

Aus dem Centrum für Innere Medizin und Dermatologie
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Entwicklung eines Modells für Studium und Manipulation
der Zytostatika-induzierten Alopezie**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Bori Kirilov Handzhiyski (Handjiski)

aus Lovech, Bulgarien

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. P.C. Arck
 2. Prof. Dr. med. C.C. Zouboulis
 3. Prof. Dr. med. T. Luger

Datum der Promotion : 16.02.2007

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind in Teilen veröffentlicht als:

1. **Handjiski B**, Eichmüller S, Hoffmann U, Czarnetzki BM, and Paus R.
Alkaline Phosphatase Activity and Localization during the Murine Hair Cycle.
Br J Dermatol 131: 303-310, 1994
2. Paus R, **Handjiski B**, Eichmüller S and Czarnetzki BM.
Chemotherapy-induced Alopecia in Mice: Induction by Cyclophosphamide,
Inhibition by Cyclosporine A, and Modulation by Dexamethasone.
Am J Pathol 144: 719-734, 1994
3. Slominski A, Paus R, Plonka P, **Handjiski B**, Maurer M, Chakraborty A and
Mihm M.
Pharmacological Disruption of Hair Follicle Pigmentation by Cyclophosphamide as a
Model for Studying the Melanocyte Response to and Recovery from Cytotoxic Drug
Damage *in situ*.
J Invest Dermatol 196: 1203-1211, 1996
4. Muller-Rover S, **Handjiski B**, van der Veen C, Eichmüller S, Foitzik K, McKay IA,
Stenn KS, Paus R.
A Comprehensive Guide for the Accurate Classification of Murine Hair Follicles in
Distinct Hair Cycle Stages.
J Invest Dermatol. 117: 3-15, 2001
5. Hendrix S, **Handjiski B**, Peters EMJ and Paus R.
A Guide to Assessing Damage Response Pathways of the Hair Follicle: Lessons from
Cyclophosphamide-Induced Alopecia in Mice.
J Invest Dermatol 125: 42-51, 2005

Meinen Eltern,
Violetka und Kirill Handjiski

INHALTVERZEICHNIS

INHALTVERZEICHNIS	5
1.EINLEITUNG	7
1.1 ZIA: Hintergrund und Stand der Forschung.....	9
1.2 Grundzüge der Haarfollikelbiologie.....	13
1.2.1 Haarfollikel als Forschungsobjekt.....	13
1.2.2 Der Haarzyklus.....	15
1.2.3 Terminale Differenzierung und Apoptose als Mechanismen der Haarfollikel-Regression; Apoptose unter pathologischen Umständen.....	17
1.2.4 Haarwuchsstörungen als Haarzyklusprobleme: Klinische Relevanz der Anagen-Katagen-Transformation.. ..	23
1.3 Einfluss von Zytostatika und Immunophilinliganden auf Haut und Haarwuchs.....	25
1.3.1 Zytostatika.....	25
1.3.1.1 Pharmakologischer Wirkungsmechanismus der alkylierenden Zytostatika	25
1.3.1.2 Einfluss der Zytostatika auf die Haut und die kutanen Zellpopulationen.....	26
1.3.1.3 Cyclophosphamid.....	27
1.3.1.3.1 Pharmakokinetik und Wirkungsmechanismus von Cyclophosphamid.....	27
1.3.2 Cyclophosphamid.....	27
1.3.3 Cyclophosphamid.....	27
1.3.3.1 Pharmakokinetik und Wirkungsmechanismus von Cyclophosphamid.....	27
1.4 Immunophilinliganden	30
1.4.1 Pharmakologischer Wirkungsmechanismus der Immunophilinliganden	31
1.4.2 Biologische Wirkung auf die Haut und die kutanen Zellpopulationen.....	33
1.4.3 Einfluss der Immunophilinliganden auf den Haarwuchs.....	34
1.4.4 Cyclosporin A	35
1.5 Aktuelle Forschungsmodelle für das <i>in vivo</i> Studium von Haarzyklus und ZIA	36
1.5.1 Das C57BL/6 Mausmodell für die Haarforschung.....	37
2.ZIELSETZUNG UND UNTERSUCHUNGSSTRATEGIE.....	39
3.MATERIAL UND METHODEN	40
3.1 Versuchstiere.....	40
3.2 Haarzyklusmanipulation <i>in vivo</i>	41
3.2.1 Anageninduktion durch Depilation	41
3.2.2 Induktion von Katagen und ZIA durch Cyclophosphamid: Behandlungsschema	41
3.2.3 Katageninhibition und Haarausfallprävention durch CsA: Behandlungsschema	42
3.3 Histologische Techniken	44
3.3.1 Technik der Hautentnahme, Präparation und Fixation	44
3.3.2 Herstellung von Paraffinschnitten	44
3.3.3 Giemsa-Färbung	45
3.4 Immunhistochemische Techniken	46
3.4.1 Technik der Hautentnahme, Präparation und Fixation	46
3.4.2 Herstellung von Kryoschnitten.....	46
3.4.3 Modifizierte APAAP-Technik zur Darstellung der Alkalische-Phosphatase-Aktivität.....	46
3.5 Makroskopische Untersuchung und Photodokumentation	49
3.6 Histomorphometrie.....	50

3.6.1	Technik der Lichtmikroskopie. Technische Ausrüstung	50
3.6.2	Kriterien für die Haarfollikelanalyse.....	50
3.7	Elektronenmikroskopie	57
3.7.1	Technik der Hautentnahme: Präparation, Fixation und Herstellung der Ultradünnschnitte	57
4.	STATISTISCHE ANALYSEN	58
5.	MATERIALIEN, REAGENZIEN UND GERÄTE.....	59
5.1	Pharmaka.....	59
5.2	Reagenzien	60
5.3	Labogeräte	61
5.4	Instrumentarium	62
6.	ERGEBNISSE.....	63
6.1	Cyclophosphamid induziert eine vorzeitige Veränderung des Hautkolorits und eine breitflächige Alopezie... 63	63
6.2	Cyclophosphamid-induzierte Alopezie entsteht infolge von dystrophem Anagen und dystrophem Katagen... 70	70
6.3	Cyclosporin A verzögert den ZIA-Eintritt und reduziert die Haarfollikeldystrophie..... 80	80
6.4	Grundmuster der Primären und Sekundären Erholung..... 84	84
6.5	Erstellung von Leitlinien zur systematischen Klassifikation der Zytostatika-induzierten Haarfollikeldystrophie	90
7.	DISKUSSION	96
8.	ZUSAMMENFASSUNG	105
9.	LITERATURVERZEICHNIS	107
	DANKSAGUNG.....	126
	LEBENS LAUF	128
	LISTE DER VERÖFFENTLICHUNGEN.....	129
	ERKLÄRUNG	132