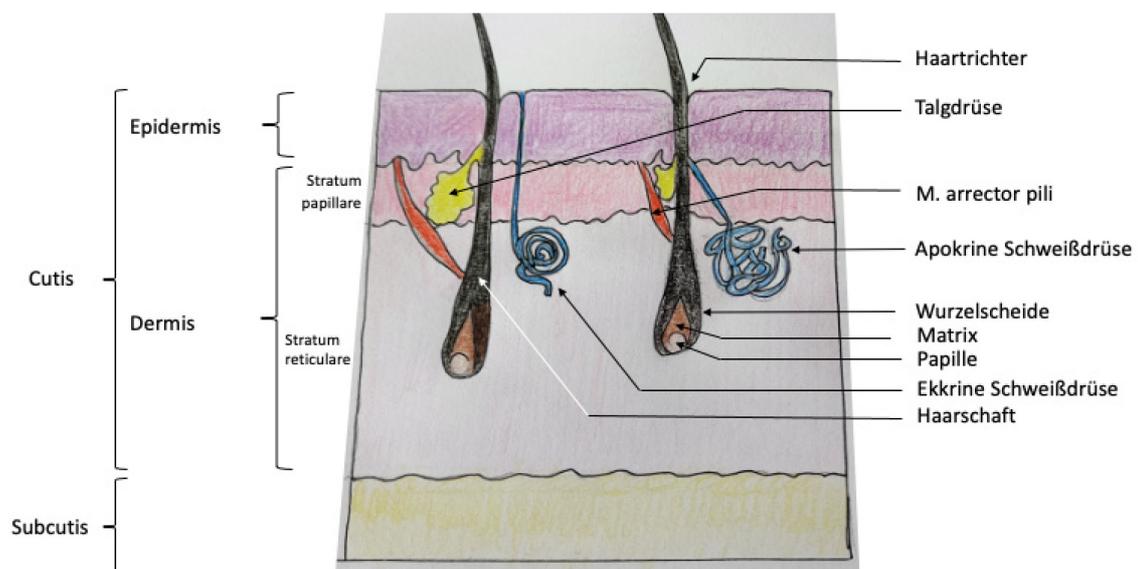
HE-Färbung, 4x Vergrößerung. Schmale Epidermis, wenige Zellen und Gefäße und Drüsen in der Dermis.

### 2.1.1 Hautanhangsgebilde

In **Abbildung 3** wird schematisch das Haar und die Drüsen der Haut als Hautanhangsgebilde dargestellt. Man kann zwei Grundtypen von Haaren unterscheiden: Vellushaare bedecken beim Kind und der Frau den Großteil des Körpers. Sie sind dünn (bis 20 $\mu$ m), kurz, wenig pigmentiert, ihr Follikel liegt in der Dermis. Terminalhaare hingegen sind dick (bis 100 $\mu$ m), pigmentiert und ihre

Follikel tiefer bis in die Subkutis reichend. Hierzu gehören das Haupthaar, Wimpern, Brauen, Achselhaar, Schamhaar und beim Mann Barthaare.<sup>7(chap22)</sup> Der allgemein als „Haar“ bezeichnete Teil, welches aus der Haut herausragt, ist das längere Ende des Haarschafts, der den vollständig verhornten Teil des Haares ausmacht. Dieser wiederum besteht zum Hauptteil aus Haarrinde und zum geringeren aus Mark. Das untere Ende des Haarschafts steckt in der Haut im Haarfollikel.<sup>7(chap22)</sup>

Den kolbig aufgetriebenen Boden des Haarfollikels nennt man Haarbulbus. Hier liegen die teilungsfreudigen Zellen der Haarmatrix, die das Haar wachsen lassen. Die Dermis bildet einen zellreichen bindegewebigen Fortsatz, der die Haarpapille bildet und von unten in den Haarbulbus hineinragt. Hier liegen auch Kapillaren zur Versorgung des Haares, sodass ohne Papille die Bildung des Haares nicht möglich ist.<sup>7(chap22)</sup>



**Abbildung 3:** Schaubild zu Hautanhangsgebilden

Modifiziert nach Lüllmann-Rauch<sup>7(chap22)</sup> und Amboss<sup>15</sup>

Am Haartrichter mündet der Follikel an die Oberfläche. In seinen Verlauf wiederum enden die Ausführungsgänge der Talgdrüsen und apokrinen

Schweißdrüsen. Talgdrüsen geben ein öliges Sekret ab (Sebum), das aus abgestorbenen fetthaltigen Epithelzellen gebildet wird. Es gibt apokrine und ekkrine Schweißdrüsen. Beide Typen bestehen aus einem langen, unverzweigten Schlauch, dessen Endstück stark aufgeknäult ist. Ekkrine Schweißdrüsen liegen im Stratum reticulare der Dermis und sind für die Thermoregulation entscheidend; ihre höchste Dichte liegt an Stirn, Hand- und Fußflächen vor. Apokrine Schweißdrüsen sind größer und liegen näher am Stratum papillare der Dermis. Sie sind für die Abgabe von Duftstoffe verantwortlich und befinden sich z. B. in Achsel-, Genital-, Perianalregion und um die Brustwarzen.<sup>15</sup>

Alle Drüsen liegen in direkter Nachbarschaft zur äußeren bindegewebigen Wurzelscheide, die den gesamten Follikel umgibt. Die inneren epithelialen Wurzelscheiden sind von ihr durch eine dicke Basalmembran getrennt. Diese Hüllen sind einerseits für die Verankerung des Haares und andererseits wegen multipotenter Stammzellen für neue Matrixzellen und zur Erneuerung der Talgdrüsen wichtig.<sup>7(chap22)</sup>

An der äußeren Wurzelscheide setzt auch der Musculus arrector pili an. Er ist ein glatter Muskel, der durch Kontraktion ein Aufrichten des Haares und Auspressen des Sekretes aus der Talgdrüse bewirken kann.<sup>15</sup> Er wird durch den Sympathikus innerviert und kann u.a. Piloarreaktion verursachen.<sup>7(chap22)</sup>

## 2.2 Indikationen

### 2.2.1 Acne inversa

AI, auch Hidradenitis suppurativa genannt, ist eine chronisch-entzündliche Hauterkrankung, welche betroffene Patienten stark physisch und psychisch belastet.<sup>16</sup> Die Prävalenz der Erkrankung schwankt zwischen verschiedenen Ethnien deutlich. Weltweit liegt sie zwischen 1 und 4%.<sup>17</sup> In Europa beträgt die Zahl der Betroffenen circa 1%. Die Krankheit betrifft häufiger Frauen, jedoch ist die Ausprägung der Erkrankung bei Männern schwerwiegender. Die Erstmanifestation liegt meist zwischen dem 15. und 40. Lebensjahr. Besonders häufig sind Menschen um das 20. Lebensjahr betroffen.<sup>18</sup>

**Abbildung 4** zeigt das klinische Bild eines im Bereich der rechten Achsel von AI betroffenen männlichen Patienten und einer anogenital-inguinal betroffenen Patientin. Zunächst wurde angenommen, dass es sich bei dem Krankheitsbild der AI um eine Erkrankung der apokrinen Schweißdrüsen handelt. Allerdings kommt es stattdessen zu einer Entzündung der Terminalhaarfollikel und der Talgdrüsen in intertriginöser Lokalisation, was später gezeigt werden konnte. Betroffen sind vor allem die Bereiche unter den Achseln, im Leisten- und Anogenitalbereich. Patientinnen können eine AI auch submammär ausbilden.<sup>1</sup> Diese natürlichen, meist behaarten Hautfalten nennt man Intertrigines.

Wahrscheinlich bewirkt eine beschleunigte Hyperkeratose in diesen Hautbereichen die Verstopfung der Talgdrüsen-Haarfollikel-Einheit mit Hornmaterial und eine anschließende Verlegung des Ausführungskanals. Sekundär erfolgt eine Infektion durch Bakterien, meist *Staphylococcus aureus*. Die Entzündung und Okklusion der Talgdrüse führt zur Ruptur der Talgdrüsenzyste, wodurch sich die Inflammation in das umliegende Bindegewebe ausbreiten kann.<sup>19</sup>



**Abbildung 4:** Klinisches Bild einer AI

Entzündete Knoten, Abszesse, drainierende und nicht drainierende Fisteln und ausgeprägte Narbenbildung axillär (links) sowie inguinal (rechts). Auf dem rechten Bild zeigt sich auch die Absonderung von blutigem Wundsekret sowie postinflammatorische Hyperpigmentierung. (Abbildung<sup>20</sup>)

Anschließend bildet dies die Grundlage einer granulomatösen Entzündungsreaktion, die mit der Bildung schmerzhafter subkutaner Knoten, Abszesse, Sinus-Trakte und Fisteln einhergeht. Dieses Stadium fördert und bedingt eine sekundäre Entzündung der ekkrinen und apokrinen Schweißdrüsen. Hypertrophierende Narben entstehen bei einem Ausbrennen der Entzündungsherde.<sup>9,21</sup>

Für die Schwere des Krankheitsgrades gibt es unterschiedliche Klassifikationen. Gängig ist die Einteilung nach Hurley in drei Stadien<sup>5</sup> (**Tabelle 1**).

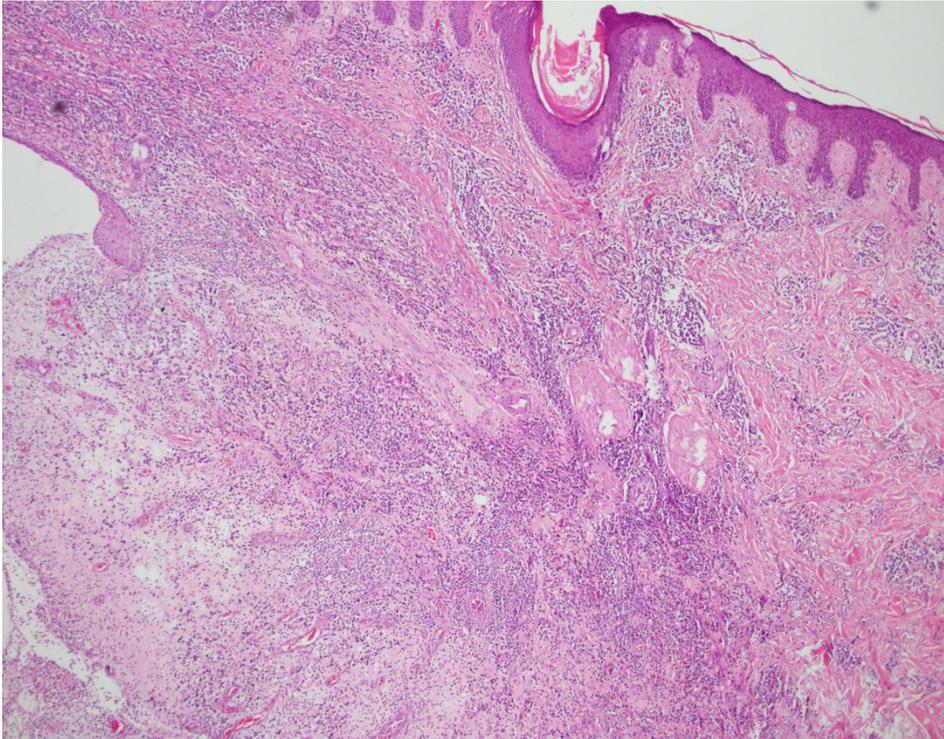
**Tabelle 1:** Einteilung des Schweregrades der Erkrankung nach Hurley

(aus der Leitlinie zu AI von 2012<sup>5</sup>)

<b>Hurley-Stadium</b>	<b>Definition</b>
<b>Stadium I</b>	Einzelne Abszesse, keine Fistelgänge oder Vernarbungen
<b>Stadium II</b>	Ein oder mehrere weit auseinander liegende Abszesse mit Fistelgängen und Narbenbildung
<b>Stadium III</b>	Flächiger Befall mit Abszessen, Fistelgängen und Narbenzügen

Histopathologisch ist die AI durch Hyperplasie des follikulären Epithels, epidermoide Hyperkeratose und Perifolliculitis gekennzeichnet. Die Bildung von Zysten und Fistelgängen wird durch die Entstehung eines entzündlichen Zellinfiltrats, ähnlich dem der PSO, begleitet. Dieses zeichnet sich durch Mastzellen, T-Lymphozyten, dendritischen Zellen, neutrophile Granulozyten und Makrophagen aus.<sup>22</sup>

**Abbildung 5** zeigt das histologische Bild einer AI in HE-Färbung.



**Abbildung 5:** Histologischer Schnitt einer AI

in HE-Färbung, 4x Vergrößerung. Teilweise angeschnittener Haarfollikel mit ausgedehnten gemischtzelligen, entzündlichen Infiltraten in der Dermis.

Die Ätiologie der AI ist überwiegend noch nicht bekannt. Es konnten aber einige wichtige Triggerfaktoren ausgemacht werden. Übergewicht und Tabakkonsum befördern die Ausbildung und die Schwere des Krankheitsverlaufs.<sup>23</sup> Es konnte gezeigt werden, dass durch den IL-23/Th17- Signalweg pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-17, IL-23 und TNF- $\alpha$  in Läsionen gehäuft nachweisbar sind und eine zentrale Rolle bei der Erkrankungsentstehung inne haben.<sup>24-26</sup> Nähere Informationen hierzu finden sich im Kapitel 2.2.5 *Untersuchte Zytokine*.

Das Krankheitsbild geht für Betroffene mit einer starken Einschränkung ihrer Lebensqualität einher: Ein hoher Leidensdruck entsteht durch starke, andauernde Schmerzen und psychische Belastung. Die charakteristischen aktiven Fisteln oder Abszesse können sich spontan öffnen, wodurch es zu unangenehmer Geruchsbildung durch Austritt von Eiter und Wundflüssigkeit kommen kann. Die Schmerzen, Narben und der Foetor führen zu massiven

Einschränkungen im Arbeitsalltag und im sozialen Bereich. Daraus resultiert ein sozialer Rückzug und konsekutiv die vermehrte Inzidenz von depressiven Störungen.<sup>11,27</sup>

Weitere Komorbiditäten sind das metabolischen Syndrom und damit verbundene kardiovaskuläre Erkrankungen,<sup>28,29</sup> Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und Spondylarthropathien.<sup>16</sup>

Die Behandlungsoptionen der AI sind begrenzt. Die Leitlinie von 2012 empfiehlt zunächst topische Therapien, z.B. eine 1%ige Clindamycin-Lösung. Außerdem kann eine chirurgische Entfernung des befallenen Gewebes bzw. einzelner Läsionen durchgeführt werden. Weiterhin gibt es systemische Therapien, wie die Verabreichung von Antibiotika (z.B. Clindamycin in Kombination mit Rifampicin, oral) oder TNF- $\alpha$ -Hemmern (z.B. Adalimumab, subkutan oder Infliximab, intravenös).<sup>5</sup> Die positive Beeinflussung des Krankheitsverlaufs ist durch Lifestyle-Veränderungen der Patienten vor allem hinsichtlich Gewichtsreduktion und Nikotinverzicht möglich.<sup>30</sup>

## 2.2.2 Sinus pilonidalis

Der SP, auch Steißbeinfistel, ist eine Entzündung im subkutanen Fettgewebe im Bereich der Steißbeinregion und Gesäßfalte. Diese kann akut, chronisch oder rezidivierend verlaufen. In Deutschland betrug die Inzidenz 48/100.000 im Jahre 2012.<sup>10</sup> In den meisten Studien zeigte sich, dass Männer 2-3x häufiger betroffen sind als Frauen. Die Häufigkeitsspitze liegt in der zweiten und dritten Lebensdekade.<sup>31</sup>

Es existieren verschiedene klinische Ausprägungsformen wie in **Abbildung 6** dargestellt. Die asymptomatische Form ist durch eine oder mehrere Pori (Hautöffnungen) an oder in der Analfalte gekennzeichnet, stellt einen Zufallsbefund dar und bringt keine Beschwerden mit sich. Sie kann nach längerer Zeit durch mechanische Reizung oder spontan in die akut abszedierende Form

übergehen, die mit Schmerzen und Schwellung (oft paramedian) einhergeht. Ferner kann sich ein chronisches Stadium ausbilden, bei dem es zu permanentem oder intermittierendem eitrig-serösem Sekretabfluss aus dem Primärporus oder lateralen Sekundärpori kommt. In der mikrobiellen Besiedlung infizierter SP spielen sowohl anaerobe (v. a. *Bakteroides*) als auch aerobe Keime (*Escherichia coli*, *Proteus* subspezies, Streptokokken, *Pseudomonaden*) eine Rolle. Die Diagnose wird klinisch gestellt.<sup>10</sup>



**Abbildung 6:** Klinisches Bild eines SP

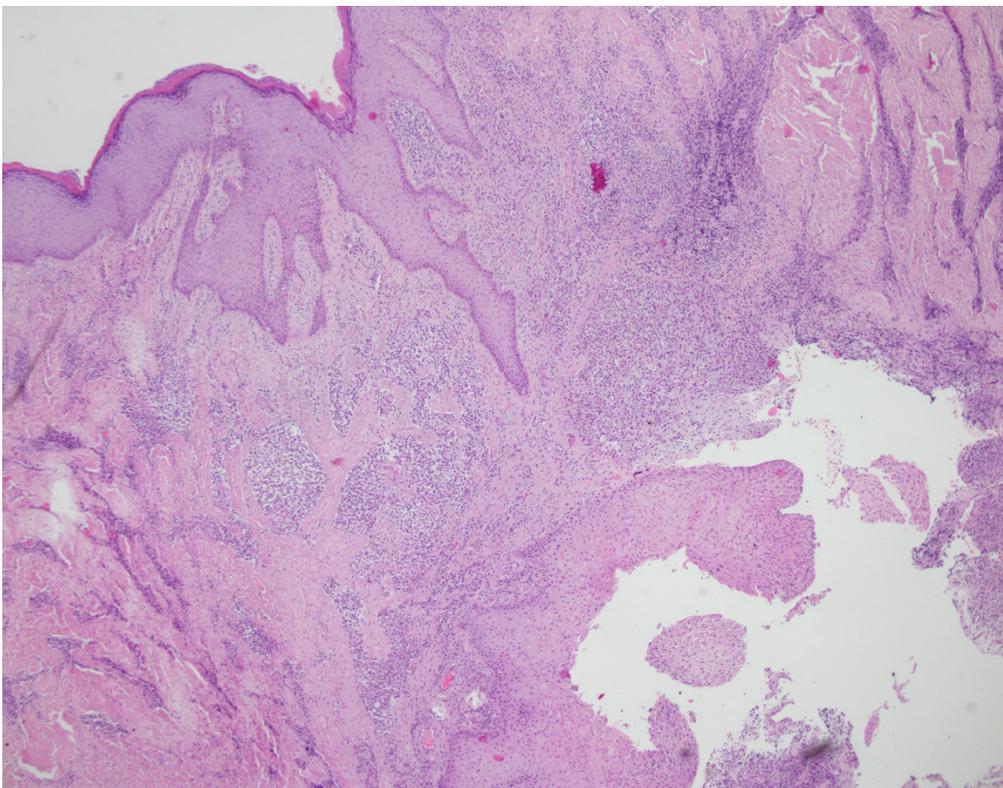
A: SP im akuten Stadium. Gesäßfalte mit deutlichen Entzündungszeichen. (Bild nicht verändert)<sup>32</sup>

B: SP im chronischen Stadium. Markierung: Zwei mehrere Millimeter große, gerötete Pori mit serösem Sekretaustritt.<sup>33</sup>

Es gibt unterschiedliche Thesen zur Ätiologie des SP. Aktuell vorherrschend wird die Erkrankung als eine erworbene angesehen, die mit verschiedenen genetische Co-Dispositionen einhergeht. Dabei sollen vom Kopf herabfallende scharfkantige Schnitthaare durch Reibebewegungen der Gesäßbacken in die Haut eindringen. Da die Hornschuppen der Haare wie Widerhaken fungieren, dringen sie bis ins subkutane Fettgewebe vor und lösen dort ein Fremdkörpergranulom aus, welches nicht spontan heilt (asymptomatische Form) und sich sekundär infizieren kann (akute/chronische Form).<sup>10</sup>

Differentialdiagnostisch sollte an Anal- und Morbus Crohn-Fisteln gedacht und diese vor einer Intervention ausgeschlossen werden. Die AI wird einerseits als weitere mögliche Differentialdiagnose beschrieben und andererseits gibt es aktuelle Daten, die starke Parallelen zur AI aufzeigen.<sup>10</sup> Diese Thematik wird im Kapitel 5.3 *Unklare Ätiologie des SP - Was spricht für eine isolierte Form der AI?* näher diskutiert.

Die Therapie des symptomatischen SP erfolgt in Deutschland in aller Regel operativ, wobei es hier unterschiedliche Herangehensweisen hinsichtlich Radikalität und Methoden der Defektdeckung gibt. Der asymptomatische SP stellt keine Therapieindikation dar.<sup>10</sup>



**Abbildung 7:** Histologischer Schnitt eines SP

in HE-Färbung, 4x Vergrößerung. Gemischtzellige, entzündliche Infiltrationen und Gewebedesktruktion.

**Abbildung 7** zeigt ein exemplarisches histologisches Bild eines SP. Zunächst sind die histopathologischen Kriterien für den SP definiert über eine Abszesshöhle mit Haarfragmenten, welche oft im subkutanen Fettgewebe liegt

und über Sinustrakte mit der Hautoberfläche kommuniziert. Diese Gänge sind mit verhornendem Plattenepithel ausgekleidet und können von Granulationsgewebe umgeben sein. Neben Haarfragmenten befinden sich in der fibrösen Pseudokapsel der Abzesshöhle auch Entzündungszellen, Hornmaterial, Bakterien und Fremdkörpergranulome.<sup>9</sup>

Doll *et al.* zeigten, dass selbst in asymptomatischen SP-Exzidaten überwiegend Anzeichen von chronischen und teilweise auch akuten entzündlichen Gewebeveränderungen nachweisbar sind.<sup>34</sup>

Parallel hierzu bilden sich bei der AI im Verlauf auch häufig Abszesshöhlen und Fistelgänge aus. Diese sind meist ebenso epithel ausgekleidet und mit Granulationsgewebe assoziiert.<sup>9</sup>

### 2.2.3 Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens

Die PCAS manifestiert sich durch tiefe perifollikuläre Abszesse, Knoten, Pusteln und Sinustrakte an der Kopfhaut, vor allem in Okzipital- und Parietalregion.<sup>1</sup> Diese entzündlichen Prozesse können zu vernarbender Alopezie führen.<sup>6</sup> Vor allem dunkelhäutige Männer in der zweiten bis vierten Lebensdekade leiden unter dieser Erkrankung.<sup>1</sup> Männer kaukasischen Ursprungs sind nur in einem Zehntel der Fälle betroffen, Frauen und Kinder noch deutlich seltener.<sup>9</sup>

PCAS ist eine seltene Erkrankung, die jedoch häufiger in Zusammenhang mit der Acne-Triade genannt wird, welche das gleichzeitige Auftreten von Acne conglobata, AI und PCAS umfasst. Bei der Acne-Tetrad werden die ersten drei Dermatosen durch den SP ergänzt.<sup>35</sup> Wahrscheinlich liegen auch hier eine Follikeldysfunktion und eine gestörte kutane Immunabwehr gegen kommensale und opportunistische Keime pathophysiologisch zugrunde.<sup>6</sup>

Pathognomonisch für die PCAS sind mottenfraßartige, haarlose über das Hinterhaupt verteilte Stellen, deren Ursprung kommunizierende Fisteln und

tiefsitzende Abszesse bilden, siehe **Abbildung 8**. Durch Druckausübung kann sich aus mehreren Stellen Eiter entleeren, manchmal einige Zentimeter entfernt.<sup>6</sup>



**Abbildung 8:** Klinisches Bild einer PCAS

Mottenfraßartige haarlose Areale am Hinterhaupt, Abszesse, Knoten und Fisteln<sup>20</sup>

Kowalska-Oledzka *et al.* zeigten in einer Studie mit kleinem Stichprobenumfang, die verschiedene Erkrankungen der Kopfhaut untersuchte, außerdem trichoskopisch das Vorkommen von „Schwarzen Punkten“ bei PCAS. Die Definition eines „Schwarzen Punkts“ ist ein abgebrochenes Haar, dessen oberer Abschnitt seiner Haarwurzel am Haartrichter des Haarfollikels verankert bleibt, und somit dermatoskopisch wie ein Makrokomedo (Mitesser) aussieht. Diese schwarzen, runden Strukturen, welche in der follikulären Öffnung ansässig sind, wurden ansonsten als spezifisch für die Alopezia areata angesehen.<sup>36</sup>

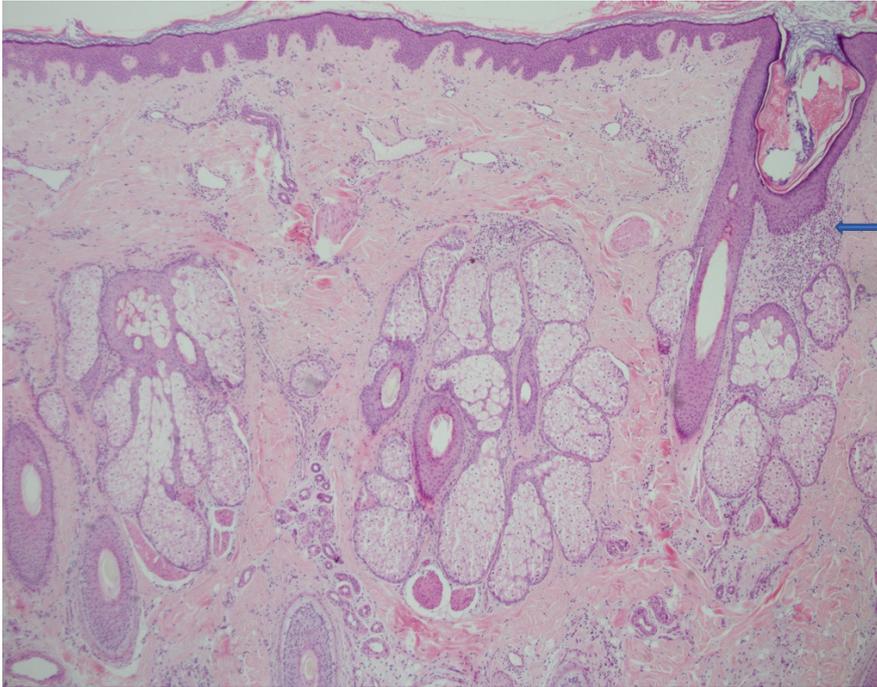
Sogenannte „Gelbe Punkte“ zeigen sich trichoskopisch ebenfalls bei PCAS sowie bei anderen Kopfhauterkrankungen (Alopezia areata, Diskoider Lupus erythematoses und Androgene Alopezie). Sie werden durch keratotisches Material und/oder Sebum im follikulären Haartrichter gebildet und können in Farbausprägung, Form und Größe variieren. Bei PCAS sind sie charakteristisch als große plastische, seifenblasenartige Gebilde über dunklen dystrophen Haaren zu finden.<sup>37</sup>

Therapeutisch sind unterschiedliche Ansätze möglich, wobei man darauf hinweisen muss, dass die aktuelle Datenlage vor allem auf Fallbeispielen /-serien und nicht auf größer angelegten Studien basiert:

Isotretinoin, antibiotische Therapie (Tetrazykline, Sulfonamide, Dapson) sowie Steroide werden topisch sowie oral verabreicht. Chirurgische Inzision, Drainage und Exzision sind möglich und ebenso physikalische Verfahren wie Röntgen-Epilation/-Ablation, CO<sub>2</sub>-Laser und Haarentfernungslaser (800nm, 694nm). Zu den neueren Methoden zählen TNF- $\alpha$ -Blocker (z.B. Adalimumab) weitere Antibiotika (z.B. Chinolone, Makrolide, Rifampicin, Metronidazol), Alitretinoin und hoch dosiertes Zink-Sulfat. Außerdem wurden die nicht-medikamentösen Therapien um 1064nm-Laser, ALA-PDT (5-Aminolävulinsäure - induzierte photodynamische Therapie) und externe Strahlentherapie ergänzt.<sup>6</sup>

Vor allem Retinoide zeigten gute Therapieergebnisse. Falls es trotzdem zu einem Rezidiv kommen sollte, können TNF- $\alpha$ -Blocker verwendet werden, ggf. auch um eine Übergangslösung hin zur chirurgischen Therapie zu bilden.<sup>38</sup>

**Abbildung 9** zeigt die histologische Ansicht einer PCAS in HE-Färbung.



**Abbildung 9:** Histologischer Schnitt einer PCAS

HE-Färbung. Entzündliches Infiltrat hier zwischen Wurzelscheide, zystisch erweitertem teilweise rupturiertem Haartrichter und Talgdrüsen (Pfeil).

Die Histologie der AI und PCAS ähneln sich in verschiedenen Aspekten, wobei granulomatöse Veränderungen bei PCAS ausgeprägter vorzukommen scheinen. Das histopathologische Erscheinungsbild der PCAS verändert sich im Verlauf der Krankheitsstadien. Frühe Läsionen zeigen charakteristischerweise perifollikulär dichte neutrophile und lymphozytäre Infiltrate in der unteren Dermis. Abszesse können in der Dermis und zum Teil auch der Subkutis vorkommen. In späteren Stadien zeigen sich chronische Granulome bestehend aus Histiozyten, Plasmazellen und Fremdkörperriesenzellen. Ferner entstehen in diesem Stadium auch fibrosierende und narbige Areale, Keloide und die nachfolgende Alopezie.<sup>6</sup>

Miteva *et al.* zeigten, dass sogenannte pigmented casts in PCAS vorkommen. Diese Ausschüttung der Haut wurde schon bei verschiedenen Hauterkrankungen wie Alopezia areata, Chemotherapie-induzierter Alopezie, Trichotillomanie sowie postoperativer (druckinduzierter) Alopezie beschrieben. Die Basalmembran der Epidermis verliert hierbei ihre Funktion, Melanin wird in die Dermis freigesetzt und von Melanophagen verarbeitet. Das Ergebnis sind

pigmented oder melanin casts: feste, amorphe Klümpchen in und um die Follikelstruktur. Bisher hatten sie nur eine diagnostische Bedeutung bei Alopecia areata und Trichotillomanie.<sup>39</sup>

#### 2.2.4 Psoriasis vulgaris als Positivkontrolle der proinflammatorischen Zytokine

Bei der PSO (Schuppenflechte), handelt es sich um eine chronisch-rezidivierende entzündlich-proliferative Erkrankung der Haut.<sup>1</sup> Ihre Prävalenz liegt in Deutschland bei 2%, Männer und Frauen sind gleich stark betroffen.<sup>40</sup> Es bilden sich verschiedene Unterformen aus: Die häufigste und in dieser Arbeit verwendete Form, die Psoriasis vulgaris, stellt 85 bis 90% aller Fälle dar<sup>41</sup>. Die Krankheitsentwicklung beginnt oft im frühen Erwachsenenalter. Jedoch ist eine Neuerkrankung in jedem Alter möglich.<sup>40</sup>

In **Abbildung 10** ist das klinische Bild einer PSO dargestellt, welches sich durch erythematöse, scharf begrenzte schuppene Plaques auszeichnet. Prädilektionsstellen sind die Streckseiten der Extremitäten, Ellenbogen, Sakralregion, Kopfhaut und Knie.<sup>1</sup> Je nach Schweregrad kann aber das gesamte Integument betroffen sein. An Schleimhäuten tritt die Erkrankung aufgrund der fehlenden Hornschicht nicht auf. Es kommt zu einer starken Schuppung der Haut, die durch eine beschleunigte Proliferation in der Epidermis hervorgerufen wird. Im Gegensatz zu gesunder Haut verbleiben die Zellkerne im Stratum corneum; es kommt zur sog. Parakeratose.<sup>42</sup> Die DNA-Synthese und die Zellteilung im Stratum basale sind deutlich erhöht, wodurch die Erneuerung der Epidermis stark beschleunigt wird.<sup>1</sup> Dies führt zur Verdickung der Epidermis, der sog. Akanthose.<sup>42</sup>

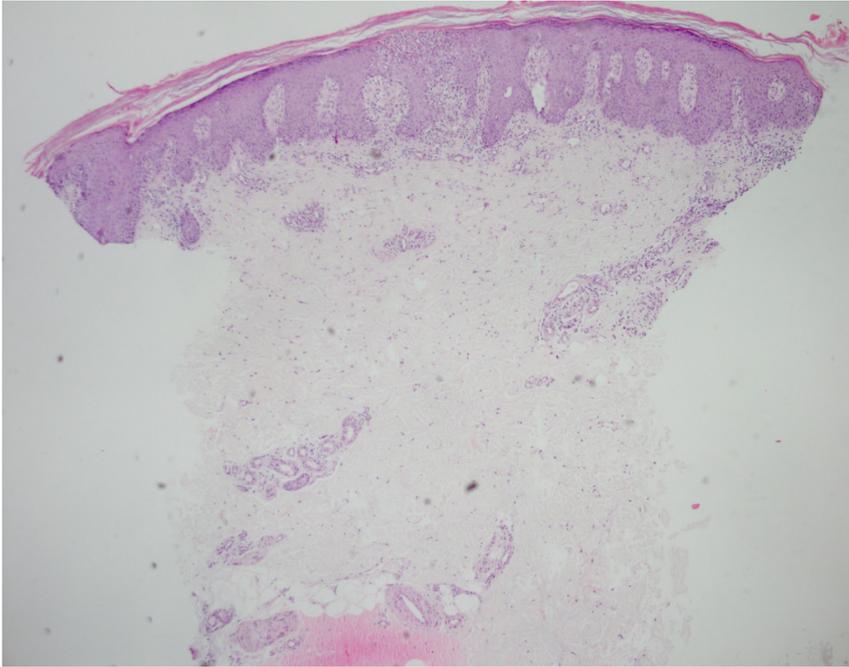


**Abbildung 10:** Klinisches Bild einer PSO

Typische streckseitige Plaques mit Schuppung an linkem Ellenbogen und Händen<sup>20</sup>

Histopathologisch fällt die PSO durch eine beschleunigte Proliferation und eine Hyperkeratose (Verdickung der Hornschicht) mit simultaner Parakeratose auf. Dadurch entsteht eine verbreiterte Epidermis (Akanthose) bei gleichzeitiger Verringerung des Stratum granulosum durch eine Verdickung des Stratum spinosum mittels Verlängerung der Reteleisten.<sup>9</sup> Damit einher geht die Bildung eines entzündlichen Infiltrats, welches sich aus dendritischen Zellen, Makrophagen, T-Zellen, Mastzellen und neutrophilen Granulozyten zusammensetzt. Es wird durch die Einwanderung von letztgenannten Zellarten in den subkornealen Raum verursacht.<sup>42</sup>

**Abbildung 11** zeigt das histologische Bild einer PSO in HE-Färbung.



**Abbildung 11:** Histologischer Schnitt einer PSO

HE-Färbung, 4x Vergrößerung

Krankheitsbedingt veränderte Struktur der Epidermis: Epidermishyperplasie mit Hyper- und Parakeratose, sowie gleichmäßigen Akanthose durch eine Verlängerung der Reteleisten. Gemischtzellige, entzündliche Infiltrate schließen sich an die Epidermis an.

Bei der PSO handelt es sich um eine T-Helfer-Zell-vermittelte Autoimmunerkrankung. Bei der Pathogenese spielen dendritische Zellen, Th-1- und Th-17-Zellen, außerdem Keratinozyten eine wichtige Rolle. Dendritische Zellen initiieren die entzündliche Kaskade, indem sie für eine erhöhte Ausschüttung der pro-inflammatorischen Botenstoffe TNF- $\alpha$ , IL-12 und IL-23 sorgen. IL-23 veranlasst die Differenzierung von Th17-Zellen. Diese produzieren vermehrt die entzündungsfördernden Zytokine IL-17, vor allem IL-17A und IL-17F, sowie IL-22. TNF- $\alpha$  und IL-17 veranlassen eine Aktivierung der Keratinozyten und bedingen so die Akanthose. Zusätzlich rekrutieren sie Entzündungszellen. IL-12 stimuliert Th1-Zellen, zur gesteigerten Produktion von Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), einem Zytokin, das ebenfalls die Inflammation fördert. Ferner wird IL-22 mit der gesteigerten Proliferationsrate der PSO in Verbindung gebracht. Th2-vermittelte Zytokine (wie z.B. IL-4, IL-5 und IL-10) sind hingegen in den Läsionen nicht vermehrt nachweisbar.<sup>12</sup>

Eine grafische Übersicht dieser Zusammenhänge findet sich im Kapitel 2.2.5.6 *Mögliche Interaktionen der untersuchten Zytokine*. Die molekularen Pathomechanismen und erweiterten Therapieoptionen sind wegen der hohen Prävalenz schon lange Gegenstand der Forschung.<sup>13,43</sup> Obwohl das klinische und histopathologische Erscheinungsbild nur wenig mit AI, SP und PCAS gemein hat, eignen sich PSO-Proben wegen der gründlich erforschten Zytokinkonstellationen zur Etablierung der Immunhistochemie und als Positivkontrolle in den Versuchen.<sup>4,24</sup>

In den letzten Jahren haben sich einige neue Ansätze mit Antikörpertherapien, sog. Biologicals, etabliert. Die Behandlungsempfehlungen laut der S3-Leitlinie von 2021 unterscheiden sich nach Schweregrad und Ausbreitung der PSO.<sup>44</sup> Bei einer leichten Form wird eine topische Therapie bevorzugt. Es gibt verschiedene Wirkstoffe wie etwa Dithranol, Kortikoide, Tazaroten, Teer und Calcipotriol. Bei einer moderaten bis schweren Ausprägung des Krankheitsbildes kann zwischen einer Phototherapie oder einer systemischen Therapie entschieden werden. Erstlinien-Behandlungen für die PSO sind Phototherapien wie UVB, PUVA (Psoralen + UV-A-Strahlen) und systemische Therapien, z.B. mit Acitretin, Ciclosporin, Fumarsäureester, Methotrexat, TNF- $\alpha$ -Hemmer (Adalimumab, Certolizumab), IL-17A-Hemmer (Secukinumab, Ixekizumab, Brodalumab) und IL-23-Hemmer (Guselkumab, Tildrakizumab, Risankizumab). Sollte mit diesen Medikamenten kein ausreichender Therapieerfolg erzielt werden, können Zweitlinien-Medikamente herangezogen werden. Dazu gehören die TNF- $\alpha$ -Hemmer (z.B. Etanercept, Infliximab), der IL-12-/ IL-23-Hemmer (Ustekinumab) oder der PDE-4 Hemmer (Apremilast).<sup>44</sup>

## 2.2.5 Untersuchte Zytokine

### 2.2.5.1 Interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )

Das proinflammatorische Gewebshormon IL-1 $\beta$  gehört zur Familie der IL-1-Zytokine und ist das wohl am besten erforschte dieser Gruppe. Alle Mitglieder sind fester Bestandteil der angeborenen Immunabwehr, indem sie eine unspezifische Antwort auf fremde Antigene hervorrufen. Gleichzeitig zerstören die begleitenden Entzündungsvorgänge umliegendes Gewebe.<sup>45</sup>

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass IL-1 $\beta$  in diversen systemischen, aber auch lokalbegrenzten, autoinflammatorischen Erkrankungen eine zentrale Rolle spielt. Eine immunsuppressive Therapie, die die Neutralisation von IL-1 $\beta$  anstrebt, kann bei PSO, Gicht, Rheumatoider Arthritis und weiteren internistischen Erkrankungen wirksam sein.<sup>46</sup>

Obwohl deutlich erhöhte Level von IL-1 $\beta$  in PSO gezeigt werden konnten,<sup>47</sup> verliefen Studien zur Behandlung mit spezifischen Antikörpern gegen IL-1 (Rilonacept, Canakinumab) oder IL-1-Rezeptor-Antagonist (Anakinra) bisher nicht erfolgsversprechend.<sup>43</sup>

Ferner weisen Untersuchungen daraufhin, dass IL-1 $\beta$  wichtig für die T-Zell-Differenzierung zu IL-17-produzierenden Zellen ist, welche wiederum eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen spielen.<sup>48,49</sup>

Van der Zee *et al.*<sup>24</sup> und Wolk *et al.*<sup>4</sup> fanden als Erste Hinweise auf erhöhte IL-1 $\beta$  Expression bei AI. Später publizierten Witte-Händel *et al.* eine umfangreiche Untersuchung, dass IL-1 $\beta$ -Level in (peri-/) läSIONalen Acne inversa Proben auf mRNA- und Proteinebene im Vergleich zu gesunder Haut, aber auch zu PSO deutlich erhöht sind.<sup>26</sup> Um in seine biologisch aktive Form zu gelangen, wird IL-1 $\beta$  im Inflammasom durch Caspase-1 aktiviert. Das Inflammasom ist ein intrazelluläres Multiprotein im Zytosol von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen, welches auf Gefahrensignale z.B. durch DAMPS oder PAMPS

(Damage Associated Molecular Patterns, Pathogen Associated Molecular Patterns) reagiert. Dies können bakterielle oder virale Bestandteile sowie körpereigene Moleküle sein, die auf eine Schädigung hinweisen.<sup>50</sup> Kelly *et al.* zeigten, dass eine Caspase-1 Inhibition, die IL-1 $\beta$ -Konzentration im Modell signifikant senkte und folgerten daraus eine Beteiligung des Caspase-1-Pathways bei AI. Witte-Händel *et al.* unterfütterten diese Ansicht, als sie mittels RT-qPCR (real time-quantitative Polymerase Chain Reaction) feststellten, dass Caspase-1 in AI-Läsionen hochreguliert ist.<sup>26</sup>

#### 2.2.5.2 Interleukin 17A (IL-17A)

IL-17A ist ein auf Epithelzellen proinflammatorisch wirkendes Zytokin, das zusammen mit sechs weiteren Subtypen (A-F) die Gruppe der Interleukine 17 bildet. Es wird von verschiedenen Zellen des angeborenen Immunsystems wie neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Mastzellen gebildet. Aber auch Zellen der erworbenen Immunantwort, genauer Th-17 Zellen, sezernieren IL-17A.<sup>52</sup> Diese besonderen T-Zellen entziehen sich dem vormals bestehenden Th1- und -2-System.<sup>53</sup> Das Vorkommen des IL-23/Th17-Pathways<sup>54</sup> in AI und PSO wird näher im Kapitel 2.2.5.6 *Mögliche Interaktionen der untersuchten Zytokine* beschrieben. Dieser Signalweg wird ferner auch mit mukosalen Verteidigungsmechanismen gegen extrazelluläre Pathogene<sup>55</sup> und mit der Pathogenese vieler inflammatorischer Erkrankungen wie PSO<sup>56</sup>, chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen<sup>57</sup>, Arthritiden<sup>58</sup> sowie Multipler Sklerose<sup>59</sup> assoziiert.

IL-17A spielt eine große Rolle in der Pathogenese der PSO, was sich in den Behandlungsmöglichkeiten mit IL-17A-Antagonisten wie Sekukinumab, Ixekinumab und Brodalumab zeigt, welche in den letzten Jahren etabliert wurden. Alle drei Antikörper sind u.a. für die Behandlung von Plaquesoriasis zugelassen.<sup>44</sup>

Mittels IHC und qPCR konnte eine erhöhte Expression von IL-17A und seiner mRNA durch T-Helfer-Zellen in Acne inversa-Läsionen gezeigt werden.<sup>25</sup> Später setzten auch Kelly *et al.* diese Untersuchungen fort, bestätigten vorgenannte Ergebnisse und entwickelten sie weiter.<sup>51</sup> Ferner fanden Matusiak *et al.* erhöhte IL-17 Serum-Level bei Betroffenen, die proportional mit der Ausprägung der Krankheit (nach Hurley Stadium) korrelierten. Hierbei wurde allerdings ein Immunesay verwendet, der alle IL-17 Subtypen detektiert.<sup>60</sup> Bisher wird das Zytokin nicht als Marker für die Krankheitsaktivität verwendet. Darüber hinaus gibt es Studien, die als Anhaltspunkte dafür dienen, dass erhöhte IL-17 Serumspiegel zur Entstehung von metabolischen und vaskulären Komorbiditäten der AI (siehe 2.2.1 *Acne inversa*) und PSO beitragen.<sup>61,62</sup>

### 2.2.5.3 Interleukin 22 (IL-22)

IL-22 gehört zur Familie der IL-10-verwandten Zytokine. Es wurde früh entdeckt, dass es bei vielen chronisch-entzündlichen Erkrankungen wie PSO, rheumatoider Arthritis (RA) und Chronisch-entzündlicher Darmerkrankung (CED) überexprimiert wird.<sup>63</sup> Expression und Sezernierung von IL-22 finden vor allem durch Th1- und Th22-<sup>64,65</sup> sowie Th-17-Zellen<sup>66</sup> statt, z.B. nach Stimulierung mit IL-23 und IL-1 $\beta$ <sup>67</sup>.

An Epithelzellen fördert IL-22 die antimikrobielle Abwehr sowie Zellregeneration. An Hepatozyten induziert es die Bildung von Akute-Phase-Proteinen.<sup>68,69</sup> Durch seine Wirkung auf die Differenzierung von Keratinozyten trägt es direkt zur Entstehung der Hyperkerathose in PSO bei.<sup>64,65,70</sup> Zellen hämatopoetischen Ursprungs, also auch viele Immunzellen, scheinen physiologischer Weise selbst keine Rezeptoren für IL-22 (IL-22R) zu besitzen<sup>68</sup>, was sich im Rahmen bestimmter Erkrankungen jedoch ändern kann.<sup>67,71</sup>

Studien zeigten außerdem wie IL-22 mit anderen Zytokinen insbesondere IL-17 und Interferon- $\gamma$  interagiert, um die Funktion von Zielzellen zu modulieren

(Multiple Sklerose,<sup>72</sup> PSO<sup>73</sup>). Andere Untersuchungen wiesen nach, dass IL-17 den IL-22-Funktionen entgegenwirkt (Atemwegsinfektion)<sup>74</sup>. Auf Grundlage dieser und vieler weiterer Untersuchungen zum dualen Wirken dieses Zytokins, entstand die These, dass IL-22 in verschiedenen entzündlichen Milieus unterschiedliche bzw. entgegengesetzte Rollen erfüllt. Zenewicz *et al.* postulierte, dass es in akuter entzündlicher Umgebung tendenziell protektiv wirkt, in chronischer Entzündung hingegen schädigend.<sup>67</sup>

Erwähnenswert ist in diesem Kontext auch das IL-22-Binding Protein (IL-22-BP), ein löslicher Faktor, der dem IL-22-Rezeptor stark ähnelt und eine inhibierende Wirkung auf IL-22 besitzt.<sup>67</sup> Beispielsweise wurde in einem PSO-Modell an Ratten gezeigt, dass ein Mangel an IL-22-BP zur Exazerbation der Krankheit führte, was mit erhöhten Spiegeln von IL-22 und Antimikrobiellen Proteinen (AMP) vergesellschaftet war.<sup>75</sup>

IL-22 mRNA ist in PSO-Läsionen und sein Protein-Level im Serum von PSO-Patienten deutlich erhöht; der Serum-Wert korreliert mit der Erkrankungsschwere der Schuppenflechte.<sup>64</sup> Bisher gibt es keine zugelassene spezifische Antikörpertherapie, vereinzelte befinden sich jedoch in Untersuchung.<sup>67</sup>

Wolk *et al.*<sup>4</sup> zeigten, dass IL-22 mRNA in läsionalen Proben von AI gegenüber PSO und Atopischer Dermatitis herunterreguliert war. So wurde für eine Erleichterung der bakteriellen Besiedlung von AI-Läsionen argumentiert, da in dieser Untersuchung auch ein relativer Mangel an AMPs nachgewiesen werden konnte.

#### 2.2.5.4 Interleukin 23 (IL-23)

Dieses Zytokin ist ein heterodimeres Protein, das sich aus der Untereinheit p40 des Zytokins IL-12 und einer weiteren Untereinheit p19 zusammensetzt. Somit sind IL-12 (p40 + p35) und IL-23 (p40 + p19) miteinander vergesellschaftet, haben aber unterschiedliche Wirkweisen und Aufgaben in der Immunantwort.<sup>76</sup> Beide können T-Zellen dazu stimulieren Interferon- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$  zu produzieren. Aber nur IL-23 hat in Zusammenarbeit mit anderen Zytokinen (IL-1 $\beta$ , IL-6, Transforming Growth Factor (TGF- $\beta$  -1)<sup>77</sup> die Fähigkeit T-Zellen zu Th-17-Zellen zu differenzieren und zur IL-17 Produktion anzuregen.<sup>56</sup> Die Expression von IL-23 wird intrazellulär über den Nuclear Factor (NF)- $\kappa$ B Signalweg reguliert, welcher durch viele Zytokine, u.a. TNF- $\alpha$  aktiviert wird.<sup>78</sup> Zaba *et al.* zeigten 2004, dass durch Behandlung mit dem TNF- $\alpha$ -Blocker Etanercept die Expression von IL-23 in psoriatischen Läsionen signifikant gesenkt wurde.<sup>79</sup>

Der IL-23-Rezeptor wird hauptsächlich von T-Zellen, Natürlichen-Killer-Zellen (NK-Zellen) und in geringerem Grade von Monozyten und dendritischen Zellen exprimiert.<sup>80</sup> Außerdem steigert IL-23 die Expression seines eigenen Rezeptors auf diesen Zellen.<sup>77</sup> Verschiedene Studien an Tiermodellen konnten zeigen, dass IL-23 zentral in der Entstehung einiger Autoimmunkrankheiten zu sein scheint, da genetisch veränderte Tiere ohne IL-23 die induzierten Erkrankungen (Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis<sup>59</sup>, Kollagen-induzierte Arthritis<sup>58</sup>) nicht ausbildeten.<sup>77</sup>

Eine Überexpression von IL-23 in psoriatischen Läsionen wurde u.a. 2004 von Lee *et al.*<sup>81</sup> nachgewiesen, sodass im weiteren Verlauf an spezifischen Antikörpertherapien geforscht wurde. Bei mittelschwerer bis schwerer PSO werden in der S3-Leitlinie von 2021<sup>44</sup> als First-Line Therapie die Anti-IL-23-Biologika Guselkumab, Risankizumab und Tildrakizumab empfohlen. Der humane monoklonale Antikörper Ustekinumab wird als Second-Line Therapie gelistet. Er bindet spezifisch an die p40- Untereinheit von IL-12 und IL-23 und

verhindert deren Bindung an den Zielrezeptor. Hierdurch wird die Überproliferation und Differenzierung zu Th1- und Th17- Zellen verringert und der Entzündungsprozess wird abgeschwächt.<sup>77</sup>

Auch in AI-Läsionen wurde im Vergleich zu gesunder Haut eine erhöhte Konzentration von IL-23 mRNA und IL-23 exprimierenden Zellen in der IHC festgestellt.<sup>25</sup> 2015 wurde Ustekinumab in einer kleinen Open-label-Studie (n =17) mit befriedigenden Ergebnissen als mögliche neue Therapieoption für AI getestet.<sup>82</sup>

#### 2.2.5.5 Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

Zur Überfamilie der TNF-Proteine gehörend, bildet dieses Zytokin zusammen mit IL-1 und IL-6 die wichtigsten Induktoren einer systemischen Immunantwort. TNF- $\alpha$  wird von Makrophagen, Monozyten und T-Lymphozyten gebildet und wirkt u.a. über den NF $\kappa$ B-Signalweg an unterschiedlichsten Zielzellen.<sup>83,84</sup>

Seine proinflammatorische Wirkung beruht auf der Aktivierung von Monozyten, neutrophilen Granulozyten und Endothelzellen, was eine Leukozytenmigration durch erhöhte Gefäßpermeabilität erleichtert. Ferner werden Thrombozyten zur Steigerung der Gerinnungsaktivität stimuliert, um die Ausbreitung von Infektionen zu verhindern. Des Weiteren wird die Synthese von Akute-Phase-Proteinen in der Leber induziert, wodurch es seine endogen pyrogene Wirkung entfaltet.<sup>83</sup>

Die Biologicals Adalimumab und Etanercept (TNF- $\alpha$ -Blocker) sind bereits seit über zehn Jahren für die Therapie der PSO zugelassen und ihre Anwendung in der S3-Leitlinie von 2021 verankert.<sup>44</sup>

Wolk *et al.* sowie Kelly *et al.* zeigten, dass TNF- $\alpha$ -mRNA in AI-Läsionen deutlich erhöht ist.<sup>4,51</sup> Außerdem geht aus der Veröffentlichung von van der Zee *et al.* hervor, dass TNF- $\alpha$  auch als Protein im Vergleich zu gesunder Haut läsional wie

periläsional überexprimiert wird.<sup>24</sup> Matusiak *et. al.* zeigten auch für TNF- $\alpha$  erhöhte Serumlevel bei AI-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden.<sup>85</sup>

Die TNF- $\alpha$ -Blocker Adalimumab und Infliximab sind in der deutschen 2012er S1-Leitlinie zu AI bereits mit „kann empfohlen werden“ aufgelistet. Diese befindet sich aktuell in Überarbeitung.<sup>5</sup> Auch in der Europäischen Leitlinie von 2015 werden diese TNF- $\alpha$ -Blocker als Therapieoption bei moderat bis schwerer AI mit und ohne Kombination von chirurgischer Therapie und mit adjuvanter Therapie (Schmerztherapie, Therapie von Superinfektionen, Gewichtsreduktion und Tabakabstinenz) empfohlen.<sup>18</sup>

#### 2.2.5.6 Mögliche Interaktionen der untersuchten Zytokine

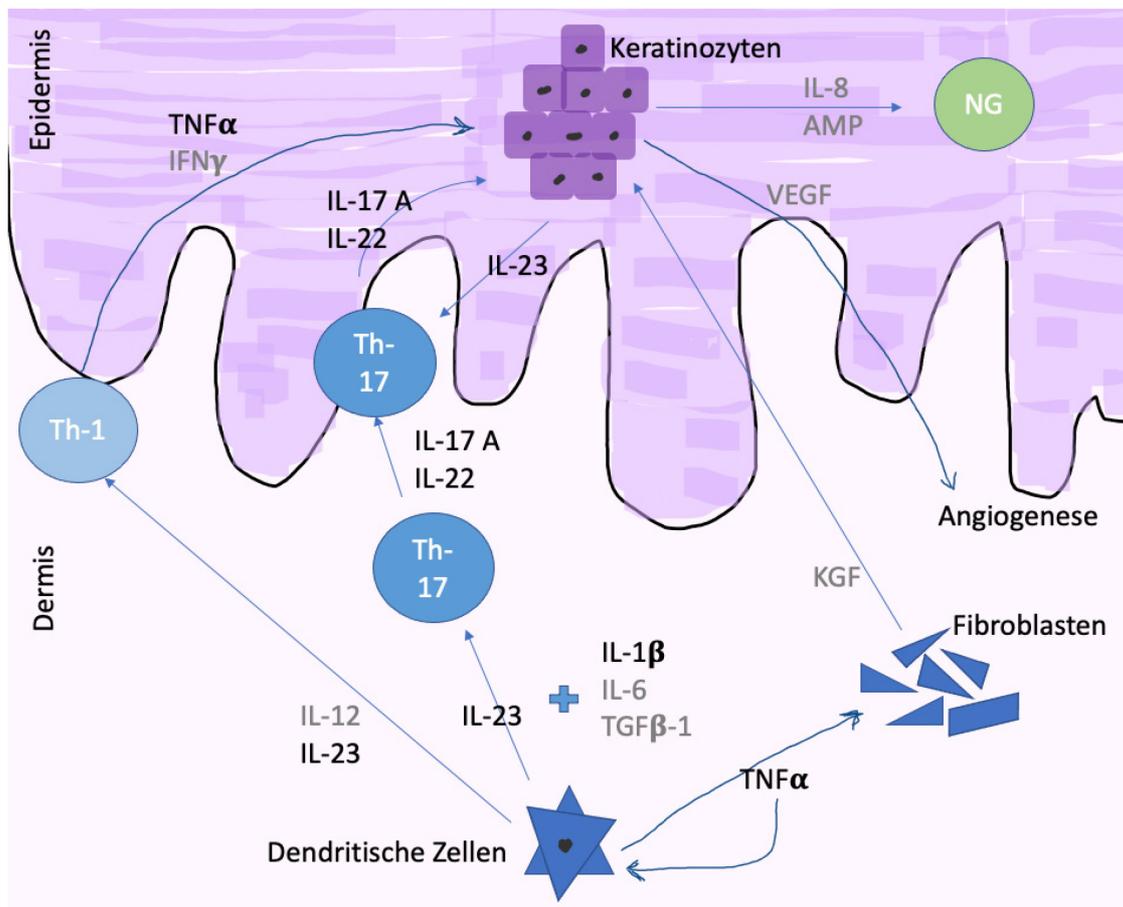
In **Abbildung 12** wird am Beispiel der PSO die IL-23/Th17-Achse näher erläutert. In der folgenden **Abbildung 13** soll der aktuelle Wissensstand über die Interaktion der Zytokine bei AI veranschaulicht werden. Die zugrunde liegenden Informationen sowie deren Quellen finden sich in den vorigen Kapiteln zu den jeweiligen Zytokinen. In den Schaubildern soll das Zusammenspiel der Zellen und Botenstoffe anschaulich dargestellt werden.

##### 2.2.5.6.1 Mögliche Interaktionen der untersuchten Zytokine in Psoriasis

**Abbildung 12** wurde an das Schaubild zur IL-23/Th17-Achse von Cesare *et al.* angelehnt.<sup>77</sup> Es wurde sich auf die, in dieser Arbeit untersuchten, Zytokine konzentriert, um die wesentlichen Aspekte dieses komplexen Themas deutlich herauszustellen.

IL-23 aus dendritischen Zellen regt T-Zellen dazu an, sich zu Th-17-Zellen zu differenzieren und anschließend IL-17A sowie IL-22 zu sezernieren. IL-22 fördert

als protektive Eigenschaft die Zellregeneration, bei andauernder Stimulation führt dies allerdings zu inflammatorischen Zellschädigung und Hyperkeratose. IL-22 veranlasst ferner Epithelzellen durch Chemokine, wie IL-8 und AMPs, zur Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten.



**Abbildung 12:** Angenommene IL-23/Th17-Achse bei PSO

Abbildung von Sonja Außner angelehnt an das Schaubild zur IL-23/Th17-Achse von Cesare *et al.* <sup>77</sup>

Zusätzliche Abkürzungen: NG = Neutrophile Granulozyten, AMP = Antimikrobielle Proteine, VEGF = Vascular Endothelial Growth Factor, KGF = Keratinocyte Growth Factor, IFN- $\gamma$  = Interferon-gamma, TGF  $\beta$  -1 =Transforming Growth Factor beta-1

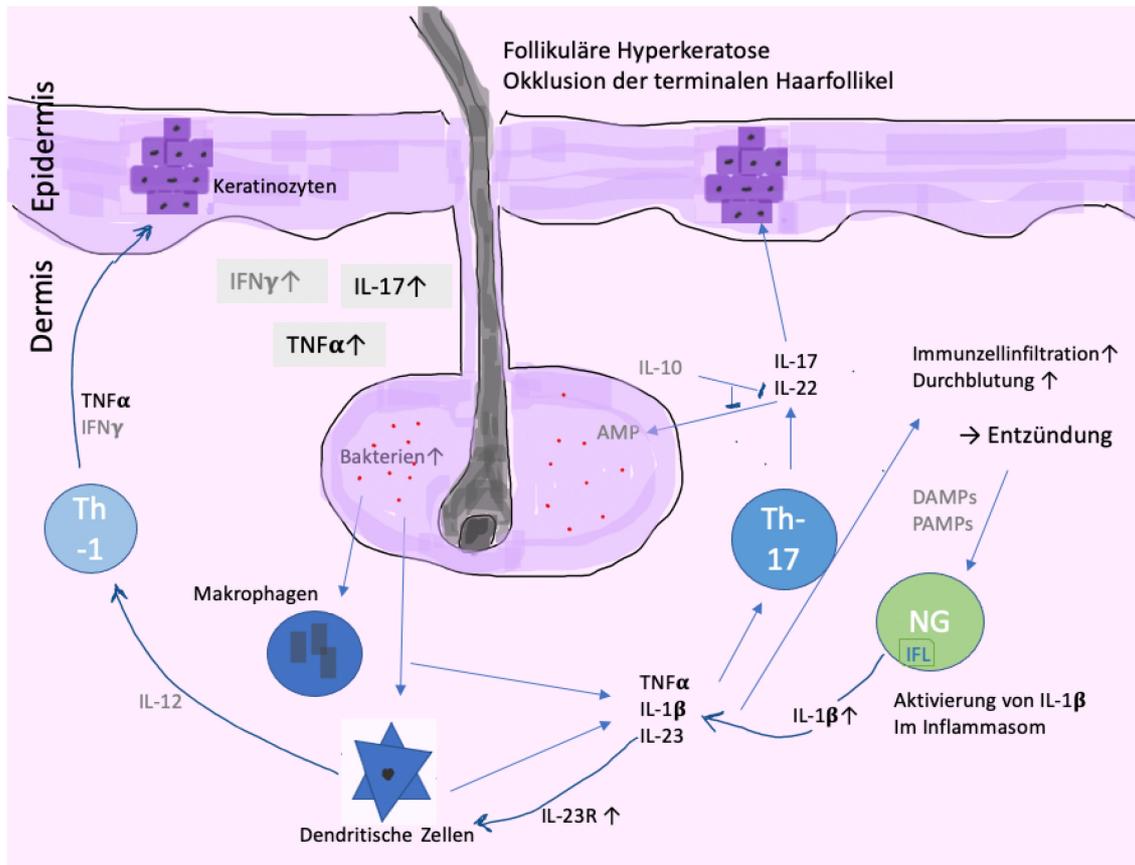
Auch der IL-12/Th1-Signalweg wird dargestellt, der vor der Entdeckung von IL-23 als zentraler Pathway für die Immunpathologie von PSO angenommen wurde. Hier sei erneut darauf hingewiesen, dass IL-12 und IL-23 die Untereinheit p40 gemein haben. TNF- $\alpha$  wird von dendritischen Zellen und Th-1 Zellen sezerniert

und hat eine eigene verstärkende Rückkopplung. Er wirkt auf Keratinozyten direkt und auf Fibroblasten, die den Keratinozyten-Wachstums-Faktor sezernieren und u.a. zur Akanthose (Verdickung der Epidermis) beitragen.<sup>77</sup> Die Th-17-Zellen veranlassen die Keratinozyten auch zur Sezernierung von VEGF (Vascular Endothelial Growth-Factor), was zu einer gesteigerten Angiogenese führt.<sup>77</sup> Allerdings ist unklar, warum IL-23 in erster Linie erhöht ist. Seine Expression wird durch den NF-κB-Signalweg reguliert, wie der vieler anderer Zytokine auch,<sup>78</sup> TNF-α löst den NF-κB-Signalweg aus.<sup>86(chap29)</sup> TNF-α und IL-23 werden von aktivierten Immunzellen, aber auch von psoriatisch-veränderten Keratinozyten produziert.<sup>87</sup>

#### 2.2.5.6.2 Mögliche Interaktionen der untersuchten Zytokine in AI

Der Nachweis von IL-1β,<sup>24</sup> IL-23 und IL-17<sup>25</sup> in AI-Läsionen implizierte die Anwesenheit des IL-23/Th17-Signalwegs in der Pathogenese der AI.<sup>25</sup> Die

nachfolgende **Abbildung 13** zeigt in Anlehnung an das Schaubild von Sabat *et al.*<sup>88</sup> wie diese Annahme weiter entwickelt wurde. Ferner sind die Wirkungen der übrigen untersuchten Botenstoffe eingearbeitet. Der Fokus liegt auch hier auf den in dieser Arbeit untersuchten Zytokinen.



**Abbildung 13:** Zytokine in der Immunpathogenese der AA

Abbildung von Sonja Außner angelehnt an das Schaubild zu Zytokin-Interaktionen von Sabat *et al.*<sup>88</sup>

Zusätzliche Abkürzungen: NG = Neutrophile Granulozyten, IFL = Inflammasom, AMP = Antimikrobielle Proteine,  $IFN-\gamma$  = Interferon-gamma, IL-23R = IL-23-Rezeptor, DAMPs = Damage Associated Patterns, PAMPs = Pathogen Associated Patterns, IL-10 = Interleukin-10,  $\uparrow$  = vermehrte Expression

Durch folliculäre Hyperkeratose kommt es zum Verschluss der Haarfollikel-Talgdrüsen-Einheit. Die Ursache für die Hyperkeratose ist weiterhin ungeklärt. Der Inhalt des Follikels inklusive der enthaltenen Bakterien (in **Abbildung 13** als rote Punkte gekennzeichnet) wird retiniert.<sup>88</sup> Hierdurch und durch die Dilatation der Strukturen werden Immunzellen im betroffenen Areal aktiviert. Makrophagen sind die häufigste Immunzellen in AA-Läsionen. Von ihnen und von dendritischen

Zellen werden IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  und IL-23 sezerniert. Hierdurch wird die Differenzierung der Th-17-Zellen gefördert und IL-17 und IL-22 produziert.<sup>89</sup>

Laut der Untersuchung von Wolk *et al.*<sup>4</sup> ist IL-10 in AI-Läsionen übermäßig exprimiert und unterdrückt *in vitro* die Produktion von IL-22, jedoch nicht die von IL-17. Dies wurde als Grund für den ebenfalls nachgewiesenen relativen IL-22-Mangel bei AI im Vergleich zu PSO angenommen. Außerdem wurde in der Studie gezeigt, dass ein IL-22 Mangel in einem Zytokin-Mix aus IL-22, IL-17A, TNF- $\alpha$  und weiteren Zytokinen zu einer geringeren Expression an AMPs führt. Durch die damit einhergehende herabgesetzte Abwehr der Haut begründen sie die bakterielle Vermehrung in AI-Läsionen.

Liu *et al.* schlagen aufgrund ihrer Ergebnisse außerdem vor, dass die Mehrheit der IL-17 produzierenden Zellen auch TNF- $\alpha$  und IL-6 sezernieren.<sup>90</sup> TNF- $\alpha$  wird, wie in **Abbildung 13** zu sehen, von mehreren Zelltypen sezerniert und induziert zusammen mit IL-1 $\beta$ , IL-23 und IL-17 allgemeine Entzündungsreaktionen wie gesteigerte Durchblutung, weitere Immunezellinfiltration, Schmerz und Gewebedegradation. Diese wiederum bilden die Grundlage für DAMPs und PAMPs welche in neutrophilen Granulozyten auf das Inflammasom wirken und durch Caspase-1-Aktivität pro-IL-1 $\beta$  in seine aktive Form versetzen. Dadurch hält sich die Entzündungsreaktion aufrecht. Dies ist nur einer von vielen Loop-Mechanismen. IL-23 induziert beispielsweise die Expression seines eigenen Rezeptors auf dendritischen Zellen.<sup>77</sup> Van der Zee *et al.* stellten auf Grundlage von Beobachtungen bei anderen Erkrankungen die These auf, dass DAMPs und PAMPs in AI auf drei unterschiedlichen Wegen hervorgerufen werden: Erstens mittels körpereigener molekularer Muster durch Gewebedestruktion und Pyroptose (eine hoch inflammatorische Form der Apoptose). Zweitens durch bakterielle Bestandteile und Sequenzen der kommensalen Flora. Drittens durch freie hochmolekulare Keratinfasern in der Dermis, welche durch Ruptur der Follikel freigesetzt werden. Es wird angenommen, dass die Keratinfasern nach Phagozytose das Inflammasom aktivieren; in Analogie zu ausgefallenen Harnsäurekristallen bei Gicht.<sup>24</sup>



### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Verwendete Chemikalien, Antikörper, Geräte und Software

**Tabelle 2:** In dieser Arbeit für Immunhistochemie verwendete Chemikalien und Puffer

<b>Chemikalien</b>	<b>Hersteller</b>
Xylene	Sigma-Aldrich
2-Propanol	Honeywell
Ethanol 75%	Honeywell
Ethanol 96%	Honeywell
PBS - Puffer (10X Dulbecco's)	AppliChem
Wasser demin., nicht keimfrei	ROTH
Aqua dest.	eigene Herstellung
Natriumchlorid	Sigma-Aldrich
Tween® 20 for molecular biology	AppliChem
Antibody Diluent	Zytomed
HIER Citrate Buffer (10x) pH 6	Zytomed
Fettstift	Dako

Blocking Solution	Zytomed
Normal Goat Serum	Cell Signaling
Biotinylated Secondary Antibody, polyvalent	Zytomed
Streptavidin-HRP-Conjugate	Zytomed
HistoGreen (Substratkit für Peroxidase)	Linaris
HistoHämatoxylin	Linaris
HistoPerm Eindeckmedium	Linaris

**Tabelle 3:** In dieser Arbeit für Immunhistochemie verwendete Antikörper

<b>Antikörper</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Host</b>	<b>Reaktivität</b>	<b>Verdünnung</b>
<b>Primärantikörper</b>				
IL-1 $\beta$	Novus Bio NB600-633	Hase	Mensch	1:400
IL-17A	R&D Systems AF-317-NA	Ziege	Mensch	1:100
IL-22	Thermo Fisher Scientific PA5-34753	Hase	Mensch	1:200
IL-23p19	Novus Bio NBP1-77257	Hase	Mensch	1:750
TNF- $\alpha$	Abnova H00007124-M03	Maus	Mensch, Ratte	1:200
<b>Sekundärantikörper</b>				
Biotinylated Secondary Antibody, polyvalent	Zytomed	Hase, Maus	Mensch	ready-to-use
Anti-Goat HRP	Dako	Ziege	Mensch	1:100 (IL-17)

<b>Isotypkontrollen</b>				
Polyclonal Goat IgG	R&D Systems	Ziege	Mensch	1:200 (IL-17)
Rabbit IgG	Jackson Immuno Research	Hase	Mensch	1:4080 (IL-1 $\beta$ ) 1:2040 (IL-22) 1:7650 (IL-23)
Mouse IgG 1 kappa	Cell Signaling	Maus	Mensch	1:1250(TNF- $\alpha$ )

**Tabelle 4:** In dieser Arbeit für Immunhistochemie verwendete Geräte und zugehörige Software

<b>Geräte/Software</b>	<b>Hersteller</b>
Heizofen E5CC	Snol
Eismaschine AF80	Scotsman
Mikroskop Axiolab DE-50	Zeiss
Mikroskop BX50	Olympus
Kamera DP20	Olympus
Zentrifuge Fresco 21	Thermo Scientific
Vortex-2 Genie	Scientific Industries

Pipetten	Eppendorf
cellSens Entry	Olympus
ImageJ	Java

## 3.2 Immunhistochemie

### 3.2.1 Proben

Das in der IHC verwendete Gewebe ging entweder auf routinemäßig entnommene Diagnosebiopsien (PSO, PCAS) oder auf den dermato-operativen bzw. allgemeinchirurgischen Bereich zurück. Hier war das Gewebe während Operationen als Überschussmaterial angefallen, z.B. bei operativer Sanierung der AI bzw. des SP oder bei plastischer Deckung die gesunde Haut (GH). Dieses Material wurde von den Mitarbeitern der Histologie der KDVA ausgewählt und in anonymisierter Form für die weiteren Untersuchungen übergeben. Somit lagen bei den meisten Proben für diese Arbeit zur Auswertung nur die Biopsie- bzw. Operations-Indikation, das Geschlecht der Patienten und das Alter bei Entnahme vor. Es bestand keine Möglichkeit zur Rückverfolgung der Patienten. Aus genannten Gründen wurde für die Testung dieser Proben nur eine Voranfrage und kein Antrag mit Votum bei der Ethikkommission benötigt.

Jedoch standen nicht genügend archivierte Proben der letzten zehn Jahre zur Verfügung, die die Einschlusskriterien erfüllten. Deshalb wurden über ein Ethikvotum (Geschäftsnummer 402/17) weitere Patienten, die wegen eines SP oder einer AI operiert werden mussten, eingeschlossen. Der Zeitraum der Probengewinnung betrug zwölf Monate (Februar 2018 - Januar 2019). Die Aufklärung der Patienten erfolgte an der KDVA. Eine Patienteninformation, die das Forschungsziel und die Durchführung der Entnahme beschrieb, wurde nach erfolgter Aufklärung und Klärung aller offenen Fragen vom jeweiligen Patienten und aufklärendem Arzt in zweifacher Ausführung unterschrieben. Erst nach diesem Einverständnis wurden die Proben entnommen. Die Biopsien erfolgten nach den internen Vorgaben des Universitätsklinikums Frankfurt. Nachfolgend sind die Ein- und Ausschlusskriterien für den Einschluss in die Prüfung aufgeführt:

#### a) Einschlusskriterien

- Männer oder Frauen  $\geq 18$  Jahre.
- Patienten müssen die Bedeutung und den Umfang der Studienteilnahme gänzlich verstehen.
- Klinisch gesicherte Diagnose einer AI, eines SP, einer PCAS oder PSO.

#### b) Ausschlusskriterien

- Systemische immunsuppressive Therapie innerhalb der letzten 4 Wochen vor Probenentnahme (z.B. Glukokortikoide, Antibiotika, Biologika, Retinoide).
- Jegliche Antikörpertherapie (z.B. Anti-TNF- $\alpha$ ) musste mindestens 12 Wochen vor Probenentnahme beendet worden sein.
- Lokalthherapie mit immunsupprimierenden oder immunmodulierenden Externa innerhalb der letzten 14 Tage vor Probenentnahme an der läsionalen Haut, die für die Probenbiopsie vorgesehen war.
- Schwere bakterielle Lokalinfektion, die eine Kontraindikation zur Probeentnahme darstellt.
- Schwangere oder stillende Frauen.
- Inhaftierte Personen.

Ferner wurde zum Vergleich GH aus einem anderen Ethikantrag (Geschäftsnummer 386/14) verwendet. Hierbei handelt es sich um Hautproben aus überschüssigem Gewebe, das in der Adipositaschirurgie entnommen wurde. Eine Übersicht der untersuchten Patienten und Proben findet sich in **Tabelle 5**. **Tabelle 6** und **Tabelle 7** geben einen Überblick über die Demografie.

**Tabelle 5:** Übersicht der Proben: AI, SP und PCAS,

die mittels IHC auf IL-1 $\beta$ , IL-17, IL-22, IL-23 und TNF- $\alpha$  untersucht wurden. (W = Weiblich, M = Männlich)

<b>Indikation</b>	<b>Alter</b>	<b>Geschlecht</b>	<b>Identifizierungsnummer</b>
Psoriasis vulgaris	28	W	SA_PSO_06
Gesunde Haut	35	W	SA_GH_06
Gesunde Haut	42	W	SA_GH_07
Gesunde Haut	45	W	SA_GH_08
Gesunde Haut	38	M	SA_GH_09
Gesunde Haut	33	M	SA_GH_11
Acne inversa	36	M	SA_AI_02
Acne inversa	28	W	SA_AI_06
Acne inversa	24	M	SA_AI_07
Acne inversa	33	M	SA_AI_08
Acne inversa	56	W	SA_AI_09
Acne inversa	52	W	SA_AI_13
Acne inversa	44	W	SA_AI_14

Sinus pilonidalis	30	M	SA_SP_01
Sinus pilonidalis	33	M	SA_SP_04
Sinus pilonidalis	21	M	SA_SP_05
Sinus pilonidalis	31	M	SA_SP_06
Sinus pilonidalis	42	M	SA_SP_07
Sinus pilonidalis	24	W	SA_SP_09
Sinus pilonidalis	32	W	SA_SP_10
PCAS	18	M	SA_FO_01
PCAS	20	M	SA_FO_02
PCAS	19	M	SA_FO_03

**Tabelle 6:** Demografische Übersicht Acne inversa, Sinus pilonidalis, PCAS

<b>Indikation</b>	<b>Durchschnittl. Alter in Jahren</b>	<b>Altersspanne in Jahren</b>	<b>Weiblich</b>	<b>Männlich</b>
Acne inversa	39	24 - 56	4	3
Sinus pilonidalis	30,4	21 - 42	3	4
PCAS	19	18 - 20	0	3
<b>Total</b>			7	10

**Tabelle 7:** Demografische Übersicht Kontrollen

<b>Indikation</b>	<b>Durchschnittl. Alter in Jahren</b>	<b>Altersspanne in Jahren</b>	<b>Weiblich</b>	<b>Männlich</b>
Gesunde Haut	38,6	33 - 45	3	2
Psoriasis	28	-	1	0
<b>Total</b>			4	2

### 3.2.2 Versuchsaufbau

Mittels immunhistochemischer Färbungen wurden die Expression und die topographische Verteilung der Interleukine IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22 und IL-23 sowie TNF- $\alpha$  untersucht. Dafür wurde paraffiniertes Gewebe der genannten chronisch-entzündlichen Dermatosen, sowie GH zum Vergleich verwendet. Der Probenumfang betrug pro Antikörperfärbung sieben Patienten von AI und SP sowie drei von PCAS. Als Positivkontrolle wurde eine PSO-Probe mitgeführt. Initial wurden die Versuche mit den Antikörpern an PSO-Proben etabliert. Als normale, nicht-inflammatorische Kontrolle wurde Haut von fünf hautgesunden Patienten verwendet. Alle Proben wurden auf die oben genannten Entzündungsmediatoren und als Negativkontrolle auf den jeweiligen IgG-Isotyp gefärbt.

Die Abteilung für Histologie der KDVA stellte die Gewebsschnitte mit einer Schichtdicke von 4 $\mu$ m her. Die weitere Untersuchung wurde im biochemischen Labor der KDVA durchgeführt. Die Objektträger (OT) wurden zunächst bei 50°C in einem Heizofen für 60 min platziert. Dies sollte den Halt der Gewebsschnitte auf dem OT und das anschließende Entparaffinieren erleichtern. Im Anschluss an die Wärmebehandlung wurden die Proben in einer Alkoholreihe entparaffiniert. Nacheinander wurden sie hierzu in Glasküvetten mit Xylol (I, II und III), Isopropanol (I und II) sowie Ethanol (75% und 96%) gegeben, um die Wachsbestandteile zu entfernen. Um das Gewebe abschließend wieder zu hydratisieren, wurden die OT in Glasküvetten mit destilliertem Wasser (Aqua dest.) und PBS (mit Phosphat gepufferte Salzlösung) gegeben. Die genauen Zeiten für die einzelnen Schritte sind folgend aufgeführt:

- Xylol I für 15 min, Xylol II und Xylol III für jeweils 10 min
- Isopropanol I und Isopropanol II für jeweils 5 min
- Ethanol 96 % und 75 % für jeweils 5 min
- 30 sec in Aqua dest. waschen
- In PBS bis zur weiteren Behandlung stellen

Im Anschluss fand die Hitzebehandlung der Gewebsschnitte in einem mit Aqua dest. befüllten Dampfgarer statt. Hierzu wurden die Schnitte in eine mit Citratpuffer (pH-Wert 6) gefüllte Kunststoffküvette gestellt. Nach 20 min Kochzeit erfolgte die Entnahme der Küvette aus dem Dampfgarer und eine nachfolgende Abkühlung für ebenfalls 20 min in einem Eisbad. Währenddessen wurden mit Aqua dest. getränkte Zellstofftücher auf dem Boden der anschließend verwendeten Feuchtkammer ausgelegt, um später ein Austrocknen während der Inkubationszeiten zu verhindern. Nach diesen vorbereitenden Schritten konnte mit der Färbbehandlung begonnen werden.

Zur Färbung wurden das Nachweis-Kit ZytoChem HRP Kit, Broad Spectrum von ZytoMed Systems, und das Histogreen Kit von Linaris verwendet. Nach der Abkühlungsphase erfolgte die Entfernung von möglichst viel Kochpuffer von den OT und die anschließende Waschung dieser für einen Zeitraum von 60 min in PBS-T (PBS+Tween®). Zirkulär um die Gewebeschnitte wurde eine Begrenzung mittels Fettstifts aufgetragen, um das Abfließen der im Folgenden verwendeten Reagenzien zu verhindern. Anschließend wurde das Protein Blocking Agent aus dem Zytomed-Kit auf das Gewebe aufgetragen. Außer bei IL-17A: hier wurde 1%iges Goat-Serum in PBS verwendet, da das Zytomed-Kit nur mit Antikörpern der Arten Hase und Maus funktioniert. Hierdurch sollte die Hintergrundfärbung minimiert werden, indem unspezifische Bindungsstellen des Primär- und Sekundärantikörpers blockiert wurden. Die OT wurden für 60 min bei Raumtemperatur (RT) in der Feuchtkammer inkubiert. Die anschließende Waschung der Schnitte erfolgte je 3 min in PBS, PBS-T und PBS. Danach wurde der zu untersuchende Primärantikörper auf die Schnitte aufgetragen. Die Inkubation der OT fand für 10-12 Stunden bei 6 °C in der Feuchtkammer statt.

Alle Primärantikörper wurden in Antibody Diluent (Zytomed) in der gewünschten Konzentration verdünnt. Der IL-17A-Antikörper hingegen wurde mit o.g. Goat-Serum angesetzt. Pro Gewebeschnitt wurden durchschnittlich 100 µl Reagenz verwendet. Die Konzentrationen der Antikörper betragen:

- IL-1 $\beta$ : 1:400 bei einer Antikörper Konzentration von 2,0 mg/ml (entspricht einer Verdünnung der Isotypkontrolle von 1:4080)
- IL-17A: 1:100 bei einer Antikörper Konzentration von 1 mg/ml (entspricht einer Verdünnung der Isotypkontrolle von 1:200)
- IL-22: 1:200 bei einer Antikörper Konzentration von 11,2 mg/ml (entspricht einer Verdünnung der Isotypkontrolle von 1:2040)
- IL-23: 1:750 bei einer Antikörper Konzentration von 11,2 mg/ml (entspricht einer Verdünnung der Isotypkontrolle von 1:4080)
- TNF- $\alpha$ : 1:200 bei einer Antikörper Konzentration von 2,5mg/ml (entspricht einer Verdünnung der Isotypkontrolle von 1:1250)

Bei den Ursprungsspezies der Primärantikörper TNF- $\alpha$  handelt es sich um Maus, bei IL-1 $\beta$ , IL-22 und IL-23 um Hase und bei IL-17A um Ziege. Es wurden deshalb verschiedene Isotypkontrollen benötigt:

- Mouse IgG 1 kappa, Cell Signaling
- Rabbit IgG, Jackson Immuno Research
- Polyclonal Goat IgG, R&D Systems

Die Anpassung der Konzentrationen der Isotypkontrolle fand, wie oben beschrieben, an die Konzentrationen der jeweiligen Primärantikörper statt. So diente dies als Negativkontrolle für das Hintergrundsignal des Primärantikörpers.

Nach der langen Inkubationsphase wurde zunächst der Primärantikörper durch sanftes Abklopfen von den Schnitten entfernt. Anschließend wurden die Schnitte dreimal für jeweils 5 min in PBS, dann PBS-T und wieder PBS gewaschen. Als nächstes wurden die OT vorsichtig abgeklopft, um möglichst viel Puffer zu entfernen. Nun wurde der biotinylierte, polyvalente Sekundärantikörper auf den Schnitt aufgetragen und für 45 min bei RT in der Feuchtkammer inkubiert. Hierbei verbindet sich der Sekundärantikörper mit dem Primärantikörper und wird anschließend von der Streptavidin-Peroxidase erkannt. Im Anschluss wurde erneut möglichst viel von dem nicht gebundenen Sekundärantikörper von den OT abgeklopft und zweimal 5 min in PBS gewaschen werden. Nun wurde die Streptavidin-Peroxidase aufgetragen, die am Biotinrest eine Bindung ausbildet.

Diese wirkte bei RT in der Feuchtkammer für 45 min ein. Im Anschluss wurden die Schnitte erneut zwei Mal für 5 min in PBS gewaschen, um alle überschüssigen Reagenzien zu entfernen.

Während dieses Waschschriffs wurde die Histogreen-Entwicklungslösung frisch angesetzt. Die Lösung reagiert mit der Streptavidin-Peroxidase und zeigt eine grüne Färbung an der Stelle, wo der Primär-/Sekundärantikörper-Komplex an die Proteine gebunden hat. Je nach Größe der zu entwickelnden Gewebeschnitte wurden 1000µl oder 500µl Histogreen-Substrat nach Packungsanleitung angesetzt. Unter lichtmikroskopischer Kontrolle (Zeiss) erfolgte die Inkubation der OT für wenige Minuten bei RT in der Feuchtkammer. Hierbei war zu beachten, dass eine Überfärbung rasch erfolgen kann, sowie dass das Histogreen-Substrat nach ca. 5 min kristalloid ausfällt und starke Artefakte erzeugt werden.

Die Entwicklungszeit unterschied sich je nach untersuchtem Primärantikörper. Die Reaktion bei IL-1β wurde nach 3 min gestoppt, bei IL-17A nach 4 min, bei IL-22, IL-23 und TNF-α nach 3 min, da sich nach diesen Zeiten jeweils eine Färbung in der PSO-Positivkontrolle zeigte. Die Schnitte mit den Isotypkontrollen wurden jeweils genauso lange entwickelt wie die zugehörigen Antikörper. Zumeist befanden sich Isotypkontrollschnitte auf dem gleichen OT wie die Versuchsschnitte. Nachdem die erwartete Färbung sichtbar wurde, wurden alle Schnitte ca. 3 min in PBS gewaschen, um die Reaktion zu beenden. Anschließend wurden die Schnitte 20 sec mit Histohämatoxylin (Linaris) inkubiert, um die Zellkerne anzufärben. Danach wurden die Schnitte 30 sec in einer Küvette mit Leitungswasser gewaschen, um das überschüssige Hämatoxylin zu entfernen und zu bläuen. Abschließend durchliefen die OT zur Dehydratisierung erneut eine Alkoholreihe. Pro Komponente 30 sec:

- Ethanol 96%, drei Küvetten nacheinander
- Xylol, zwei Küvetten nacheinander

Danach wurden alle Schnitte mit dem Eindeckmedium Histoperm (Linaris) auf Xylolbasis und Deckplättchen versehen, um die gefärbten Gewebe zu schützen

und haltbar zu machen. Die Analyse und Fotografie der Schnitte fand mit dem Lichtmikroskop (Olympus) der Dermato-Histologie der KDVA statt.

### 3.3 Auswertung der Ergebnisse

Um eine Auswertung der Ergebnisse vornehmen zu können, wurden von jeder Indikation in jeder Antikörperfärbung ein Bild in 20-facher Vergrößerung verwendet. Zum Zeitpunkt der Auswertung lag die Aufnahme der Bilder bereits mindestens sechs Monate zurück, da diese überwiegend direkt im Anschluss an die Versuche gemacht worden waren. Somit wurde gewährleistet, dass die Auswahl des Bildausschnitts nicht absichtlich auf die Auswertungsschablone ausgerichtet war. Jedoch wurde die visuelle Auswertung innerhalb weniger Tage vorgenommen, um hier einen einheitlichen Blick anzulegen. Die 20-fache Vergrößerung wurde zur Auswertung gewählt, da sie Übersichtlichkeit und Detaillierungsgrad der Abbildungen am besten vereint.

Ein Gitterraster in der Software ImageJ wurde gewählt und digital über die Bilder gelegt (siehe **Abbildung 14**). Es wurden immer die gleichen neun Felder (A-I) bewertet. Zunächst mit der Fragestellung, ob sich eine oder keine positiv gefärbte Zelle im Feld befindet.

Anschließend wurde die Anzahl der positiven Felder in ein im Rahmen dieser Studie entwickeltes Scoring-System eingeteilt (**Tabelle 8**). Je nach Anzahl der positiven Felder erfolgte die Einteilung in negativ (Kategorie I), schwach-positiv (Kategorie II), positiv (Kategorie III) und hoch-positiv (Kategorie IV). Dies ermöglichte die semiquantitative Beurteilung der Häufigkeit von Zytokinfärbungen.

Erythrozyten wurden durch alle Antikörper meist stark angefärbt. Da sie keine Haut- oder Immunzellen sind, wurden sie in der Auswertung nicht mitgezählt. Dies war insbesondere bei größeren Einblutungen wichtig zu beachten.

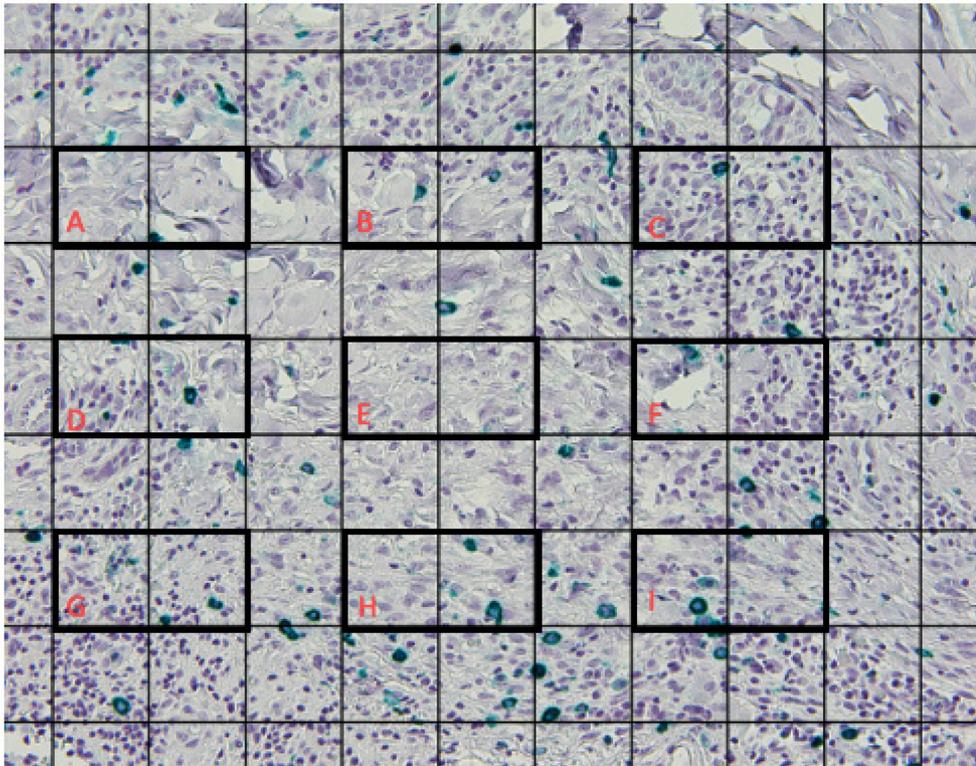


Abbildung 14: Gitterraster zur Auswertung eines PCAS-Schnitts

Tabelle 8: Scoring-System zur Bildauswertung

Anzahl positiver Felder/Bild	Kategorie
0	I
1 - 3	II
4 - 6	III
7 - 9	IV

## 4. Ergebnisse

Im Kapitel 4.1 werden die Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen in Bildübersichten dargestellt. Sie sind nach den untersuchten Zytokinen gegliedert und werden anschließend in Kapitel 4.2 in einer tabellarischen und grafischen Übersicht verglichen. Die beobachtete Expression wird anhand des in Kapitel 3.3 *Auswertung* geschilderten Prinzips analysiert, mit gesunder Haut verglichen und so eine veränderte Expression in den Dermatosen überprüft und untereinander gegenübergestellt.

### 4.1 Immunhistologische Färbungen

Die immunhistologischen Färbungen mit den Antikörpern gegen IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22, IL-23 und TNF- $\alpha$  an gesunder Haut und den untersuchten Dermatosen (AI, SP und PCAS) werden in dieser Reihenfolge gezeigt und anschließend die Ausprägung semiquantitativ beurteilt.

Alle Proben eines jeweiligen Antikörpers wurden zum gleichen Zeitpunkt in einem Versuchsdurchgang gefärbt, sodass der Färbeprozess so homogen wie möglich ablaufen konnte. Eine PSO-Probe wurde bei allen Färbungen als Positivkontrolle mitgeführt und wird hier als erstes gezeigt. Beschrieben werden vor allem Bildbereiche mit Infiltraten von Entzündungszellen. Dieses Vorgehen wiederholt sich bei allen untersuchten Zytokinen.

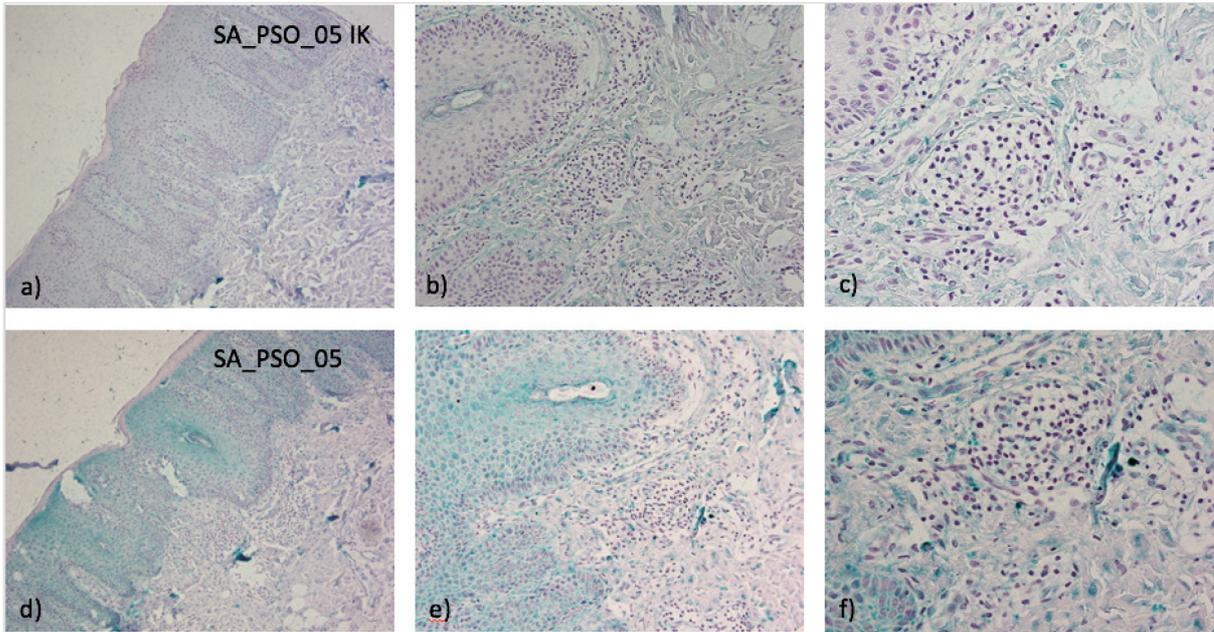
Es wurden zwei Übersichtsdarstellungen der Ergebnisse gewählt. Zunächst wird von jeder Indikation eine untersuchte Probe in einer Abbildung in drei verschiedenen Auflösungen gezeigt und direkt ihrer Isotypkontrolle gegenübergestellt (erste Übersicht, z.B. **Abbildung 15 a) – f)**). Die Bilder oben und unten links, a) und d), zeigen einen Ausschnitt in 10-facher Vergrößerung, um einen Überblick über den untersuchten Bereich zu geben. Die Bilder in der Mitte oben und unten, b) und e), wurden in 20-facher Vergrößerung aufgenommen. In dieser Vergrößerung erfolgte die Auswertung mittels

Gitterraster. Die 40-fache Vergrößerung rechts oben und unten, c) und f), gibt die Möglichkeit einzelne Zellen besser zu sehen und die Zellart zu identifizieren.

In der zweiten Übersicht eines jeweiligen Antikörpers und einer jeden Indikation, werden alle untersuchten Proben übersichtshalber in 20-facher-Vergrößerung zusammen mit ihrer IK dargestellt (z.B. **Abbildung 17**). Diese Bilder der zweiten Übersicht wurden, wie in Kapitel 3.3 *Auswertung* erläutert, mit einem Gitterraster versehen und ausgewertet. Diese Art der Darstellungen wiederholt sich bei allen untersuchten Zytokinen.

Da die Proben von GH, PSO und PCAS mittels 4 mm-Stanzbiopsien gewonnen wurden, sind oft Epidermis und Dermis gleichermaßen gut abgebildet. Die Proben von AI und SP hingegen wurden aus chirurgisch gewonnen Exzidaten generiert. Die Probenblöcke sowie auch die Schnitte daraus sind deutlich größer, weniger kompakt und dadurch störungsanfälliger im Färbeprozess. Meist wurde versucht ein entzündliches Infiltrat in der Dermis abzubilden, da die Epidermis häufig stark zerstört worden war.

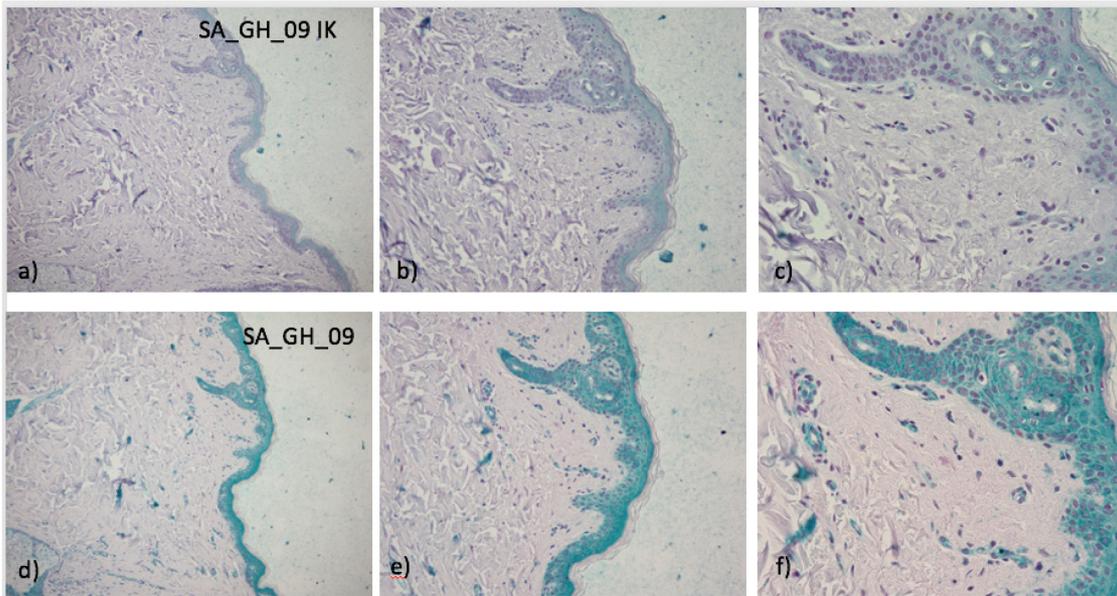
#### 4.1.1 Immunhistologische Färbungen mit IL-1 $\beta$ -Antikörper



**Abbildung 15 a) - f):** IL-1 $\beta$  PSO mit IK

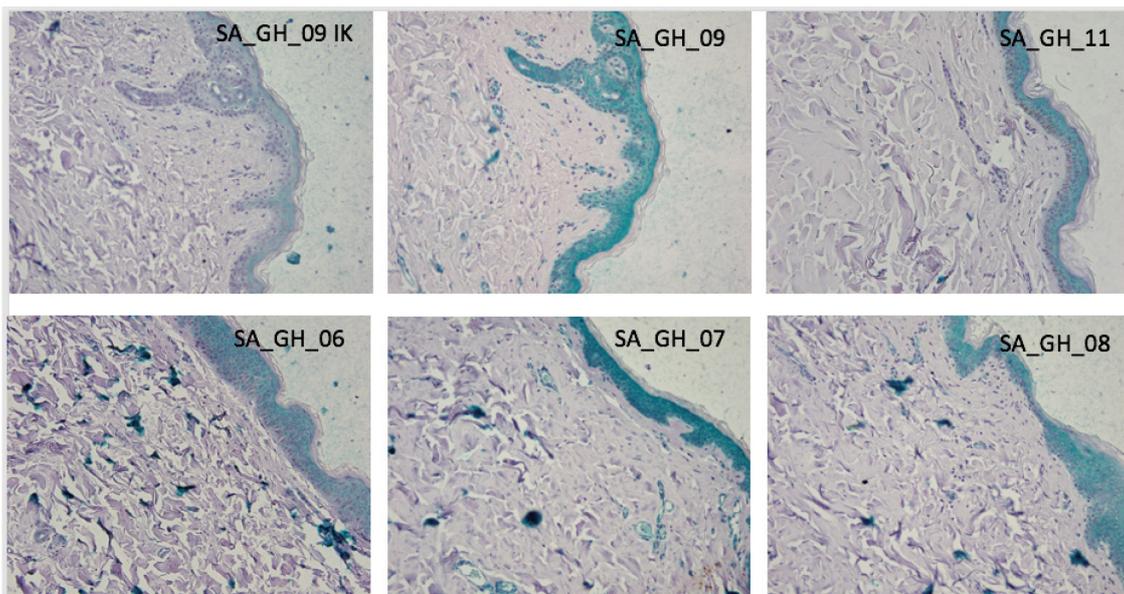
Färbung mit Histogreen, IL-1 $\beta$ -positive Zellen (Immunzellen, z.B. dendritische Zellen und Makrophagen) im subepidermalen Infiltrat, SA\_PSO\_05, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

Trotz einiger Prozessartefakte (Schrumpfung des Präparates) sind in der 40-fachen-Vergrößerung der PSO-Probe vereinzelt positive Zellen auszumachen. Es zeigt sich eine deutliche Hintergrundfärbung, die in der IK jedoch schwächer ausgeprägt ist. Obwohl diese PSO-Probe nur wenig IL-1 $\beta$  exprimiert, wurde der Versuch auch aufgrund anderer Voruntersuchungen fortgeführt.



**Abbildung 16 a) - f): IL-1 $\beta$  GH mit IK**

Färbung mit Histogreen, SA\_GH\_09, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



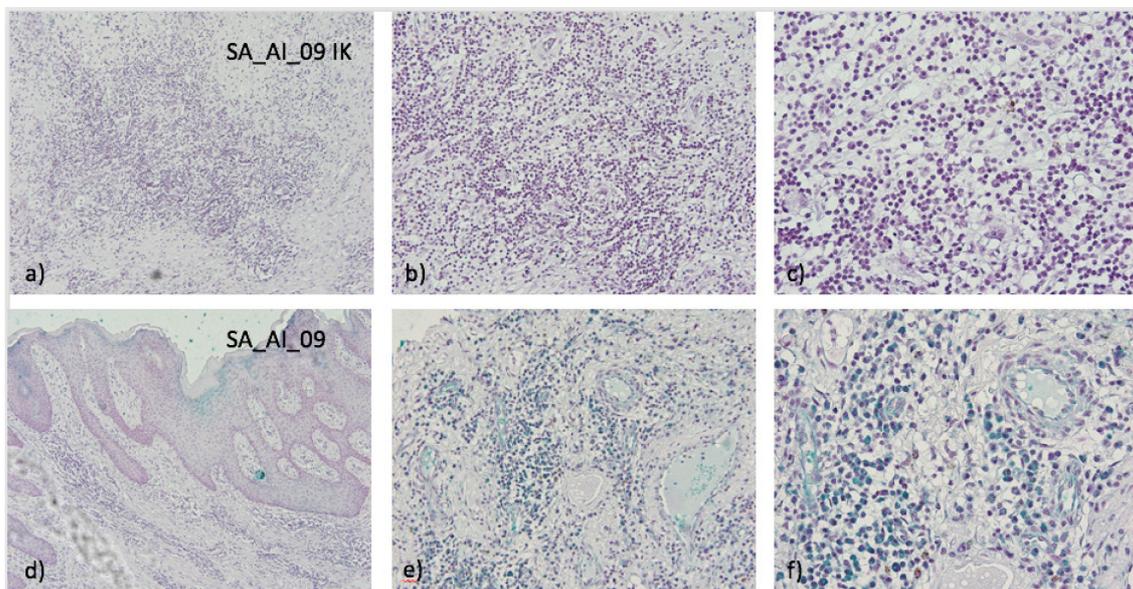
**Abbildung 17: IL-1 $\beta$  GH mit IK**

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: alle 20-fach

In der IK sieht man, dass eine leichte, unspezifische grünliche Hintergrundfärbung verschiedener Strukturen vorliegt. Jedoch sind in der IL-1 $\beta$ -Antikörper-Probe SA\_GH\_09 auch Epidermis-nahe Keratinozyten deutlich angefärbt. In allen Proben sieht man eine unspezifische Anfärbung der

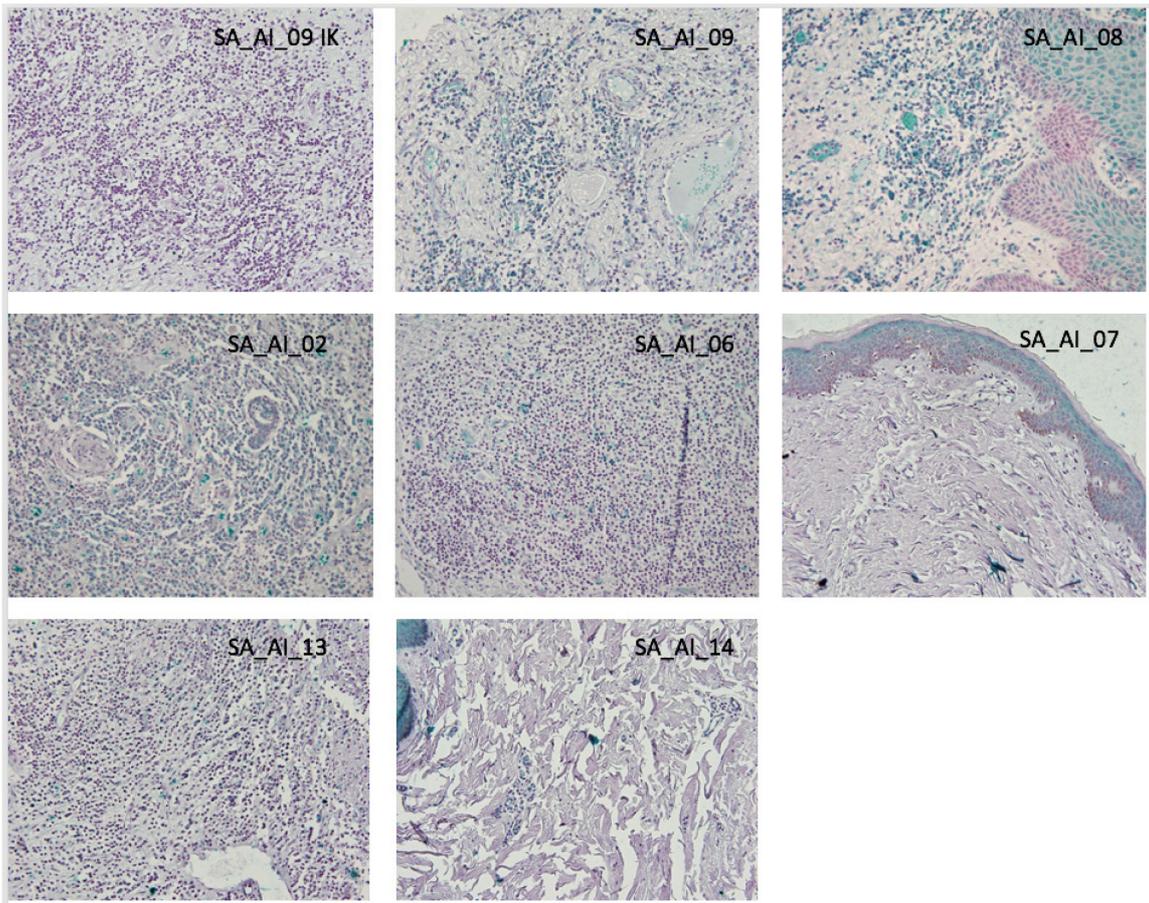
Epidermis. In der IK ist dies etwas weniger stark ausgeprägt. Wie in **Abbildung 16 f)** gut sichtbar, ist das Endothel der kleinen Gefäße ebenfalls stärker angefärbt als in der IK. Alle Proben, die mit dem IL-1 $\beta$ -Antikörper behandelt wurden, weisen vor allem in der Dermis Trocknungsartefakte auf (**Abbildung 17**).

In den nachfolgenden Bildübersichten zur AI, **Abbildung 18** und **Abbildung 19**, zeigen sich in den entzündlichen Infiltraten der Proben überwiegend IL1 $\beta$ -positive Zellen, wobei die IK blande ist. Bei den Proben SA\_AI\_07 und SA\_AI\_14 war aufgrund des Probenanschnitts oder Zerstörung im Färbeprozess kein passendes Infiltrat darstellbar.



**Abbildung 18 a) - f):** IL-1 $\beta$  AI mit IK

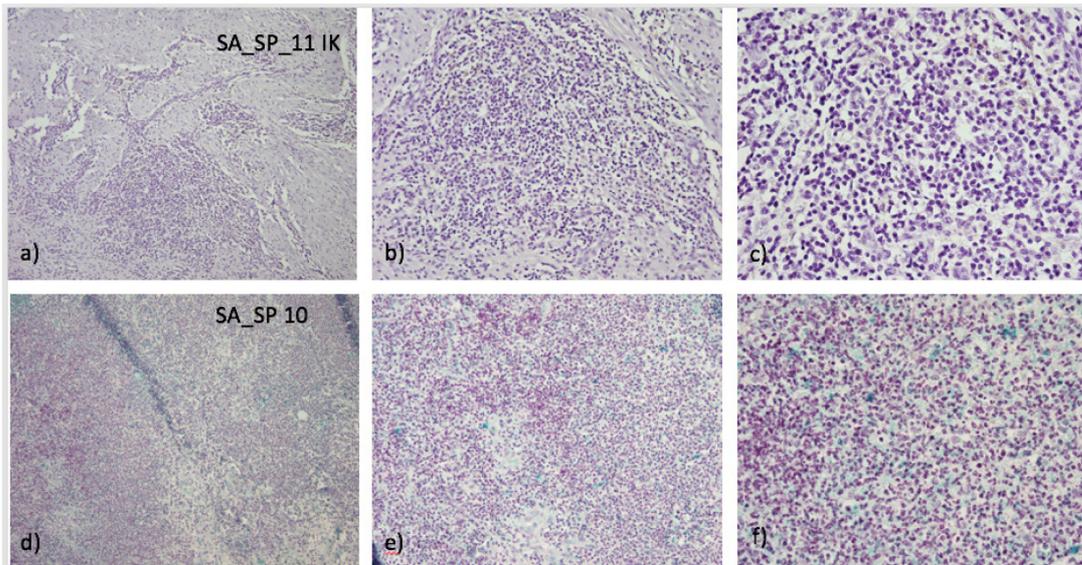
Färbung mit Histogreen, SA\_AI\_09, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 19:** IL-1 $\beta$  AI mit IK

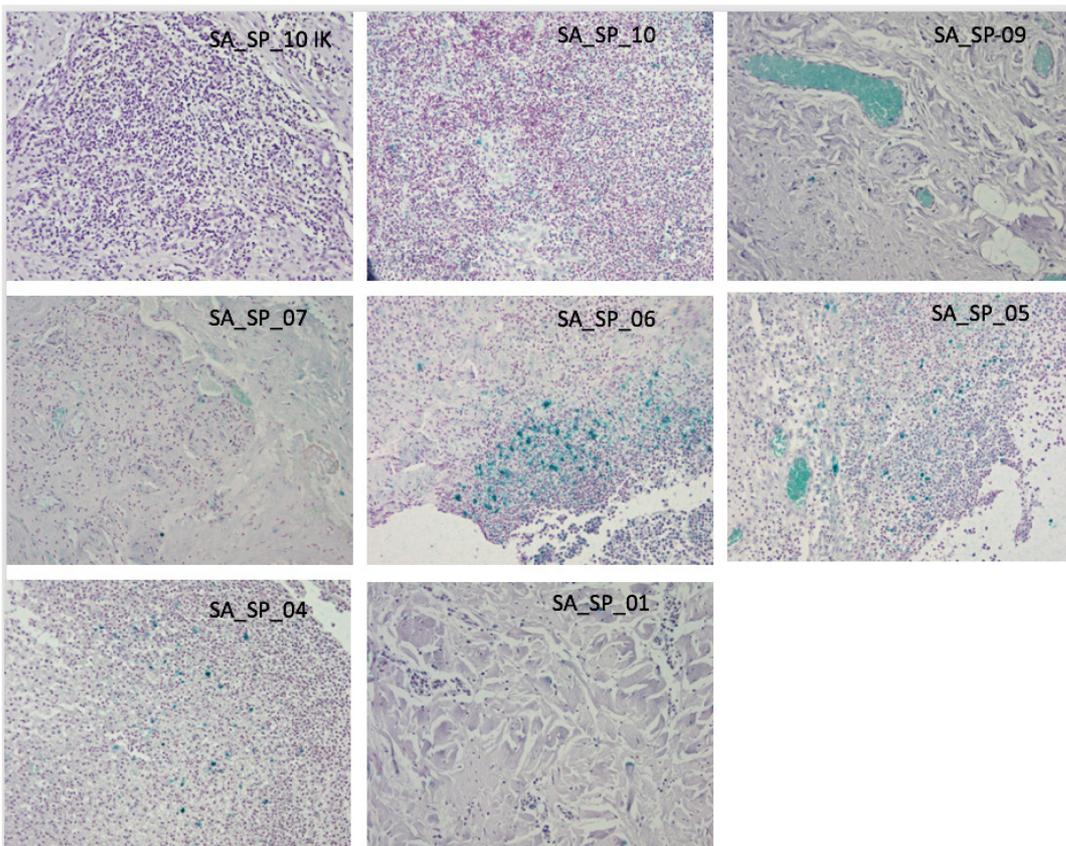
Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

Bei blander IK ist in den Sinus pilonidalis-Proben **Abbildung 20** und **Abbildung 21** nur eine sehr geringe oder keine Expression von IL-1 $\beta$  nachzuweisen.



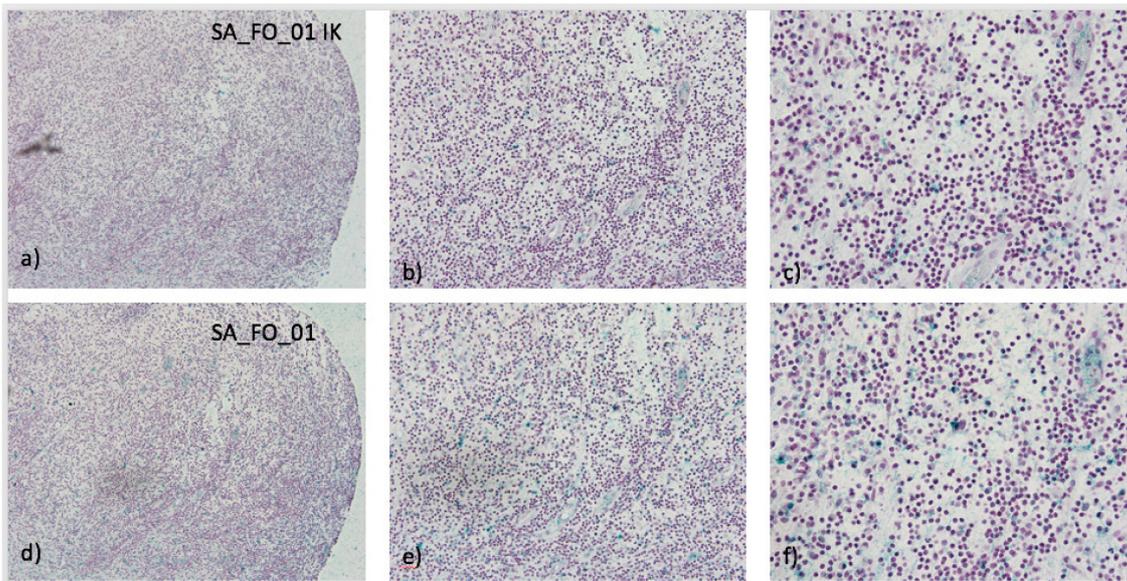
**Abbildung 20 a) - f):** IL-1 $\beta$  SP mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_SP\_10/11, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



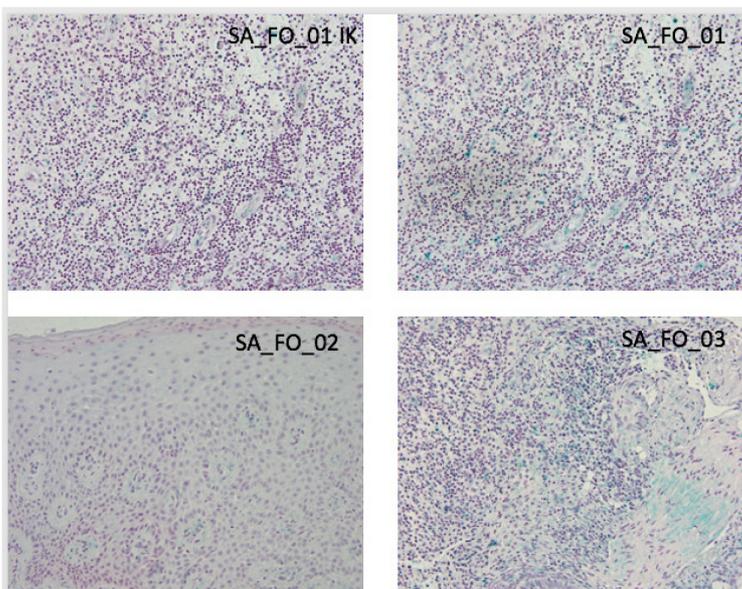
**Abbildung 21:** IL-1 $\beta$  SP mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach



**Abbildung 22 a) - f):** IL-1 $\beta$  PCAS und IK

Färbung mit Histogreen, SA\_FO\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

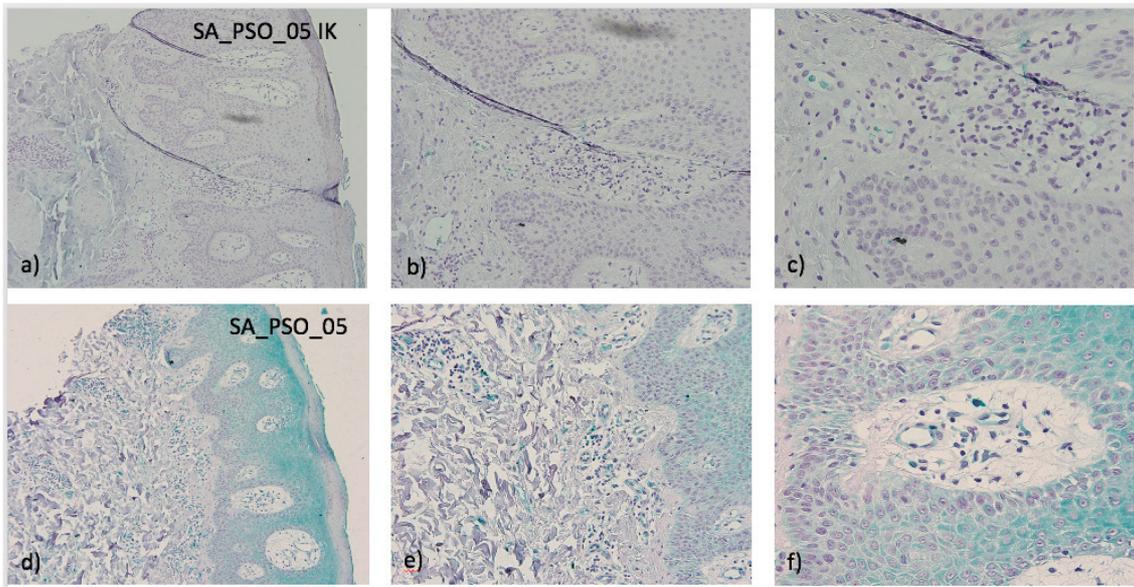


**Abbildung 23:** IL-1 $\beta$  PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

In den Abbildungen zur PCAS (**Abbildung 22** und **Abbildung 23**) sieht man, dass die Proben und die IK viel unspezifische Hintergrundfärbung enthalten. SA\_FO\_02 bietet in diesem Schnitt kein typisches Infiltrat. SA\_FO\_01 und SA\_FO\_03 weisen vermehrt IL-1 $\beta$ - positive Zellen auf.

#### 4.1.2 Immunhistologische Färbungen mit IL-17A-Antikörper

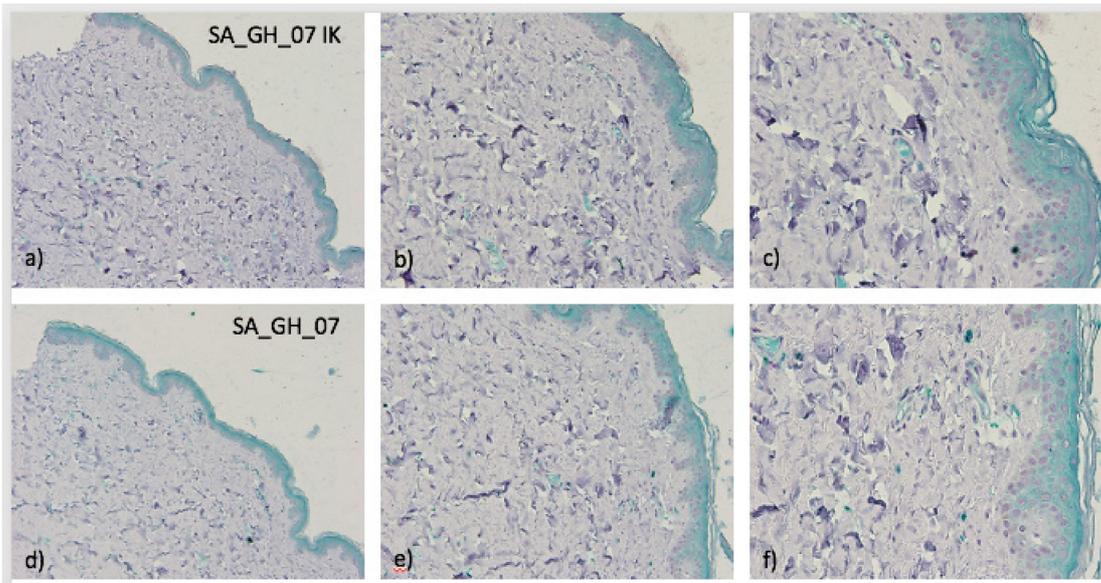


**Abbildung 24 a) - f):** IL-17A PSO mit IK

Färbung mit Histogreen, IL17A-positive Zellen im subepidermalen Infiltrat (neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, Mastzellen und Th-17-Zellen), SA\_PSO\_05, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

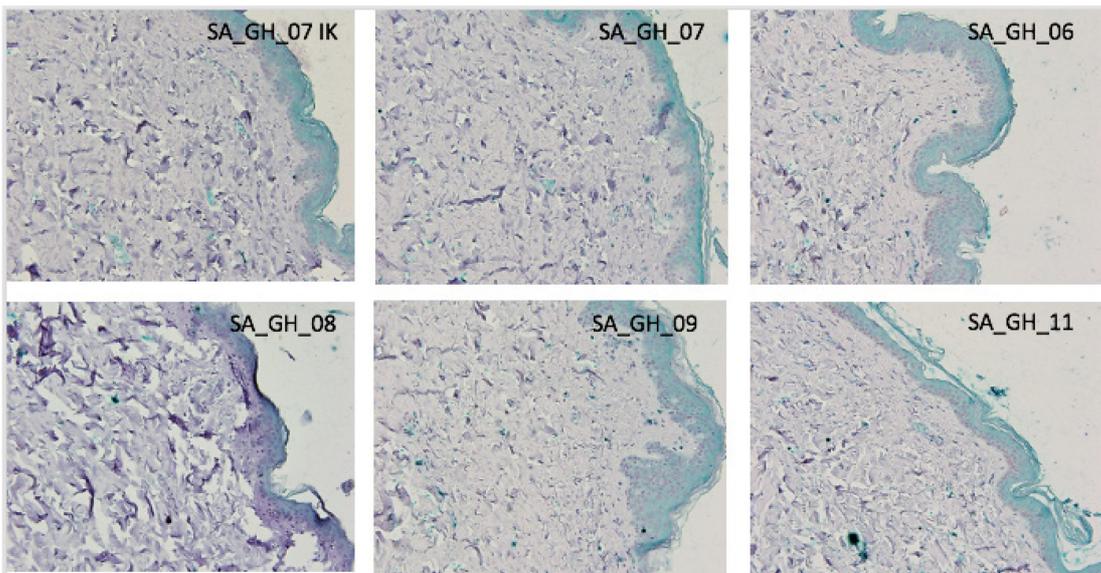
Die Übersicht der PSO-Positivkontrolle (**Abbildung 24**) zeigt vermehrt IL-17A-positive Entzündungszellen im gesamten Präparat. In der IK sind keine positiven Zellen auszumachen.

In **Abbildung 25 f)** zeigen sich, in der mit IL-17A-Antikörper behandelten Probe, Epidermis-nah positive Zellen. Die Epidermis und verschiedene Trocknungsartefakte in der Dermis zeigen in IK und Probe unspezifische grüne Anfärbung. In **Abbildung 26** sind bei SA\_GH\_09 vermehrt positive Zellen zu beobachten. Die Probe SA\_GH\_08 wurde im Färbeprozess beschädigt, sodass eine Auswertung nur eingeschränkt möglich war.



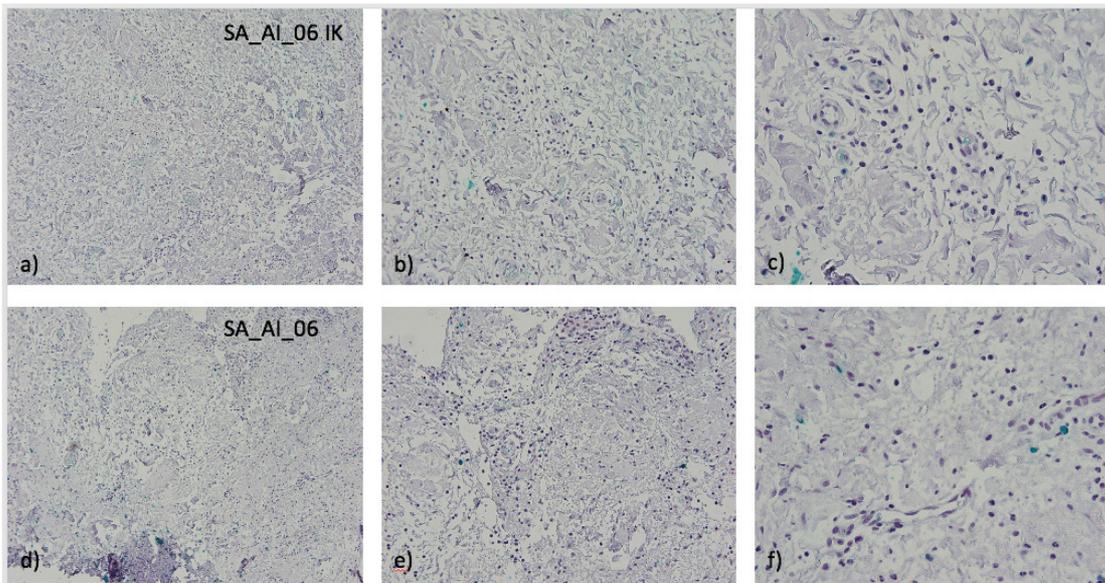
**Abbildung 25 a) - f):** IL-17A GH mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_GH\_07, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



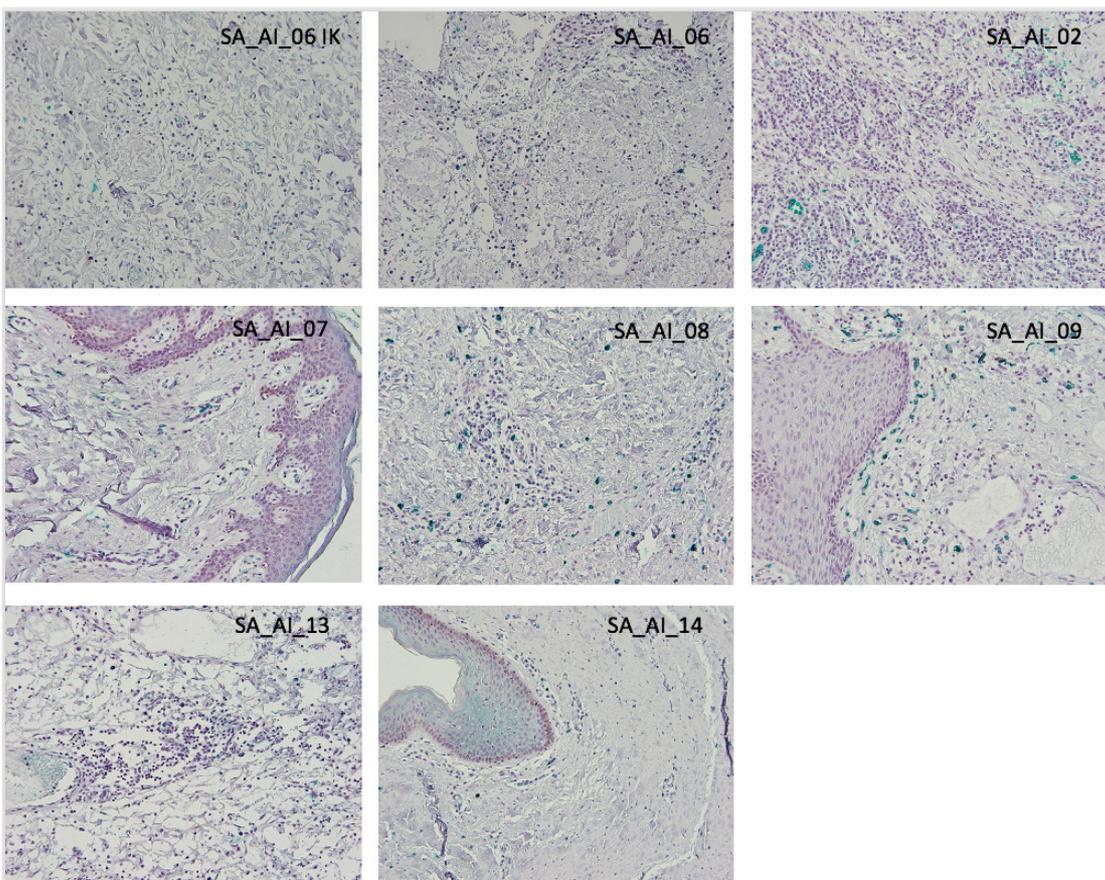
**Abbildung 26:** IL-17A GH mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach



**Abbildung 27 a) - f):** IL-17A AI mit IK

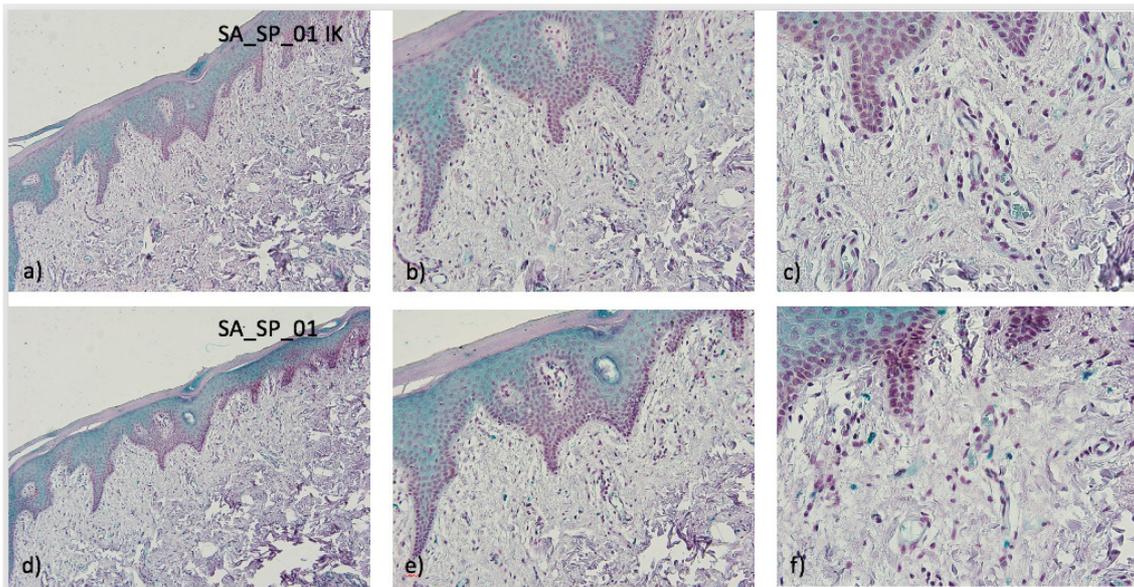
Färbung mit Histogreen, SA\_AI\_06, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 28:** IL-17A AI mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

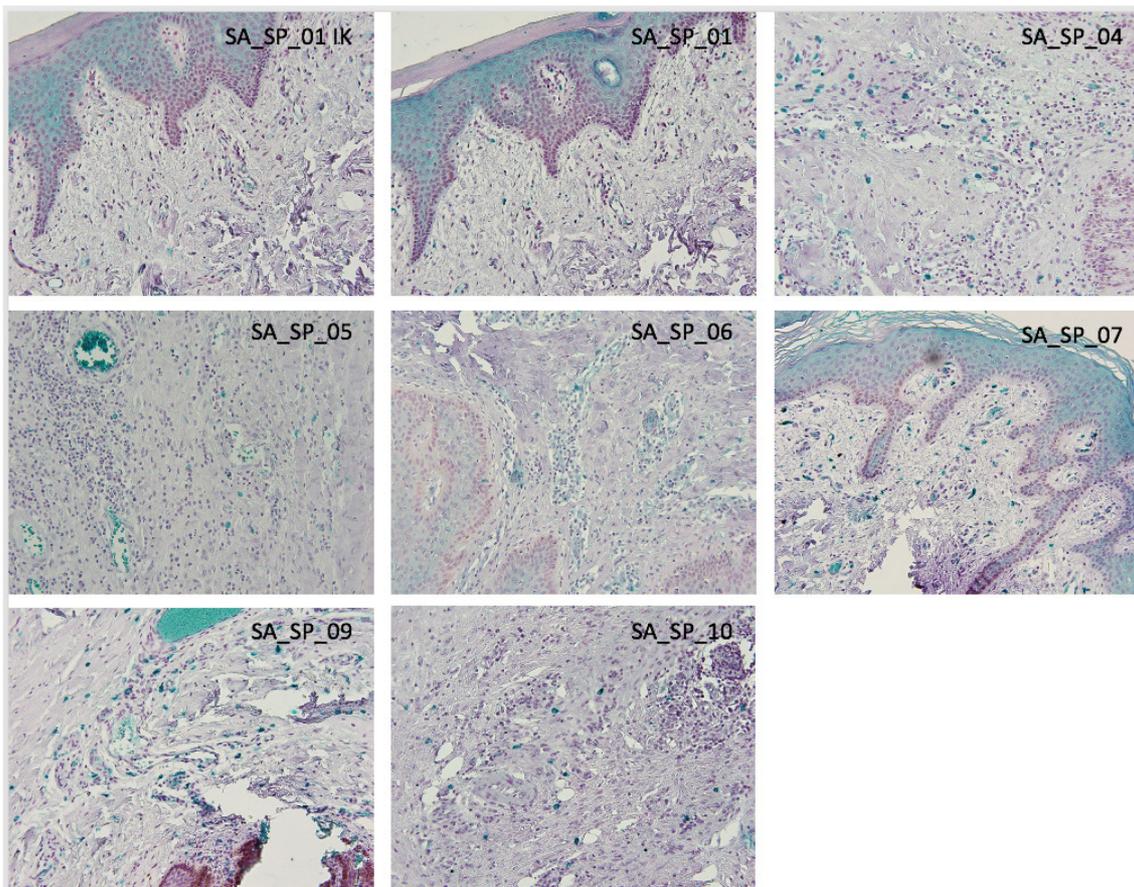
Die Schnitte von SA\_AI\_06 sind aus einer Probe, die nur wenig positive Zelle aufweist und deren Dermis bei IK und Antikörperuntersuchung im Färbeprozess stark angegriffen wurden (**Abbildung 27**). Ferner ist zu erwähnen, dass in **Abbildung 28** die Proben SA\_AI\_08 und SA\_AI\_09 hoch positive Areale aufweisen. SA\_AI\_02 hingegen zeigt hauptsächlich grün angefärbte Erythrozyten, die in der Auswertung nicht berücksichtigt wurden, da es sich nicht um Gewebs- oder Entzündungszellen handelt.



**Abbildung 29 a) - f):** IL-17A SP mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_SP\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

Auch in **Abbildung 29 c)** sieht man in der IK unspezifisch angefärbte Erythrozyten. Im Vergleich zur IL-17A-Antikörper-Probe jedoch keine positiven Entzündungszellen oder Keratinozyten.

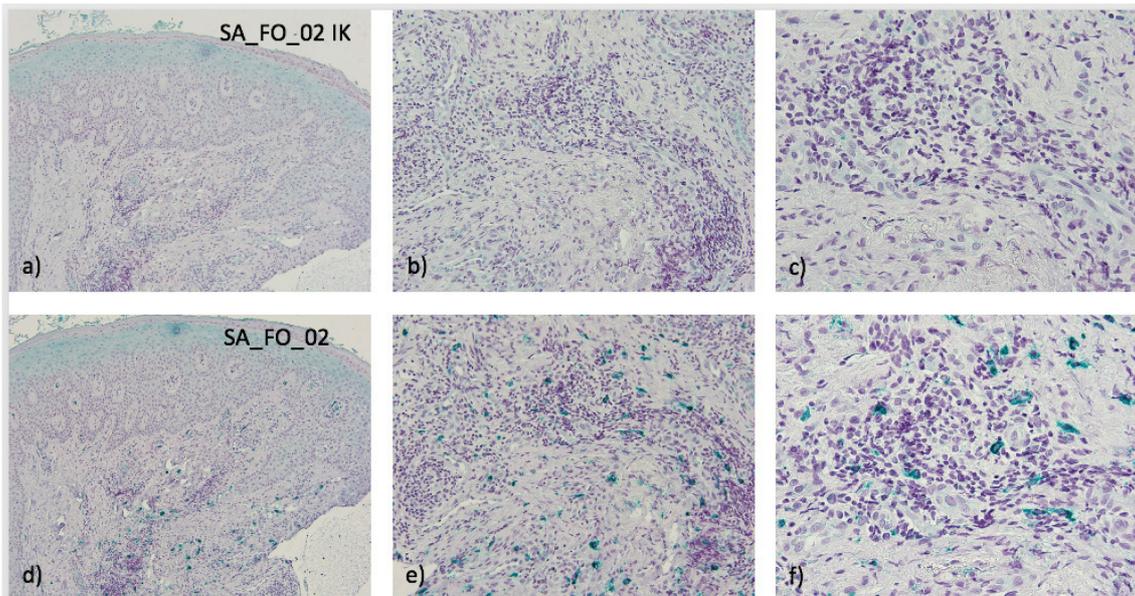


**Abbildung 30:** IL-17A SP mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

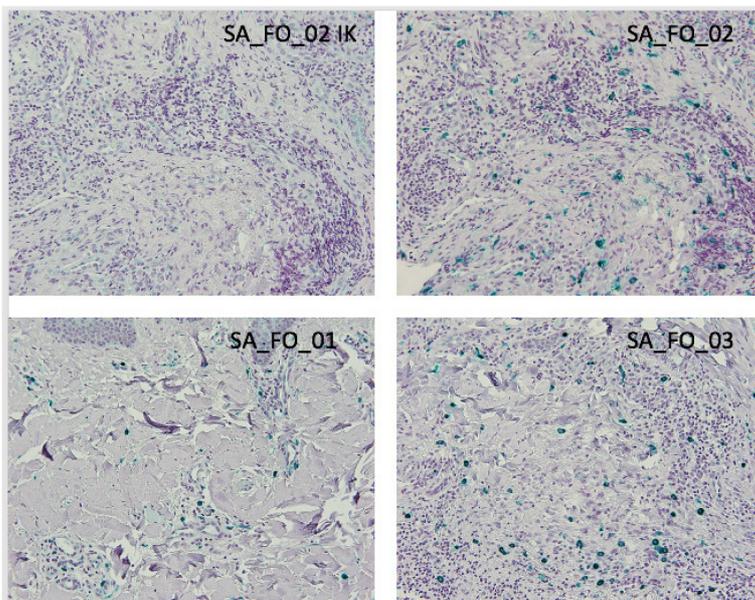
Die SP-Proben zeigen insgesamt eine geringe Expression von IL-17A. Es gibt vereinzelt hoch positive Zellen. Bei der überwiegenden Zahl der Proben löste sich im Färbeprozess z.T. Gewebe ab, was die Beurteilbarkeit einschränkt.

In den **Abbildung 31** und **Abbildung 32** sind positive Zellen in den entzündlichen Infiltraten der Dermis sehr gut auszumachen. Bei geringer Hintergrundfärbung ist die IK eindeutig als negativ zu bewerten.



**Abbildung 31 a) - f):** IL-17A PCAS mit IK

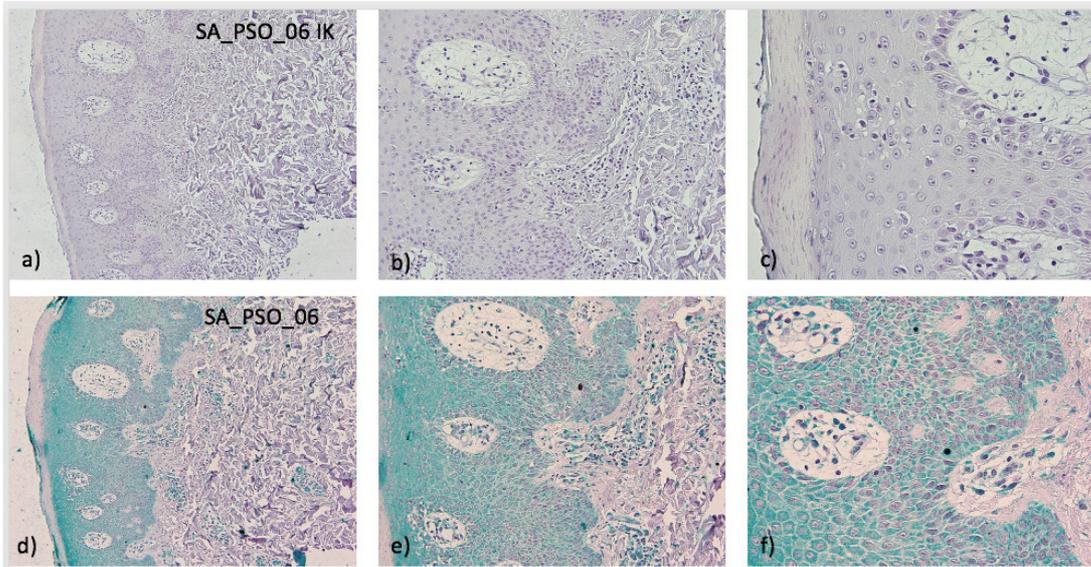
Färbung mit Histogreen, SA\_FO\_02, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 32:** IL-17A PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

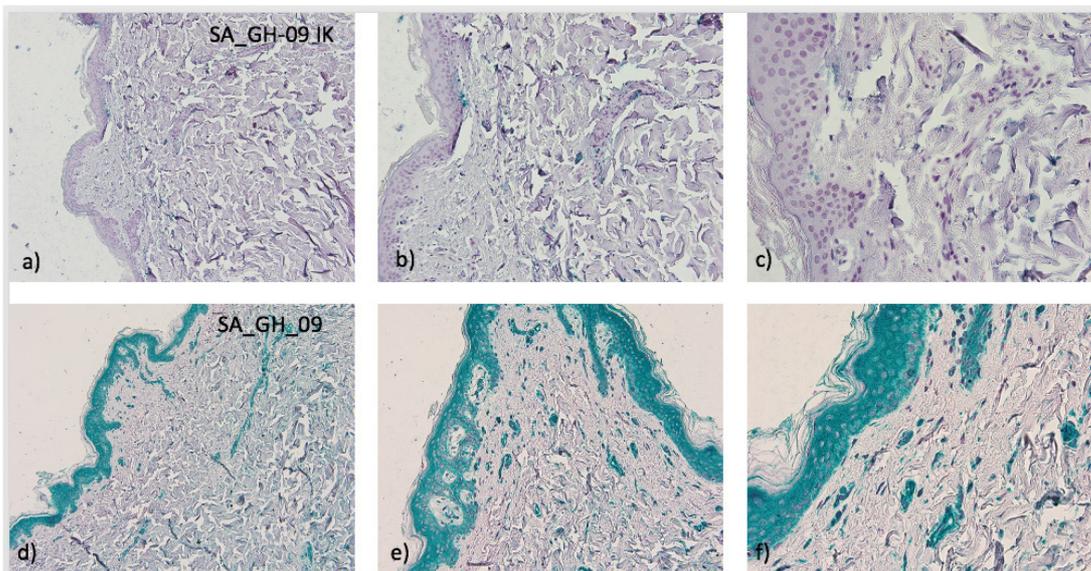
### 4.1.3. Immunhistologische Färbungen mit IL-22-Antikörper



**Abbildung 33 a) - f):** IL-22 PSO mit IK

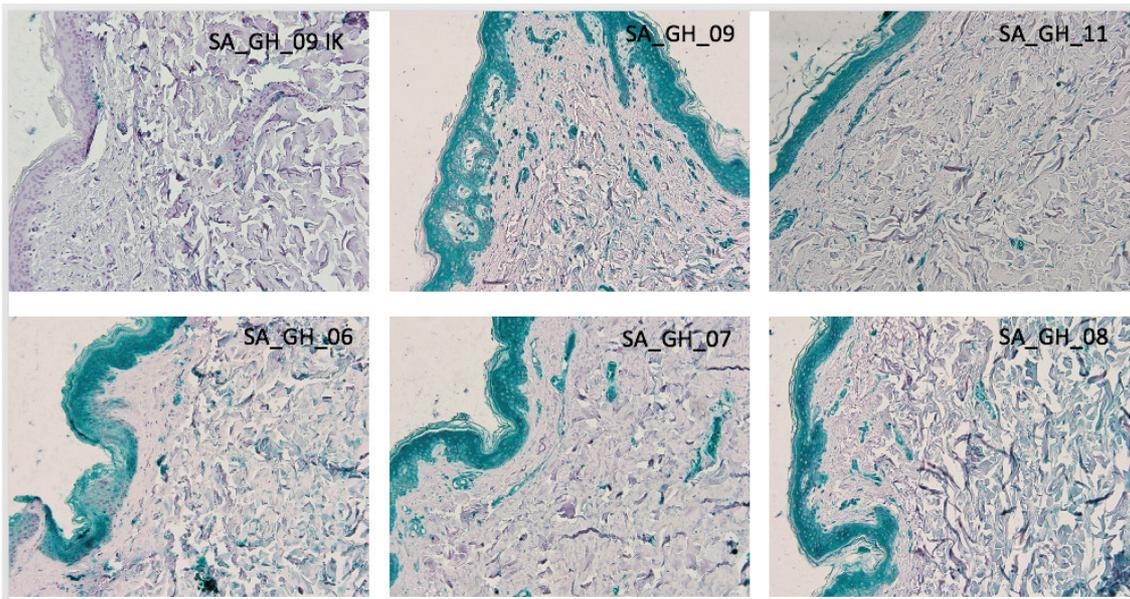
Färbung mit Histogreen, IL-22-positive Zellen (u.a. verschiedene Th-Zellen), SA\_PSO\_06, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

Die IK der Probe SA\_PSO\_06 ist eindeutig negativ. In den Bildern d) – f) der **Abbildung 33** sind diverse positiv gefärbte Zellnester auszumachen.



**Abbildung 34 a) - f):** IL-22 GH mit IK

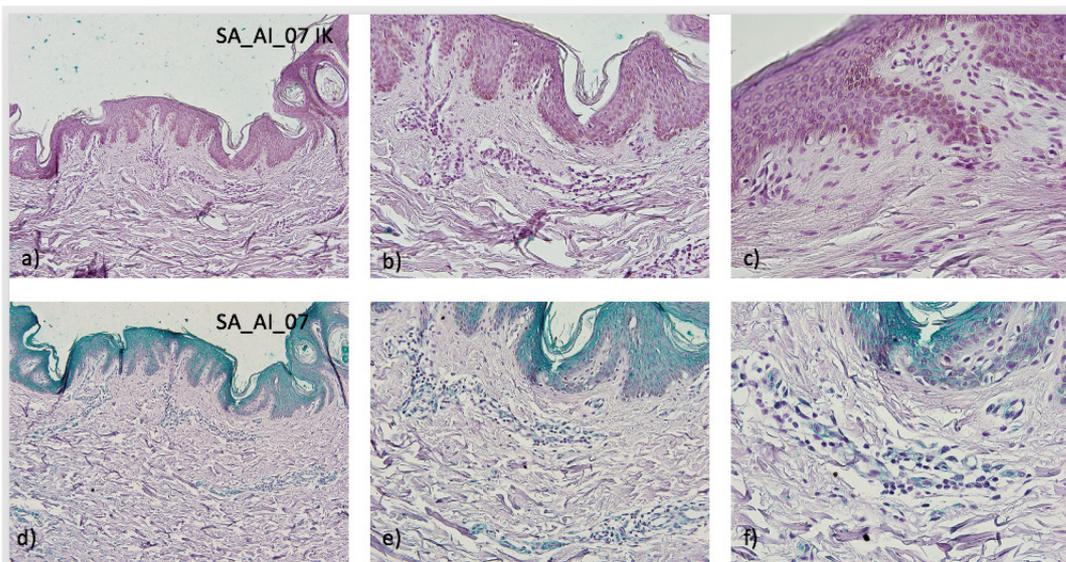
Färbung mit Histogreen, SA\_GH\_09, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 35:** IL-22 GH mit IK

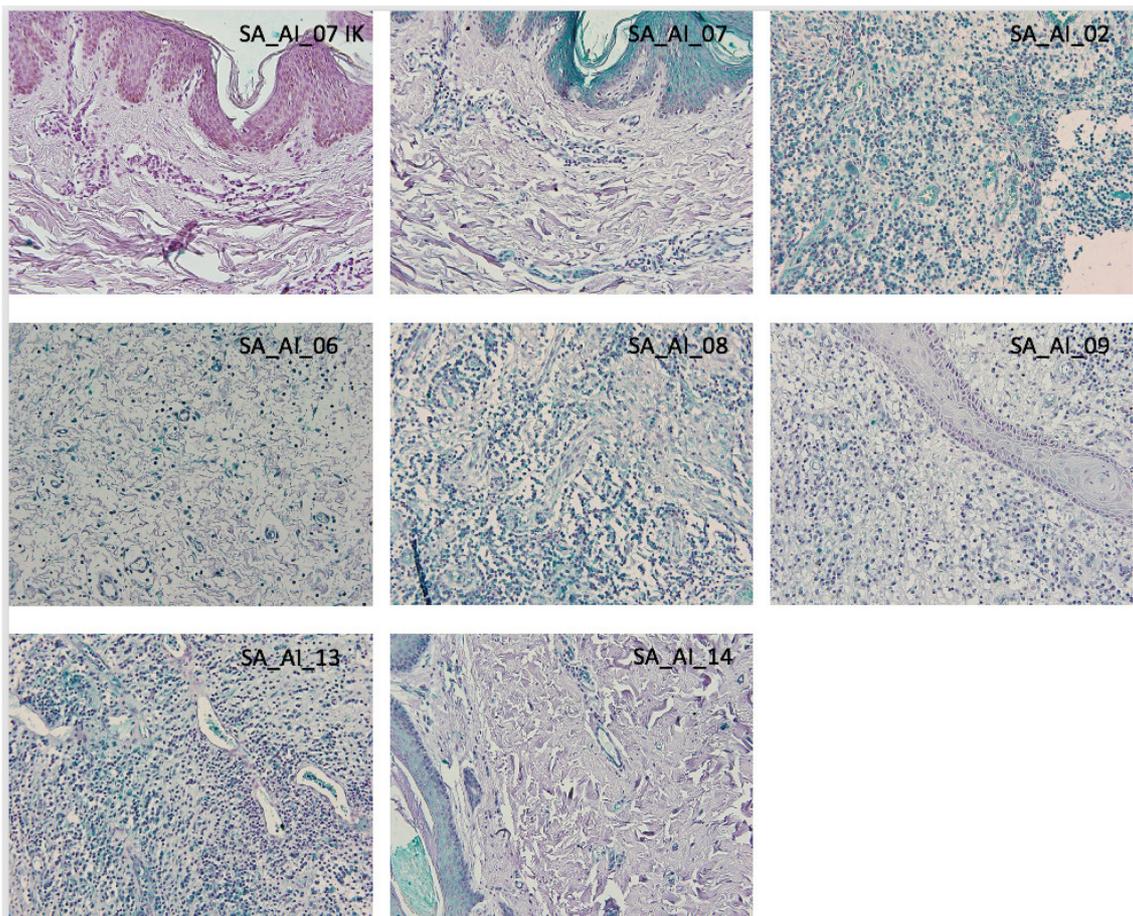
Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

Bei blander IK sind die Epidermis und Endothelien der GH sehr stark angefärbt. Ferner sind IL-22-positive Keratinozyten zu sehen. In **Abbildung 36** und **Abbildung 37** wird gezeigt, dass einige der AI-Proben sehr zellreiche Areale enthalten, die hoch IL-22-positiv sind. Hier fiel das exakte Auszählen der Zellen zum Teil schwer.



**Abbildung 36 a) - f):** IL-22 AI mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_AI\_07, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

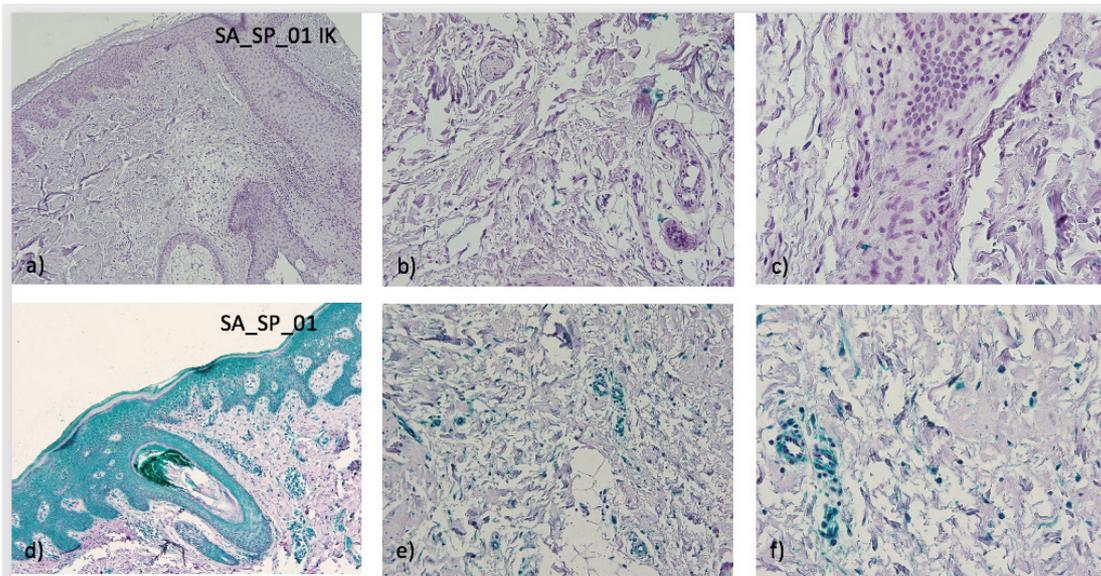


**Abbildung 37:** IL-22 AI mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

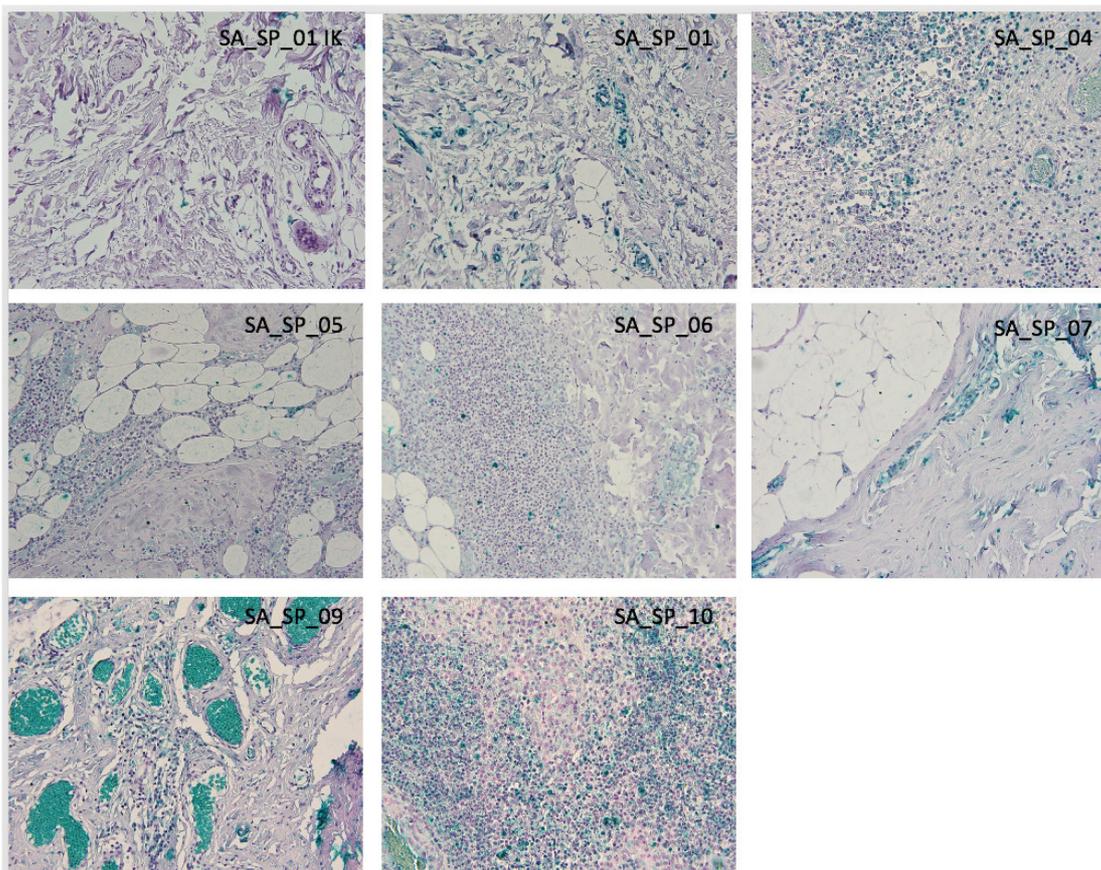
In **Abbildung 38 d)** sieht man einen angeschnittenen Haarfollikel. Neben der Epidermis ist die Wurzelscheide ebenfalls deutlich angefärbt. Dies wird als unspezifisch gewertet. Trotz deutlicher Trocknungsartefakte in der Dermis sind eindeutig IL-22-positive Zellnester zu erkennen.

**Abbildung 39** zeigt, dass die SP-Proben in diesem Fall sehr heterogen sind und z.T. große Anteile subkutanen Fettgewebes enthalten. SA\_SP\_09 beinhaltet ferner großflächige Einblutungen mit positiv angefärbten Erythrozyten, die - wie bereits erwähnt - nicht in die Auswertung miteinbezogen wurden.



**Abbildung 38 a) - f):** IL-22 SP mit IK

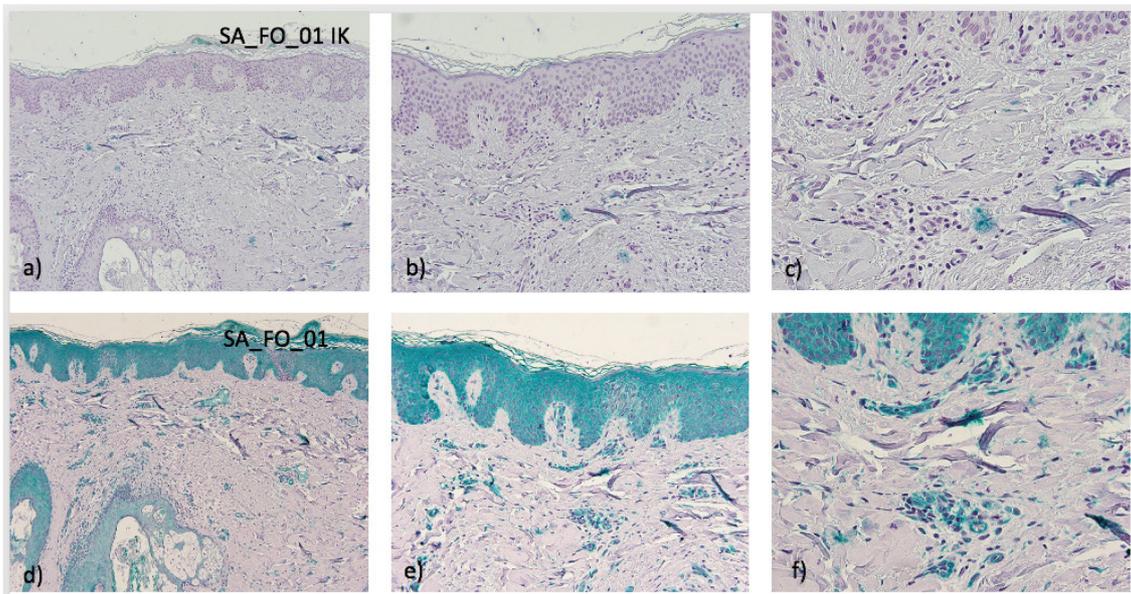
Färbung mit Histogreen, SA\_SP\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 39:** IL-22 SP mit IK

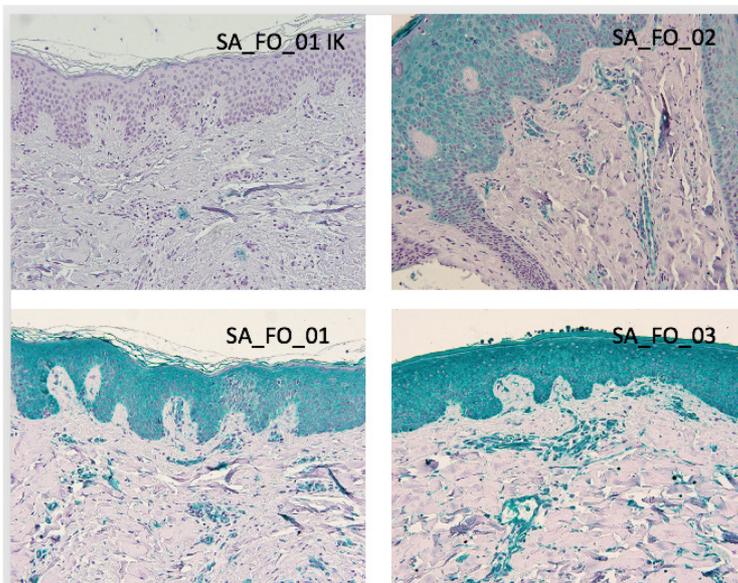
Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

Auch die PCAS-Proben weisen positive Zellen und angeschnittene Haarfollikel auf. In **Abbildung 40** d) ist zu sehen, dass sich eine Zellansammlung in unmittelbarer Nähe des Haarfollikel befindet. Der Haarfollikel in **Abbildung 41**, SA\_FO\_02 ist ebenfalls unspezifisch flächig angefärbt.



**Abbildung 40 a) - f):** IL-22 PCAS mit IK

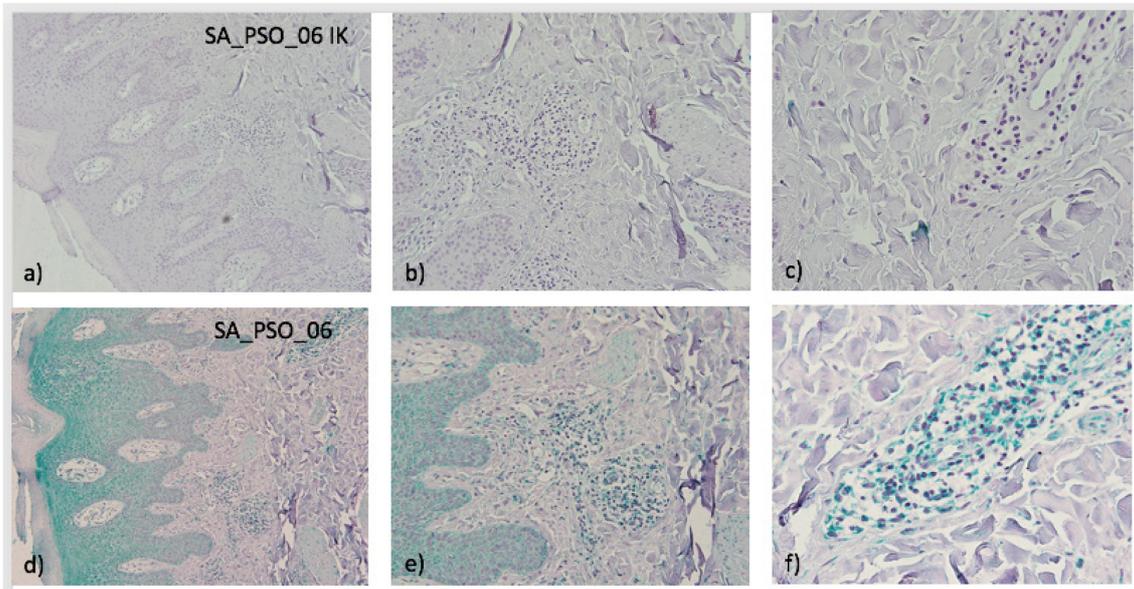
Färbung mit Histogreen, SA\_FO\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 41:** IL-22 PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

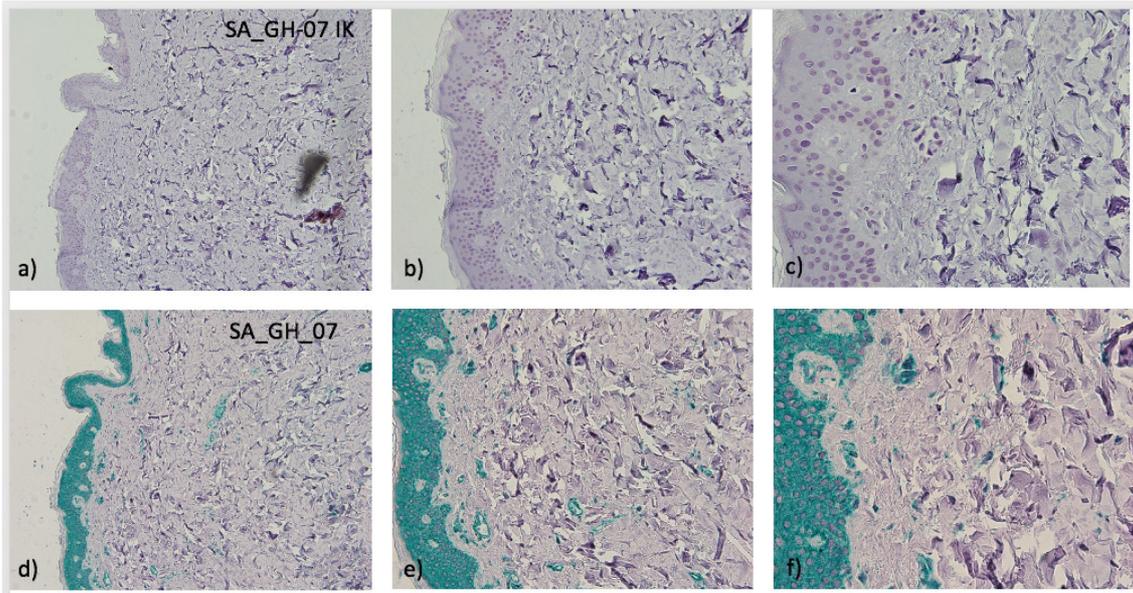
#### 4.1.4 Immunhistologische Färbungen mit IL-23-Antikörper



**Abbildung 42 a) - f):** IL-23 PSO mit IK

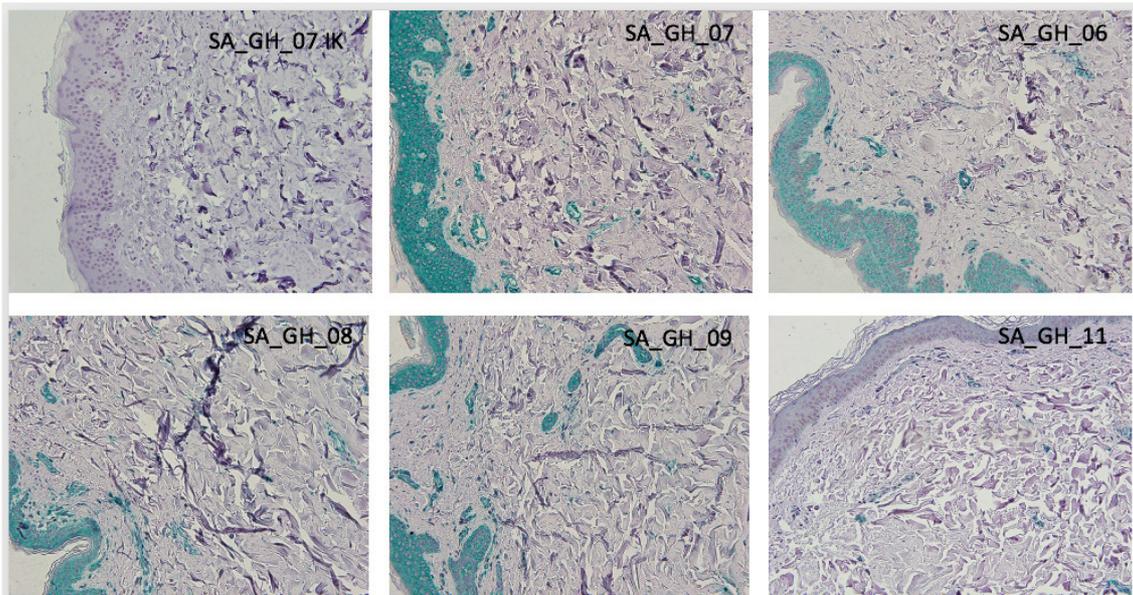
Färbung mit Histogreen, IL-23-positive Zellen im entzündlichen Infiltrat (z.B. T-Zellen und NK-Zellen), SA\_PSO\_06, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

Eine funktionierende Färbung durch positiv angefärbte Zellansammlungen in der PSO-Probe und negativer IK wird in **Abbildung 42** gezeigt.



**Abbildung 43 a) - f):** IL-23 GH mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_GH\_07, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

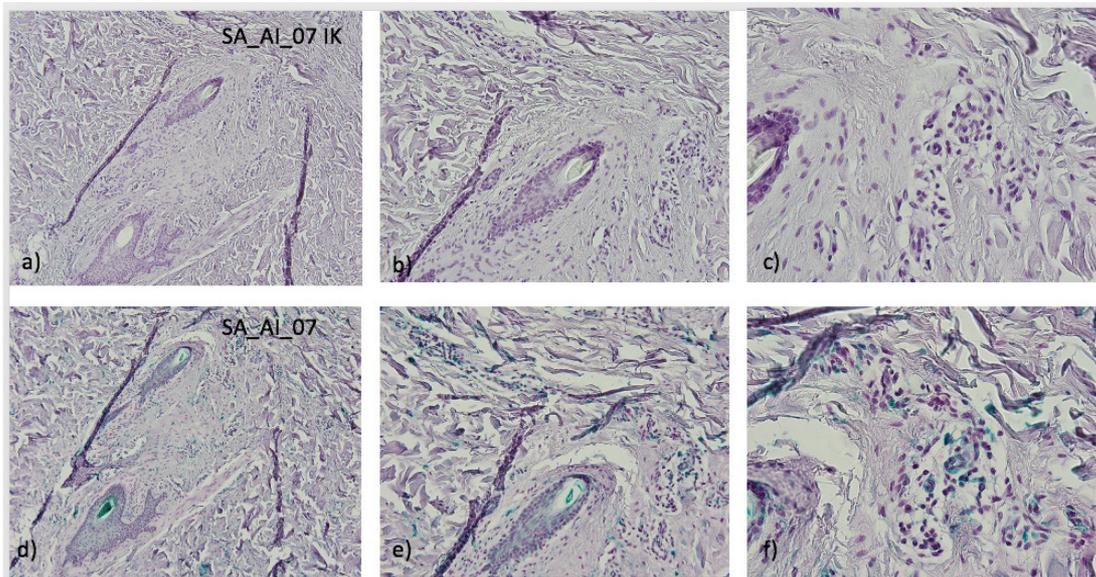


**Abbildung 44:** IL-23 GH mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

Trotz einiger dermaler Trocknungsartefakte, die den überwiegenden Teil der GH-Proben betreffen, sind positiv gefärbte Zellen auszumachen. Außerdem findet sich teilweise eine unspezifische Anfärbung der Epidermis und Endothelien (**Abbildung 43** und **Abbildung 44**).

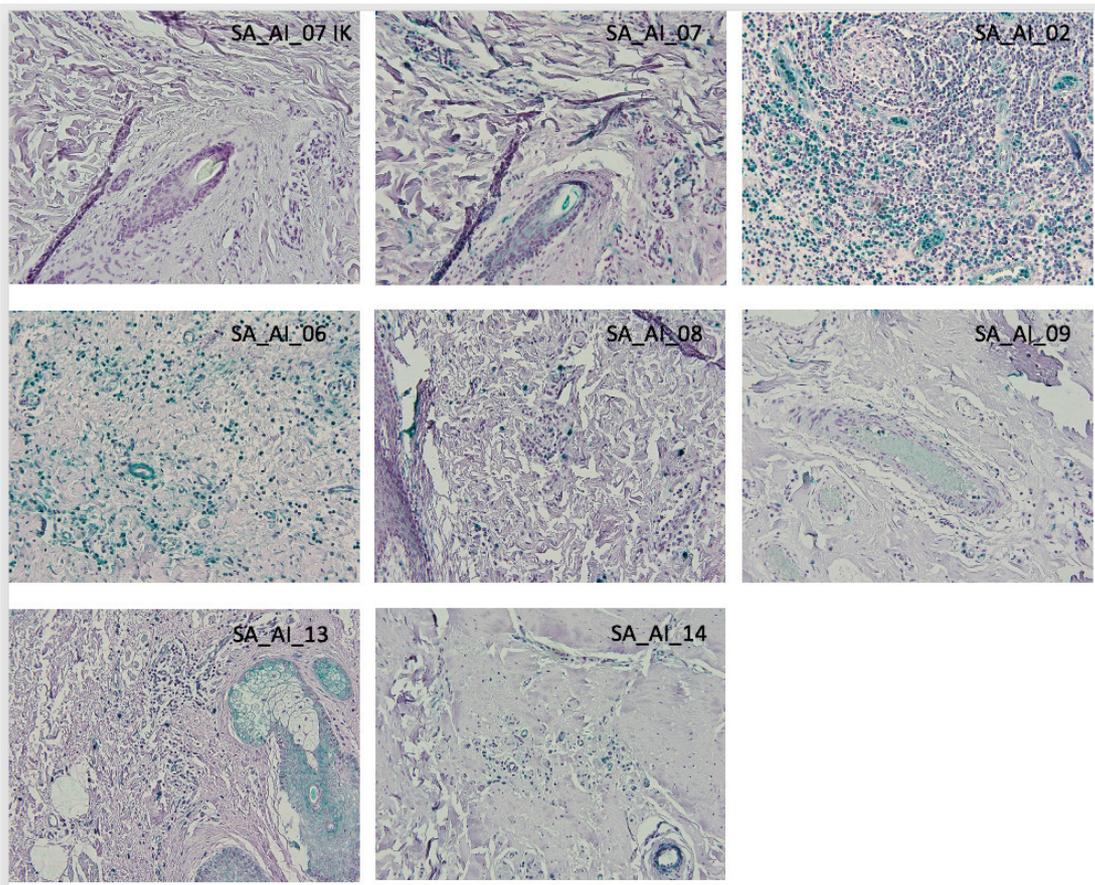
Obwohl auch in **Abbildung 45** Artefakte durch den Färbeprozess entstanden, sind gut einzelne IL-23-positive Zellen zu erkennen. Die Wurzelscheide des angeschnittenen Haares ist hier nur sehr mild angefärbt.



**Abbildung 45 a) - f):** IL-23 AI mit IK

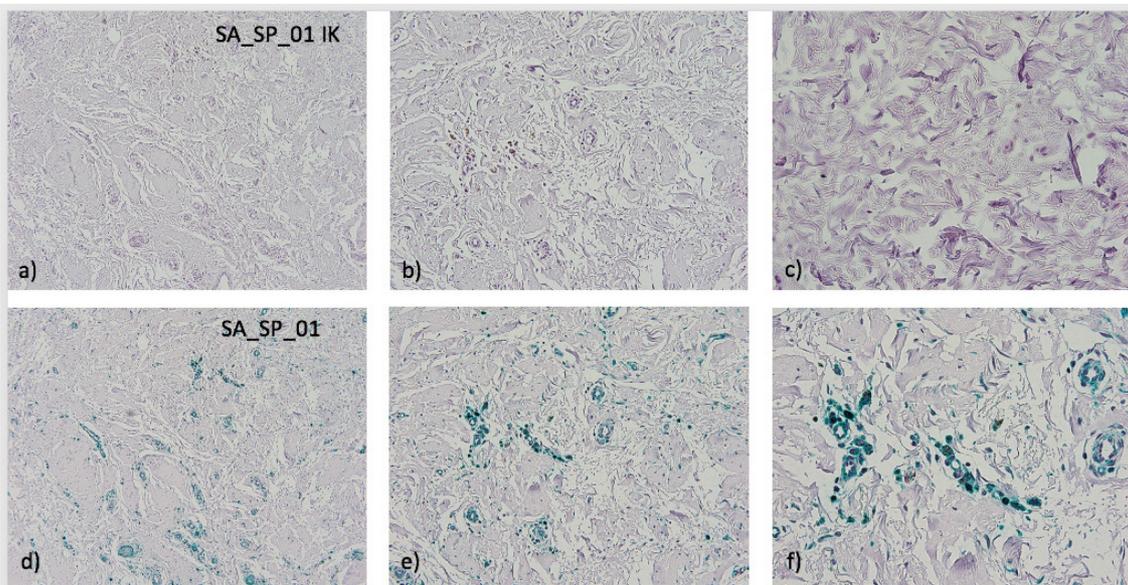
Färbung mit Histogreen, SA\_AI\_07, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

Bei SA\_AI\_09 (**Abbildung 46**) sind erneut vermehrt unspezifisch angefärbte Erythrozyten eingelagert. Ebenfalls wird die flächig grünliche Talgdrüse im Schnitt SA\_AI\_13 als unspezifisch gefärbt angesehen.



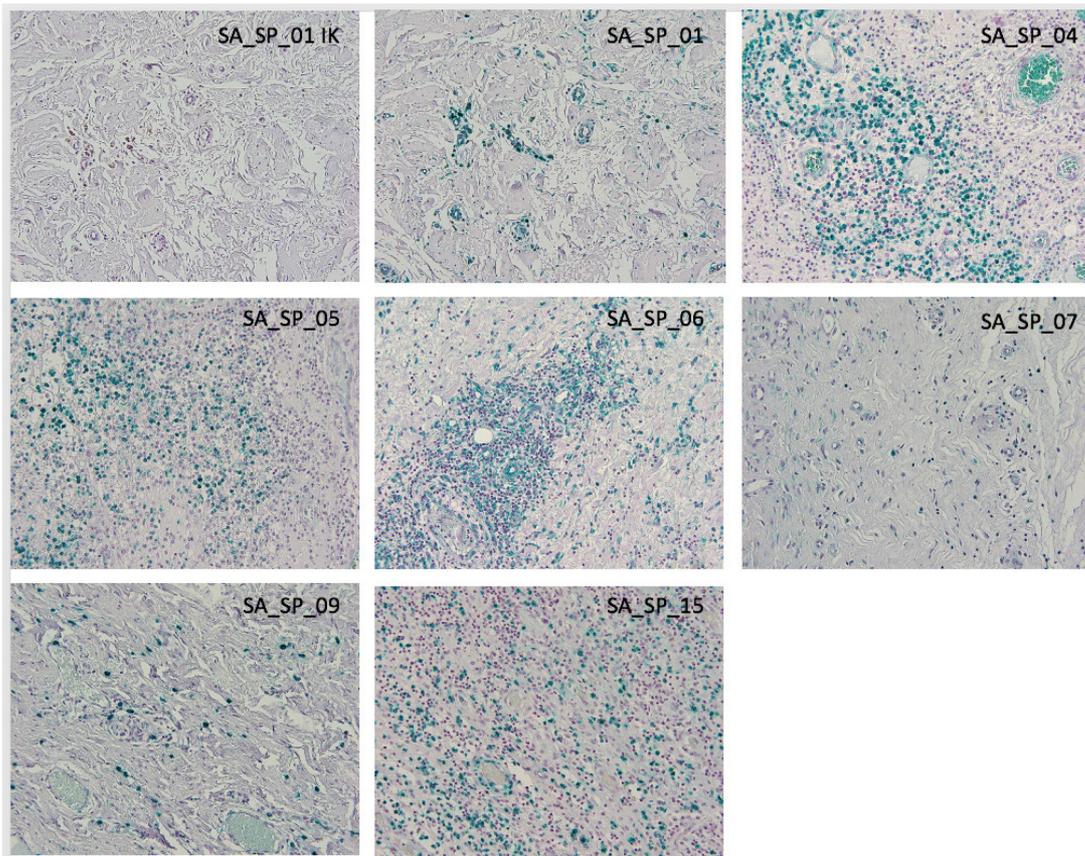
**Abbildung 46:** IL-23 AI mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach



**Abbildung 47 a) - f):** IL-23 SP mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_SP\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

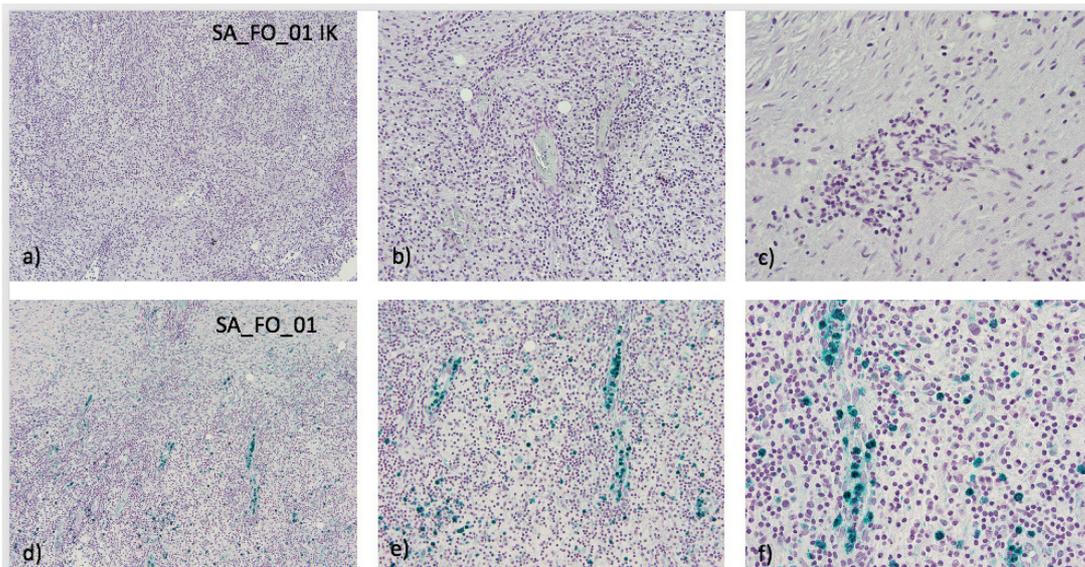


**Abbildung 48:** IL-23 SP mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

Das gesamte Gewebe des OT (**Abbildung 47**), der die SA\_SP\_01-Proben für IL-23-Antikörper und zugehörige IK trägt, hat im Färbeprozess Substanz eingebüßt. Jedoch sind eindeutig IL-23-positive Zellen zu identifizieren und die IK als negativ zu werten.

In **Abbildung 48** weisen alle sieben Proben IL-23-positive Zellen in unterschiedlicher Quantität auf.

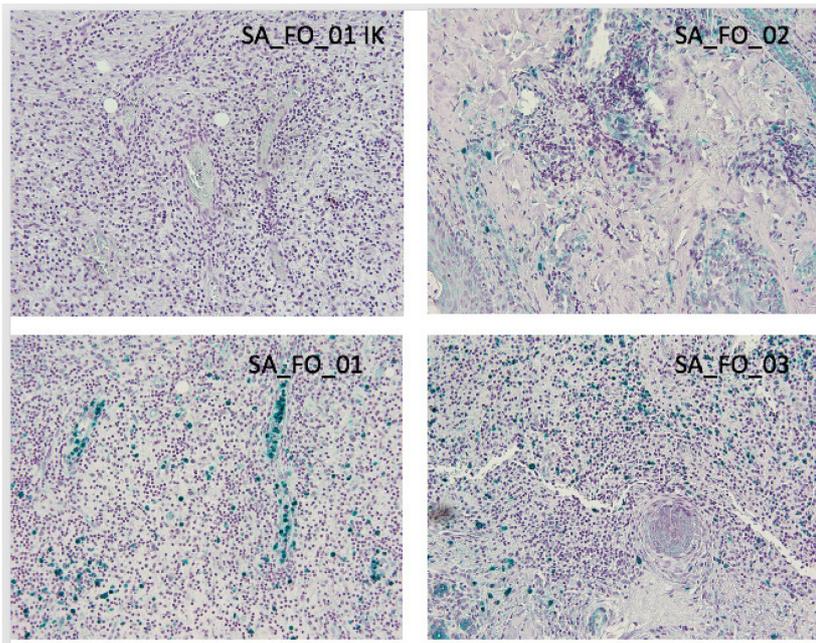


**Abbildung 49 a) - f):** IL-23 PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_FO\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

In **Abbildung 49 d)** sind sehr deutlich einzelne IL-23-positive Zellen auszumachen bei zugehöriger negativer IK.

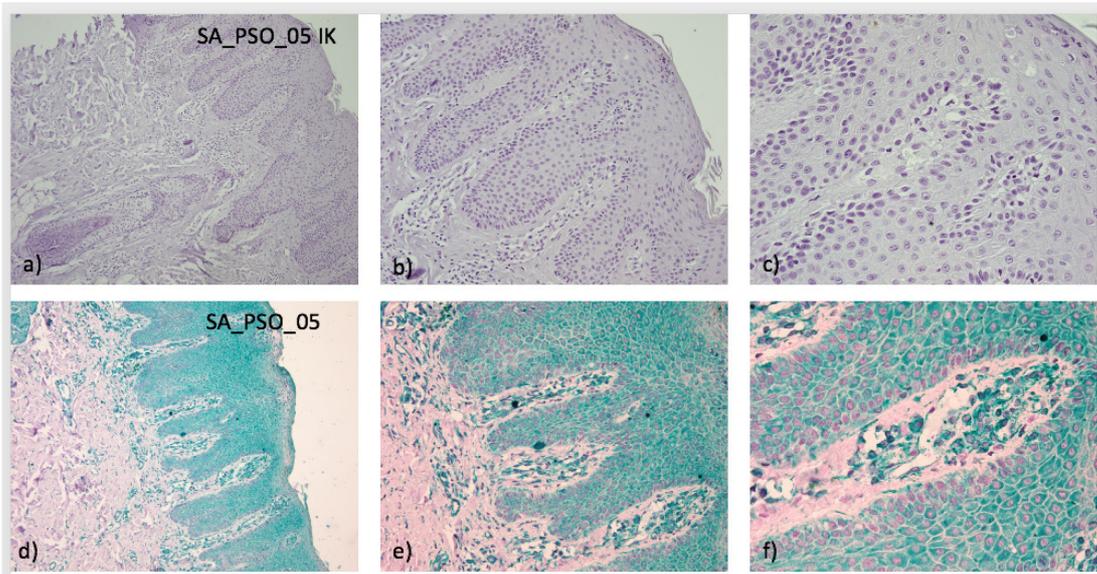
Interessanterweise zeigen sich im Schnitt SA\_FO\_02 (**Abbildung 50**) die besonders zellreichen Infiltrate nur mit wenigen IL-23-positiven Zellen ausgestattet.



**Abbildung 50:** IL-23 PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

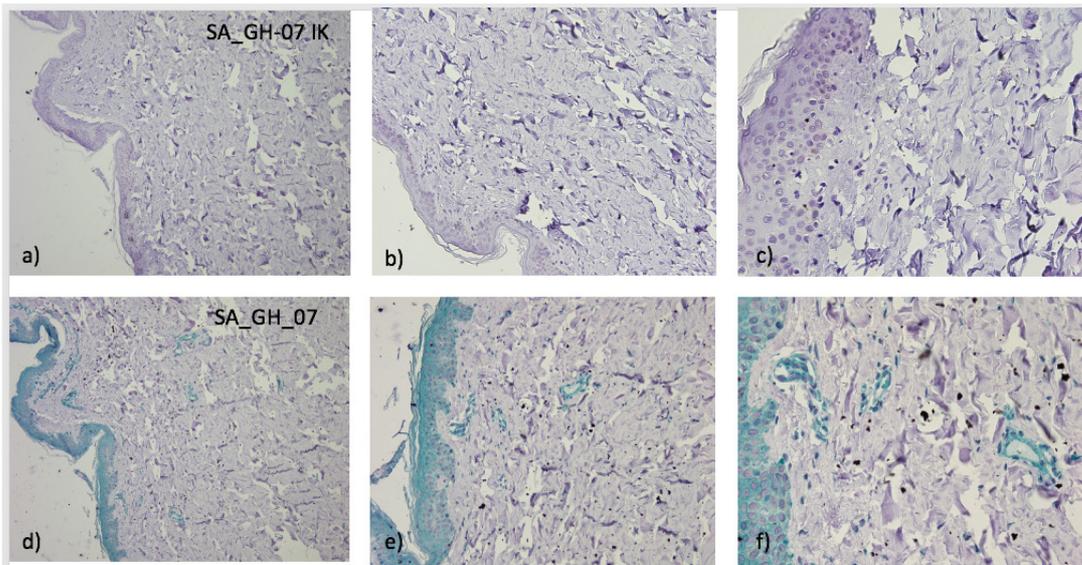
#### 4.1.5 Immunhistologische Färbungen mit TNF- $\alpha$ -Antikörper



**Abbildung 51 a) - f):** TNF- $\alpha$  PSO mit IK

Färbung mit Histogreen, stark TNF- $\alpha$ -positive Zellen (u.a. Makrophagen, Monozyten und T-Zellen), SA\_PS\_05, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

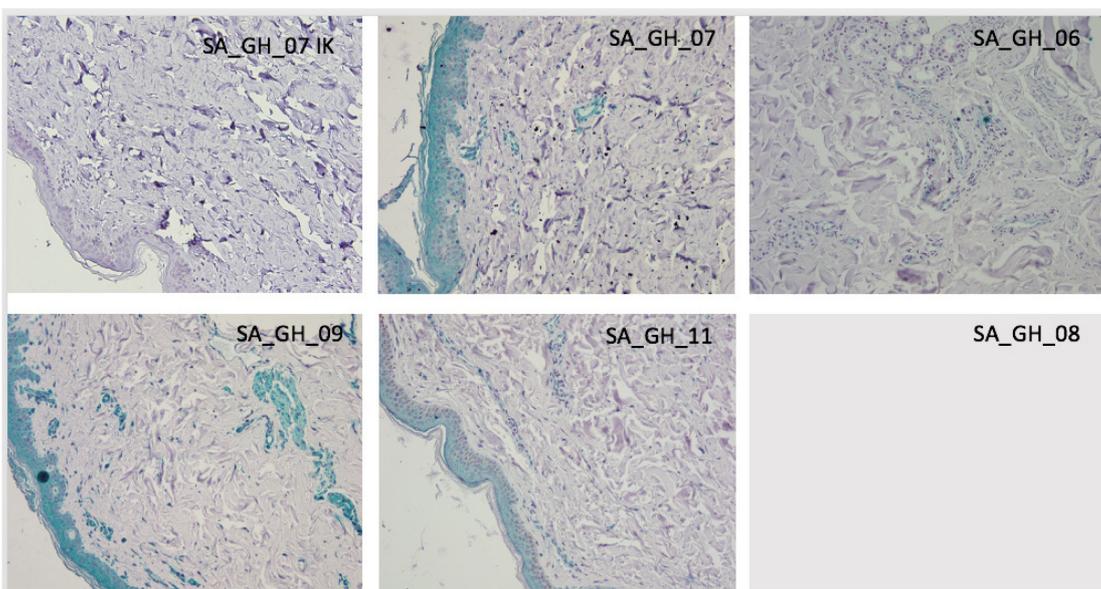
**Abbildung 51** zeigt eindeutig TNF- $\alpha$ -positive Zellen in der PSO-Probe, sowie eine übermäßig, jedoch unspezifisch, angefärbte Epidermis und eine blande IK.



**Abbildung 52 a) - f):** TNF- $\alpha$  GH mit IK

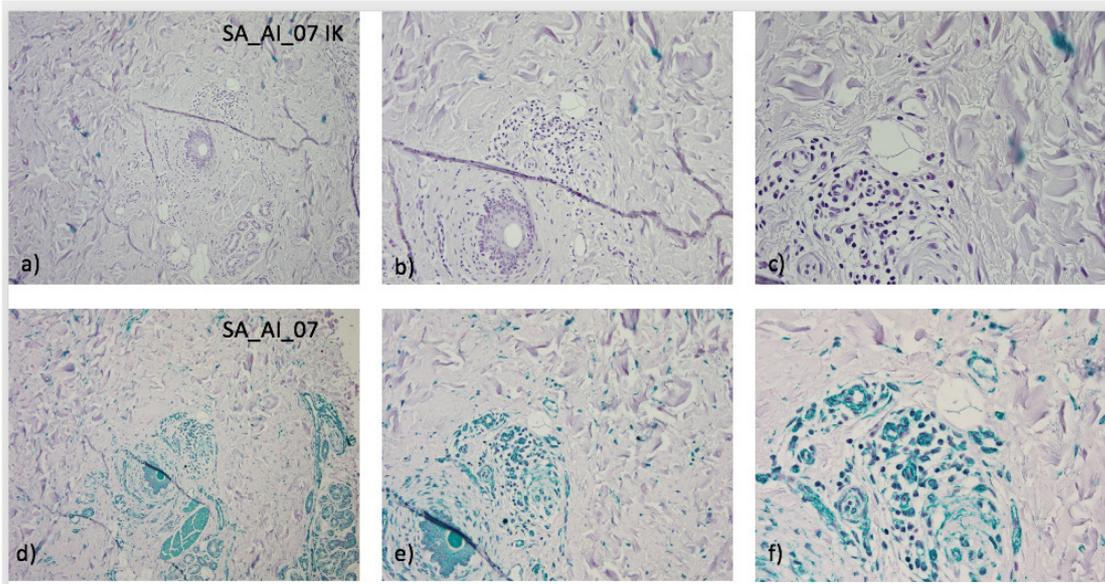
Färbung mit Histogreen, SA\_GH\_07, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

In **Abbildung 52** sind vereinzelt TNF- $\alpha$ -positive Zellen auszumachen. **Abbildung 53** reproduziert dieses Bild. Der Schnitt SA\_GH\_08 konnte wegen eines zu großen Maßes an Zerstörung im Färbeprozess nicht in die Bewertung mit einbezogen werden und ist aus diesem Grunde auch nicht abgebildet.



**Abbildung 53:** TNF- $\alpha$  GH mit IK

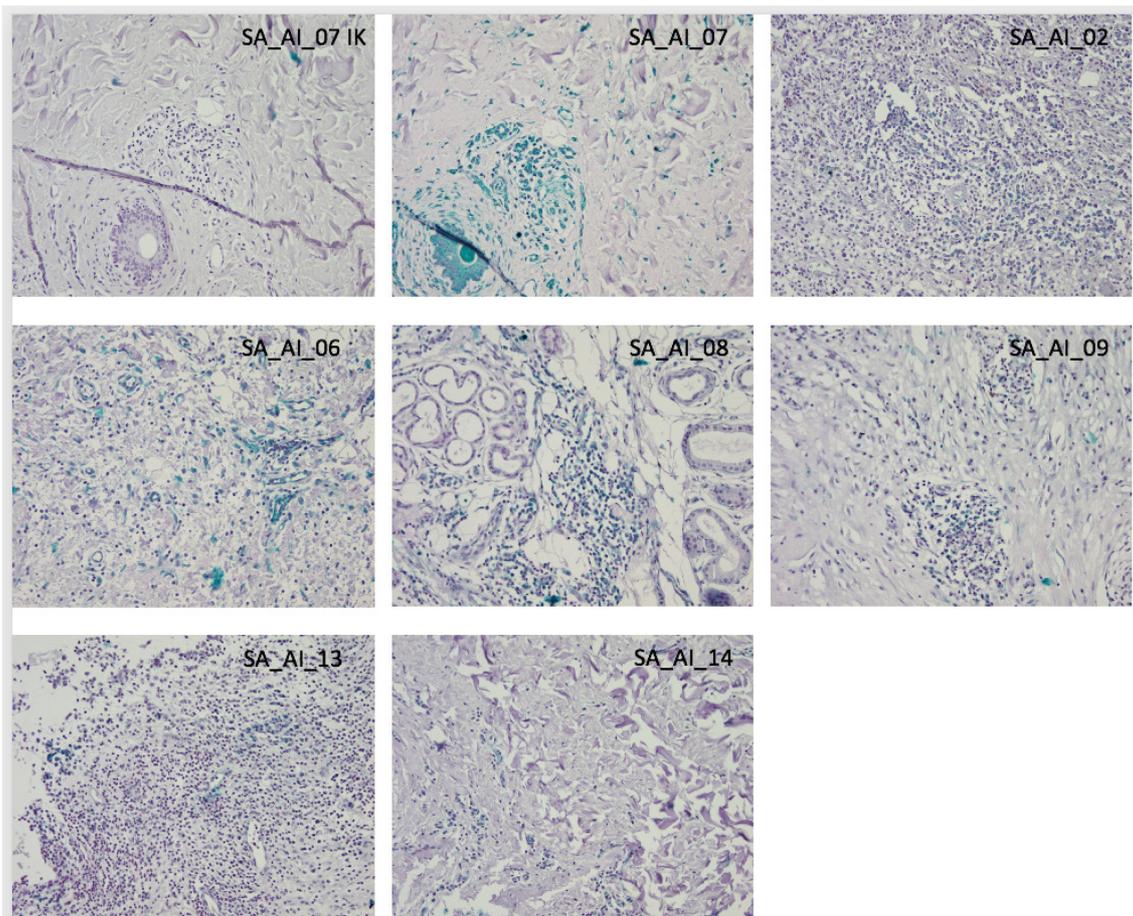
Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach, ohne Schnitt SA\_GH\_08



**Abbildung 54 a) - f):** TNF $\alpha$  AI mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_AI\_07, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach

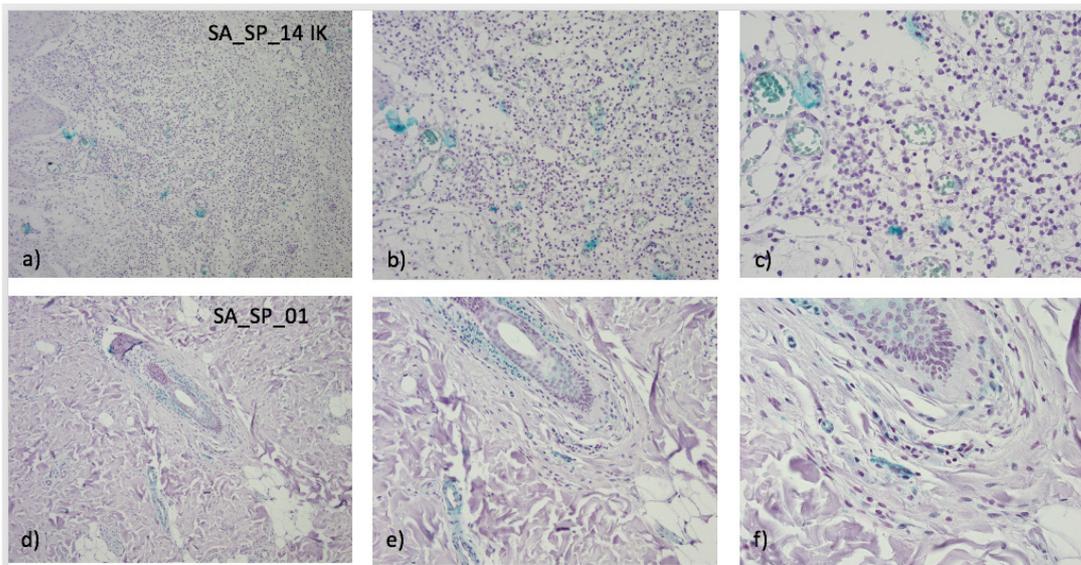
**Abbildung 54** und **Abbildung 55** zeigen eine Expression von TNF- $\alpha$  in allen untersuchten Proben. SA\_AI\_07 enthält ein entzündliches Infiltrat in unmittelbarer Nähe eines angeschnittenen Haarschafts. SA\_AI\_08 enthält viele ekkrine Schweißdrüsen.



**Abbildung 55:** TNF- $\alpha$  AI mit IK

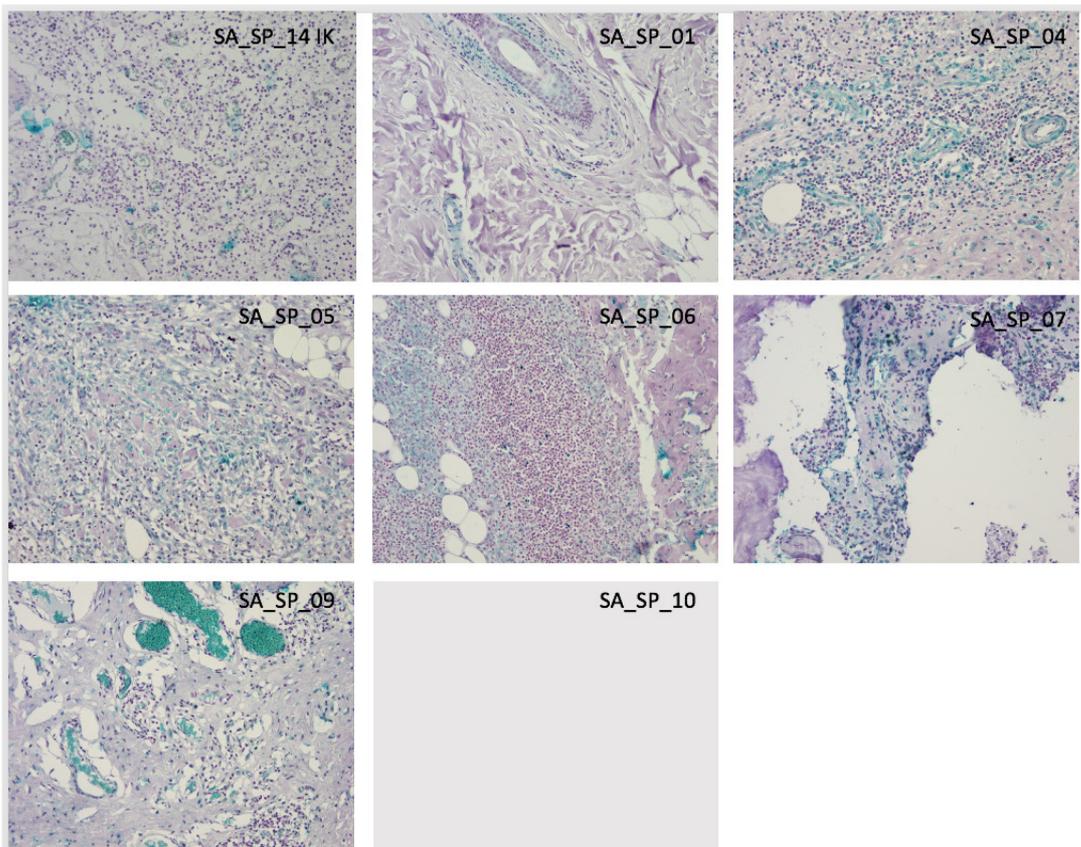
Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

In **Abbildung 56** sind in der IK einige grünliche Schlieren und angefärbte Erythrozyten zu erkennen. Beides ist nicht spezifisch. **Abbildung 57** zeigt positive Zellen in allen Proben. Der Schnitt SA\_SP\_07 ist im Färbeprozess stark beeinträchtigt worden, aber im Vergleich zu SA\_SP\_10 noch auswertbar gewesen. Letzter wurde nicht in die Auswertung aufgenommen.



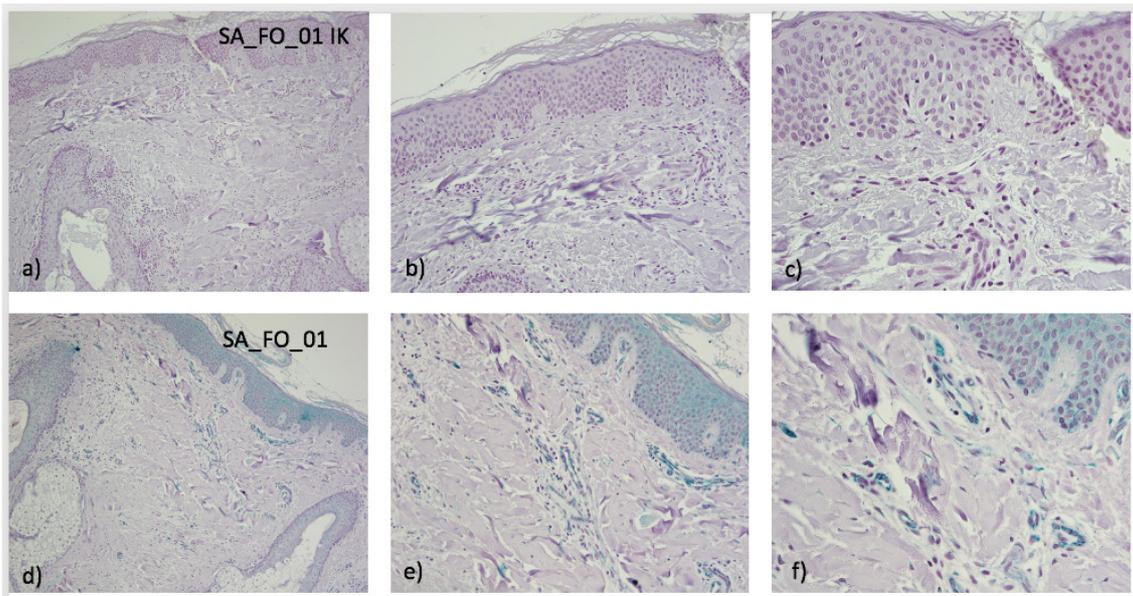
**Abbildung 56 a) - f):** TNF- $\alpha$  SP mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_SP\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



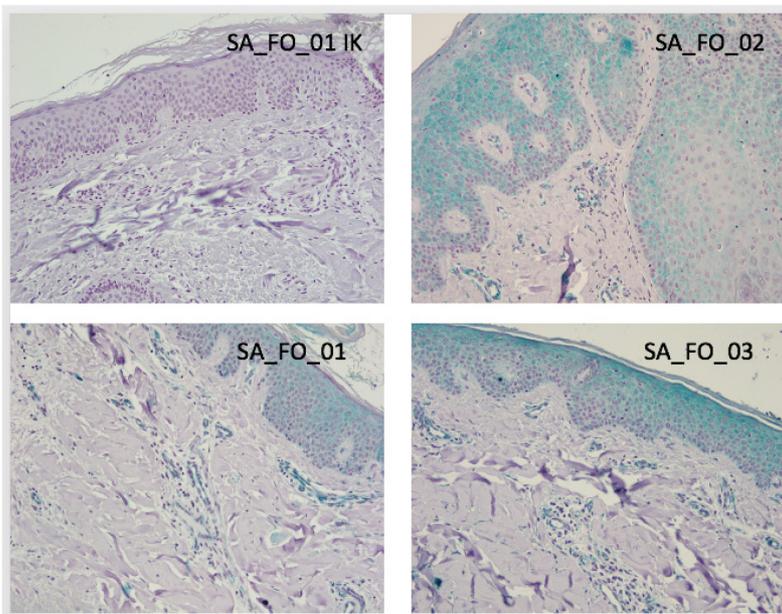
**Abbildung 57:** TNF- $\alpha$  SP mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach, ohne Schnitt SA\_SP\_10



**Abbildung 58 a) - f):** TNF- $\alpha$  PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, SA\_FO\_01, Vergrößerung: a) + d) 10-fach, b) + e) 20-fach, c) + f) 40-fach



**Abbildung 59:** TNF- $\alpha$  PCAS mit IK

Färbung mit Histogreen, Vergrößerung: 20-fach

**Abbildung 58** und **Abbildung 59** zeigen TNF- $\alpha$ -positive Zellansammlungen in den drei untersuchten Proben. Epidermis, Endothelien und Wurzelscheide sind unspezifisch grün angefärbt, die angeschnittene Talgdrüse hingegen nicht (**Abbildung 58 d**). Die IK ist negativ.

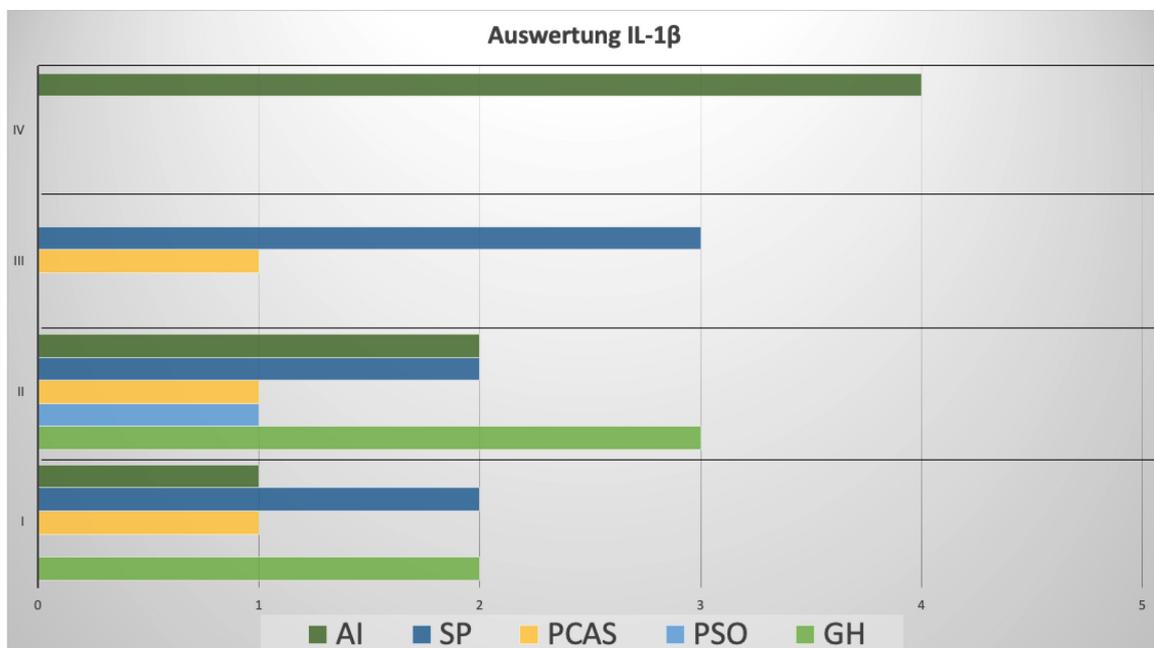
## 4.2 Semiquantitative Auswertung

### 4.2.1 Auswertung des IL-1 $\beta$ -Antikörpers

IL-1 $\beta$  wird in den AI-Proben höher exprimiert als in SP und PCAS. Die hier verwendete PSO-Probe exprimiert wenig IL-1 $\beta$ .

**Tabelle 9:** Auswertung des IL-1 $\beta$ -Antikörpers

Indikation (Anzahl der Proben)	Kategorien
AI (7)	1xI, 2xII, 4xIV
SP (7)	2xI, 2xII, 3xIII
PCAS (3)	1xI, 1xII, 1xIII
PSO (1) Positivkontrolle	II
GH (5)	2xI, 3xII
IK (5)	5xI



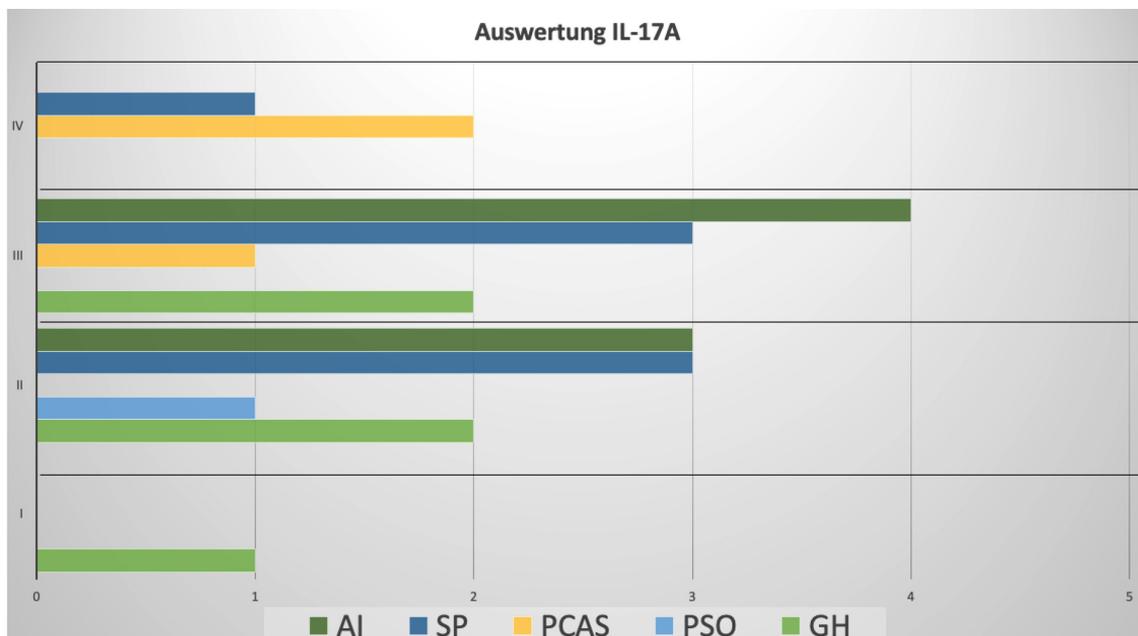
**Abbildung 60:** Grafische Darstellung der Auswertung des IL-1 $\beta$ -Antikörpers

## 4.2.2 Auswertung des IL-17A-Antikörpers

Bei allen Krankheiten zeichnet sich eine Überexpression im Vergleich zur GH ab. Die Proben von AI und SP ähneln sich hier stark. In PCAS ist die Expression noch etwas höher.

**Tabelle 10:** Auswertung des IL-17A-Antikörpers

Indikation (Anzahl der Proben)	Kategorien
AI (7)	3xII, 4xIII
SP (7)	3xII, 3xIII, 1xIV
PCAS (3)	1xIII, 2xIV
PSO (1) Positivkontrolle	II
GH (5)	1xI, 2xII, 2xIII
IK (5)	5xI



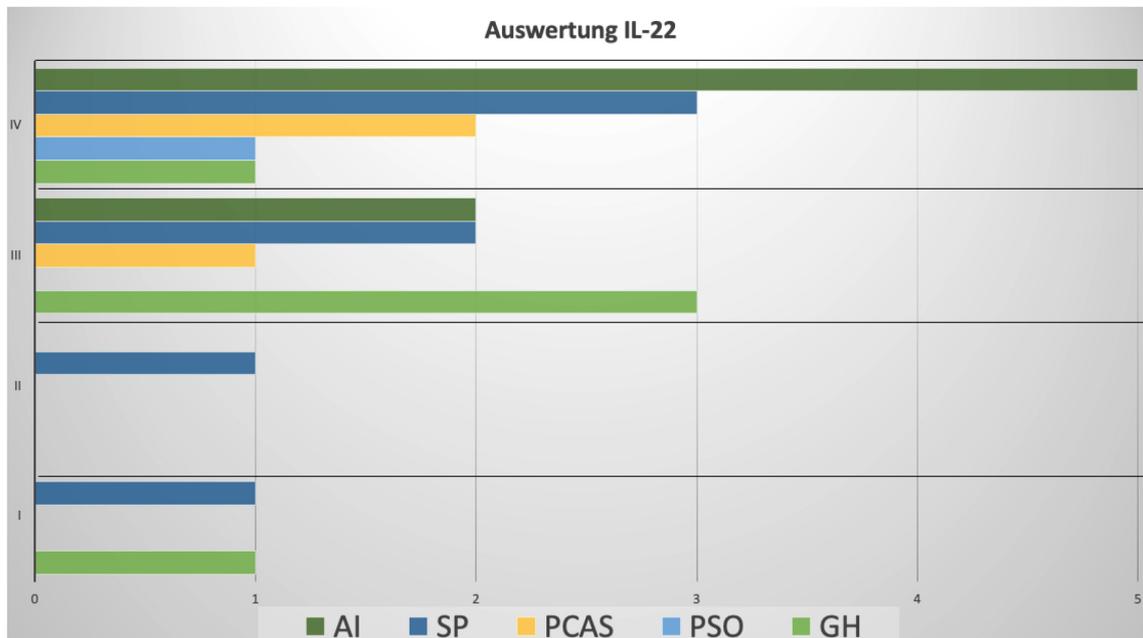
**Abbildung 61:** Grafische Darstellung der Auswertung des IL-17A-Antikörpers

### 4.2.3 Auswertung des IL-22-Antikörpers

IL-22 hat in dem Versuch insgesamt eine deutliche Expression. AI hat die höchste Expression gefolgt von PCAS und SP. Auch in gesunder Haut ist IL-22 Expression nachweisbar.

**Tabelle 11:** Auswertung des IL-22-Antikörpers

Indikation (Anzahl der Proben)	Kategorien
AI (7)	2xIII, 5xIV
SP (7)	1xI, 1xII, 2xIII, 3xIV
PCAS (3)	1xIII, 2xIV
PSO (1) Positivkontrolle	IV
GH(5)	1xI, 3xIII, 1xIV
IK (5)	5xI



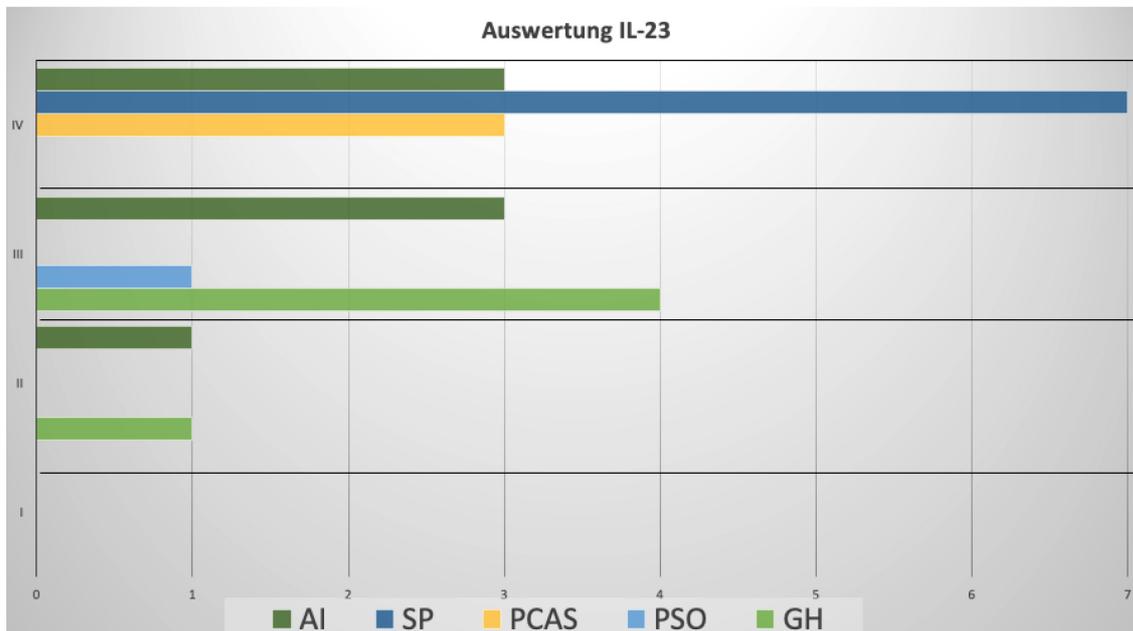
**Abbildung 62:** Grafische Darstellung der Auswertung des IL-22-Antikörpers

## 4.2.4 Auswertung des IL-23-Antikörpers

Hier zeigt sich eine hohe Expression von IL-23 in allen Krankheiten. Die höchste findet sich in SP, mit Abstand zu AI, gefolgt von PCAS. Auch in den Proben der gesunden Haut findet sich IL-23.

**Tabelle 12:** Auswertung des IL-23-Antikörpers

Indikation (Anzahl der Proben)	Kategorien
AI (7)	1xII, 3xIII, 3xIV
SP (7)	7xIV
PCAS (3)	3xIV
PSO (1) Positivkontrolle	III
GH (5)	1xII, 4xIII
IK (5)	5xI



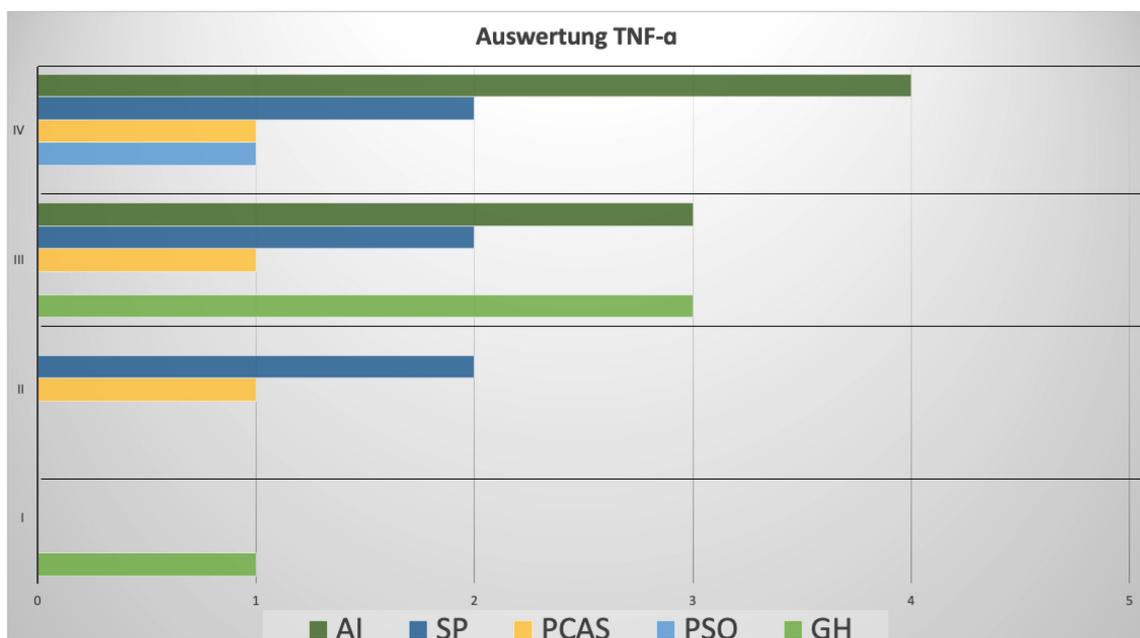
**Abbildung 63:** Grafische Darstellung der Auswertung des IL-23-Antikörpers

#### 4.2.5 Auswertung des TNF- $\alpha$ -Antikörpers

Die AI-Proben weisen fast die gleiche Expression wie die PSO-Kontrolle auf. SP-Proben zeigen bei heterogenerer Kategorienverteilung eine geringere Expression, jedoch mehr als PCAS-Proben. Bei GH und SP ist jeweils eine Probe nicht verwendbar gewesen, da sie im Färbeprozess zerstört wurden.

**Tabelle 13:** Auswertung des TNF- $\alpha$ -Antikörpers

Indikation (Anzahl der Proben)	Kategorien
AI (7)	3xIII, 4xIV
SP (6)	2xII, 2xIII, 2xIV
PCAS (3)	1xII, 1xIII, 1xIV
PSO (1) Positivkontrolle	IV
GH (4)	1xI, 3xIII
IK (5)	5xI



**Abbildung 64:** Grafische Darstellung der Auswertung des TNF- $\alpha$ -Antikörpers

## 5. Diskussion

### 5.1 Ziel und Fragestellung der Arbeit

Aus wissenschaftlicher und potentiell therapeutischer Sichtweise wurde die Fragestellung bearbeitet, ob die Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-17A, IL-22, IL-23 und TNF- $\alpha$  in histologischen Proben von Patienten mit SP und PCAS nachweisbar sind. Dieser Nachweis konnte in allen Fällen bestätigt werden. Aktuell sind in der Literatur keine Evidenzen verfügbar, ob die o.g. Zytokine in Erkrankungen wie SP oder PCAS exprimiert werden.

Da sich positive Färbeergebnisse in der überwiegenden Zahl der Proben zeigten, wurde ein semiquantitativer Vergleich der Ergebnisse angeschlossen.

Unter der Annahme, dass die drei untersuchten Krankheiten eine starke immunologische Ähnlichkeit aufweisen, und dem Bestreben weiteren Lösungsansätzen bezüglich medikamentöser Therapien näherzukommen, werden die Ergebnisse und Methodik dieser Arbeit in den folgenden Kapiteln diskutiert.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 IL-1 $\beta$ -Expression

Die IL-1 $\beta$ -Expression im hier gezeigten Versuch ist tendenziell niedrig und sehr heterogen bezogen auf die verschiedenen Krankheitsbilder. Bei AI ist sie im Vergleich zu PCAS und SP am stärksten ausgeprägt. In den beiden Letztgenannten zeigt sich in der quantitativen Auswertung ein etwa gleiches Expressionslevel, welches über dem der GH-Proben liegt. Das erhöhte Vorhandensein von IL-1 $\beta$  in PSO- und AI-Läsionen ist, wie im Kapitel 2.2.5.1 *IL-1 $\beta$*  bereits beschrieben, schon nachgewiesen. Dies konnte mit der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden. In der PSO-Kontrolle sind nur wenige IL-1 $\beta$ -positive Zellen nachweisbar. Dies wurde auf eine individuelle Minderexpression in dieser Patientenprobe zurückgeführt. In anderen Proben während der Vorversuche war die Expression deutlicher.

Spezifische Antikörper gegen IL-1 $\beta$  (Rilonacept, Canakinumab) oder IL-1-Rezeptor-Antagonist (Anakinra), die bei PSO nicht erfolgversprechend verliefen (*siehe Kap. 2.2.5.1*), wurden bereits bei AI-Patienten getestet. In einer doppelblinden, randomisierten, placebokontrollierten klinischen Studie konnten Tzanetakou *et al.*<sup>91</sup> eine deutliche klinische Besserung bei den meisten (7 von 9) Patienten gegenüber der Placebo-Gruppe (3 von 10) zeigen. Es wurde eine mindestens 50%ige Reduktion der entzündlichen Läsionen und außerdem keine Zunahme von Abszessen und drainierenden Fisteln nach 12 Wochen (primärer Endpunkt) festgestellt. Nach der Behandlung zeigte sich eine deutliche Verlängerung der Zeitspanne bis zur erneuten Exazerbation der AI.

In den gezeigten Versuchen war die Expression von IL-1 $\beta$  in den AI-Proben ausgeprägt und vergleichsweise am höchsten. Die Ergebnisse geben, wie zuvor beschrieben, keinen Anhalt dafür, dass IL-1 $\beta$  eine passendes Therapieziel bei SP oder PCAS darstellt.

## 5.2.2 IL-17A-Expression

Die Ergebnisse der Färbungen mit dem IL-17A-Antikörper waren deutlich und einfach auszuwerten, da einzelne Zellen stark angefärbt und somit gut sichtbar waren. Gegenüber den GH-Proben war IL-17A in AI, SP und PCAS überexprimiert.

Die IL-17-Antagonisten Sekukinumab, Ixekinumab<sup>44</sup> und Bimekizumab<sup>92,93</sup> sind in der Behandlung von Plaquepsoriasis und Psoriasisarthritis bereits etabliert.

Sekukinumab wurde in einer Open-label-Studie an 20 AI-Patienten (Hurley Stadium II-III) getestet<sup>94</sup>. Hier wurde eine mindestens 50%ige Reduktion der entzündlichen Läsionen und keine Zunahme von Abszessen und drainierenden Fisteln nach 24 Wochen Anwendung als klinisches Ansprechen gewertet (primärer Endpunkt). Nur 65% der Patienten nahmen vollständig an der Studie teil. Letztendlich erreichten 14 von 20 Patienten den primären Endpunkt, sodass trotz des offenen Studiendesigns nun Phase-III-Studien zur Anwendung von Sekukinumab bei AI unternommen werden.<sup>95</sup>

Für die Anwendung von Ixekinumab bei AI gibt es bisher nur Fallserien, die aber durchaus vielversprechend verliefen.<sup>96</sup>

Der IL-17A/F Antagonist Bimekizumab wird ebenfalls aktuell im Rahmen eines großen Phase-III-Klinikprogramms bei der AI eingesetzt. Ergebnisse dazu sind jedoch noch nicht publiziert worden.<sup>97</sup>

Anhand der Ergebnisse, also der deutlichen Überexpression in Sinus pilonidalis und vor allem PCAS -Proben, kann IL-17A als ein erforschenswertes Zielprotein für eine immunmodulierende Therapie bei den beiden Erkrankungen angesehen werden. Fallberichte oder Studien dazu sind jedoch nicht publiziert worden.

### 5.2.3 IL-22-Expression

In den bearbeiteten Proben war IL-22 sehr ausgeprägt vorhanden. Die höchste Expression zeigten die AI-Proben, gefolgt von SP und PCAS.

Die Untersuchungen von Wolk *et al.*<sup>4</sup> zeigten einen relativen IL-22-Mangel in AI-Proben im Vergleich zu PSO und Atopischer Dermatitis. Die Angaben der Arbeitsgruppe bezogen sich auf gemessene mRNA-Level und ELISA-Untersuchungen, die sich besser zur Quantifizierung eignen als IHC. Vorliegend war gegenüber GH die Expression in AI-Proben (ebenfalls in SP- und PCAS-Proben) dennoch erhöht und hier gibt es eine Verbindung zu den Ergebnissen von Wolk *et al.*.

In den hier durchgeführten Versuchen wurde nur eine PSO-Probe als Kontrolle verwendet, welche ebenfalls viel IL-22 exprimierte. Damit ist ein quantitativer Vergleich gegenüber sieben AI-Proben nicht machbar. Jedoch fand sich eine ähnliche Expression der IL-22-Level bei den vorliegend untersuchten AI-, PCAS- und SP-Proben. Dies könnte zu dem von Wolk *et al.*<sup>4</sup> gezeigten konsekutiven AMP-Mangel passen, denn alle drei Erkrankungen gehen mit obligatorischer bakterieller Besiedlung und häufiger Superinfektionen einher.

Schlapbach *et al.*<sup>25</sup> hatten im selben Jahr wie Wolk *et al.* in ihrem Paper zur Untersuchung der IL-23/Th17-Achse in AI noch unter der Annahme, dass IL-22 in AI ähnlich überexprimiert sei wie in PSO, folgende Überlegungen angestellt:

Die Grundlage dafür war das Wissen über die proinflammatorischen Effekte von IL-22 auf Keratinozyten durch Induktion von Hyperproliferation und Akanthose sowie die Erhöhung der Expression von AMPs.<sup>77</sup> Sie nahmen an, dass diese Hyperproliferation der Keratinozyten nicht nur zur epidermalen psoriasiformen Hyperplasie, die oft eine initiale histopathologische Veränderung der AI ist,<sup>98</sup> sondern auch zur follikulären Okklusion beitragen könnte. Letztere wurde als Initiator für den pathologischen Kreislauf der AI angenommen. Schlapbach *et al.* wiesen in einer anderen Untersuchung auch die Erhöhung von einigen AMPs in AI-Läsionen gegenüber gesunder Haut nach,<sup>99</sup> was sie als Ausdruck der Wirkung

von Th17-Zellen, u.a. mittels IL-22, in AI-Läsionen werteten. Da AMPs nicht nur das mikrobielle Wachstum hemmen, sondern auch neutrophile Granulozyten, Makrophagen und T-Zellen in das bereits entzündete Gewebe rekrutieren, wurde angenommen, dass dies bei AI eine Feedback-Schleife aufrechterhalten könnte, die die chronische Entzündung fördert.<sup>25</sup>

Aktuell gibt es kontroverse Hypothesen über die genaue Rolle von IL-22 in der Pathogenese der AI. Dies und die Tatsache, dass es noch keine zugelassene spezifisch-modulierende Therapie für IL-22 gibt, bedeutet, dass noch weitere Untersuchungen und Diskussionen notwendig sein werden, insbesondere um die Modalitäten der schon erwähnten protektiven und destruktiven Eigenschaften des Zytokins besser zu erforschen.

#### 5.2.4 IL-23-Expression

In allen untersuchten Erkrankungen ist IL-23 höher exprimiert als in GH. Die deutlichste Expression zeigen die SP-Proben, gefolgt von AI, dann PCAS. Zusammen mit den vorgelegten Ergebnissen aus der IL-17A-Untersuchung kann dies für eine mögliche Rolle des IL-23/Th-17-Pathways auch in der Pathogenese von SP und PCAS sprechen.

IL-23-Hemmer, wie Guselkumab, Risankizumab und Tildrakizumab, werden als First-Line Therapie der PSO empfohlen, wenn konventionelle Therapien bei besonders schwerer Ausprägung keinen ausreichenden Therapieerfolg erwarten lassen.<sup>44</sup> Der IL-23/IL-12-Antikörper Ustekinumab ist in der PSO-Therapie als Second-Line-Medikament etabliert.<sup>44</sup> Eine Studie zu Ustekinumab bei AI wurde bereits im Kapitel 2.2.5.4 Interleukin 23 (IL-23)vorgelegt.<sup>82</sup>

TNF- $\alpha$ -Blocker (TNF-B) wirken hemmend auf die IL-23-Expression, da TNF- $\alpha$  den NF- $\kappa$ B-Signalweg stimuliert, über den die IL-23-Produktion gesteuert wird.<sup>79</sup> Dies wirft die Frage auf, ob IL-23-Antagonisten notwendig sind, da TNF-B diesen Signalweg mitabdecken. Anders als anzunehmen, konnte Patienten, die nicht

oder nicht mehr auf TNF-B ansprechen, z.T. im nächsten Therapieversuch mit Biologicals wie z.B. Ustekinumab (IL-23/IL-12-Antagonist) geholfen werden.<sup>100</sup>

2020 wurde eine weitere Open-label Studie zu Ustekinumab an AI-Patienten durchgeführt. Es handelte sich um eine kleine Kohorte (n=14) und alle Probanden hatten eine Behandlung und Therapieversagen von einem oder mehreren TNF-B hinter sich. Die Ergebnisse waren nicht eindeutig, was auf die Schwere der Erkrankung bei diversen Vortherapien mit Biologicals, aber auch Operationen, antibiotischen und anderen medikamentösen Therapien zurückgeführt wurde.<sup>101</sup> Unabhängig von diesen Ergebnissen bleibt die wissenschaftliche Notwendigkeit von verblindeten, kontrollierten und randomisierten Studien bestehen, um eine Aussage zur Anwendung von Ustekinumab bei AI treffen zu können.

Montero-Vilchez *et al.*<sup>102</sup> führten eine Open-label Studie an vier AI-Patienten mit Guselkumab durch. Zwei der vier Patienten wiesen zusätzlich einen SP auf; auf dessen klinischen Verlauf wurde jedoch nicht weiter eingegangen. Es wurde nur eine leichte Verbesserung der Symptomatik bezogen auf IHS4 (International Hidradenitis suppurativa Severitiy Score System), VAS (Visuelle Analogskala) und DLQI (Dermatologischer Lebensqualität Index), jedoch nicht des HS-PGA beobachtet (Hidradenitis Suppurativa Physician Global Assessment ). Letzterer ist ein Sechs-Punkte Score, der von „clear“ bis „very severe“ reicht und in klinischen Studien zur Einschätzung der klinischen Verbesserung von Knoten, Abszessen und drainierenden Fisteln angewandt wird).<sup>103</sup> Ferner wurde im Rahmen dieser Veröffentlichung ein Systematic Review zum Thema AI und Guselkumab durchgeführt. Das Ergebnis war, dass Guselkumab als Zweit- oder Drittlinientherapie für mittelschwere bis schwere AI geeignet zu sein schien, wobei dringend noch Studien notwendig seien, um ein effektives Dosierungsschema zu erarbeiten.<sup>102</sup> Zur weiteren Evaluation der Wirksamkeit laufen aktuell mindestens zwei Phase-II-Studien mit den Präparaten Guselkumab<sup>104</sup> und Risankizumab.<sup>105</sup>

Darüberhinaus gibt es eine Fallvorstellung<sup>106</sup> zur Anwendung von Guselkumab bei einem Patienten mit therapierefraktärer PCAS. Der Patient litt außerdem an

AI, Acne conglobata und Pyoderma gangränosum. In dieser Vorstellung litt er besonders unter den pathologischen Veränderungen der Kopfhaut, die als PCAS diagnostiziert wurden. Initial war er erfolgreich mit dem TNF-B Adalimumab, zusätzlich mit Hydroxychloroquin, Doxycyclin, Prednisolon und intermittierend mit Clobetasol Creme behandelt worden. Über mehrere Wochen hatte sich der Zustand der Kopfhaut jedoch verschlechtert. Zuvor war er auch erfolglos mit Methotrexat und Minocyclin behandelt worden. Es erfolgte die Umstellung von Adalimumab auf Guselkumab, die übrige Medikation wurde fortgeführt. Es kam zur nahezu vollständigen Remission, die mindestens bis 6 Monate nach Beginn der Therapie anhielt. Der Casereport bezog sich nur auf die Symptomatik der Kopfhaut, also der PCAS.

Zusammengefasst sind IL-23-Antagonisten auch für AI noch nicht hinreichend erforscht. Die genannten Studien und die vorliegend erhobenen Daten deuten darauf hin, dass IL-23 wegen seiner hohen Expression in den untersuchten Proben ein passender Behandlungsansatz sein könnte. Andere Biologika wie IL-17- und TNF- $\alpha$ -Blocker scheinen aktuell jedoch besser geeignet zu sein.

### 5.2.5 TNF- $\alpha$ -Expression

TNF- $\alpha$  wird in nahezu allen untersuchten Proben exprimiert. Am meisten in den AI-Proben, gefolgt von SP und PCAS. Bei den drei Dermatosen überwiegt die TNF- $\alpha$  -Expression gegenüber den GH-Proben.

TNF-B sind wie schon beschrieben als Therapieoption für AI bereits etabliert und befinden sich in Langzeitstudien.<sup>107,108</sup>

Bei PCAS gibt es mittlerweile einige Fallbeschreibungen und Fallserien zur Anwendung von TNF-B. Scheinfeld<sup>6</sup> hatte einige davon in seinem Review von 2014 zusammengefasst und über Therapierfolge mit Adalimumab nach erfolglosen Therapien mit Retinoiden, Antibiotika, Kortikosteroiden und chirurgischer Intervention berichtet. Ferner wurde über Therapieerfolge mit

Infliximab, einem weiteren TNF-B, berichtet. Oftmals wurde die Therapie als Brückenlösung zur definitiven chirurgischen Intervention genutzt, sobald die Läsionen kleiner geworden waren.<sup>38</sup>

Auch hier sind verblindete, kontrollierte und randomisierte Studien notwendig, um die Effektivität der TNF-B überprüfen zu können. Die Seltenheit der Erkrankung ist jedoch möglicherweise eine ungünstige Ausgangslage für intensive Folgeforschung.

Aktuell sind keine Untersuchungen mit TNF-B an SP-Patienten, die keine AI als Komorbidität haben, bekannt. Anhand der hier präsentierten Ergebnisse könnte es jedoch gerade bei chronischen bzw. rezidivierenden Verläufen sinnvoll sein, eine solche Behandlung und weitere Untersuchungen in Betracht zu ziehen. Adalimumab ist beispielsweise schon seit 2003 auf dem europäischen Markt und wird auch bei anderen entzündlichen Erkrankungen in der Gastroenterologie<sup>109</sup> oder Rheumatologie<sup>110</sup> angewandt. Somit besteht bereits eine breite klinische Kenntnis zur Anwendung, was eine Off-Label-Anwendung bei chronisch-rezidivierenden SP rechtfertigen könnte.

## 5.2.6 Fumarsäureester und PDE-4-Hemmer als therapeutische Option

Zwei weitere immunmodulierende Medikamente, die auf andere Art und Weise in die Zytokininteraktionen eingreifen, sollten an dieser Stelle noch als weitere Therapieoptionen genannt werden. Fumarsäureester sind aktuell in der überarbeiteten S3-Psoriasis-Leitlinie von 2021<sup>112</sup> als First-Line-Therapie empfohlen.

Fumarate induzieren Typ II-dendritische Zellen, die das anti-inflammatorische IL-10, statt IL-12 und IL-23 produzieren. Außerdem hemmt IL-10 die IL-22-Produktion. Die Anzahl von regulatorischen T-Zellen wird erhöht und die von Th-17-Zellen gesenkt.<sup>113</sup>

Bislang gibt es in der Literatur keine Untersuchungen zu Fumaraten bei AI-Patienten.

Phosphodiesterase-4-Hemmer (PDE-4-Hemmer), die primär für die PSO-Behandlung entwickelt wurden, reduzieren die Produktion von TNF- $\alpha$ , indem sie intrazelluläres zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) erhöhen. Außerdem werden auch hier IL-17 und IL-23 reduziert und IL-10 induziert.<sup>3</sup>

Weber *et al.*<sup>114</sup> führten eine Open-label-Studie mit dem oralen PDE4-Hemmer Apremilast an neun AI-Patienten durch. Drei Patienten schieden aufgrund von Reflux, vorbestehender Depression oder organisatorischer Hemmnisse vorzeitig aus der Untersuchungsphase aus. Alle Patienten hatten bereits diverse medikamentöse Therapien, teilweise auch Biologicals und z.T. chirurgische Eingriffe hinter sich. Bei den verbleibenden sechs Patienten wurden Sartorius-Hidradenitis-Suppurativa-Score, VAS und DLQI jeweils vor und zwei bzw. drei Monate nach Beginn der Behandlung erhoben. Fünf Patienten davon zeigten signifikante Besserung in allen drei Messinstrumenten. Auch hier sind weitere kontrollierte, randomisierte und größer angelegte Studien notwendig, um den Nutzen des Medikaments bei AI zu bewerten.

Ferner konnte Mielke<sup>115</sup> eine erhöhte Expression des Subtyps PDE-4D in der Dermis von AI-Proben nachweisen, was einen weiteren Hinweis für diesen medikamentösen Angriffspunkt liefert.

Beide Medikamente könnten aufgrund ihrer Wirkeigenschaften und aufgrund der erfolgten Untersuchungen bezüglich IL-17A-, IL-23- und IL-22-Expression in AI, SP und PCAS für deren Behandlung geeignet sein. Weitere Untersuchungen bezüglich ihrer Wirksamkeit bei AI, SP und PCAS scheinen empfehlenswert.

### 5.3 Unklare Ätiologie des SP - Was spricht für eine isolierte Form der AI?

Zur Ätiologie des SP gibt es verschiedene Theorien. Wegen der Ähnlichkeit des klinischen Erscheinungsbildes haben sich bereits verschiedene Autoren mit der Frage beschäftigt, ob ein SP auch eine isolierte Form der AI sein könnte.

Am weitesten verbreitet ist die These, dass abgeschnittenes, scharfkantiges Terminalhaar, durch Reibung im Bereich der Glutealfalte in die Haut einspießt und es sekundär zu einem Fremdkörpergranulom mit exazerbierender Entzündung kommt.<sup>10</sup> Der SP sei „eine vornehmlich in der Pubertät erworbene Erkrankung bei möglicherweise genetischer Co-Disposition“.<sup>10</sup>

Weiterhin gibt es die Annahme, dass in der Embryonalentwicklung Haarfollikel in der Glutealfalte ohne Öffnung nach außen (Porus) eingeschlossen werden. Die gebildeten Haare können die Oberfläche nicht durchdringen und erzeugen ebenfalls eine Art Fremdkörpergranulom und nachfolgende Entzündung.<sup>116</sup> Auch könne es ein Neuroporus (Öffnung am Ende des Neuralrohres) sein, der mit Steißbeinspitze, Analrand, Damm und Sakralhaut kommuniziert.<sup>117,118</sup>

Dritte These ist, dass es wie an anderen Lokalisationen der AI durch Reibung in der Hautfalte und Prädisposition zu Follikelokklusion und einer sekundären Inflammation kommt.<sup>5</sup>

Für die erste These spricht, dass es auch die Bezeichnung Pilonidalsinus an anderen Körperstellen gibt, z.B. bei Frisören an den Fingern oder der Körpervorderseite.<sup>10</sup> Auf histologischer Basis liegen bei allen Körperstellen dieselben Diagnosekriterien zugrunde. Dagegen spricht jedoch, dass diese Sonderformen des SP nicht mit AI assoziiert sind, sondern nur solche, die an der Glutealfalte vorkommen. Eventuell ist hier eine neue Terminologie notwendig, um die verschiedenen SP-Formen besser voneinander abgrenzen zu können.

Für die zweite These spricht das Erstmanifestationsalter, da die Haare in diesem Bereich während der Pubertät bereits dicker werden und stärker wachsen. Ein

Erkrankungsbeginn um das 15. Lebensjahr wäre zu erwarten. Tatsächlich manifestiert sich die Erkrankung nach aktueller Studienlage häufig zwischen dem 20. und 25. Lebensjahr.<sup>31</sup> Eventuell lassen These zwei und drei sich insofern vereinbaren, da auch eine zu tiefe Embryonalanlage des Haares und der Talgdrüsen zu einer Okklusion(-sstörung) des Follikels führen können.

Für die dritte These spricht, dass es klinisch keine feststehenden Diagnosekriterien für den SP gibt, die eine sichere Abgrenzung von einer sakral-/gluteal-manifestierten AI garantieren. Ein SP wird von 20-30% der AI-Patienten entwickelt.<sup>119</sup> Aufgrund der Koinzidenz und morphologischen Ähnlichkeit wird in der S1-Leitlinie zur AI<sup>5</sup> vermutet, dass es sich beim sakralen SP auch um eine unilokalisierte Form der AI handeln könnte.<sup>120,121</sup> In einer anderen Untersuchung wurde diese These durch viele sonografische Gemeinsamkeiten der beiden Krankheiten untermauert.<sup>122</sup>

Demgemäß und in Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit bezüglich des immunologischen Phänotyps ist die Ätiologie des SP als unilokuläre Manifestation der AI durchaus möglich. Daher scheinen weitere Studien bezüglich medikamentöser Therapien, vor allem bei rezidivierenden SP, sinnvoll.

## 5.4 Diskussion von Material und Methoden

### 5.4.1 Proben und Versuche

Der Stichprobenumfang dieser Untersuchung war klein, da sich die Probengewinnung insbesondere bei der PCAS schwierig gestaltete. Die Ein- und Ausschlusskriterien beinhalteten, dass eine medikamentöse Vorbehandlung nicht oder seit einem festgelegten Zeitraum nicht mehr stattgefunden haben durfte. Die Diagnose der untersuchten Erkrankungen erfolgte überwiegend klinisch, nicht zwingend histologisch. Ferner ist die KDVA des Universitätsklinikums Frankfurt nicht unbedingt die erste Anlaufstelle für dermatologische Patienten. Eine medikamentöse Anbehandlung war meist schon eingeleitet worden, sobald die Patienten sich in der KDVA in Behandlung begaben. Obwohl auf die in den vergangenen zehn Jahren archivierten Proben der universitätseigenen Dermatopathologie zurückgegriffen wurde, beinhaltete die Sammlung zu wenig passende Proben. Dennoch war es möglich, erste Erkenntnisse der Zytokinexpression ohne Anbehandlung mit immunmodulierend oder -supprimierend Medikation zu erlangen.

Im Falle des SP handelt es sich zwar um ein häufiges, chirurgisch jedoch nicht allzu komplexes Krankheitsbild, sodass die Versorgung nur selten am Universitätsklinikum stattfindet. Gegebenenfalls wäre es also ratsam gewesen, weitere Zentren zur Probengewinnung miteinzubeziehen, um eine größere Probenanzahl zu erreichen. Durch den Ethikantrag (Geschäftsnummer 402/17) war der Einschlusszeitraum für zusätzliche Proben auf ein Jahr und auf das Universitätsklinikum Frankfurt begrenzt. In Anbetracht der geringen Anzahl an qualifizierten Proben, wäre ein längerer Einschlusszeitraum in zukünftigen Untersuchungen empfehlenswert. Durch rigide Ein- und Ausschlusskriterien die Vormedikation betreffend hatten jedoch auch Schlapach *et al.* in ihrer Studie *Expression of the IL-23/Th17 pathway in lesions of hidradenitis suppurativa* ebenfalls nur ein kleines Probandenkollektiv von zehn Individuen, mit ausgeglichener Geschlechterverteilung untersucht.<sup>25</sup> Mozeika *et al.* konnten

insgesamt 14 Probanden (11 weiblich, 3 männlich) in ihre Untersuchung zur Expression von TNF- $\alpha$  in AI-Proben einschließen.<sup>123</sup>

Es lagen zwei verschiedene Probenformen vor: GH, PSO und PCAS waren 4mm-Hautstanzen; bei den AI- und SP-Proben handelte es sich um OP-Exzidate. Auch waren nicht alle Proben gleich gut geeignet für die technischen Anforderungen der Untersuchung. Im Rahmen von Vorversuchen zeigte sich, dass einige Proben, obwohl sie die Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten, zu fragil waren, um aussagekräftige Färbungen an ihnen vornehmen zu können, da das Gewebe dem Färbeprozess nicht standhielt und zerstört wurde. Dies ist darauf zurückzuführen, dass eine SP-Exzision bei den vorhandenen Proben im akut hochentzündeten Intervall stattfand oder eine AI-Operation erst durchgeführt wurde, wenn ein fortgeschrittenes Krankheitsstadium vorlag. In beiden Fällen kommt es zur massiven Gewebsdestruktion, welche sich in den histologischen Präparaten in Form von artifiziellen Gewebedefekten wieder spiegelt.

Gegebenenfalls hätte eine homogenere Morphologie der Proben, z.B. nur Stanzbiopsien, zu einer besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse geführt. Jedoch hätten die Patienten sich entweder nur zu diesem Zwecke einer potentiell schmerzhaften und risikobehafteten Hautbiopsie unterziehen oder Biopsien aus den OP-Exzidaten entnommen werden müssen. Dies war aus organisatorischen Gründen nicht möglich, denn es bestand z.T. die Notwendigkeit der Verwendung von Proben, die schon lange vor dieser Studie entnommen worden und bereits in Paraffin konserviert waren.

Eine Rolle für die Anzahl der untersuchten Proben pro Versuch (25 OT) spielte auch die Durchführbarkeit der Versuche durch eine einzelne Person. Dies bewirkte eine Versuchskonsistenz, um die jeweils notwendigen Arbeitsschritte, z.B. präzise Inkubationszeiten, einhalten zu können. Dadurch wurde erreicht, dass alle Proben für die Färbung mit einem spezifischen Antikörper auch in einem einzigen Versuchsdurchlauf gemeinsam behandelt werden konnte. So wurden weitere unbeeinflussbare Variablen, wie z.B. andere Pufferzusammensetzungen,

Temperaturunterschiede im Kochprozess oder Schwankungen der äußeren Einflüsse auf den Versuchsaufbau, ausgeschlossen.

Wegen der begrenzten Anzahl an Schnitten aus den Paraffinblöcken und der Notwendigkeit vieler Vorversuche zur Etablierung der Antikörperfärbung konnten Wiederholungen zur Validierung nicht stattfinden.

Das heterogene Patientenkollektiv mit einer Altersspanne von 18-56 Jahren und einem nahezu ausgeglichenen Geschlechterverhältnis ergab sich aus den oben genannten Herausforderungen der Probengewinnung. Im Falle der PCAS-Proben konnten ausschließlich junge, männliche Patienten eingeschlossen werden, wie es auch in der Literatur beschrieben ist.<sup>6</sup>

Die Auswahl der verwendeten Antikörper basierte auf unterschiedlichen Kriterien. Der IL-17-Antikörper von R&D Systems (AF-317-NA) wurde bereits von Lima *et al.* in deren Studie zu proinflammatorischen Molekülen in AI benutzt.<sup>124</sup> Der IL-23p19 Antikörper (HLT2736 BioLegend), der von Schlapbach *et al.*<sup>25</sup> verwendet worden war, ließ sich in der durchgeführten Versuchsreihe nicht erneut reproduzieren. Möglicherweise lag dies daran, dass es sich bei Schlapbach *et al.* um kryokonservierte Präparate gehandelt hatte und deshalb die jeweils verwendeten IHC-Protokolle voneinander abwichen. Daraufhin wurde zum Antikörper IL-23A/IL-23p19 von Novusbio (NBP1-77257) gewechselt. Der IL-1 $\beta$ -Antikörper (NovusBio, NB600-633), IL-22 (Thermo Fisher, PA5-34753) und TNF- $\alpha$ -Antikörper (Abnova, H00007124-M03) wurden auf Empfehlung einer weiteren Arbeitsgruppe der KDVA verwendet. Initial wurde außerdem versucht, zwei andere IL-1 $\beta$  und TNF $\alpha$ -Antikörper sowie IL-6, MMP-2, CXCL-7 und CXCL-9 zu etablieren. Dies scheiterte jedoch an der Etablierung der Färbung.

Zunächst war auch ein Western Blot zur besseren Quantifizierung der Zytokinexpression in den Proben geplant. Da die Probengewinnung sich jedoch schwierig gestaltete, wären zu wenige Proben aus frischen Stanzen und Exzidaten zusammengekommen – unter anderem keine von PCAS. Dies machte den Versuch der Proteinextraktion aus paraffiniertem Gewebe notwendig. Trotz

intensiver Bemühungen konnte der Proteinnachweis mittels Western Blot nicht erfolgreich durchgeführt werden. Es ist zu vermuten, dass die Proteinmenge in paraffinierten Proben zu gering war, um diese Zytokine in der Methode nachzuweisen.

Auch aufgrund der Breite der Untersuchung (drei Indikationen, fünf Zytokine) wurde die etablierte Methode der Immunhistochemie gewählt, um einen ersten Nachweis der Zytokinexpression in SP und PCAS zu erbringen. Über die Auswertung der Bilder wurde anschließend ein Eindruck der Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Expressionsmuster gezeigt.

#### 5.4.2 Auswertung

Nachdem ein Nachweis der gesuchten Zytokine in den untersuchten Proben erfolgt war, wurde ein geeignetes Instrument zur semiquantitativen Beurteilung der Ergebnisse erarbeitet. Aufgrund der oben geschilderten Heterogenität der Proben war eine exakte Vergleichbarkeit der Färbeergebnisse auf den jeweiligen Objektträgern nicht umzusetzen.

Durch das definierte Gitterraster und die Einteilung in vier Kategorien [negativ (Kategorie I), schwach-positiv (Kategorie II), positiv (Kategorie III) und hoch-positiv (Kategorie IV)] wurde die Beurteilung der Häufigkeit von Zytokinfärbungen ermöglicht.

Van der Zee *et al.*<sup>125</sup> benutzten in ihrer Studie zu TNF-B Behandlung bei Hidradenitis suppurativa zur Beurteilung von IHC-Färbungen ebenfalls vier Kategorien zur Einteilung: Keine angefärbten Zellen entsprach Kategorie „0“. Wenn die überwiegende Zahl der Zellen gefärbt war, galt dies als Kategorie „4“. Hierzu wurde jedoch kein Raster verwendet, sondern die Proben von zwei unterschiedlichen Untersuchern begutachtet und ein Mittelwert gebildet.

Vier Kategorien wurden z.B. auch von Mozeika *et al.* zur Beurteilung der Färbung ihrer IHC-Proben gewählt. Wobei es die Kategorie „keine positiven Zellen“ nicht gab, sondern die Kategorien von „wenig positive Strukturen +“ bis „Überfluss an positiven Strukturen ++++“ reichte.<sup>123</sup>

Die Verwendung eines Gitterrasters dient in anderen Studien meist zum Zählen von Zellen.<sup>99</sup> In dieser Untersuchung wurde diese Form der Auswertung jedoch gewählt, um die unterschiedlichen Arten der Proben (Stanzen vs. Exzidate) besser vergleichen zu können.

Eine Analyse, wie Bologna-Molina *et al.*<sup>126</sup> mit Ihrem Gitterraster als Prozent positiver Zellen an der Gesamtzellzahl pro Quadratmillimeter vorschlugen, war aufgrund der verschiedenen Probenarten und der erschwerten Zählbarkeit der Zellen in sehr dichten Infiltraten nicht möglich.

Da es sich um die Auswertung einzelner Bildausschnitte aus wenigen Proben handelt, sind die Ergebnisse als Hinweise auf eine mögliche quantitative Verteilung zu betrachten. Jedoch konnte die Hauptfrage der Arbeit nach dem Vorhandensein der untersuchten Zytokine in SP und PCAS beantwortet werden. Es sollten weitere Untersuchungen hinsichtlich der quantitativen Expression und Rolle in deren Pathophysiologie angestellt werden.

## 6. Ausblick

Die gesuchten Zytokine wurden in den verwendeten Proben von AI, SP und PCAS nachgewiesen. Eine Quantifizierung der Expression war aufgrund der kleinen Stichprobe und der Methodik nicht ausreichend durchführbar. Dennoch sind die vorgelegten Ergebnisse ein erster Schritt, um weitere Untersuchungen in diese Richtung und anschließend Studien bezüglich gezielter Antikörpertherapien an Patienten mit AI, SP und PCAS zu initiieren. Letztendlich gibt es die Aussicht auf Ersatz der Notwendigkeit eines chirurgischen Verfahrens durch weitere immunmodulierende medikamentöse Therapieansätze.

Laut der hier gezeigten Ergebnisse scheinen IL-17A, IL-23 und TNF- $\alpha$  geeignete therapeutische Angriffspunkte auch bei SP und PCAS zu sein. Dies wird durch die aktuellen Studienlage und Effizienz der vorhandenen Medikamente unterstrichen.

Bei IL-22 muss die Besonderheit der unklaren Studienlage bezüglich seiner Expression in AI und seiner dualen Rolle im Zusammenspiel der Zytokine zunächst näher untersucht werden. Erst im Anschluss können Rückschlüsse auf Therapieansätze gezogen werden.

Zur Evaluation eines potentiell therapeutischen Effektes monoklonaler Antikörper oder immunsuppressiver Medikamente fehlen jedoch insbesondere zu SP und PCAS klinische Studien.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Plewig G, Ruzicka T, Kaufmann R, Hertl M, Braun-Falco O, eds. *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie*. 7., vollständig überarbeitete und aktualisierte Auflage. Berlin: Springer; 2018.
2. Kelly G, Sweeney CM, Tobin AM, et al. Hidradenitis suppurativa: the role of immune dysregulation. *Int J Dermatol*. 2014;53(10):1186-1196.
3. Tchero H, Herlin C, Bekara F, et al. Hidradenitis Suppurativa: A Systematic Review and Meta-analysis of Therapeutic Interventions. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2019;(85):248-257.
4. Wolk K, Warszawska K, Hoefflich C, et al. Deficiency of IL-22 Contributes to a Chronic Inflammatory Disease: Pathogenetic Mechanisms in Acne Inversa. *The Journal of Immunology*. 2011;186(2):1228-1239.
5. 013-012l\_S1\_Acne\_inversa\_Hidradenitis\_suppurativa\_2012-12-abgelaufen.pdf. Accessed September 19, 2020. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/013-012l\\_S1\\_Acne\\_inversa\\_Hidradenitis\\_suppurativa\\_2012-12-abgelaufen.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/013-012l_S1_Acne_inversa_Hidradenitis_suppurativa_2012-12-abgelaufen.pdf)
6. Scheinfeld N. Dissecting cellulitis (Perifolliculitis Capitis Abscedens et Suffodiens): a comprehensive review focusing on new treatments and findings of the last decade with commentary comparing the therapies and causes of dissecting cellulitis to hidradenitis suppurativa. *Dermatology Online Journal*. 2014;20(5). Accessed July 16, 2020. <https://escholarship.org/uc/item/86m167ht>
7. Renate Lüllmann-Rauch. *Histologie-Taschenlehrbuch*. 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2009.
8. Kenneth Murphy, Casey Weaver. *Janeway Immunologie*. 9. Auflage. Berlin: Springer Spektrum; 2018.
9. Cerroni L, Garbe C, Metz D, et al., eds. *Histopathologie der Haut*. 2. Auflage. Berlin: Springer; 2016.

10. 081-0091\_S3\_Sinus\_pilonidalis\_2020-07.pdf. Accessed July 16, 2020. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/081-0091\\_S3\\_Sinus\\_pilonidalis\\_2020-07.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/081-0091_S3_Sinus_pilonidalis_2020-07.pdf)
11. Onderdijk AJ, Zee HH van der, Esmann S, et al. Depression in patients with hidradenitis suppurativa. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013;27(4):473-478.
12. Ogawa E, Sato Y, Minagawa A, Okuyama R. Pathogenesis of psoriasis and development of treatment. *J Dermatol*. 2018;45(3):264-272.
13. Lowes MA, Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of Psoriasis. *Annu Rev Immunol*. 2014;32(1):227-255.
14. Wiesner T, ed. *Das Derma-Kurs-Buch: fallbezogenes Lernbuch zur Dermatologie, Allergologie und Venerologie ; S.137 ff*. Berlin: de Gruyter; 2012.
15. Haut und Hautanhangsgebilde - AMBOSS. Accessed December 30, 2021. <https://next.amboss.com/de/article/so0tWS?q=histologie%20haar#Zd63453f8a47923f4770d0e31afb60437>
16. Fimmel S, Zouboulis CC. Comorbidities of hidradenitis suppurativa (acne inversa). *Dermatoendocrinol*. 2010;2(1):9-16.
17. Alikhan A, Lynch PJ, Eisen DB. Hidradenitis suppurativa: A comprehensive review. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2009;60(4):539-561.
18. Zouboulis CC, Desai N, Emtestam L, et al. European S1 guideline for the treatment of hidradenitis suppurativa/acne inversa. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2015;29(4):619-644.
19. von Laffert M, Stadie V, Wohlrab J, et al. Hidradenitis suppurativa/acne inversa: bilocated epithelial hyperplasia with very different sequelae. *British Journal of Dermatology*. 2011;164(2):367-371.
20. Fotodokumentation. Klinik für Dermatologie, Venerologie, Allergologie,

Klinikum der Goethe-Universität, Frankfurt Am Main.

21. Breuninger H, Wienert V. Acne inversa. *Dtsch Arztebl.* 2001;98(44):2889-2892.
22. Zee HH van der, Ruiten L de, Boer J, et al. Alterations in leucocyte subsets and histomorphology in normal-appearing perilesional skin and early and chronic hidradenitis suppurativa lesions. *British Journal of Dermatology.* 2012;166(1):98-106.
23. Sartorius K, Emtestam L, Jemec GBE, et al. Objective scoring of hidradenitis suppurativa reflecting the role of tobacco smoking and obesity. *British Journal of Dermatology.* 2009;161(4):831-839.
24. Zee HH van der, Ruiten L de, Broecke DG van den, et al. Elevated levels of tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-10 in hidradenitis suppurativa skin: a rationale for targeting TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . *British Journal of Dermatology.* 2011;164(6):1292-1298.
25. Schlapbach C, Hänni T, Yawalkar N, et al. Expression of the IL-23/Th17 pathway in lesions of hidradenitis suppurativa. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2011;65(4):790-798.
26. Witte-Händel E, Wolk K, Tsaousi A, et al. The IL-1 Pathway Is Hyperactive in Hidradenitis Suppurativa and Contributes to Skin Infiltration and Destruction. *Journal of Investigative Dermatology.* 2019;139(6):1294-1305.
27. Shavit E, Dreiherr J, Freud T, et al. Psychiatric comorbidities in 3207 patients with hidradenitis suppurativa. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2015;29(2):371-376.
28. Sabat R, Chanwangpong A, Schneider-Burrus S, et al. Increased Prevalence of Metabolic Syndrome in Patients with Acne Inversa. *PLoS One.* 2012;7(2).
29. Shalom G, Freud T, Harman-Boehm I, Polishchuk I, et al. Hidradenitis suppurativa and metabolic syndrome: a comparative cross-sectional study of 3207 patients. *British Journal of Dermatology.* 2015;173(2):464-470.

30. Hendricks AJ, Hirt PA, Sekhon S, et al. Non-pharmacologic approaches for hidradenitis suppurativa – a systematic review. *Journal of Dermatological Treatment*. 2021;32(1):11-18.
31. Søndena K, Andersen E, Nesvik I, et al. Patient characteristics and symptoms in chronic pilonidal sinus disease. *Int J Colorect Dis*. 1995;10(1):39-42.
32. Jonathanlund. “Pilonidal abscess.jpg” von Jonathanlund, Wikimedia Foundation, lizenziert unter CC BY-SA 4.0., 12.11.2020, 13:39:40. [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Pilonidal\\_abscess.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Pilonidal_abscess.jpg)
33. JerryTahl. “Two pilonidal cysts in the natal cleft”, JerryTahl, Wikimedia Commons lizenziert unter Public Domain (gemeinfrei), 12.11.2020, 13:37:30. [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Two\\_pilonidal\\_cysts\\_in\\_the\\_natal\\_cleft.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Two_pilonidal_cysts_in_the_natal_cleft.jpg)
34. Doll D, Friederichs J, Düsel W, et al. Surgery for asymptomatic pilonidal sinus disease. *Int J Colorectal Dis*. 2008;23(9):839.
35. Vasanth V, Chandrashekar B. Follicular occlusion tetrad. *Indian Dermatol Online J*. 2014;5(4):491. doi:10.4103/2229-5178.142517
36. Kowalska-Oledzka E, Slowinska M, Rakowska A, et al. ‘Black dots’ seen under trichoscopy are not specific for alopecia areata. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2012;37(6):615-619.
37. Rudnicka L, Olszewska M, Rakowska A. Trichoscopy update 2011. *J Dermatol Case Rep*. 2011;5(4):82-88.
38. Thomas J, Aguh C. Approach to treatment of refractory dissecting cellulitis of the scalp: a systematic review. *J Dermatolog Treat*. 2021;32(2):144-149.
39. Miteva M, Romanelli P, Tosti A. Pigmented casts. *Am J Dermatopathol*. 2014;36(1):58-63.
40. Christophers E. Psoriasis – epidemiology and clinical spectrum. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2001;26(4):314-320.

41. Griffiths CE. Psoriasis 1 Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet*. 2007;370:263-271.
42. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *New England Journal of Medicine*. 2009;361(5):496-509.
43. Tsai YC, Tsai TF. Anti-interleukin and interleukin therapies for psoriasis: current evidence and clinical usefulness. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2017;9(11):277-294.
44. Nast DA, et al. Deutsche S3-Leitlinie zur Therapie der Psoriasis vulgaris, adaptiert von EuroGuiDerm – Teil 1: Therapieziele und Therapieempfehlungen. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2021;19(6):934-951.
45. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*. 2018;281(1):8-27.
46. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011;117(14):3720-3732.
47. Mee JB, Cork MJ, di Giovine FS, et al. Interleukin-1: a key inflammatory mediator in psoriasis? *Cytokine*. 2006;33(2):72-78.
48. Chung Y, Chang SH, Martinez GJ, et al. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. *Immunity*. 2009;30(4):576-587.
49. Joosten LA. Excessive interleukin-1 signaling determines the development of Th1 and Th17 responses in chronic inflammation. *Arthritis Rheum*. 2010;62(2):320-322.
50. Schroder K, Tschopp J. The Inflammasomes. *Cell*. 2010;140(6):821-832.
51. Kelly G, Hughes R, McGarry T, et al. Dysregulated cytokine expression in lesional and nonlesional skin in hidradenitis suppurativa. *British Journal of Dermatology*. 2015;173(6):1431-1439.
52. Lauffer F, Eyerich K, Boehnke WH, et al. Cytokines of the IL-17 family in psoriasis. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2020;(18):675-681.

53. Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, et al. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol.* 2007;25:821-852.
54. Schön MP, Erpenbeck L. The Interleukin-23/Interleukin-17 Axis Links Adaptive and Innate Immunity in Psoriasis. *Front Immunol.* 2018;9.
55. Aujla SJ, Dubin PJ, Kolls JK. Th17 cells and mucosal host defense. *Semin Immunol.* 2007;19(6):377-382.
56. Boniface K, Blom B, Liu YJ, et al. From interleukin-23 to T-helper 17 cells: human T-helper cell differentiation revisited. *Immunol Rev.* 2008;226:132-146.
57. Yen D, Cheung J, Scheerens H, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6. *J Clin Invest.* 2006;116(5):1310-1316.
58. Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, et al. Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J Exp Med.* 2003;198(12):1951-1957.
59. Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature.* 2003;421(6924):744-748.
60. Matusiak Ł, Szczęch J, Bieniek A, et al. Increased interleukin (IL)-17 serum levels in patients with hidradenitis suppurativa: Implications for treatment with anti-IL-17 agents. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2017;76(4):670-675.
61. van Es T, van Puijvelde GHM, Ramos OH, et al. Attenuated atherosclerosis upon IL-17R signaling disruption in LDLr deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;388(2):261-265.
62. Chen S, Crother TR, Arditi M. Emerging Role of IL-17 in Atherosclerosis. *J Innate Immun.* 2010;2(4):325-333.
63. Ikeuchi H, Kuroiwa T, Hiramatsu N, et al. Expression of interleukin-22 in rheumatoid arthritis: potential role as a proinflammatory cytokine. *Arthritis Rheum.*

2005;52(4):1037-1046.

64. Wolk K, Witte E, Wallace E, et al. IL-22 regulates the expression of genes responsible for antimicrobial defense, cellular differentiation, and mobility in keratinocytes: a potential role in psoriasis. *Eur J Immunol*. 2006;36(5):1309-1323.

65. Wolk K, Kunz S, Witte E, et al. IL-22 Increases the Innate Immunity of Tissues. *Immunity*. 2004;21(2):241-254.

66. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nature Immunology*. 2007;8(9):950-957.

67. Zenewicz LA. IL-22: There Is a Gap in Our Knowledge. *ImmunoHorizons*. 2018;2(6):198-207.

68. Wolk K, Witte E, Witte K, et al. Biology of interleukin-22. *Semin Immunopathol*. 2010;32(1):17-31.

69. Dumoutier L, Van Roost E, Colau D, et al. Human interleukin-10-related T cell-derived inducible factor: molecular cloning and functional characterization as an hepatocyte-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(18):10144-10149.

70. Wolk K, Haugen HS, Xu W, et al. IL-22 and IL-20 are key mediators of the epidermal alterations in psoriasis while IL-17 and IFN-gamma are not. *J Mol Med (Berl)*. 2009;87(5):523-536.

71. Ciccia F, Guggino G, Rizzo A, et al. Interleukin (IL)-22 receptor 1 is over-expressed in primary Sjogren's syndrome and Sjögren-associated non-Hodgkin lymphomas and is regulated by IL-18. *Clin Exp Immunol*. 2015;181(2):219-229.

72. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med*. 2007;13(10):1173-1175.

73. Nograles KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E, et al. Th17 cytokines interleukin (IL)-

17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *Br J Dermatol.* 2008;159(5):1092-1102.

74. Sonnenberg GF, Nair MG, Kim TJ, et al. Pathological versus protective functions of IL-22 in airway inflammation are regulated by IL-17A. *J Exp Med.* 2010;207(6):1293-1305.

75. Martin JC, Wolk K, Bériou G, et al. Limited Presence of IL-22 Binding Protein, a Natural IL-22 Inhibitor, Strengthens Psoriatic Skin Inflammation. *J Immunol.* 2017;198(9):3671-3678.

76. Oppmann B, Lesley R, Blom B, et al. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. *Immunity.* 2000;13(5):715-725.

77. Cesare AD, Meglio PD, Nestle FO. The IL-23/Th17 Axis in the Immunopathogenesis of Psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2009;129(6):1339-1350.

78. Liu FL, Chen CH, Chu SJ, et al. Interleukin (IL)-23 p19 expression induced by IL-1beta in human fibroblast-like synoviocytes with rheumatoid arthritis via active nuclear factor-kappaB and AP-1 dependent pathway. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(8):1266-1273.

79. Zaba LC, Cardinale I, Gilleaudeau P, et al. Amelioration of epidermal hyperplasia by TNF inhibition is associated with reduced Th17 responses. *J Exp Med.* 2007;204(13):3183-3194.

80. Parham C, Chirica M, Timans J, et al. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J Immunol.* 2002;168(11):5699-5708.

81. Lee E, Trepicchio WL, Oestreicher JL, et al. Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris. *J Exp Med.* 2004;199(1):125-130.

82. Blok JL, Li K, Brodmerkel C, et al. Ustekinumab in hidradenitis suppurativa: clinical results and a search for potential biomarkers in serum. *British Journal of Dermatology*. 2016;174(4):839-846.
83. TNF Superfamilie - AMBOSS. [www.Amboss.com](http://www.Amboss.com). Accessed September 28, 2020.  
<https://next.amboss.com/de/article/V60GPS#Z8f5cf9a4c99cb221d07a480ba22c8bf5>
84. Hehlhans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology*. 2005;115(1):1-20.
85. Matusiak L, Bieniek A, Szepietowski JC. Increased serum tumour necrosis factor-alpha in hidradenitis suppurativa patients: is there a basis for treatment with anti-tumour necrosis factor-alpha agents? *Acta Derm Venereol*. 2009;89(6):601-603.
86. Müller-Esterl W. *Biochemie*. 3. überarbeitete Auflage. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2018.
87. Piskin G, Sylva-Steenland RMR, Bos JD, et al. In vitro and in situ expression of IL-23 by keratinocytes in healthy skin and psoriasis lesions: enhanced expression in psoriatic skin. *J Immunol*. 2006;176(3):1908-1915.
88. Sabat R, Tsaousi A, Rossbacher J, et al. Acne inversa/Hidradenitis suppurativa: Ein Update. *Hautarzt*. 2017;68(12):999-1006.
89. Shah A, Alhusayen R, Amini-Nik S. The critical role of macrophages in the pathogenesis of hidradenitis suppurativa. *Inflamm Res*. 2017;66(11):931-945.
90. Liu H, Rohowsky-Kochan C. Regulation of IL-17 in human CCR6+ effector memory T cells. *J Immunol*. 2008;180(12):7948-7957.
91. Tzanetakou V, Kanni T, Giatrakou S, et al. Safety and Efficacy of Anakinra in Severe Hidradenitis Suppurativa: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Dermatol*. 2016;152(1):52-59.

92. Gordon KB, Langley RG, Warren RB, et al. Bimekizumab Safety in Patients With Moderate to Severe Plaque Psoriasis: Pooled Results From Phase 2 and Phase 3 Randomized Clinical Trials. *JAMA Dermatol.* 2022;158(7):735-744.
93. Merola JF, Landewé R, McInnes IB, et al. Bimekizumab in patients with active psoriatic arthritis and previous inadequate response or intolerance to tumour necrosis factor- $\alpha$  inhibitors: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial (BE COMPLETE). *The Lancet.* 2023;401(10370):38-48.
94. Casseres RG, Prussick L, Zancanaro P, et al. Secukinumab in the treatment of moderate to severe hidradenitis suppurativa: Results of an open-label trial. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2020;82(6):1524-1526.
95. Klinische Studien zur Hidradenitis suppurativa: Hidradenitis: Secukinumab - Register für klinische Studien - ICH GCP. Accessed January 21, 2023. <https://ichgcp.net/de/clinical-trials-registry/NCT04179175>
96. Hilbring C, Girbig G, Augustin M, et al. Fallserie von 10 Patienten mit Acne inversa: Einsatz von Ixekizumab bei sekundärem Wirkverlust von Adalimumabologie. doi:10.26226/morressier.5ede6576cd64ab8a18999a9f
97. UCB Biopharma SRL. *A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter Study Evaluating the Efficacy and Safety of Bimekizumab in Study Participants With Moderate to Severe Hidradenitis Suppurativa.* clinicaltrials.gov; 2023. Accessed January 5, 2023. [<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04242446>](<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04242446>)
98. von Laffert M, Helmbold P, Wohlrab J, et al. Hidradenitis suppurativa (acne inversa): early inflammatory events at terminal follicles and at interfollicular epidermis. *Exp Dermatol.* 2010;19(6):533-537.
99. Schlapbach C, Yawalkar N, Hunger RE. Human beta-defensin-2 and psoriasin are overexpressed in lesions of acne inversa. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(1):58-65.

100. Takahashi N, Noda S, Taniguchi T, et al. Efficacy comparison of ustekinumab between anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  drug-naïve and anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  drug-resistant Japanese psoriasis cases. *International Journal of Dermatology*. 2015;54(10):1194-1198.
101. Romání J, Vilarrasa E, Martorell A, et al. Ustekinumab with Intravenous Infusion: Results in Hidradenitis Suppurativa. *DRM*. 2020;236(1):21-24.
102. Montero-Vilchez T, Martinez-Lopez A, Salvador-Rodriguez L, et al. The use of guselkumab 100 mg every 4 weeks on patients with hidradenitis suppurativa and a literature review. *Dermatologic Therapy*. 2020;33(3):e13456.
103. Kimball A, Jemec G, Yang M, et al. Assessing the validity, responsiveness and meaningfulness of the Hidradenitis Suppurativa Clinical Response (HiSCR) as the clinical endpoint for hidradenitis suppurativa treatment. *British Journal of Dermatology*. 2014;171(6):1434-1442.
104. Janssen Research & Development, LLC. *A Phase 2, Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Proof-of-Concept Study to Evaluate Guselkumab for the Treatment of Subjects With Moderate to Severe Hidradenitis Suppurativa*. clinicaltrials.gov; 2021. Accessed December 21, 2021. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03628924>
105. AbbVie. *A Phase 2, Multicenter, Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Risankizumab in Adult Subjects With Moderate to Severe Hidradenitis Suppurativa*. clinicaltrials.gov; 2022. Accessed January 5, 2023. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03926169>
106. Muzumdar S, Parikh S, Strober B. Treatment of refractory dissecting cellulitis of the scalp with guselkumab: Case report. *Journal of Dermatology and Dermatologic Surgery*. 2020;24:52.
107. Zouboulis CC, Okun MM, Prens EP, et al. Long-term adalimumab efficacy in patients with moderate-to-severe hidradenitis suppurativa/acne inversa: 3-year results of a phase 3 open-label extension study. *Journal of the American Academy of Dermatology*.

2019;80(1):60-69.e2. doi:10.1016/j.jaad.2018.05.040

108. Gulliver W, Alavi A, Wiseman M c., et al. Real-world effectiveness of adalimumab in patients with moderate-to-severe hidradenitis suppurativa: the 1-year SOLACE study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2021;35(12):2431-2439. doi:10.1111/jdv.17598

109. Sturm A, Atreya R, Bettenworth D, et al. Aktualisierte S3-Leitlinie „Diagnostik und Therapie des Morbus Crohn“ der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) – August 2021 – AWMF-Registernummer: 021-004. *Z Gastroenterol*. 2022;60(03):332-418.

110. 060-004l\_S2e\_Therapie\_rheumatoide\_Arthritis\_krankheitsmod\_Med\_2018-10\_01.pdf. Accessed January 21, 2023. [https://register.awmf.org/assets/guidelines/060-004l\\_S2e\\_Therapie\\_rheumatoide\\_Arthritis\\_krankheitsmod\\_Med\\_2018-10\\_01.pdf](https://register.awmf.org/assets/guidelines/060-004l_S2e_Therapie_rheumatoide_Arthritis_krankheitsmod_Med_2018-10_01.pdf)

111. Nast A, Boehncke WH, Mrowietz U, et al. S3-Leitlinie zur Therapie der Psoriasis vulgaris Update 2011. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2011;9:S1-104.

112. Nast A, Altenburg A, Augustin M, et al. Deutsche S3-Leitlinie zur Therapie der Psoriasis vulgaris, adaptiert von EuroGuiDerm – Teil 2: Therapiemonitoring, besondere klinische Situationen und Komorbidität. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2021;19(7):1092-1117. doi:10.1111/ddg.14507\_g

113. Ghoreschi K, Brück J, Kellerer C, et al. Fumarates improve psoriasis and multiple sclerosis by inducing type II dendritic cells. *J Exp Med*. 2011;208(11):2291-2303.

114. Weber P, Seyed Jafari S, Yawalkar N, et al. Apremilast in the treatment of moderate to severe hidradenitis suppurativa: A case series of 9 patients. *JAM ACAD DERMATOL*. 2017;76(6):1189-1191. doi:10.1016/j.jaad.2017.02.026

115. Mielke N. *Untersuchung der Expression von Phosphodiesterase-4 und deren Subtypen in Chronisch-Entzündlichen Erkrankungen der Haut*. [Dissertation]. Frankfurt am Main: Johann Wolfgang Goethe-Universität; 2021.

116. Weeder, SD. Pilonidal Cyst. *Ann Surg.* 1933;98:385-393.
117. Gage, M. Pilonidal sinus: An explanation of its embryologic development. *Arch Surg.* 1935;31:175.
118. Kooistra, HP. Pilonidal sinuses. *Am J Surg.* 1942;55:3-17.
119. Breuninger H. Treatment of pilonidal sinus and acne inversa. *Hautarzt.* 2004;55(3):254-258.
120. Benhadou F, Zee HHV der, Pascual JC, et al. Pilonidal sinus disease: an intergluteal localization of hidradenitis suppurativa/acne inversa: a cross-sectional study among 2465 patients. *British Journal of Dermatology.* 2019;181(6):1198-1206.
121. von Laffert M, Stadie V, Ulrich J, et al. Morphology of Pilonidal Sinus Disease: Some Evidence of Its Being a Unilocalized Type of Hidradenitis Suppurativa. *DRM.* 2011;223(4):349-355.
122. Wortsman X, Castro A, Morales C, et al. Sonographic Comparison of Morphologic Characteristics Between Pilonidal Cysts and Hidradenitis Suppurativa. *Journal of Ultrasound in Medicine.* 2017;36(12):2403-2418.
123. Mozeika E, Pilmane M, Nürnberg BM, et al. Tumour necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase-2 are expressed strongly in hidradenitis suppurativa. *Acta Derm Venereol.* 2013;93(3):301-304.
124. Lima A, Karl I, Giner T, et al. Keratinocytes and neutrophils are important sources of proinflammatory molecules in hidradenitis suppurativa. *British Journal of Dermatology.* 2016;174(3):514-521.
125. van der Zee HH, Laman JD, de Ruyter L, et al. Adalimumab (antitumour necrosis factor- $\alpha$ ) treatment of hidradenitis suppurativa ameliorates skin inflammation: an in situ and ex vivo study. *Br J Dermatol.* 2012;166(2):298-305.
126. Bologna-Molina R, Damián-Matsumura P, Molina-Frechero N. An easy cell counting method for immunohistochemistry that does not use an image analysis program.

*Histopathology*. 2011;59(4):801-803.



## 8. Schriftliche Erklärung

### **Schriftliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

*Vergleich des immunologischen Phänotyps der chronisch-entzündlichen Dermatosen Acne inversa, Sinus pilonidalis und Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens*

in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie des Universitätsklinikums Frankfurt am Main unter Betreuung und Anleitung von PD Dr. Andreas Pinter ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

---

(Ort, Datum)

---

(Unterschrift)