

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die konfokale Laserscan-Mikroskopie: Merkmale der gesunden und psoriatischen
Haut und Veränderungen der psoriatischen Haut unter einem modifizierten
Goeckerman-Therapieregime

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Rami Archid

aus Damaskus

Datum der Promotion: 12.09.2014

Inhaltsverzeichnis

Abstract.....	5
Abstrakt.....	7
1. Einleitung.....	9
1.1. Aufbau der Haut.....	10
1.1.1. Epidermis.....	10
1.1.2. Dermoepidermale Junktionszone	11
1.1.3. Dermis	12
1.1.4. Subcutis	12
1.2. Durchblutung der Haut	12
1.3. Psoriasis.....	14
1.3.1. Pathogenese der Psoriasis.....	17
1.3.2. Gefäßveränderungen bei Psoriasis.....	19
1.3.3. Bewertung und Charakterisierung der Psoriasis	20
1.4. Zielstellung	21
2. Material und Methoden.....	22
2.1. Probandenkollektiv	22
2.2. Konfokale Laserscan-Mikroskopie.....	23
2.2.1. Geschichte der konfokalen Laserscan-Mikroskopie.....	23
2.2.2. Prinzip der konfokalen Laserscan-Mikroskopie.....	24
2.2.3. Das Scan-Prinzip	26
2.2.4. Konfokale Fluoreszenz- und konfokale Reflexionsmikroskopie	27
2.2.5. Das Infrarot-Laserscan-Mikroskop Vivascope 1500®	28
2.3. Psoriasis Area and Severity Index (PASI)	29
2.4. Studiendesign für den Vergleich der Haut von Psoriasispatienten mit der Haut von gesunden Probanden.....	30
2.5. Studiendesign für die Untersuchung der Dynamik der Hautveränderungen bei Psoriasispatienten unter modifiziertem Goeckerman-Therapieregime.....	31

2.6.	Therapieschema	32
2.7.	Untersuchungsprotokoll für die konfokale Laserscan-Mikroskopie.....	32
2.8.	Analyseprotokoll der Bilder der konfokalen Laserscan-Mikroskopie	33
2.9.	Statistik.....	33
3.	Ergebnisse.....	35
3.1.	Vergleich der gesunden und psoriatischen Haut	35
3.1.1.	Allgemeine Beobachtungen	35
3.1.2.	Blutzirkulation	37
3.1.3.	Struktur der kapillären Schlingen	37
3.1.4.	Kapillar- und Papillardurchmesser	39
3.2.	Untersuchung der Psoriasispatienten vor und nach Therapie	39
3.2.1.	Klinisches Ansprechen.....	39
3.2.1.	Veränderung der Kapillardurchmesser im Laufe der Therapie	39
3.2.2.	Veränderung der Papillendurchmesser im Laufe der Therapie	43
3.2.3.	Beziehung zwischen PASI und Papillen- und Kapillardurchmesser	43
3.2.4.	Zusammenhang zwischen klinischer Besserung und Normalisierung der Kapillar- und Papillenstruktur.....	45
3.2.5.	Zusammenhang zwischen Krankheitsrezidiv und Hautzustand am Ende der Behandlung 46	
4.	Diskussion	49
5.	Referenzen	54
6.	Eidesstattliche Versicherung	61
7.	Anteilsklärung an erfolgten Publikationen.....	62
8.	Lebenslauf	63
9.	Danksagung	64

Abstract

Introduction: Psoriasis is a chronic recurring inflammatory skin disease with a major impact on the quality of life of the afflicted patients. Several findings indicate that the altered capillary loops in the papillary dermis of psoriatic skin play an essential role in the pathogenesis and on the course of the disease. Microvascular changes in psoriasis are caused by an elevated production of pro-angiogenic factors in the basal cells surrounding the enlarged dermal papilla. Biomarkers do not exist for a standardized assessment of psoriasis. Clinical scores, which are commonly used in the praxis and in clinical studies, lack uniformity and their validity is questionable.

Materials and Methods: Confocal laser scanning microscopy (CLSM) was used to study the structures of the capillary loops and dermal papillae in 5 healthy volunteers and 13 psoriasis patients. Additionally, lesional skin of 11 psoriasis patients was investigated using CLSM prior to and after a modified Goeckerman therapy regimen. Clinical response was assessed using the Psoriasis Area and Severity Index (PASI) and self-administered PASI was conducted in regular intervals after the end of the treatment.

Results: The capillary loops and the dermal papilla were significantly enlarged in the psoriatic skin lesions (diameters: $24.3 \pm 2.3 \mu\text{m}$ and $146.4 \pm 28.5 \mu\text{m}$, respectively) in comparison to healthy skin (diameters: 9.5 ± 1.8 and $69.4 \pm 17.1 \mu\text{m}$, respectively). Following a modified Goeckerman therapy regimen, a 30% - 90.4% reduction of PASI, a 17 - 53.7% reduction of the feret capillary diameter and a 13.1 - 44.2% reduction of the feret papillary diameter ($p < 0.0001$) were measured. Capillary loops and dermal papilla were still significantly enlarged after treatment when compared to those in normal skin. Capillary and papillary diameter correlated with each other before treatment ($r = 0.63$, $p = 0.014$) and after treatment ($r = 0.64$, $p = 0.002$). PASI values were to a large extent independent of the capillary and papillary diameter values. Clinical improvement (% reduction of PASI values) correlated more with the normalization of the papillary structure ($r = 0.63$, $p = 0.03$) and correlated less with the normalization of the skin capillaries ($r = 0.29$, $p = 0.25$). The predictability of a psoriasis recurrence within one year after treatment was more reliable when based upon the capillary and papillary diameters after treatment compared with the PASI values after treatment.

Conclusion: CLSM represents a promising non-invasive technique for evaluating structural changes in psoriatic skin in vivo and for monitoring therapeutic response on a cellular level. Subclinical changes in psoriatic skin after therapy represent a legitimate goal for treatment.

Abstrakt

Einleitung: Psoriasis ist eine rezidivierende chronisch-entzündliche Erkrankung der Haut, die mit einer deutlichen Beeinträchtigung der Lebensqualität betroffener Patienten einhergeht. Den typisch veränderten Kapillarschlingen der papillären Dermis in psoriatischer Haut wird eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Unterhaltung psoriatischer Hautläsionen zugeschrieben. Diese Veränderungen der Hautgefäße werden durch die gesteigerte Sekretion proangiogenetischer Faktoren aus den aktivierten Basalzellen, welche die vergrößerten dermalen Papillen in psoriatischer Haut umgeben, hervorgerufen. Es existieren keine Biomarker für ein standardisiertes Monitoring der Psoriasis. Klinische Scores, die breite Anwendung im klinischen Alltag und in klinischen Studien finden, sind sehr uneinheitlich und zeigen große Schwächen bezüglich ihrer Validität.

Material und Methoden: Mithilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie (CLSM) wurden die Strukturen der Kapillarschlingen und der dermalen Papillen bei 5 gesunden Probanden mit denen bei 13 Psoriasispatienten verglichen. Außerdem wurden psoriatische Hautläsionen von 11 Patienten vor und nach einem modifizierten Goeckerman-Therapieschema mithilfe der CLSM untersucht. Der klinische Hautzustand wurde mit Hilfe von Psoriasis Area and Severity Index (PASI) dokumentiert, in regelmäßigen Abständen wurde nach Therapieende der von den Patienten ermittelte self-administered PASI erhoben.

Ergebnisse: Die Hautkapillaren und die dermalen Papillen waren signifikant erweitert in der psoriatischen Haut (Kapillardurchmesser $24.3 \pm 2.3 \mu\text{m}$, Papillendurchmesser $146.46 \pm 28.52 \mu\text{m}$) im Vergleich zur gesunden Haut (Kapillardurchmesser $9.5 \pm 1.8 \mu\text{m}$, Papillendurchmesser $69.4 \pm 17.1 \mu\text{m}$). Im Laufe eines modifizierten Goeckerman-Therapieschemas konnte eine prozentuale PASI Reduktion von 30 bis 90,4 %, eine 17 - 53.7-prozentige Reduktion der Kapillardurchmesser und eine 13.1 - 44.2-prozentige Reduktion der Papillendurchmesser gemessen werden. Kapillardurchmesser und Papillendurchmesser am Ende der Therapie waren signifikant höher als die Kapillardurchmesser und Papillendurchmesser in gesunder Haut. Kapillar- und Papillendurchmesser korrelierten miteinander vor ($r = 0.63$, $p = 0.014$) und nach Therapie ($r = 0.64$, $p = 0.002$). PASI-Werte waren weitgehend unabhängig vom Kapillar- und Papillendurchmesser. Die klinische Besserung

(Reduktion PASI in %) korrelierte am besten mit der prozentualen Reduktion des Papillendurchmessers ($r= 0.63$, $p=0.03$) und weniger mit der prozentualen Reduktion des Kapillardurchmessers ($r= 0.29$, $p=0.25$). Die Vorhersage der Rezidivwahrscheinlichkeit binnen eines Jahres nach Therapieende anhand der Kapillardurchmesser und Papillendurchmesser nach Therapieende war der Vorhersage der Rezidivwahrscheinlichkeit anhand des PASI am Therapieende überlegen.

Schlussfolgerung: CLSM ist eine viel versprechende nicht-invasive Methode für die Evaluation der strukturellen Veränderungen in psoriatischer Haut in vivo und für das Monitoring des Therapieerfolges auf zellulärer Ebene. Subklinische Veränderungen der psoriatischen Haut nach klinischer Abheilung stellen ein legitimes Therapieziel dar.

1. Einleitung

Psoriasis ist eine häufige, durch charakteristisch schuppende rötliche Herde gekennzeichnete entzündliche Erkrankung der Haut, die durch einen chronisch-rezidivierenden Verlauf gekennzeichnet ist. Vieles an der Genese dieser Erkrankung ist noch unklar. Im Wesentlichen handelt es sich um eine von CD4-positiven, insbesondere TH17- und regulatorischen T-Zellen dominierte Entzündungsreaktion, die von epidermaler Hyperproliferation und Differenzierungsstörung sowie von strukturellen Veränderungen der Kapillargefäße in der papillären Dermis begleitet wird^{1,2}. Psoriatische Herde weisen typische Veränderungen der Gefäßarchitektur mit elongierten, erweiterten und gewundenen Kapillarschlingen auf³. Hinter diesen Veränderungen der Gefäßarchitektur steht eine erhöhte Expression einer ganzen Reihe proangiogenetischer Faktoren, v. a. in den basalen Keratinozyten, welche die dermalen Papillen umgeben⁴. Zahlreiche Untersuchungen deuten auf eine wichtige und verlaufsbestimmende Rolle dieser Gefäßveränderungen innerhalb der papillären Dermis bei der Entstehung und Unterhaltung von psoriatischen Hautläsionen sowie bei der Abheilung der psoriatischen Haut hin (Kapitel 1.3.1 und 1.3.2).

In den letzten Jahren führte der Einsatz nicht-invasiver Mikroskopiemodalitäten, insbesondere der konfokalen Laserscan-Mikroskopie und Videokapillaroskopie, die eine Untersuchung der Hautstrukturen in-vivo ohne Biopsieentnahme ermöglichen, zu einem wesentlichen Fortschritt in dem Verständnis der strukturellen Veränderungen der psoriatischen Haut. Es zeigte sich eine große Übereinstimmung der konfokalen Laserscan-Mikroskopie mit der Lichtmikroskopie, was die Erfassung der Hyperkeratose, Parakeratose, des Fehlens bzw. der Rückbildung des Stratum granulosum, der Papillomatosis und der Erweiterung der Blutgefäße bei Psoriasis betrifft⁵. Eine höhere Kapillardichte in den befallenen im Vergleich zu den gesunden Hautarealen konnte mit Hilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie dargestellt werden⁶. Die konfokale Laserscan-Mikroskopie wurde erfolgreich zur Messung der Kapillarweite und des Blutflusses, v. a. in gesunder Haut eingesetzt⁷. In einer weiteren Studie wurde der konfokalen Laserscan-Mikroskopie eine hohe Sensitivität und Spezifität in der Abgrenzung von psoriatischen zu anderen erythemosquamösen Veränderungen zugeschrieben⁸.

Um die beschriebene Rolle der Veränderungen der Hautgefäße und der dermalen Papillen im Verlauf dieser Erkrankung besser zu verstehen, waren die Ziele dieser Studie:

- 1) Mit Hilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie die Struktur der Hautkapillaren und der dermalen Papillen in psoriatischer Haut mit der in gesunder Haut zu vergleichen.
- 2) Die Untersuchung der Veränderungen der Struktur der Hautkapillaren und der dermalen Papillen in psoriatischer Haut unter Therapie nach einem modifizierten Goeckerman-Therapieregime.
- 3) Die Untersuchung eines möglichen Zusammenhangs zwischen dem Zustand der Haut am Ende der Behandlung und dem Auftreten eines Krankheitsrezidivs und das Erforschen des prognostischen Wertes der Kapillarweite und der Papillengröße bei Therapieende.

1.1. Aufbau der Haut

Die Haut lässt sich in drei Hauptschichten einteilen, die Epidermis (Oberhaut), bestehend aus dem Stratum corneum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale, die Dermis (Lederhaut), welche sich in die papilläre und retikuläre Dermis unterteilen lässt, sowie das subkutane Fettgewebe, die Subcutis. Die Haut besitzt Hautanhangsorgane wie Haarfollikel, Talgdrüsen und Schweißdrüsen.

1.1.1. Epidermis

Die Epidermis dient als Schutzschicht und stellt die Abgrenzung des Körpers zur Außenwelt dar. Sie besteht aus einem mehrschichtigen verhornendem Plattenepithel. Die Dicke variiert je nach Region zwischen 50 und 100 µm. Die die Epidermis bildenden Epithelzellen, die sogenannten Keratinozyten, sind von apikal nach basal in den folgenden Schichten angeordnet: Stratum corneum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale.

Das Stratum corneum besitzt an den meisten Hautarealen eine Dicke von lediglich 15 µm, ist aber maßgeblich an der Wasserhomöostase der Haut beteiligt. Der Verlust des Stratum corneum z.B. durch Abtragung mittels der Tape-Stripping-Methode führt zu ungehindertem Wasserverlust über die Haut⁹. Die Untersuchung der Haut durch Transmissions-Elektronenmikroskopie nach subkutaner Injektion eines wasserlöslichen Markers zeigte, dass der Auswärtsfluss des Markers durch die hydrophile interzelluläre Substanz an der Junktionszone zwischen Stratum corneum und Stratum granulosum geblockt wird¹⁰. Hier werden lipidreiche Komponenten und Enzyme aus den lamellären Körpern freigesetzt. Diese füllen den extrazellulären Raum des unteren Stratum corneum aus und verleihen ihm hydrophobe Eigenschaften. Die Korneozyten besitzen einen weitgehend hydrophilen Charakter, was die Grundlage der Ziegel-und-Mörtel-Organisation der Wasserbarriere der Haut darstellt⁹. Durch postsekretorische enzymatische Umwandlung glucosylceramid-reicher Lipide entstehen aus den Lipidkomponenten der lamellären Körper multilamelläre Blätter. Diese lagern sich zwischen die Desmosomen des Stratum corneum und erlauben nur eine begrenzte Durchlässigkeit für Wasser in der Dampfphase, was der insensiblen Prespitation dient und einen größeren Wasserverlust verhindert⁹. Einige Hauterkrankungen wie z.B. Psoriasis, atopische Dermatitis und Epidermolysis bullosa sowie Verbrennungen der Haut gehen mit enormem Wasserverlust über die Haut einher, bedingt durch Störungen der Lipidstruktur im Stratum corneum⁹.

Die Epidermis unterliegt einer ständigen Regeneration durch Zellneubildung aus dem Stratum basale und anschließende Zelldifferenzierung im Stratum spinosum. Die neugebildeten Zellen unterliegen anschließend einer zunehmenden Verhornung während ihrer Wanderung in die apikalen Schichten¹¹.

1.1.2. Dermoepidermale Junktionszone

Die dermoepidermale Junktionszone bildet die Grenzzone zwischen Epidermis und Dermis und verbindet beide miteinander. Entsprechend der hohen mechanischen Beanspruchung dieser Region besitzt die dermoepidermale Junktionszone ein stabiles Haltesystem, bestehend aus der Zellmembran der basalen Keratinozyten mit der

Lamina lucida, der Lamina densa und dem sogenannten sublaminären Raum unterhalb der Lamina densa, welcher Ankerfibrillen enthält.

Die Epidermis ist über Hemidesmosomen, Ankerfilamente und Ankerfibrillen mit der Dermis mechanisch verankert ¹¹.

1.1.3. Dermis

Die Dermis schließt sich direkt an die Epidermis an und besitzt eine Schichtdicke von ca. 1-2 mm. Sie besitzt durch ihren großen Gehalt an vernetzten Kollagenfaserbündeln eine fibroelastische Struktur mit hoher Reißfestigkeit. Insgesamt können ca. 10 Arten von Kollagenfasern, insbesondere Typ I und III, in der Dermis identifiziert werden. Außerdem beherbergt die Dermis das Durchblutungssystem der Haut und dient dadurch auch der Thermoregulation. Die Dermis lässt sich in das direkt unter der Epidermis liegende Stratum papillare mit dermalen Papillen und das darunter liegende festere Stratum reticulare unterteilen ¹¹.

1.1.4. Subcutis

Die Subcutis besteht zum großen Teil aus Fettgewebe. Ihre Hauptaufgabe besteht in der mechanischen Polsterung des Körpers, der Wärmeisolation und dem Speichern von Energie in Form von subkutanem Fett. Ihre Dicke variiert stark nach Habitus und Körperregion ¹¹.

1.2. Durchblutung der Haut

Die Haut gehört zu den bestdurchbluteten Organen. Ihre Durchblutung hat nicht nur eine nutritive Aufgabe. Die Haut ist vielmehr an der Thermoregulation des Körpers beteiligt. Viele Kenntnisse über die Durchblutung der Haut sind Doppler-Flussmessungen sowie lichtmikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen zu verdanken, die in den letzten drei Dekaden durchgeführt wurden, insbesondere im Rahmen der Studien von IM Braverman und A. Yen et al. ¹²⁻¹⁶. Insgesamt ist die intradermale Komponente der Hautdurchblutung in zwei, parallel zu

der Hautoberfläche verlaufenden Gefäßplexus organisiert. Der tiefere Plexus liegt an der Grenze zwischen Cutis und Subcutis und wird von Gefäßen gebildet, welche aus der Muskulatur und dem subkutanen Fett vertikal entspringen. Arteriolen und Venolen aus dem tieferen Plexus versorgen durch laterale Äste die Haarbulbi und die Schweißdrüsen und enden in der papillären Dermis am oberflächlichen Plexus. In der papillären Dermis befindet sich eine besonders dichte Gefäßversorgung ¹⁴. Von einer terminalen Arteriole des oberflächlichen Plexus entspringen die Kapillarschlingen der papillären Dermis. Eine Kapillarschlinge besteht aus einem aufsteigenden Schenkel, einer intrapapillären, haarnadelförmigen Schlinge und einem absteigenden Schenkel, der in eine postkapilläre Venole im oberen horizontalen Plexus endet (Abbildung 1) ¹⁷.

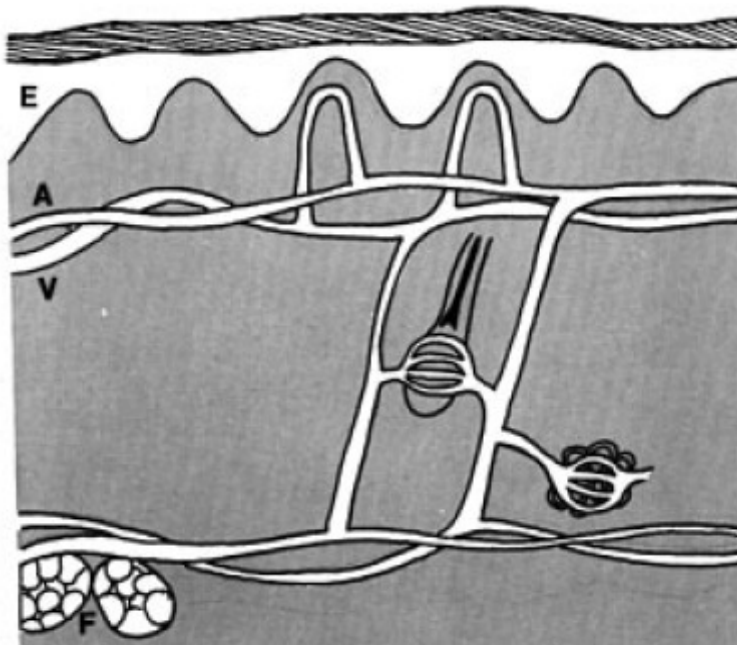


Abbildung 1: Gefäßsystem der Haut (Nach Irwin M. Braverman ¹⁴).

Schematische Darstellung der Mikrozirkulation in der menschlichen Haut. E-Epidermis; A-Arteriole; V-Venole; F-subkutanes Fettgewebe.

Jede dermale Papille wird von einer einzelnen Kapillarschlinge versorgt. Eine Kapillarschlinge kann in einen intra- und einen extrapapillären Teil unterteilt werden. Der aufsteigende Schenkel der Kapillarschlinge hat in seinem gesamten extra- und

intrapapillären Verlauf die Ultrastruktur eines arteriellen Kapillargefäßes mit homogener Basalmembran der Gefäßwand und kontinuierlichem, nicht fenestriertem Endothelschlauch und besitzt einen Außendiameter von 10-12 µm und einen Innendiameter von 4-6 µm ¹⁶. Die Kapillarschlinge behält in der gesunden Haut die Ultrastruktur eines arteriellen Kapillargefäßes in ihrem gesamten intrapapillären Verlauf bei. Erst der extrapapilläre Teil des absteigenden Schenkels weist Eigenschaften eines venösen Kapillargefäßes mit Mehrschichtung der Basalmembran und Fenestrierung des Endothelschlauches auf ¹⁷.

1.3. Psoriasis

Die Psoriasis, auch Schuppenflechte genannt, ist eine durch charakteristische erythemosquamöse Effloreszenzen gekennzeichnete entzündliche Erkrankung der Haut. Die Psoriasis geht mit einer gestörten Barrierefunktion der Haut einher. Zusätzlich wird sie heute als Systemerkrankung aufgefasst und kann sich mit einer Gelenkbeteiligung manifestieren ^{9,18}. Die Prävalenz ist relativ hoch in der weltweiten Bevölkerung und variiert je nach Bevölkerungsgruppe zwischen 0.6% und 4.8% ¹⁹. In Europa wird von einer Prävalenz von ca. 2% und ca. 5 Millionen Erkrankten ausgegangen, wobei die Variationsbreite zwischen den einzelnen europäischen Ländern gering ist (Großbritannien 1,6%, Norwegen 1,4%, Kroatien 1,55 %), mit insgesamt niedrigerer Prävalenz in südlichen Ländern im Vergleich zu nördlichen Ländern ²⁰. Die Erstmanifestation der Erkrankung ist in jedem Alter möglich, mit Erstmanifestationsgipfel während der zweiten und dritten Lebensdekade. Je mehr Familienmitglieder erkrankt sind, umso früher beginnt die Erkrankung ¹⁹.

Es gibt bis heute keine Möglichkeit der Heilung von Psoriasis. Dennoch gibt es viele Möglichkeiten der Behandlung und einer lokalen Abheilung der Hautveränderungen. Die Psoriasis-Therapie beruht hierbei auf der Anwendung von Externa, Phototherapie und systemischer Therapie. Alle drei Therapiesäulen zielen auf eine Drosselung der überschießenden Keratinozytenproliferation und auf eine Entzündungshemmung ab. Die Lokalthherapie besteht aus einer Keratolyse z.B. mit Hilfe von Salicylsäurepräparaten und der anschließenden lokalen Anwendung antientzündlicher und antiproliferativer Substanzen aus den Gruppen der Vitamin-D3-Analoga, Dithranol, Teerpräparaten, Vitamin-A-Analoga, Retinoide und lokalen Steroiden ²¹. Die

Lokaltherapie wird insbesondere bei schwereren Krankheitsverläufen mit einer Ultraviolett-Phototherapie kombiniert, dabei kommt u.a. eine UVB-Therapie in Kombination mit Solebädern oder UVA, meist in Kombination mit dem Wirkungsverstärker Psoralen (PUVA) zum Einsatz ²². Reicht eine Lokaltherapie sowie eine eventuell zusätzliche Phototherapie nicht aus, um die Erkrankung zu kontrollieren, kommt eine systemische Therapie zur Anwendung. Hierfür stehen Substanzen wie Methotrexate, systemische Calcineurin-Inhibitoren, Retinoide und Fumarsäureester zur Verfügung ²³. In den letzten 10-20 Jahren haben neue Erkenntnisse in der Pathogenese zur Entwicklung neuer innovativer Therapieansätze geführt, die gezielt an den pathogenetischen Abläufen ansetzen. Sogenannte Biologicals (großmolekulare Proteine, Fusionsproteine und Antikörper), aber auch niedermolekulare Substanzen (Makrolide, nichthyperkalzämische Calcitriole) finden immer mehr Anwendung im klinischen Alltag ²⁴⁻²⁶. Neben dem Kostenaspekt sind der zeitliche Aufwand und die vielseitigen unerwünschten Wirkungen der vorhandenen Psoriasis-Therapien limitierende Faktoren für die Langzeitbehandlung dieser Erkrankung. So führt die Langzeitanwendung lokaler Steroide zu Hautatrophie und seltener zu einer Suppression der hypothalamischen Achse, die aktuelle Datenlage empfiehlt daher eine Begrenzung der Therapie auf 2 bis 4 Wochen ²⁷. Der lokale Einsatz von Vitamin-D Analoga kann zu Hautirritationen führen, seltener auch zu einer Hyperkalzämie ²⁸. Der Einsatz von Teerpräparaten verfärbt die Haut, die Haare und die Kleidung. Die Phototherapie beschleunigt bei langer Anwendung die Alterung der Haut, steigert das Risiko für Hautmalignome und kann zu sonnenbrandähnlichen Irritationen der Haut führen. Stomatitis, pulmonale und hepatische Toxizität sowie Knochenmarksuppression sind mögliche Nebenwirkungen einer Behandlung mit Methotrexat. Eine Teratogenität, Cheilitis sowie Haarausfall sind wesentliche Nebenwirkungen einer Retinoidtherapie. Systemische Calcineurin-Inhibitoren wie z.B. Cyclosporin sind nephrotoxisch und können außerdem arterielle Hypertonie hervorrufen. Bei der Therapie mittels Biologicals besteht die Gefahr der Aktivierung latenter Infektionen z.B. einer latenten Tuberkulose. Außerdem kann ein erhöhtes Risiko für bestimmte Neoplasien nicht sicher ausgeschlossen werden ²⁹.

Eine effektive Therapie eines Krankheitsschubs führt zum Abheilen der Hautläsionen ohne Hinterlassen von Narben. Das Fehlen von Narben trotz der großen Anzahl von neutrophilen Granulozyten in psoriatischen Hautläsionen ist einzigartig bei dieser

Erkrankung. Andere Hautkrankheiten, die durch neutrophile Granulozyten vermittelt werden, wie z.B. das Pyoderma gangrenosum, hinterlassen schwere Vernarbungen³⁰. Die Therapie kann aber nicht verhindern, dass nach einem freien Intervall weitere Psoriasiserschübe auftreten können. Nach Beendigung der Therapie neigen psoriatische Hautveränderungen zu Rezidiven, häufig an denselben Arealen, welche zuvor betroffen waren. So scheint es, als ob subklinische strukturelle Veränderungen der abgeheilten Hautareale diese markieren würden. Dieses Krankheitsgedächtnis zu verstehen und zu behandeln könnte zum Sprung von symptomatischer zu kurativer Behandlung verhelfen. Der chronisch rezidivierende Verlauf und die damit verbundene lange Therapiedauer führen oft zu einer starken psychischen Belastung und zunehmender sozialer Isolation der Patienten³¹. Die Einschränkungen der Lebensqualität bei Psoriasispatienten sind vergleichbar mit denen von Patienten mit schweren Systemerkrankungen wie zum Beispiel Arthritis oder Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen oder Myokardinfarkt³².

Psoriasis lässt sich in 3 verschiedene Gruppen einteilen. Die Psoriasis vulgaris, die Psoriasis pustulosa und die Psoriasis arthropathica. Die Krankheit führt bei 60-80% der Patienten zu Juckreiz und das Erscheinungsbild variiert in Form und Ausmaß der Effloreszenzen erheblich. Insgesamt lassen sich klinisch unterscheiden:

- Plaque-Typ-Psoriasis: Dieser Typ ist typisch für die chronisch stabile Psoriasis und stellt das häufigste Erscheinungsbild der Erkrankung dar.
- Psoriasis guttata (eruptive Psoriasis): Ausprägung vorwiegend am Rumpf und an den proximalen Extremitäten, häufig infektassoziiert.
- Psoriasis vom seborrhoischen Typ: Diese Variante wird auch „oberflächliche Psoriasis“ genannt und zeigt eine geringe Infiltration der Haut und eine weniger ausgeprägte Schuppenbildung.
- Psoriasis inversa: Mit Befall von Intertrigostellen, Genitoanalregion, Hand- und Fußflächen.
- Psoriasis der Kopfhaut.
- Psoriasis inversa
- Erythrodermische Psoriasis: Beteiligung von > 90% der Körperoberfläche

1.3.1. Pathogenese der Psoriasis

Die Genese der Psoriasis ist multifaktoriell. Sowohl Umweltfaktoren als auch genetische Faktoren sind an der Entstehung dieser Erkrankung beteiligt. Trotz neuer Erkenntnisse in den letzten Dekaden ist die Pathogenese der Psoriasis bis heute nicht komplett geklärt.

In den letzten Jahrzehnten wurde immer wieder diskutiert, ob es sich bei Psoriasis primär um eine Krankheit der Keratinozyten mit sekundärer Immunantwort handelt oder ob sie eine primäre Erkrankung des Immunsystems ist. Bis Anfang der 80'er Jahre überwog die Annahme, es handle sich um eine Erkrankung der Keratinozyten. Der erfolgreiche therapeutische Einsatz von Cyclosporin als pathomechanismusorientierte Behandlung stellte diese Annahme in Frage ³³.

Zwillingsstudien zeigen eine Konkordanzrate von 35–72% bei eineiigen Zwillingen und von 12–35% bei zweieiigen Zwillingen. Etwa 70% aller Patienten, die bereits in der Kindheit an Psoriasis erkranken, haben eine positive Familienanamnese ³⁴. Mithilfe von Genomstudien (genome-wide association studies) konnten 20 mutmaßliche Genloci, die an den Vererbungswegen der Erkrankung beteiligt sind, identifiziert werden ³⁵.

Einer der bestbekanntesten und meistreplizierten Psoriasis-assoziierten Loci ist der PSORS1 Locus. Hier sind sowohl das *HLA-C*06* Gen, das maßgeblich am Immunsystems beteiligt ist, als auch das *CDSN* Gen beherbergt, welches für die Expression eines Proteins der differenzierten Keratinozyten verantwortlich ist ³⁶.

Außerdem spielt die Alteration der Gefäßarchitektur der Haut eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Unterhaltung der Hautveränderungen. Das histologische Bild der Haut variiert stark abhängig vom Entstehungs- und Entwicklungsstadium einer Psoriasisläsion. Mikrovaskuläre Veränderungen der Haut stellen eine der am frühesten beobachteten histologischen Veränderungen während der Entwicklung von psoriatischen Plaques dar und sind in allen Phasen dieser Entwicklung zu beobachten ³⁷. In den frühen Phasen der Psoriasis sind die Kapillarschlingen erweitert und weisen eine erhöhte Permeabilität auf, begleitet von einem milden Ödem der Dermis. Die für die Psoriasis typische Windung der Gefäße um die eigene Achse, die zu der

unregelmäßigen buschigen Schlingenmorphologie führt, folgt in den späteren Phasen einer psoriatischen Hautläsion ³⁷. Insgesamt sind erste psoriasistypische Veränderungen der Kapillarschlingen nachweisbar, bevor Hautveränderungen zu sehen sind ³⁸⁻⁴¹. Die Veränderung der Schlingenmorphologie wird bei der Psoriasis von ultrastrukturellen Veränderungen der Gefäßkapillaren begleitet. Während die Kapillarschlingen in der gesunden Haut zum größten Teil aus arteriellen Kapillaren bestehen, wandeln sie sich in psoriatischer Haut in venöse Kapillaren um. Eine klinische Besserung des Hautzustandes unter Therapie geht eng mit einer Normalisierung der Gefäßarchitektur der Haut einher ^{3,17}. Wird die psoriatische Haut erfolgreich behandelt, nehmen die Schlingen ihre arterielle Struktur wieder an ^{3,17}. Eine antiangiogenetische Wirkung konnte bei einer Vielzahl der gängigen Antipsoriatika, wie z.B. Infliximab ⁴², Vitamin-D3-Analoga ⁴³, Retinoide ⁴⁴, Ciclosporin A ⁴⁵ und Razaxone ⁴⁶ nachgewiesen werden. Die genannten Antipsoriatika besitzen zusätzlich zur antiangiogenetischen Wirkung auch antiinflammatorische und antiproliferative Wirkkomponenten ⁴. Die Behandlung mit dem gefäßselektiven Gelblicht-Laser wie dem "Pulsed dye laser" führt zu einer über Monate anhaltenden Besserung, bis zur kompletten Heilung von psoriatischen Plaques ⁴⁷⁻⁵⁰. Die therapeutische Wirkung von "Pulsed dye laser" wird allein auf dessen Wirkung auf die oberflächlichen Hautkapillaren und die Verkleinerung dieser in psoriatischer Haut zurückgeführt ^{48,51}. Eine Reduktion der Endotheloberfläche pro Einheit Hautoberfläche wurde unter der Laserbehandlung innerhalb der dermalen Papillen beobachtet, die Endotheloberfläche tiefer gelegener Gefäße der retikulären Dermis blieb unverändert ⁵². Histologische Psoriasisstudien, die während der Behandlung der Erkrankung durchgeführt wurden, ergaben, dass Gefäßveränderungen, die über die klinische Abheilung der Hautläsionen hinaus persistierten, ein Rezidiv an derselben Hautstelle begünstigen ⁵³. Immunhistochemische Untersuchungen zeigen eine fast vierfache Erhöhung der Endotheloberfläche bei Psoriasis und betonen hiermit die wichtige pathogenetische Rolle der Gefäßveränderungen bei dieser Erkrankung ⁵⁴. Außerdem haben mehrere Studien nachgewiesen, dass eine ganze Reihe proangiogenetischer Faktoren bei Psoriatikern hochreguliert sind ⁴. Die psoriasistypischen Veränderungen der dermalen Kapillarschlinge werden in Kapitel 1.3.2 im Detail beschrieben. Unter Phototherapie mit Psoralen und UVA (PUVA) ist eine Verkürzung der Kapillarschlinge und eine Normalisierung der Ultrastruktur der Hautkapillaren zu arteriellen Kapillaren das am frühesten beobachtete ultrastrukturelle Ereignis, das mit der klinischen

Besserung einhergeht. Diese Reversion der kapillären Struktur wird 3-7 Tage vor der Normalisierung des abnorm erhöhten Teilungsindex (labeling index) der basalen Keratinozyten sichtbar.

Keratinozyten sind der Hauptbildungsort wichtiger proangiogenetischer Faktoren, die an den psoriatischen Gefäßveränderungen maßgeblich beteiligt sind, wie z.B. des vascular endothelial growth factors (VEGF), endothelial cell stimulating angiogenesis factors (ESAF), platelet-derived endothelial cell growth factors/thymidine phosphorylase (PDECGE/TP), tumor necrosis factors (TNF- α), transforming growth factors (TGF- α) und platelet derived epidermal growth factors (PDGF) ⁴. Eine epidermale Hyperplasie mit gestörter Differenzierung der Keratinozyten gehört zu dem histologischen Erscheinungsbild von Psoriasis. Die proliferative Zellpopulation der Keratinozyten ist in psoriatischer Haut bis auf das Zweifache gesteigert, der Zellzyklus ist um das Achtfache kürzer (36 vs. 311 Stunden) und die Produktion von Keratinozyten bis zu 28 mal größer im Vergleich zu normaler Haut ⁵⁵.

Die oben aufgeführten Erkenntnisse lassen ein komplexes Zusammenspiel der Keratinozyten mit den Endothelzellen und dem Immunsystem bei der Entstehung der Psoriasis vermuten.

Die ausgeprägte Entzündungsreaktion führt zu einer Verdickung der Epidermis. Histologisch finden sich lang ausgezogene Reteleisten, die den hyperplastisch veränderten Papillarkörpern aufsitzen. Weiterhin kommt es zur Ausbildung einer Para- und Hyperkeratose mit Verlust des Stratum granulosum. Die Keratinozyten unterliegen einer erhöhten mitotischen Aktivität. Die gesteigerte Zellneubildungsrate führt zu Akanthose und einer verstärkten Schuppung an der Hautoberfläche.

1.3.2. Gefäßveränderungen bei Psoriasis

In den erythemasquamösen psoriatischen Plaques kommt es zu einer erheblich gesteigerten Durchblutung der Haut. Laser-Doppler Untersuchungen zeigten eine Steigerung des Blutflusses um das 9 bis 13-fache im Vergleich zu gesunder Haut ⁵⁶. Die gesteigerte Durchblutung der Haut ist begleitet von erheblichen strukturellen Veränderungen der Gefäßarchitektur, die für Psoriasis pathognomisch sind.

Gefäßveränderungen treten in jeder Phase der Erkrankung auf und sind nachweisbar, schon bevor klinische Veränderungen der Haut zu sehen sind ³⁷⁻⁴¹. Auch in psoriatischer Haut erhält jede dermale Papille eine einzelne Kapillarschlinge aus dem oberflächlichen Horizontalplexus der Haut. Die aufsteigenden und absteigenden Schenkel verlaufen nicht mehr vertikal, sondern drehen sich in ihrem intrapapillären Verlauf ein oder zweimal umeinander. Zwischen dem auf- und absteigenden Schenkel existieren keine zusätzlichen Anastomosen, die Kurve der Kapillarschlinge verliert ihre Haarnadelform und bildet vielmehr einen verschlungenen Übergang beider Schenkel ineinander. So entstehen die typischen, elongierten, erweiterten und gewundenen Kapillarschlingen ³. Außerdem zeigte die elektronenmikroskopische Untersuchung eine venöse Umwandlung der Schlingenkapillaren. Während der aufsteigende Schenkel und der komplette intrapapilläre Anteil der Kapillarschlinge in der gesunden Haut aus arteriellen Kapillaren mit homogener Basalmembran besteht, nehmen die Kapillaren bei Psoriasis in unterschiedlichem Ausmaß venösen Charakter an. So sind venöse Kapillaren mit mehrschichtiger Basalmembran bereits auf halber Strecke des aufsteigenden Schenkels, am Beginn der Schlingenspitze, nach der Schlingenspitze oder spätestens im Bereich der oberen Hälfte des absteigenden Schenkels anzutreffen ³. Die venösen Kapillaren weisen außerdem eine Fenestrierung des Endothelschlauches des Gefäßes auf, was zu einer erhöhten Permeabilität für Albumin und weiterer Plasmaproteine führt. Die Migration von inflammatorischen Zellen wird begünstigt und spielt somit eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Unterhaltung psoriatischer Hautläsionen ³. Venöse Kapillaren sind außer in den dermalen Papillen psoriatischer Haut auch an den Haarbulbi und in dem umgebenden Bindegewebe anzutreffen, was für ihre Rolle bei gesteigertem Zellumsatz spricht ³.

1.3.3. Bewertung und Charakterisierung der Psoriasis

Da bisher keine Biomarker zur Verlaufskontrolle der Psoriasis zur Verfügung stehen, sind klinische Messungen sowohl für Studienzwecke als auch für den klinischen Alltag unverzichtbar. Die existierenden Scores für die Messung des Schweregrades und des klinischen Outcomes von Psoriasis sind recht vielfältig und uneinheitlich ⁵⁷. In einem systematischen Review der klinischen Psoriasis-Studien bis zum Jahr 2000 konnten 44 verschiedenen klinische Psoriasis-Scores identifiziert werden ⁵⁸. Dies erschwert die

Vergleichbarkeit der verschiedenen klinischen Studien und die Evidenz-basierte Entscheidungsfindung. Der Psoriasis Area and Severity Index (PASI) ist der am häufigsten verwendete Maßstab in klinischen Studien und erlaubt so einen Vergleich verschiedener Studienergebnisse.

1.4. Zielstellung

Ausgehend vom aktuellen Wissensstand und aufgrund der oben ausgeführten Kenntnisse war das Ziel dieser Arbeit, die strukturellen Veränderungen der psoriatischen Haut besser mit Hilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie zu untersuchen, zu quantifizieren und mit der gesunden Hautstruktur zu vergleichen. Außerdem sollte der Zusammenhang zwischen klinischer Besserung und der Normalisierung der Struktur der Hautkapillaren und der dermalen Papillen erforscht werden. Auch der Einfluss nicht komplett abgeheilte Veränderungen der dermalen Kapillaren und Papillen am Ende der Behandlung auf das rezidivfreie Intervall sollte aufgeklärt werden. Aufgrund der bekannten Schwächen der angewandten klinischen Scores sollte der Stellenwert der Kapillar- und Papillengröße in der Verlaufskontrolle der Psoriasis untersucht und mit dem Stellenwert vom PASI verglichen werden.

2. Material und Methoden

2.1. Probandenkollektiv

Für den Vergleich des histologischen Bildes der psoriatischen mit dem der gesunden Haut mit Hilfe des konfokalen Laserscan-Mikroskops wurden 13 Patienten mit seit mindestens 5 Jahren bekannter Psoriasis Vulgaris rekrutiert. Die Patienten wurden vor Beginn der Therapie eines aktuellen akuten Krankheitsschubes an der Tagesklinik der Klinik für Dermatologie und Venerologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, in die Studie eingeschlossen. Fünf der Studienpatienten waren weiblich (Altersmedian 51 Jahre, Mittelwert 46.6 Jahre), acht waren männlich (Altersmedian 60 Jahre, Mittelwert 55.7 Jahre). Als Referenzgruppe dienten 5 gesunde Probanden. Dabei handelte es sich um eine weibliche Probandin und vier männliche Probanden, (Altersmedian 28 Jahre, Mittelwert 29 Jahre). Alle Probanden der Psoriasisgruppe und der gesunden Vergleichsgruppe wiesen Hauttyp I-III auf ⁵⁹.

Für die Untersuchungen der histologischen Veränderungen der Psoriasishaut unter externer Therapie im Rahmen des zweiten Teils dieser Studie konnten 11 der 13 Patienten rekrutiert werden (fünf weiblich, sechs männlich, Altersmedian 51 Jahre, Mittelwert 47,8 Jahre).

Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren ein Mindestalter von 18 Jahren, über den Inhalt und das Wesen der Studie wurde die Patienten und die gesunden Probanden aufgeklärt. Ausgeschlossen wurden Personen, die nicht eigenverantwortlich handeln können. Weitere Ausschlusskriterien waren Schwangerschaft, Stillzeit sowie Patienten mit anderen Hauterkrankungen und schweren Systemerkrankungen sowie Patienten mit Krankheiten, die die Durchblutung der Haut beeinträchtigen können, wie z.B. arterielle Hypertonie. Ein zusätzliches Ausschlusskriterium für die Psoriasisgruppe waren Patienten, die in den 2 Monaten vor dem Untersuchungszeitpunkt eine systemische Therapie erhalten hatten, eine lokale Psoriasis Therapie bis 2 Wochen vor Studienbeginn war erlaubt. Der häusliche Einsatz externer Präparate war gestattet.

Der Durchführung der Untersuchungen wurde seitens der Ethikkommission der Charité, Universitätsmedizin Berlin zugestimmt. Alle Untersuchungen wurden unter Beachtung

der Ethischen Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen und der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

2.2. Konfokale Laserscan-Mikroskopie

Die konfokale Laserscan-Mikroskopie (CLSM) stellt eine relativ neue nicht invasive Methode zur in vivo Beurteilung der Hautstruktur dar. CLSM wurde in den letzten Jahren in der dermatologischen Diagnostik von benignen und malignen dermatologischen Krankheiten breit eingesetzt^{60,61}.

Die konfokale Laserscan-Mikroskopie ermöglicht eine nicht invasive Untersuchung der Hauthistologie ohne Biopsieentnahme. Bei diesem bildgebenden Verfahren ist die Durchführung einer sogenannten optischen Biopsie möglich. Außerdem stellt die konfokale Laserscan-Mikroskopie durch eine Echtzeit-Abbildung der Hautstrukturen eine besonders effektive Methode dar, um dynamische Prozesse, wie z.B. die Blutzirkulation der Haut, zu visualisieren.

2.2.1. Geschichte der konfokalen Laserscan-Mikroskopie

Das Grundprinzip der konfokalen Mikroskopie wurde Mitte der 1950er Jahre von Marvin Minsky entwickelt und im Jahr 1961 patentiert, um neuronale Verbände im nicht fixierten Hirngewebe zu visualisieren und biologische Prozesse im lebenden Gewebesystem darzustellen. Mangels erforderlicher intensiver Lichtquellen und leistungsfähiger Datenbearbeitungssysteme ergaben die Versuche von Minsky einen mäßigen Erfolg^{62,63}. Im Laufe der kontinuierlichen Entwicklung im Bereich der konfokalen Mikroskopie entwickelten P. Davidovits und M. D. Egger das erste mechanisch scannende konfokale Mikroskop und lieferten Ende der 1970er Jahre die ersten Zellabbildungen mit dieser Technik⁶⁴. Erste kommerziell verfügbare konfokale Mikroskope erschienen im Jahr 1987. 1995 entwickelten Rajadhyaksha et al. einen Prototyp für ein Video-konfokales Laserscan-Mikroskop und stellten mit dieser Technik erstmals die Hautstruktur in vivo dar⁶⁵. Der Einsatz von Laserquellen im Infrarotbereich erlaubte eine stärkere Beleuchtungsleistung und eine tiefere Penetration in die Hautschichten. Dies ermöglichte eine genaue Darstellung der zellulären Bestandteile der Haut in hoher Auflösung und mit guter Korrelation zur

konventionellen Histologie ⁶⁵. Die Technik wurde durch Rajadhyaksha et al. weiterentwickelt, von einer Optimierung der Auflösung, des Bildkontrasts und der Eindringtiefe in die Haut wurde im Jahr 1999 berichtet ⁶⁶.

2.2.2. Prinzip der konfokalen Laserscan-Mikroskopie

Grundvoraussetzung der konfokalen Mikroskopie ist das selektive Sammeln von Licht, welches von optisch fokussierten Punkten im Gewebe reflektiert wird, um den fokussierten Punkt anschließend darzustellen.

Um konfokale Bilder zu erzeugen, wird ein Laserstrahl im nahen Infrarotbereich sehr genau auf einen spezifischen Hautpunkt durch eine kleine Lochblende, die zwischen der Laserquelle und dem Untersuchungsobjekt eingeschaltet ist, fokussiert. Der von dem Untersuchungsobjekt reflektierte oder gestreute Laserstrahl wandert zurück durch eine vor dem Detektor platzierte Lochblende mit einer winzigen Öffnung und wird vom Detektor erfasst. Die Lochblende vor dem Untersuchungsobjekt, der Untersuchungspunkt auf dem Untersuchungsobjekt und die Lochblende vor dem Photodetektor liegen auf optisch konjugierten Brennebenen, sie stehen konfokal zueinander. Diese Konfiguration erlaubt das Sammeln von nur aus dem fokussierten Punkt reflektiertem Licht (Abbildung 2). Durch die Anordnung von zwei Lochblenden in einer Ebene werden optische Informationen, die nicht aus der Fokalebene kommen, zweifach unterdrückt und somit ausgeblendet. Somit werden Unschärfen in dem entstehenden Bild unterdrückt.

Die Eindringtiefe des Laserstrahls ins Gewebe (z.B. Haut) wird von Faktoren wie z.B. Wellenlänge der Lichtquelle, Laserleistung, Reflexionseigenschaften der Hautschichten und insbesondere durch die lichtstreuenden Eigenschaften der Dermis beeinflusst. Mit steigender Wellenlänge des Lasers nimmt auch die Eindringtiefe in die Haut zu, da die Laserstreuung durch die Hautstrukturen abnimmt. Mit steigender Wellenlänge nimmt jedoch die Auflösung ab ⁶⁷.

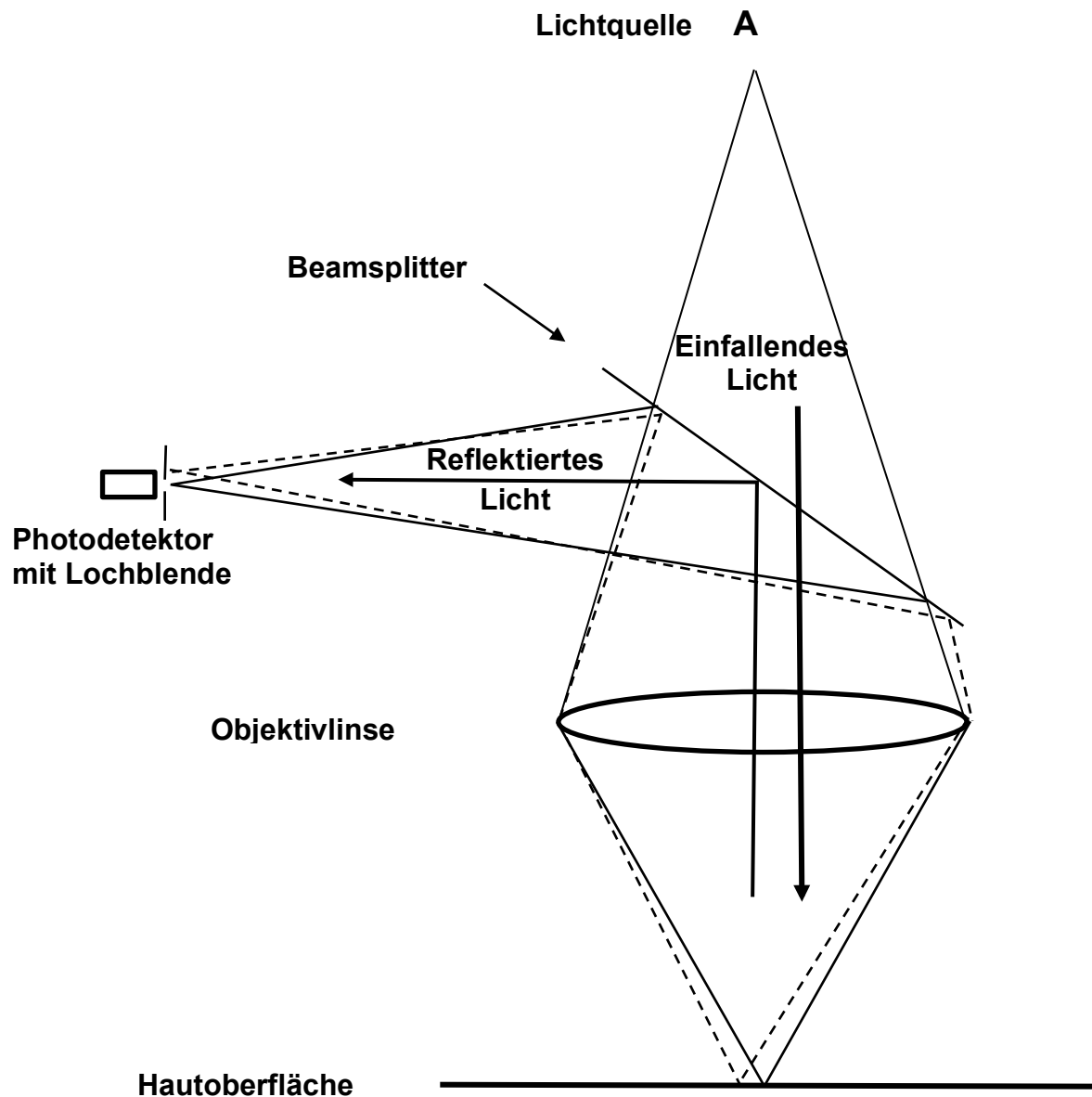


Abbildung 2: Grundprinzip der konfokalen Mikroskopie (nach KS Nehal⁶⁷).

Eine punktuelle Lichtquelle (A) wird auf die Hautoberfläche gerichtet, ein punktueller Detektor sammelt Licht nur von dem beleuchteten Punkt (durchgezogene Linien). Licht von anderen Punkten (unterbrochene Linien) wird von der Lochblende abgewiesen. Auf diese Weise ist die konfokale Untersuchung lediglich für ein kleinstes punktuelles Volumen innerhalb der Probe empfindlich.

2.2.3. Das Scan-Prinzip

Im Gegensatz zur konventionellen Mikroskopie kann mit dieser Methode zu einem bestimmten Zeitpunkt nur ein einzelner Bildpunkt erfasst werden. Um ein Bild von einer Ebene des Untersuchungsobjekts zu erfassen, muss die zu untersuchende Ebene Punkt für Punkt erfasst werden und aus den so gewonnenen Daten ein Bild rekonstruiert werden. Dies kann zum einen durch Strahlabtasten (beam scanning) geschehen (Abbildung 3).

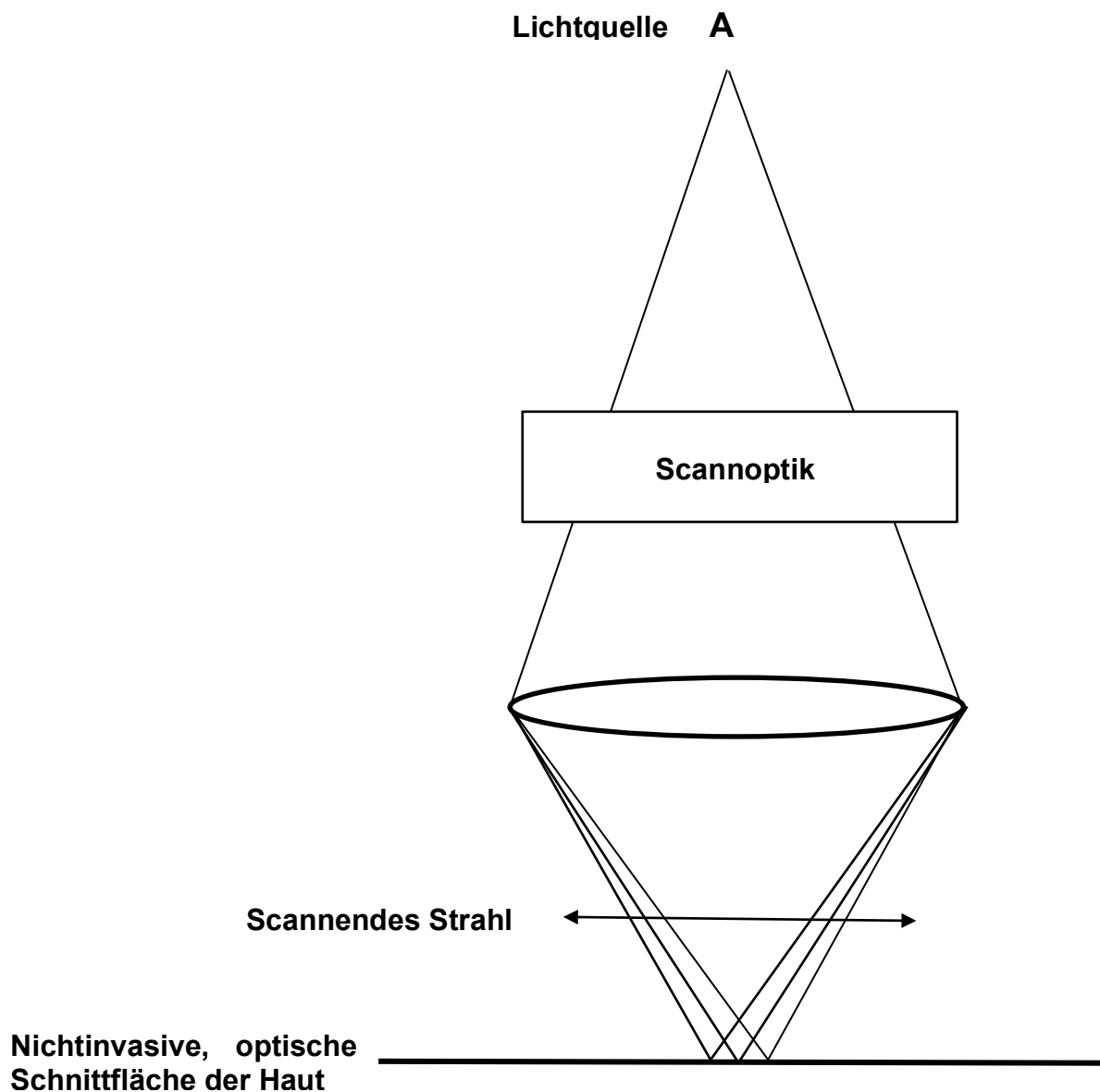


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Strahlabtastens (nach KS Nehal ⁶⁷). Die einzelnen gemessenen Punkte scannen eine parallel zur Hautoberfläche liegende optische Schnittfläche ⁶⁷.

Das Objekt bleibt dabei fixiert und das Beleuchtungslicht wird auf den zu scannenden Punkt gelenkt. Zum anderen kann dies durch sog. sample scanning geschehen, wenn das Untersuchungsobjekt bei fixiertem Strahl entlang der x-, y- und z-Achse verschoben wird ⁶⁸. Mit diesen Scan-Verfahren entstehen Bilder aus einer dünnen optischen Schicht innerhalb des Gewebes, die Bildebene der konfokalen Mikroskopie ist im Gegensatz zu den aus der klassischen Histologie gewöhnlichen sagittalen Abschnitten parallel zur Hautoberfläche. Es entstehen *en face* Aufnahmen der Hautschichten.

2.2.4. Konfokale Fluoreszenz- und konfokale Reflexionsmikroskopie

Grundsätzlich werden zwei verschiedene Prinzipien der konfokalen Mikroskopie unterschieden. Die konfokale Fluoreszenzmikroskopie basiert auf der Anregung applizierter exogener Fluorophore durch eine entsprechende Laserlichtquelle mit passender Wellenlänge. Das dabei entstehende Fluoreszenzsignal wird detektiert und abgebildet. Dabei hängt die Bildqualität von den applizierten Fluorophoren, von deren Diffusion, Löslichkeit und Clearance sowie vom pH-Wert des Untersuchungsmilieus ab ⁶⁹.

Reflektierende Laserscan-Mikroskope hingegen (z.B. Vivascope 1500[®]) nutzen die vorhandenen unterschiedlichen Brechungsindices der Mikrostrukturen für Licht als natürliches Kontrastmittel und benötigen somit keine zusätzliche Gabe von externen Farbstoffen oder Fluoreszinen ⁷⁰. Der Brechungsindex ist eine einheitslose physikalische Eigenschaft eines Mediums und kennzeichnet die Brechung des Lichts beim Übergang in ein transparentes Medium. Brechungsindex für ein bestimmtes Medium lässt sich aus dem Verhältnis zwischen Phasengeschwindigkeit des Lichtes c_0 im Vakuum und seiner Phasengeschwindigkeit c im Medium errechnen ⁷¹. Durch die natürliche Schwankung der Brechungsindices der Hautorganellen entsteht die Kontrastierung bei der konfokalen Reflexions-Laserscan-Mikroskopie. Der Brechungsindex von Wasser beträgt $\sim 1,3$. Substanzen mit relativ niedrigen

Brechungsindices wie z.B. Zytoplasma (Brechungsindex $\sim 1,4$) werden mit wenig Kontrast dargestellt. Substanzen mit hohem Brechungsindex wie z.B. Keratin (Brechungsindex $\sim 1,7$) kommen hingegen mit starkem Kontrast zur Darstellung^{65,66}.

2.2.5. Das Infrarot-Laserscan-Mikroskop Vivascope 1500®



Abbildung 4: Vivascope 1500® (Lucid, Rochester, NY, USA).

Für die Untersuchungen in dieser Studie wurde das konfokale Laserscan-Mikroskop "Vivascope 1500®" (Lucid, Rochester, NY, USA) eingesetzt (Abbildung 4). Das Vivascope arbeitet mit der Technik der konfokalen Reflexionsmikroskopie mit einem Laser im nahen Infrarotbereich mit einer Wellenlänge von 830 nm. Das Vivascope 1500® nutzt das Sample-scanning-Prinzip, d.h. bei fixiertem Laserstrahl wird die Haut unterhalb des Halterings gegen den Laserstrahl verschoben. Ein Hautareal wird entlang der x- und y-Achse abgetastet, somit entsteht ein 500 μm x 500 μm großes Bild der Untersuchungsebene. Entlang der z-Achse können unterschiedlich tiefe

Hautschichten bis in die obersten Schichten des Stratum reticulare abgebildet werden. Tabelle 1 zeigt einige technische Daten zum Vivascope 1500[®] 72.

Optische Auflösung	Horizontal: <1,25 µm im Zentrum des Bildfelds; vertikal: <5,0 µm im Zentrum des Bildfelds
Eindringtiefe	Oberste Schichten des Stratum reticulare
Ansichtsbereich Einzelbild	500 µm x 500 µm
x- & y-Achsenbewegung	+/- 4,0 mm
Bildauflösung	1000 x 1000 Pixel
Bildgebende Wellenlänge	830 nm

Tabelle 1: technische Daten Vivascope 1500[®] 72.

2.3. Psoriasis Area and Severity Index (PASI)

Der Psoriasis Area and Severity Index (PASI) wurde im Jahr 1978 von Fredriksson und Pettersson entwickelt, um den therapeutischen Effekt von Retinoiden bei Psoriasispatienten zu monitoren⁷³. Der PASI beinhaltet sowohl die Dokumentation der von der Krankheit betroffenen Fläche der Haut als auch des Schweregrades der Hautläsionen. Die betroffene Fläche der befallenen Haut wird getrennt für Kopf, Stamm, obere und untere Extremitäten bestimmt. Dabei wird eine numerische Skala verwendet (0 = keine Beteiligung, 1 = < 10%, 2 = 10 bis < 30%, 3 = 30 bis < 50%, 4 = 50 bis < 70%, 5 = 70 bis < 90% und 6 = 90-100%). Für die Dokumentation des Schweregrades der Hautläsionen werden Erythem-, Infiltrations- und Schuppungsgrad mit einer Skala von 0 bis 4 bewertet. Der Kopf (K = Kopf) wird mit 0,1, der Stamm (R = Rumpf;) mit 0,3, die obere Extremität (A = Arme) mit 0,2 und die untere Extremität (B = Beine) mit 0,4 gewichtet. Der PASI kann Werte von 0 bis 72 annehmen. Die Formel zur Berechnung des PASI wird unter Tabelle 2. angegeben⁷⁴. PASI findet eine breite klinische Anwendung und wird sehr oft zur Dokumentation des Krankheitsschweregrades und des Grades der Besserung in Studien angewandt. Der Stellenwert und die Validität von PASI zur Anwendung in der Klinik und in wissenschaftlichen Studien wird zunehmend in Frage gestellt. Der PASI zeigt eine

ausgeprägt schiefe Verteilung, was für methodische Einschränkungen in der Evaluierung von Studienergebnissen sorgt ⁷⁵. Eine Therapieindikation wird oft bei PASI größer als 12 gestellt, in diesem Bereich zeigt ein Simulationsmodell eine Diskrepanz von 30% zwischen zwei Untersuchern ⁷⁵. Der PASI weist außerdem gewisse Schwächen darin auf, insbesondere bei milder Krankheitsausprägung einen Therapieerfolg widerzuspiegeln ⁵⁷.

Berechnung der Indices für die einzelnen Körperabschnitte	Kopf (K) = $0,1 \times (E + I + S) \times A$
	Arme (A) = $0,2 \times (E + I + S) \times A$
	Rumpf (R) = $0,3 \times (E + I + S) \times A$
	Beine (B) = $0,4 \times (E + I + S) \times A$
PASI= K + A + R + B	

Tabelle 2: Berechnungsformel für PASI (modifiziert nach Altmeyer ⁷⁴): Der PASI errechnet sich aus der Summe der Indices für die einzelnen Körperabschnitte. Die Indices lassen sich aus Wichtungskoeffizient, Erythemgrad (E), Indurationsgrad (I) und Schuppungsgrad (S), welche Werte von 0-4 annehmen können, sowie aus dem Anteil der befallenen Hautpartie (A), welcher auf einer numerischen Skala von 0-6 angegeben wird, errechnen.

2.4. Studiendesign für den Vergleich der Haut von Psoriasispatienten mit der Haut von gesunden Probanden

Für den Vergleich der Struktur der dermalen Kapillarschlingen und der dermalen Papillen der Psoriasisplaques mit denen in der Haut gesunder Probanden wurde ein repräsentativer psoriatischer Plaque bei jedem der 13 Psoriasispatienten am Unterarm u./o. am Unterschenkel mit dem konfokalen Laserscan-Mikroskop **Vivascope 1500[®]** untersucht. Die Untersuchung fand am Aufnahmetag in der Tagesklinik statt. Eine wichtige Voraussetzung für mikroskopische Untersuchungen mit dem konfokalen Laserscan-Mikroskop sind schuppenfreie Hautoberflächen aufgrund des hohen Brechungsindex von Keratin. Vor der Untersuchung wurden die psoriatischen

Hautareale mit keratinolytischen Externa (Salicylate) behandelt, die Untersuchung wurde vor Beginn der antipsoriatischen Therapie durchgeführt.

Entsprechende Hautareale am Unterarm u./o. am Unterschenkel der hautgesunden Vergleichsgruppe wurden untersucht. Die Untersuchungen beider Gruppen wurden unter standardisierten Bedingungen bei Raumtemperatur von 20°C–24°C am liegenden Patienten und nach einer körperlichen Ruhezeit von mindestens 5 Minuten durchgeführt. Die konfokalen Bilder wurden entsprechend dem unten aufgeführten Untersuchungsprotokoll aufgenommen (Kapitel 2.7) und entsprechend dem unten aufgeführten Bilder-Analyseprotokoll ausgewertet (Kapitel 2.8).

2.5. Studiendesign für die Untersuchung der Dynamik der Hautveränderungen bei Psoriasispatienten unter modifiziertem Goeckerman-Therapieregime

Für die die Untersuchung der Dynamik der Hautveränderung bei Psoriasispatienten im Verlauf der Therapie nach einem modifizierten Goeckerman-Therapieregime (Kapitel 2.6) wurden die Patienten der Psoriasisgruppe - zusätzlich zur Untersuchung am Aufnahmetag - am Entlassungstag nach Beendigung der Behandlung in der Tagesklinik erneut mit dem konfokalen Laserscan-Mikroskop untersucht. Nur 11 der 13 initial in die Studie eingeschlossenen und untersuchten Patienten haben an der zweiten Untersuchung teilgenommen und konnten so in diesen Teil der Studie eingeschlossen werden. Bei der abschließenden Untersuchung wurde die Untersuchung mit dem **Vivascope 1500®** am selben psoriatischen Plaque am Unterarm u./o. am Unterschenkel wie bei der Aufnahmeuntersuchung durchgeführt. Mittels Photodokumentation war die korrekte Lokalisierung der untersuchten Plaques ermöglicht. Die Untersuchungen wurden auch in diesem Teil der Studie unter standardisierten Bedingungen, bei Raumtemperatur von 20°C–24°C am liegenden Patienten und nach einer körperlichen Ruhezeit von mindestens 5 Minuten durchgeführt. Die Bilder wurden entsprechend dem unten aufgeführten Untersuchungsprotokoll aufgenommen (Kapitel 2.7) und entsprechend dem unten aufgeführten Bilder-Analyseprotokoll ausgewertet (Kapitel 2.8). Die klinische Veränderung des Hautzustandes im Laufe der Therapie wurde durch Erhebung des Psoriasis Area und Severity Index PASI zu Therapiebeginn sowie zu Therapieende dokumentiert.

2.6. Therapieschema

Die 11 Patienten des zweiten Teils der Studie wurden für 3-8 Wochen an der Tagesklinik der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin nach einem modifizierten Goeckerman-Therapie regime behandelt. Die Therapie wurde ambulant auf einer fünf Tage pro Woche Basis (Mo.-Fr.) durchgeführt. Die Therapie bestand in der täglichen UVB-Phototherapie in Kombination mit 5-10% Solebädern und der externen Applikation von Dithranolvaseline in aufsteigender Dosierung (0,25%-4% Maximalkonzentration für 1-2 Stunden) in Wechsel mit Steinkohlenteer (Liquor Carbonis detergens 5-8%) mit oder ohne Applikation von bis zu 5%iger Salizylsäure, bis zu 8% Rizinusöl. Initial wurde die Dithranolvaseline mit einer 0,125-0,25%igen Konzentration auf die Haut aufgetragen. Wenn dies mit einer minimalen Irritation der Haut und ohne weitere unerwünschte Wirkungen toleriert wurde, wurde die Konzentration schrittweise erhöht. Salizylsäure wurde bei deutlich schuppenden Läsionen zur Keratolyse eingesetzt. Die tägliche UVB-Phototherapie erfolgte vor dem Einsatz von Kohlenteer und Dithranolpräparaten. Abhängig vom Hauttyp wurde mit einer Bestrahlungsintensität von 20-40 mJ/cm² angefangen, die Bestrahlungsintensität wurde ebenfalls je nach Tolerierbarkeit und bei fehlenden Hautirritationen täglich schrittweise gesteigert. Die Maximal-UVB-Strahlendosis betrug bei den einzelnen Patienten 500-1500 mJ/cm².

2.7. Untersuchungsprotokoll für die konfokale Laserscan-Mikroskopie

Nach Inbetriebnahme des Gerätes wurde der Haltering (3M, Neuss, Deutschland GmbH) nach Auftragen von Ultraschallgel auf das zu untersuchende Hautareal per doppelseitigem Klebepflaster fixiert, auf die Innenfläche des Halterings wurde erneut Ultraschallgel aufgetragen, das Vivascope in diesen eingerastet und per Rechner der Laser gestartet. Die Ebene der Oberfläche des Stratum corneum wurde als Nullpunkt definiert.

Einzelne CLSM-Bilder (500 × 500 µm) wurden im Zentrum der zu untersuchenden Hautregion in Schritten von 5µm Tiefe, beginnend am Stratum corneum bis in die Tiefe der papillären Dermis, aufgenommen. Die Laserintensität wurde vom

Steuerungscomputer aus individuell justiert, so dass Aufnahmen mit dem bestmöglichen Kontrast entstanden. Auf Ebene der papillären Dermis, wo die wichtigen Strukturen der Kapillarschlingen der dermalen Papillen zu sehen waren, wurden mindestens 5 Einzelbilder durch horizontales Scannen der Haut entlang der x- und y-Achse aufgenommen.

2.8. Analyseprotokoll der Bilder der konfokalen Laserscan-Mikroskopie

Hauptziel dieser Studie war es, die Struktur der Kapillarschlingen und der dermalen Papillen der gesunden Haut mit der der psoriatischen Haut zu vergleichen, sowie die Veränderung derer Abnormalitäten in der psoriatischen Haut im Laufe der Therapie zu untersuchen. Es erfolgte eine direkt morphologische Auswertung der Bilder der verschiedenen Hautschichten und -strukturen. Strukturelle Unterschiede der Kapillarschlingen der verschiedenen Probandengruppen wurden durch Verfolgung der Kapillarschlingen in Abständen von 5 µm entlang der z-Achse in die Tiefe der Haut ermittelt. Alle identifizierten Kapillaren der Kapillarschlingen sowie alle identifizierten Papillae in den aufgenommenen CLSM-Bildern wurden in ihrem Maximaldurchmesser gemessen. Für die genaue Durchführung der Messungen wurde die Software AutoCAD 2010® (Autodesk Inc., San Rafael, CA) benutzt. Mit dieser Software ist nach Kalibrierung der Bilder eine genaue Identifizierung der zu messenden Strukturen und eine exakte Platzierung der Messpunkte dank der Zoomfunktion möglich. Die in das Vivascope integrierte Messfunktion erlaubt keine genaue Platzierung der Messpunkte. Gemessen wurde der Außendiameter der Kapillaren. Hierfür wurde ein dünner Saum, der das Gefäßlumen umschließt und die Gefäßwand repräsentiert, in die Messung eingeschlossen. Ähnlich wurde für die Messung der Papillendurchmesser ein aus Basalzellen und Melanozyten bestehender Randsaum in die Messung eingeschlossen.

2.9. Statistik

Eine Untersuchung der Normalverteilung wurde durchgeführt. Sowohl Kapillar- und Papillendurchmesser der Psoriasispatienten, als auch die PASI-Werte zeigten eine schiefe Verteilung. Deshalb wurde eine logarithmische Transformation der genannten Werte durchgeführt. Daraus wurden logarithmische Mittelwerte und

Standardabweichungen errechnet, zur Vereinfachung der Darstellung wurden diese Werte an gegebenen Stellen delogarithmiert. Die Kapillar- und Papillendurchmesser der Gesunden und der Psoriasispatienten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt.

Einstichproben-t-Tests wurden für den Vergleich der Kapillar- und Papillendurchmesser bei Psoriasispatienten mit denen von gesunden Probanden durchgeführt. Für den Vergleich der Größen der Kapillar- und Papillendurchmesser vor und nach Behandlung wurden Einstichproben t-Tests der Differenz der Parameter (vor Behandlung minus nach Behandlung) gegen Null durchgeführt. Für den Vergleich der Größen der Kapillar- und Papillendurchmesser nach Behandlung mit denen bei gesunden Probanden wurden Einstichproben t-Tests der Parameter nach Behandlung gegenüber den bei gesunden Probanden gemessenen Parametern durchgeführt.

Zwischen den log-transformierten PASI-Werten, Papillen- und Kapillardurchmessern vor und nach der Therapie wurden Korrelationsanalysen durchgeführt. Es wurde eine Rang-Korrelationsanalyse zwischen den prozentualen Reduktionen von PASI, Papillen- und Kapillardurchmessern im Laufe der Behandlung vorgenommen, um eine log-Transformation der prozentualen Reduktionen zu vermeiden.

Der Einfluss von Kapillar- und Papillendurchmesser nach Therapie, PASI nach Behandlungsende sowie der prozentualen PASI-Reduktion im Laufe der Therapie auf das Auftreten eines Krankheitsrezidivs wurde mittels logistischer Regressionsanalyse ermittelt.

3. Ergebnisse

3.1. Vergleich der gesunden und psoriatischen Haut

3.1.1. Allgemeine Beobachtungen

3.1.1.1. Beobachtungen in gesunder Haut

Die Untersuchungen der normalen Haut mit der konfokalen Laserscan-Mikroskopie erlaubten eine gute Darstellung der Hautschichten beginnend vom Stratum corneum bis in die obersten Schichten der dermalen Papillen. Das Stratum corneum besteht aus 10-20 Schichten kernloser Korneozyten mit polygonalen Zellgrenzen und erscheint unter dem Vivascope 1500 als eine homogene weiße Oberfläche (Abbildung 5a). Dies ist bedingt durch den hohen Brechungsindex von Keratin. Unmittelbar unterhalb des Stratum corneum erscheint das relativ dünne, aus 3-5 Zellschichten bestehende Stratum granulosum mit klar identifizierbaren Zellgrenzen und einer Zellgröße von 25-35 μm (Abbildung 5a). Das Stratum spinosum erscheint unter dem Vivascope wabenförmig, was auf seine monomorphen, polygonalen Zellen mit einer Zellgröße von 15–25 μm (Abbildung 5b) zurückzuführen ist.

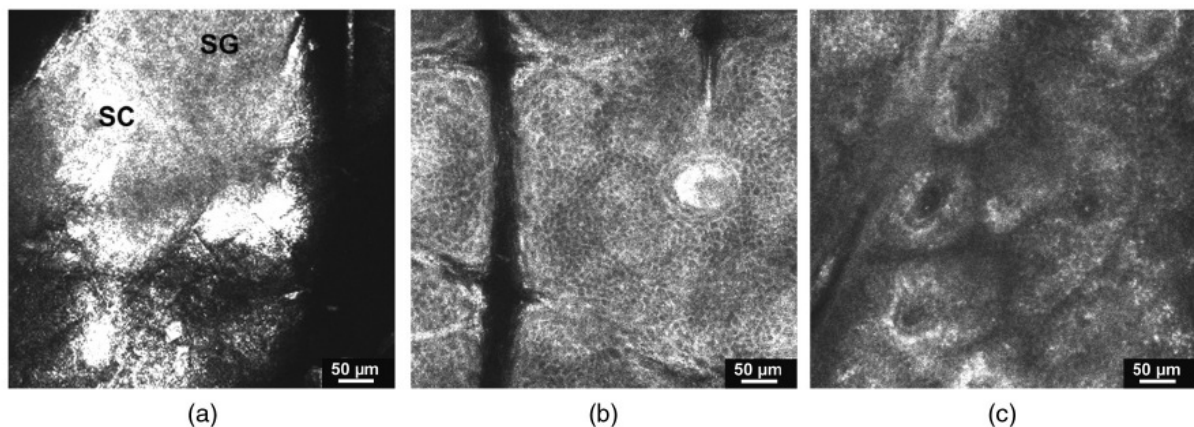


Abbildung 5 (a-c): Konfokales Bild eines horizontalen (en face) optischen Schnittes der Epidermis beim gesunden Probanden ($500 \times 500 \mu\text{m}$). Zu sehen sind das Stratum corneum (SC) und das Stratum granulosum (SG) (a); Das Stratum spinosum zeigt ein typisches wabenartiges Aussehen (b); die in die Dermis hineinragenden dermalen Papillae erscheinen als dunkle Areale, umgeben von hell erscheinenden Keratinozyten und Melanozyten (c). (Archid et al. ⁷⁶)

Die dermalen Papillen ragen in die Epidermis hinein und erscheinen als dunkle Areale, umgeben von hell erscheinenden Keratinozyten und Melanozyten. Die starke Kontrastierung von Keratinozyten und Melanozyten ist bedingt durch ihren Gehalt an Keratin und Melanin, beide Substanzen besitzen einen hohen Brechungsindex (Abbildung 5 c).

3.1.1.2. Beobachtungen in psoriatischer Haut

Bei Untersuchung der befallenen Areale in der Psoriasisgruppe mit dem Vivascope konnte eine Zunahme der Dicke des Stratum corneum als Zeichen der Hyperkeratose beobachtet werden. Das Stratum granulosum war nur schwierig zu identifizieren bzw. hat völlig gefehlt, die Epidermis war jedoch insgesamt verdickt, mit Zunahme des Anteils des Stratum spinosum als Zeichen der Akanthose. Die dermalen Papillae erschienen erweitert und elongiert, was mit der Papillomatose vereinbar ist.

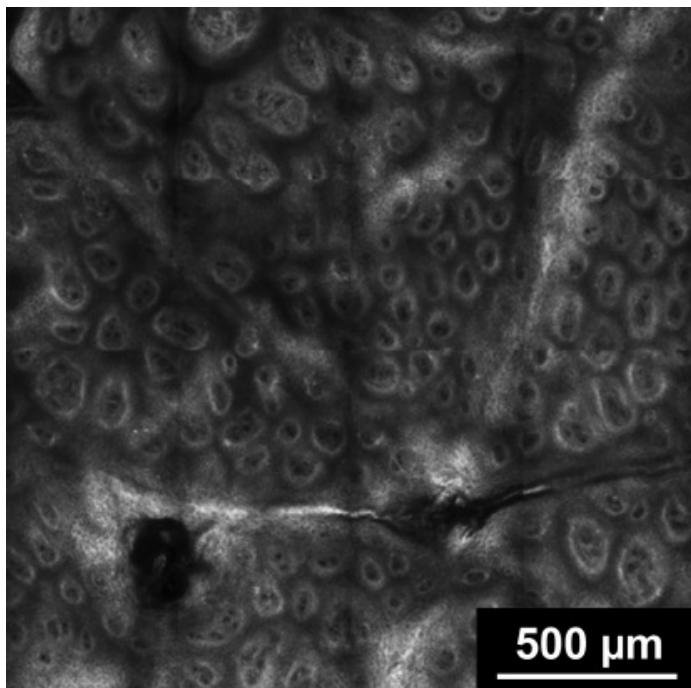


Abbildung 6: Konfokaler Bildscan eines horizontalen (en face) optischen Schnittes der dermo-epidermalen Junctionszone der befallenen Haut beim Psoriasispatienten (2 × 2 mm), zu erkennen sind die erweiterten dermalen Papillae als Zeichen der Papillomatose. (Archid et al. ⁷⁶)

3.1.2. Blutzirkulation

Mittels Echtzeit-in-vivo-Beobachtung der Hautstruktur konnten wir mit Hilfe des Vivascops die Blutzirkulation der Haut beobachten. Während in der gesunden Haut innerhalb der kapillären Schlingen der papillären Dermis eine homogene Blutzirkulation zu sehen war, war der Blutfluss in der psoriatischen Haut deutlich gesteigert. Prominente blutgefüllte Kapillaren waren zu sehen.

3.1.3. Struktur der kapillären Schlingen

3.1.3.1. Struktur der kapillären Schlingen der gesunden Haut

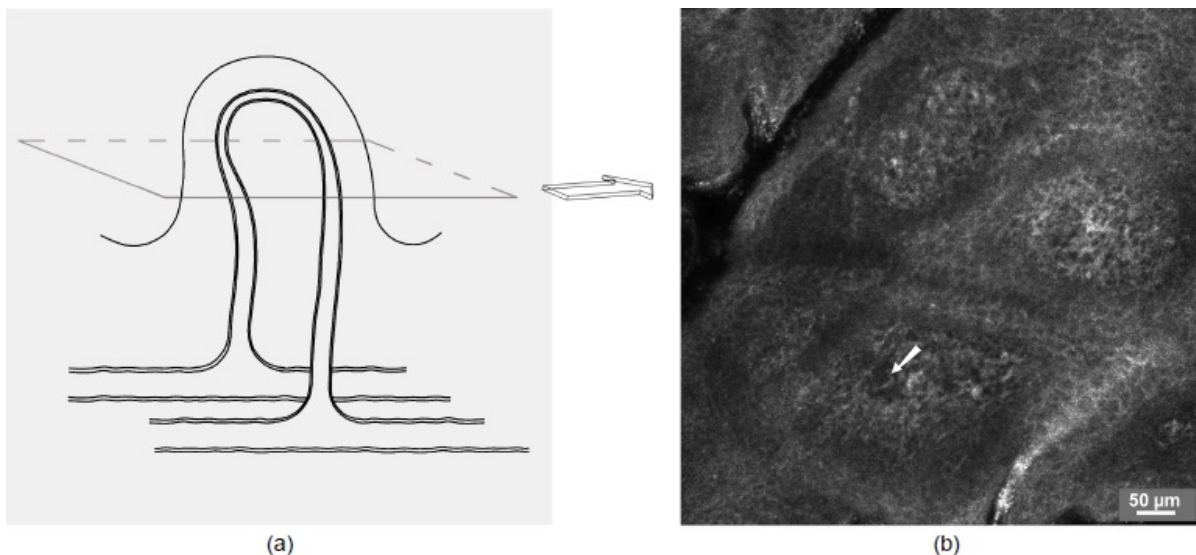


Abbildung 7: Kapillarschlinge der gesunden Haut. (a) Schematische Darstellung der normalen dermalen Papille, versorgt mit einer einzelnen Kapillarschlinge mit Haarnadelstruktur. (b) Konfokales Bild eines horizontalen (en face) optischen Schnittes ($500 \times 500 \mu\text{m}$) einer gesunden dermalen Papille mit zwei Schnitten der Kapillarschlinge, entsprechend dem aufsteigenden und absteigenden Schenkel der Kapillarschlinge (Pfeil). (Archid et al. ⁷⁶)

In der gesunden Haut wird jede dermale Papille mit einer einzelnen Kapillarschlinge versorgt, welche aus einem aufsteigenden und einem absteigenden Schenkel besteht. Die Kapillarschlinge der gesunden Haut zeigte eine einfache Haarnadelstruktur. Wenn die optische Schnittebene des Vivascops die dermalen Papillae horizontal schneidet,

sieht man zwei Schnittflächen einer Kapillarschlinge, entsprechend dem aufsteigenden und dem absteigenden Gefäßschenkel. Im oberen Bereich der dermalen Papillae, am Übergang des aufsteigenden in den absteigenden Schenkel sieht man eine einzelne Schnittfläche des Gefäßlumens innerhalb einer dermalen Papille. Diese entspricht einem Schnitt durch die Spitze der Kapillarschlinge (Abbildung 7).

3.1.3.2. Struktur der kapillären Schlingen der psoriatischen Haut

In den befallenen Hautarealen bei Psoriasispatienten war die einfache Haarnadelstruktur nicht mehr zu sehen. Zu sehen waren vielmehr erweiterte, gewundene und verschlungene Kapillaren innerhalb der erweiterten dermalen Papillen. Konfokale Bilder der oberen Dermis zeigen mehrere Schnitte der Kapillarschlinge innerhalb einer dermalen Papille. Dies entspricht dem verschlungenen Aussehen der Kapillarschlinge bei Psoriasis (Abbildung 8).

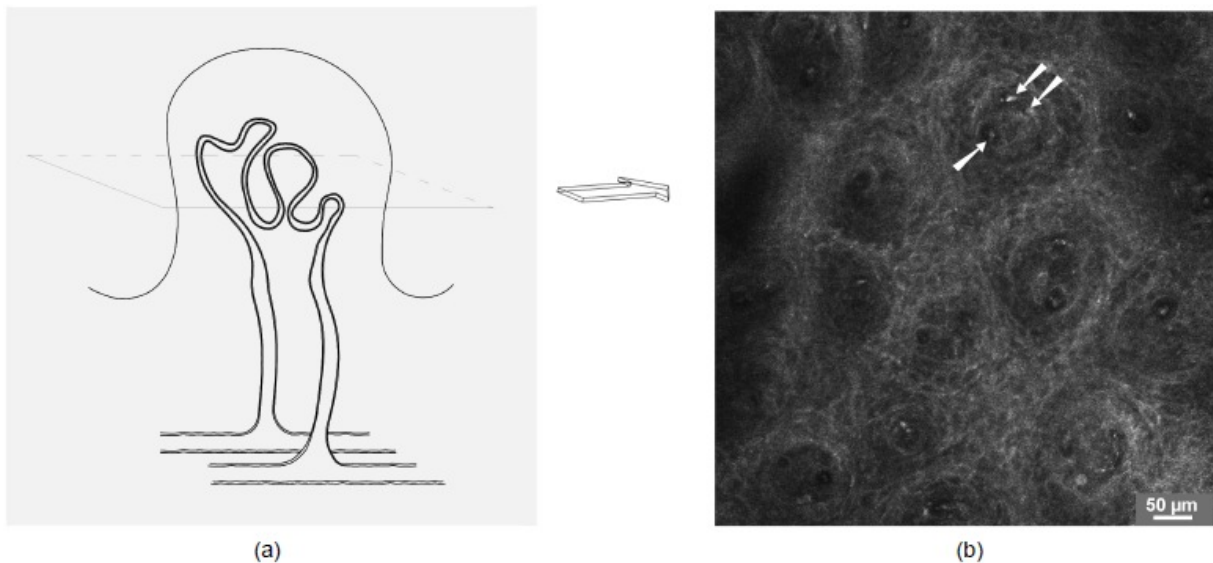


Abbildung 8: (a) Kapillarschlinge der psoriatischen Haut. (a) Schematische Darstellung der dermalen Papille in Psoriasis, versorgt mit einer einzelnen, elongierten und gewundenen Kapillarschlinge. (b) Konfokales Bild eines horizontalen (en face) optischen Schnittes ($500 \times 500 \mu\text{m}$) einer psoriatischen Läsion mit mehreren Schnittflächen der Kapillarschlinge innerhalb eine Papille (Pfeile). (Archid et al. ⁷⁶).

3.1.4. Kapillar- und Papillardurchmesser

Die Außendurchmesser aller klar identifizierbaren Kapillargefäße und dermalen Papillae der gesunden und der psoriatischen Haut wurden gemessen. In der gesunden Haut betrug der Mittelwert des Außendurchmessers der Kapillarschlinge $9.53 \pm 1.8 \mu\text{m}$ und der Mittelwert des Außendurchmessers der dermalen Papillen $69.48 \pm 17.16 \mu\text{m}$. Die Hautkapillaren und die dermalen Papillen waren signifikant erweitert in der psoriatischen Haut im Vergleich zur gesunden Haut ($P < 0.001$), der Mittelwert des Außendurchmessers der Kapillarschlinge betrug hier $24.39 \pm 2.34 \mu\text{m}$ und der Mittelwert des Außendurchmessers der dermalen Papillae $146.46 \pm 28.52 \mu\text{m}$.

3.2. Untersuchung der Psoriasispatienten vor und nach Therapie

3.2.1. Klinisches Ansprechen

Die 11 Patienten, die an dem zweiten Teil der Studie teilgenommen haben, wurden 19-55 Tage lang (Mittelwert 30 Tage, median 26 Tage) an der Tagesklinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin behandelt. Bei den einzelnen Patienten kam es zu einer unterschiedlich ausgeprägten klinischen Besserung, gemessen an der prozentualen PASI-Reduktion im Laufe der Behandlung (siehe Tabelle 3). Die bei Entlassung ermittelten PASI-Werte betragen 2 bis 12, es konnte eine prozentuale PASI Reduktion von 30% bis 90,4%, gemessen in Bezug zum Ausgangs-PASI erreicht werden. Insgesamt führte die Behandlung zu einer signifikanten PASI-Reduktion ($p < 0.0001$) im Bezug zum Ausgangswert. Der PASI-Mittelwert betrug vor der Behandlung $19,3 \pm 8,2$, nach der Behandlung betrug dieser $6,3 \pm 2,8$. Eine komplette Remission wurde bei keinem der Patienten erreicht.

3.2.1. Veränderung der Kapillardurchmesser im Laufe der Therapie

Mithilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie wurden für die einzelnen Patienten die Kapillardurchmesser vor und nach der Therapie gemessen. Aufgrund der schiefen Verteilung der gemessenen Werte wurde eine logarithmische Transformation

durchgeführt und die logarithmischen Mittelwerte der Kapillardurchmesser für die einzelnen Patienten errechnet. Zur besseren Übersicht werden in Tabelle 3 die delogarithmierten Werte in μm angegeben, in Abbildung 9 werden Mittelwerte und Standardabweichungen der Kapillar- und Papillendurchmesser der einzelnen Patienten dargestellt. Insgesamt ging die klinische Abheilung der psoriatischen Hautveränderungen bei allen in unserer Studie behandelten Patienten mit einer Reduktion der Kapillardurchmesser um 17 - 53.7 %, gemessen im Bezug zum Kapillardurchmesser vor der Therapie, einher.

Pat	PASI post	PASI pre	%red PASI	K* pre	K* post	%red K	P* pre	P* post	%red P
01	21	2	90.4	27.2	16.0	41.0	156.3	72.3	53.7
02	10	7	30	25.8	19.4	24.8	193.9	142.3	26.5
03	14	5	64.2	26.4	20.2	23.5	132.1	106.1	19.7
04	19.1	6.2	67.5	25.1	17.2	31.3	126.2	104	17.5
05	19	12	36.8	26.2	18.8	27.9	192.7	165.4	14.1
06	15	4	73.3	19.4	16.8	13.1	114.3	86.3	24.4
07	16	6	62.5	26.9	20.9	22.4	150.7	107.4	28.6
08	10	4	60	24.2	17.7	26.7	118.1	98	17
09	40	10	75	24	13.4	44.2	136.2	92.7	31.9
10	21	6	71.4	22	16.1	26.6	131.2	92.2	29.7
11	25	8	68	22.4	14.2	36.3	117.5	68.6	41.5

Tabelle 3: Dargestellt werden für die einzelnen Patienten die ermittelten PASI-Werte, die Kapillardurchmesser, die Papillardurchmesser vor und nach der Therapie. Außerdem werden jeweils die prozentualen Reduktionen der genannten Parameter im Laufe der Therapie, gemessen im Bezug zum Ausgangswert, angegeben. (%red PASI: prozentuale Reduktion des PASI im Laufe der Therapie, K: Kapillardurchmesser in μm , %red K: prozentuale Reduktion des Kapillardurchmessers im Laufe der Therapie, P: Papillendurchmesser in μm , %red P: prozentuale Reduktion des Papillendurchmessers im Laufe der Therapie, pre: vor Therapie, post: nach Therapie). * Bei den angegebenen Werten der Kapillar- und der Pappillendurchmesser handelt es sich um delogarithmierte Werte aus dem jeweils errechneten logarithmischen Mittelwert.

Der Mittelwert der Kapillardurchmesser war nach der Therapie mit $17,3 \pm 2,3 \mu\text{m}$ signifikant reduziert im Vergleich zum Kapillardurchmesser vor der Therapie ($24,5 \pm 2,4 \mu\text{m}$, $p < 0,0001$). Der Mittelwert der Kapillardurchmesser am Ende der Therapie war signifikant höher als die Kapillardurchmesser der gesunden Haut ($9,5 \pm 1,8 \mu\text{m}$, $p < 0,0001$).

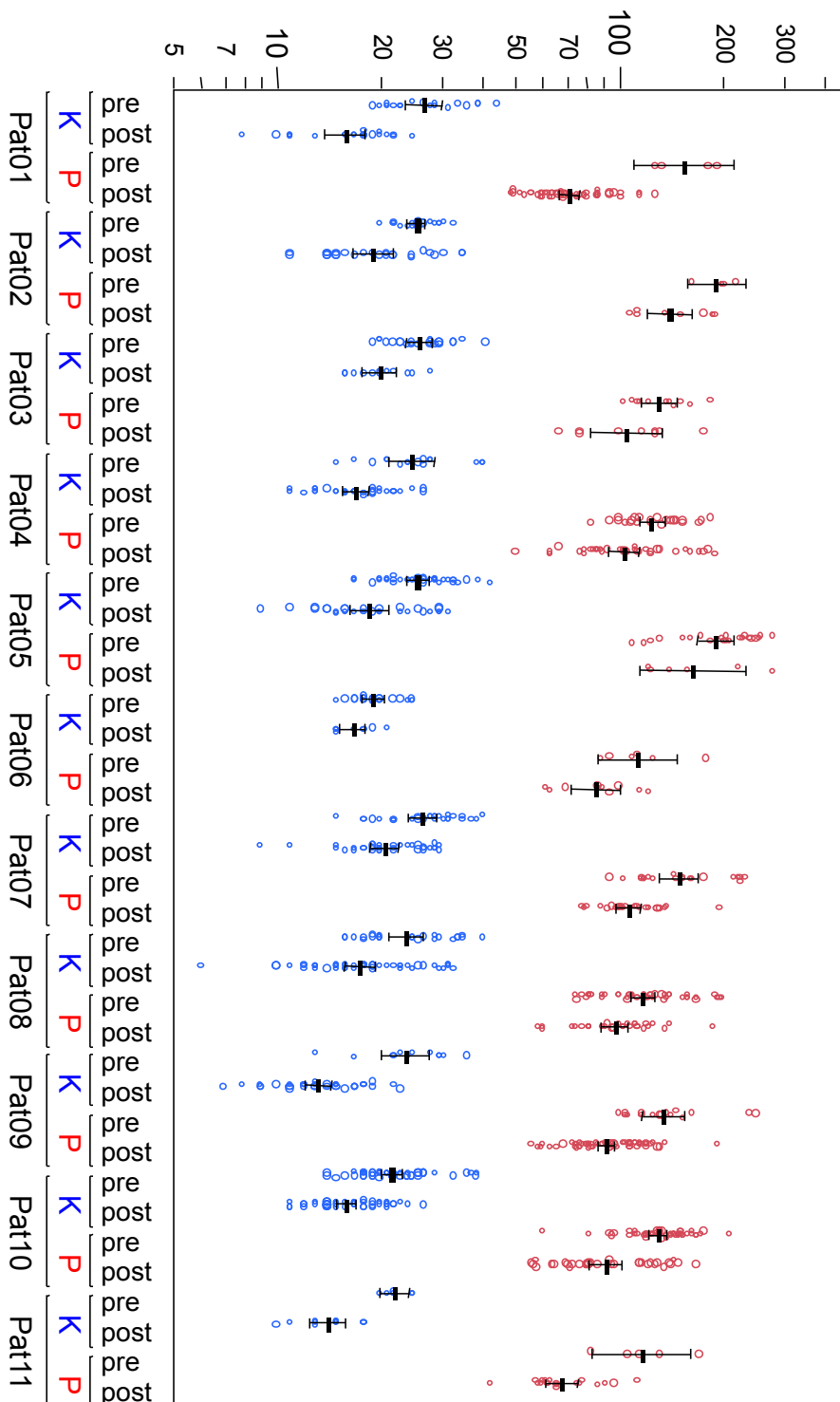


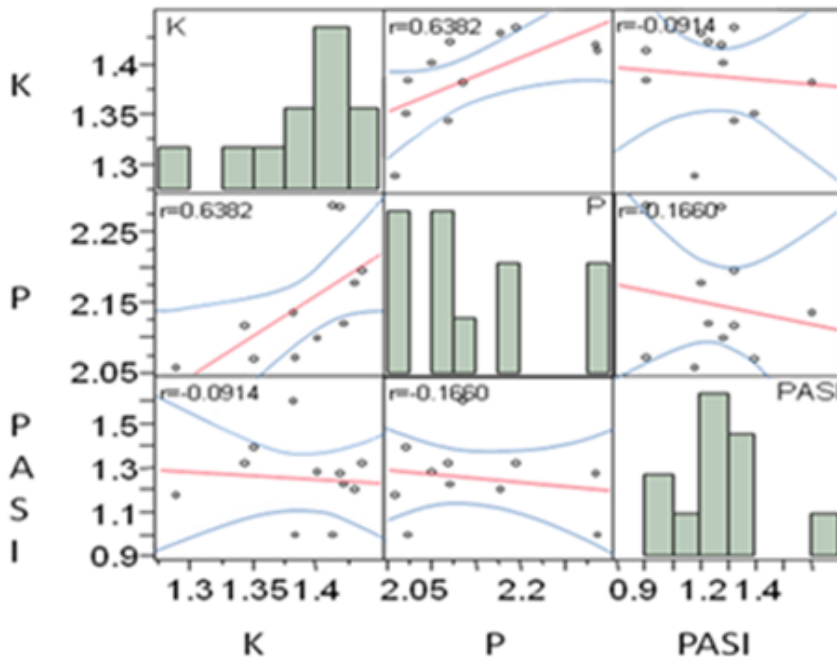
Abbildung 9: Kapillar- (K) und Papillendurchmesser (P) der einzelnen Patienten vor (pre) und nach (post) Therapie. Mittelwert und zugehöriges 95% Konfidenz-Intervall wurden aus log-transformierten Daten errechnet und sind in der Abbildung für die einzelnen Studienpatienten dargestellt. (Bei der Skala auf der y-Achse handelt es sich um eine logarithmische Skala, Angabe in μm).

3.2.2. Veränderung der Papillendurchmesser im Laufe der Therapie

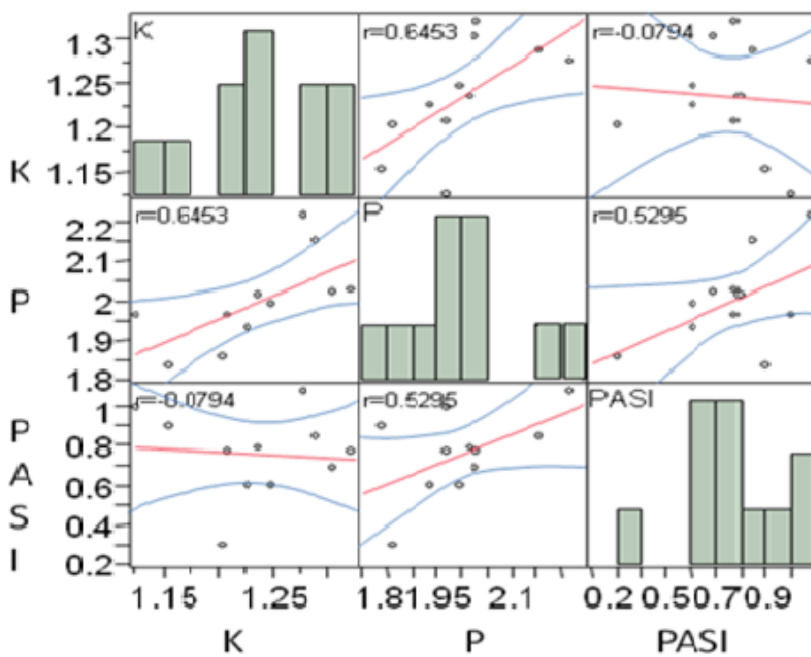
Die Papillendurchmesser wurden für die einzelnen Patienten vor und nach der Therapie gemessen. Aufgrund der schiefen Verteilung der gemessenen Werte wurde eine logarithmische Transformation durchgeführt und die logarithmischen Mittelwerte der Papillendurchmesser für die einzelnen Patienten errechnet. Zur besseren Übersicht sind in Tabelle 3. die delogarithmierten Werte in μm angegeben, in Abbildung 9. sind Mittelwerte und Standardabweichungen der Kapillar- und Papillendurchmesser der einzelnen Patienten dargestellt. Insgesamt ging die klinische Abheilung der psoriatischen Hautveränderungen bei allen in der Studie behandelten Patienten mit einer Reduktion der Papillendurchmesser einher. Eine Reduktion der Kapillardurchmesser um 13.1 - 44.2 %, gemessen im Bezug zum Kapillardurchmesser vor der Therapie, konnte bei den 11 Patienten dieses Teils unserer Studie beobachtet werden. Der Mittelwert der Papillendurchmesser war nach der Therapie mit $103,2 \pm 28,2$ signifikant reduziert im Vergleich zum Papillendurchmesser vor der Therapie ($142,7 \pm 28,2$, $p < 0,0001$). Der Mittelwert der Papillendurchmesser nach Therapieende war immer noch signifikant höher als die Papillendurchmesser der gesunden Haut ($69,4 \pm 17,1 \mu\text{m}$, $p = 0,0009$).

3.2.3. Beziehung zwischen PASI und Papillen- und Kapillardurchmesser

Eine Analyse der Korrelationen zwischen PASI-Wert, Papillendurchmesser und Kapillardurchmesser vor und nach der Therapie wurde durchgeführt (Abbildung 10). Der ermittelte PASI zeigte sich weitgehend unabhängig vom Papillendurchmesser vor und nach der Therapie (Korrelationskoeffizient $r = -0.16$ vor Therapie, $r = 0.52$ nach Therapie). Der PASI zeigte auch eine weitgehende Unabhängigkeit vom Kapillendurchmesser vor und nach der Therapie (Korrelationskoeffizient $r = -0.09$ vor Therapie, $r = -0.07$ nach Therapie). Hingegen korrelierten die bei den einzelnen Patienten gemessenen Kapillardurchmesser und Papillendurchmesser vor und nach Therapie gut miteinander, (Korrelationskoeffizient $r = 0.63$, $p = 0.014$ vor Therapie, $r = 0.64$, $p = 0.002$ nach Therapie).



(a)



(b)

Abbildung 10 a und b: Korrelationsmatrix der log-transformierten Werte der PASI (S), Kapillendurchmesser (K) und Papillendurchmesser (P) vor (a) und nach (b) Therapie. Die Verteilung der Daten ist in der Hauptdiagonale gezeigt. Die Daten sind zusammen mit der Regressionsgerade und ihrem 95% Konfidenzbereich gezeigt. Die Korrelationskoeffizienten (r) sind in den entsprechenden Graphen angegeben.

3.2.4. Zusammenhang zwischen klinischer Besserung und Normalisierung der Kapillar- und Papillenstruktur

Die klinische Besserung, gemessen an der prozentualen Reduktion von PASI im Bezug zum Ausgangs-PASI, sowie die prozentuale Reduktion der Papillen- und Kapillardurchmesser im Bezug zum Ausgangswert wurden errechnet. Eine Rang-Korrelationsanalyse der prozentualen Reduktionen der drei Parameter wurde durchgeführt. Die klinische Besserung (% Reduktion PASI) korrelierte am besten mit der prozentualen Reduktion des Papillendurchmessers ($r= 0.63$, $p=0.03$) und weniger mit der prozentualen Reduktion des Kapillardurchmessers ($r= 0.29$, $p=0.25$). Die prozentualen Reduktionen der drei Parameter wurden jeweils errechnet aus dem Wert vor Therapie minus Wert nach Therapie durch Wert vor Therapie.

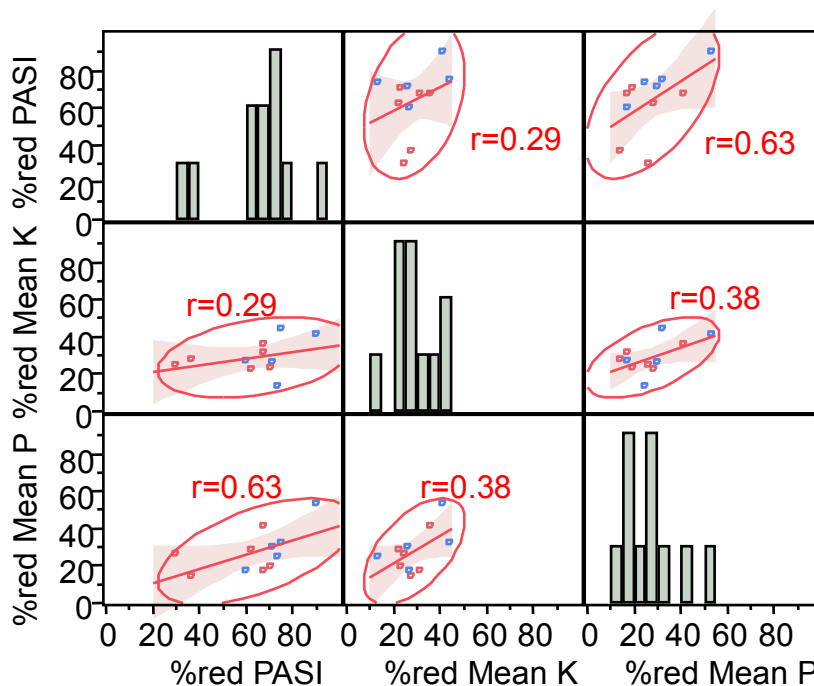


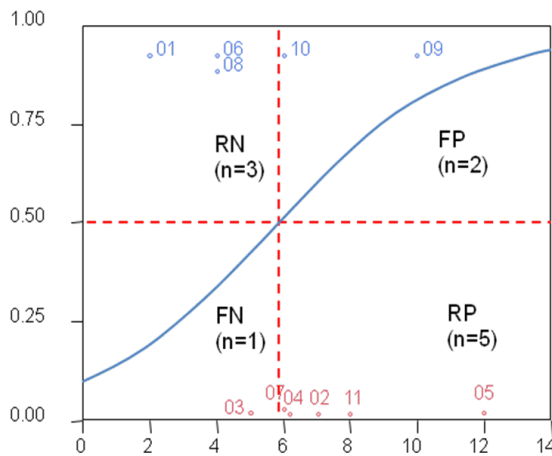
Abbildung 11: Korrelationsmatrix der prozentualen Reduktionen von PASI, Papillendurchmesser (P) und Kapillardurchmesser (K) im Laufe der Therapie (Die Prozentreduktionen wurden aus der Differenz vor Therapie-nach Therapie / Wert vor Therapie $\times 100$ errechnet). Die Verteilung der Werte ist in der Hauptdiagonale dargestellt, die Korrelationskoeffizienten sind in den entsprechenden Graphen angegeben. Daten werden zusammen mit der Regressionsgerade und ihrem 95% Konfidenzbereich gezeigt.

3.2.5. Zusammenhang zwischen Krankheitsrezidiv und Hautzustand am Ende der Behandlung

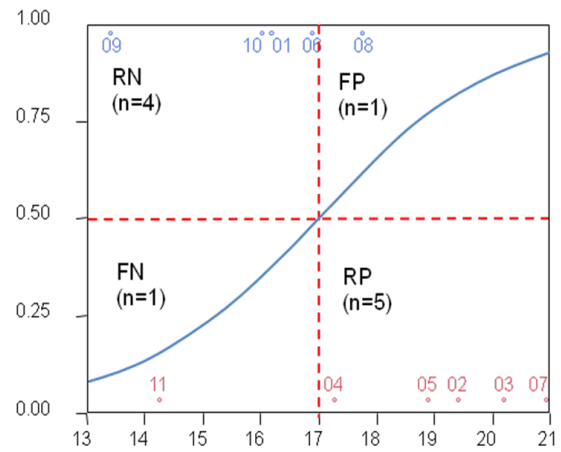
Die 11 Psoriasispatienten des zweiten Teils der Studie wurden in die PASI-Ermittlung eingewiesen und wurden in 8-wöchigen Abständen bis zum Ende des 12. Monats nach Therapieende bezüglich des Auftretens eines Krankheitsrezidivs befragt. Als Krankheitsrezidiv definierten wir eine Erhöhung des PASI um mehr als 50% im Bezug zum PASI am Ende der Behandlung und/oder eine klinische Verschlechterung, die die Wiederaufnahme einer intensivierten Psoriasistherapie erforderte. Die lokale Applikation von Antipsoriatika wurde hiervon ausgeschlossen.

Eine logistische Regressionsanalyse wurde durchgeführt, um den Einfluss des zum Therapieende ermittelten bzw. gemessenen PASI, Kapillardurchmessers, Papillendurchmessers und der PASI Reduktion im Laufe der Therapie hinsichtlich des Auftretens eines Krankheitsrezidiv zu untersuchen (Abbildung 12 a-d).

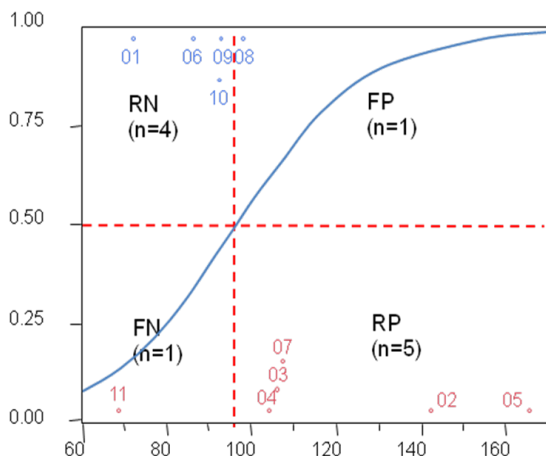
Die Kurve der logistischen Regression zeigt die Wahrscheinlichkeit eines Krankheitsrezidivs binnen eines Jahres nach Therapieende (y-Achse) jeweils in Abhängigkeit von einem der untersuchten Parameter (z-Achse). Außerdem sind die einzelnen Patienten in den Diagrammen dargestellt. Interessanterweise zeigt sich die Analyse der Rezidivwahrscheinlichkeit anhand der Kapillardurchmesser und Papillendurchmesser nach Therapieende (jeweils eine falsch positive und eine falsch negative Aussage) überlegen gegenüber der logistischen Regressionsanalyse anhand des PASI am Therapieende (zwei falsch positive und eine falsch negative Aussage). Die Analyse der Rezidivwahrscheinlichkeit anhand der PASI-Reduktion im Laufe der Therapie zeigte wiederum eine bessere Aussagekraft als die PASI-Kurve und eine ähnliche Aussagekraft wie die Kurven der Kapillar und Papillendurchmesser (eine falsch positive und eine falsch negative Aussage). Durch den kleinen Stichprobenumfang konnte bei diesem Modell keine statistische Signifikanz demonstriert werden ($p=0.12-0.22$).



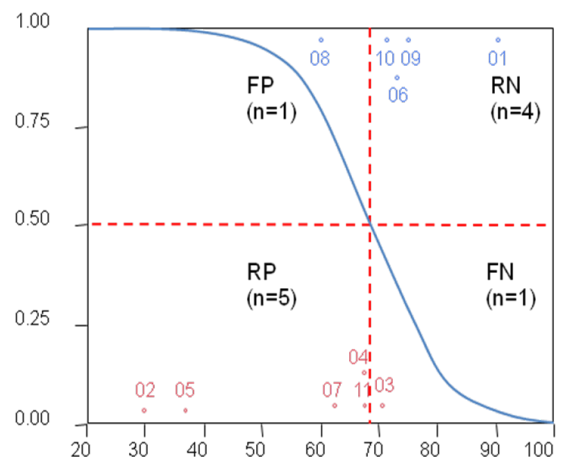
a) X: PASI nach Therapie, Y: Rezidivwahrscheinlichkeit (p=0.22)



b) X: Kapillardurchmesser nach Therapie, Y: Rezidivwahrscheinlichkeit (p=0.12)



c) X: Papillendurchmesser nach Therapie, Y: Rezidivwahrscheinlichkeit (p=0.18)



d) X: %Reduktion von PASI, Y: Rezidivwahrscheinlichkeit (p=0.22)

Abbildung 12 : Logistische Regressionsanalyse, (y-Achse): Wahrscheinlichkeit eines Krankheitsrezidivs binnen eines Jahres nach Therapieende in Abhängigkeit von (z-Achse): (a) PASI nach Therapie, (b) Kapillardurchmesser nach Therapie, (c) Papillendurchmesser nach Therapie, (d) %Reduktion von PASI im Laufe der Therapie. Die Patienten mit einem Psoriasisrezidiv sind rot eingezeichnet und unterhalb der

Kurve dargestellt. Die rezidivfreien Patienten sind blau eingezeichnet und oberhalb der Kurve dargestellt. Die roten gestrichelten Linien unterteilen die Patienten in vier Gruppen: RN: richtig negativ, FN: falsch negativ, RP: richtig positiv, FP: falsch positiv.

4. Diskussion

Bereits frühere Untersuchungen zeigten die wichtige Rolle der Gefäßveränderungen für die Pathogenese, den Verlauf und die Prognose der Psoriasis. Die venöse Umwandlung und Erweiterung der Hautkapillaren trägt maßgeblich zu einer erhöhten Permeabilität für Albumin und weitere Plasmaproteine bei, die Migration von inflammatorischen Zellen wird begünstigt und spielt somit eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Unterhaltung psoriatischer Hautläsionen ³. Diese Gefäßveränderungen sind v.a. durch die erhöhte Expression einer ganzen Reihe proangiogenetischer Faktoren, v.a. in den basalen Keratinozyten von Psoriatikern bedingt ⁴.

In dieser Studie konnten mit Hilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie die Hautstrukturen in gesunder und psoriatischer Haut gut visualisiert werden. In der gesunden Haut waren normale Kapillarschlingen mit einer einfachen Haarnadelstruktur zu sehen. Die typischen Veränderungen der Kapillarschlingen in der psoriatischen Haut konnten bei allen Psoriasispatienten nachgewiesen und dargestellt werden. Außerdem konnten anhand der gewonnenen konfokalen Bilder die Außendiameter der Kapillaren und der Papillen in der gesunden und psoriatischen Haut gemessen werden. Die Gruppen der gesunden Probanden und der Psoriasispatienten, die an dieser Studie teilgenommen haben, variierten stark in ihrer Zusammensetzung bezüglich Alter und Geschlecht der Studienteilnehmer. Frühere Studien mit der konfokalen Laserscan-Mikroskopie zeigten, dass Unterschiede im Alter, Geschlecht und in den untersuchten Hautarealen keinen Einfluss auf die gemessenen Kapillardurchmesser haben ⁷. Die Messung der Kapillardurchmesser und der Papillendurchmesser und ihre statistische Auswertung zeigte eine signifikante Vergrößerung beider Strukturen in psoriatischer Haut im Vergleich zur gesunden Haut ($p < 0.001$). Interessanterweise zeigten unsere Messungen - z.B. der Außendurchmesser gesunder Kapillaren ($9.53 \pm 1.8 \mu\text{m}$) - eine deutliche Abweichung von den in-vivo Messungen anderer Studien, dort wurden Mittelwerte zwischen $17 \mu\text{m}$ ⁷ und $30 \mu\text{m}$ ⁵¹ für die Außendurchmesser gesunder Kapillaren angegeben. Allerdings liegen unsere Ergebnisse sehr nah bei den elektronenmikroskopischen Messungen von Braverman et al., dort wurden Außendiameter von $7.5\text{--}10 \mu\text{m}$ angegeben ¹⁴. Dieser Diskrepanz könnten verschiedenen Erklärungen zugrunde liegen. Zum einen

spielt die Auswahl der Messpunkte eine große Rolle, die konfokalen Bilder des Vivascope 1500 erschweren zum Teil die Identifikation der Außengrenze der Kapillaren. Für die Messungen der Kapillaren in unserer Studie wurde ein dünner Saum, der das Gefäßlumen umschließt und die Gefäßwand repräsentiert, in die Messung eingeschlossen. Ähnlich wurde für die Messung der Papillendurchmesser ein aus Basalzellen und Melanozyten bestehender Randsaum in die Messung eingeschlossen. Die Software des Vivascope 1500 erlaubt keine sichere und genaue Platzierung der Messpunkte und somit keine genaue Messung der Hautstrukturen, wir verwendeten deshalb für die Messung in dieser Studie eine Software, mit dessen Hilfe eine genauere Messung möglich ist (siehe Kap 2.8.). Eine weitere Ursache für die Diskrepanz der Messung könnte in der Auswahl der Hautebene der Messung liegen. Hegyi et al. beschreiben weitgehend unveränderte Kapillardurchmesser in unterschiedlich tiefen Abschnitten der Haut⁷. Dies kann aber nur für die oberen Anteile der dermalen Papillen zutreffen, in tieferen Schichten hingegen kommen weitere Anteile der Hautgefäße zur Darstellung, welche in ihrem Kaliber von den Hautkapillaren abweichen¹⁴. Dies kann bei der gestörten Gefäßarchitektur in psoriatischer Haut eine noch größere Rolle spielen. Aus diesem Grund beschränkten wir unsere Messungen auf die oberen Anteile der dermalen Papillen, um diese Fehlerquelle auszuschalten. Wenn man diese Fehlerquellen berücksichtigt, lassen sich mit Hilfe der konfokalen Laserscan-Mikroskopie die Kaliber der dermalen Kapillarschlingen und der dermalen Papillen gut quantifizieren.

Eine klinische Besserung im Laufe der Therapie ging bei allen Patienten dieser Studie mit einer Reduktion des Kapillardurchmessers einher. Dies wurde auch in früheren in-vivo Untersuchungen der psoriatischen Haut nachgewiesen^{51,77}. Hinzu konnten wir eine mit der klinischen Abheilung einhergehende signifikante Verminderung der Papillendurchmesser messen.

Aufgrund des Fehlens von Biomarkern zum Messen der Krankheitsaktivität werden diverse klinische Scores zum Krankheitsmanagement bei Psoriasis eingesetzt. Insgesamt werden mindestens 53 verschiedene klinische Messmethoden angewandt⁵⁷. Die Genauigkeit der existierenden Methoden zur Erfassung des klinischen Schweregrades von Psoriasis wurde in zwei rezenten systematischen Analysen untersucht^{57,78}. Es gab außerdem zahlreiche Diskussionen über die Gültigkeit der in

der Klinik angewandten Scores⁷⁹. Obwohl ein standardisierter Maßstab für ein Evidenzbasiertes Management der Psoriasis und zum Monitoren der Erkrankung in wissenschaftlichen Studien wichtig ist, erfüllt keiner der vorhandenen klinischen Scores für Psoriasis die erforderlichen Genauigkeitskriterien. Auch inwiefern die Scores die Ausprägung der Psoriasis tatsächlich widerspiegeln, wird diskutiert⁷⁵. Der PASI-Score ist der am häufigsten angewandte klinische Psoriasis-Score in der Klinik und in der wissenschaftlichen Literatur. Der PASI wird häufig zur Einstufung der Psoriasispatienten in Schweregradkategorien und zum Monitoring des Therapieeffektes herangezogen. Die bisherige Datenlage lässt viele Fragen bezüglich Stellenwert und Validität des PASI in der Klinik und in wissenschaftlichen Studien offen. Während der PASI Werte zwischen 0 und 72 einnehmen kann, weisen 50-75,8% der Patienten einen PASI kleiner als 20 auf⁷⁵. Diese ausgeprägte schiefe Verteilung sorgt für methodische Einschränkungen in der Evaluierung des PASI. Zum Beispiel überschätzen häufig angewandte Methoden die „inter-rater agreement“ beim PASI, insbesondere in dem relevantesten Bereich kleiner als 20. Wenn die Therapieindikation, wie in den meisten Studien bei PASI größer als 12 gestellt wird, zeigte ein Simulationsmodell eine Diskrepanz von 30% zwischen zwei Untersuchern in der Indikationsstellung⁷⁵. Der PASI weist außerdem gewisse Schwächen darin auf, einen Therapieerfolg widerzuspiegeln, wenn weniger als 10% der Hautoberfläche eines Körperteils betroffen ist, da hier der PASI v.a. von der Plaque-Intensität abhängt. Dies stellt einen bedeutenden Nachteil für den Einsatz von PASI in interventionellen Studien dar⁵⁷. Interessanterweise zeigen diverse Untersuchungen nur eine schwache Korrelation ($r=0.1-0.3$) zwischen dem PASI und dem HRQoL“ *health-related quality of life*“^{80,81}. In unserer Studie zeigte sich der PASI weitgehend unabhängig vom mikroskopischen Zustand der Hautkapillaren und Papillen. Hingegen scheinen der Zustand der Hautkapillaren und der der dermalen Papillen sehr gut miteinander zu korrelieren, sowohl vor als auch nach Therapie (Abbildung 10).

Eine frühere Studie, in der Psoriasispatienten mit dem gefäßselektiven pulsed dye laser behandelt wurden, ergab eine signifikante Korrelation zwischen klinischer Besserung eines einzelnen Plaques und der Reduktion der Kapillaroberfläche pro Hautoberflächeneinheit⁵¹. Die klinische Besserung gemessen an der prozentualen Reduktion des PASI im Bezug zum Ausgangs-PASI (% Reduktion PASI) korrelierte in unserer Studie am besten mit der prozentualen Reduktion des Papillendurchmessers

($r= 0.63$) und weniger mit der prozentualen Reduktion des Kapillardurchmessers ($r= 0.29$). Dies kann an den unterschiedlichen Therapiemodalitäten liegen. Während in den genannten Studien die gefäßselektive pulsed dye Laserbehandlung angewandt wurde, deren therapeutische Wirkung allein auf deren Effekte auf die oberflächlichen Hautkapillaren zurückgeführt wird^{48,51}, wurden die Patienten in unserer Studie mit einer multimodalen Therapie, u.a. mit antiinflammatorischen und antiproliferativen Therapiekomponenten, behandelt. Hier beruht die klinische Abheilung nicht allein auf eine Normalisierung der Gefäßarchitektur.

Der Einfluss des Zustandes der Hautkapillaren, der dermalen Papillen und des gesamten klinischen Hautzustandes, dargestellt durch den PASI vor Entlassung auf das Auftreten eines Psoriasisrezidivs wurde mit Hilfe der logistischen Regressionsanalyse untersucht. Papillendurchmesser und Kapillardurchmesser zeigten sich überlegen in ihrer Aussagekraft im Vergleich zum PASI. Mithilfe von Papillen- und Kapillardurchmesser konnte bis auf eine falsch positive und eine falsch negative Aussage bei neun von elf Patienten eine richtige Vorhersage bezüglich des Auftretens eines Rezidivs getroffen werden. Eine Prognose allein auf der Grundlage des PASI ergab 3 Fehlvoraussagen. Wurde die PASI-Reduktion zugrunde gelegt, waren nur 2 Voraussagen unrichtig. Die logistische Regressionsanalyse ergab in unserer Studie keine statistische Signifikanz, dies kann in erster Linie durch die kleine Patientenzahl in dieser Studie bedingt sein. Verschiedene Faktoren, wie z.B. eine Infektion oder eine psychische Belastung, können das Auftreten eines Krankheitsrezidivs bei Psoriatikern begünstigen. Bei kleinem Stichprobenumfang können diese Störaktoren eine besonders große Rolle spielen. Aus diesem Grund kann aus der logistischen Regressionsanalyse in dieser Studie nur eine Tendenz gelesen werden. So zeigen die Ergebnisse eine zumindest gleiche, wenn nicht bessere Aussagekraft der Papillen- und Kapillardurchmesser am Ende der Behandlung im Vergleich zum PASI bezüglich des rezidivfreien Intervalls. Die konfokal gemessenen Kapillar- und Papillendurchmesser waren in unserer Stichprobe nicht schlechter als der PASI zur Therapiekontrolle, sie sind sogar tendenziell besser. Wir sehen außerdem, dass eine PASI Reduktion tendenziell dem PASI überlegen ist.

Der Zusammenhang zwischen Kapillar- und Papillendurchmesser und dem Krankheitsverlauf sowie die Rolle der subklinischen Veränderungen der Kapillaren und der dermalen Papillen als Krankheitsgedächtnis in psoriatischer Haut müssen in

weiteren Untersuchungen mit größerer Patientenzahl weiter erforscht werden. In der Praxis wird die Psoriasis-therapie aus Kostengründen und aufgrund der Nebenwirkungen der eingesetzten Antipsoriatika oft nur bis zum Erreichen einer gewissen Besserung des Hautzustandes fortgeführt. Subklinische pathologische Veränderungen bleiben dabei am Ende der Behandlung bestehen und können ein Psoriasis-Rezidiv begünstigen. Mit Hilfe der CLSM kann der Zustand der Hautkapillaren und der dermalen Papillen ohne Biopsieentnahme während der Behandlung kontrolliert werden. Eine Fortführung der Therapie unter CLSM Kontrolle bis zur kompletten Normalisierung der Gefäßstruktur der Haut könnte ein besseres outcome und eine Verlängerung des rezidivfreien Intervalls bedeuten und sollte deshalb in Erwägung gezogen werden.

So können ggf. die Kapillar- und Papillendurchmesser den PASI sowohl als Kriterium für Therapieaufnahme und -dauer als auch zum Therapiemonitoring in wissenschaftlichen Studien ersetzen bzw. komplementär dazu eingesetzt werden.

5. Referenzen

1. Valdimarsson H, Baker BS, Jonsdottir I, Powles A, Fry L. Psoriasis: a T-cell-mediated autoimmune disease induced by streptococcal superantigens? *Immunology today*. Mar 1995;16(3):145-149.
2. Yoo IS, Lee JH, Song ST, Kim JH, Lee HJ, Kang SW. T-helper 17 cells: the driving force of psoriasis and psoriatic arthritis. *International journal of rheumatic diseases*. Dec 2012;15(6):531-537.
3. Braverman IM, Yen A. Ultrastructure of the capillary loops in the dermal papillae of psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. Jan 1977;68(1):53-60.
4. Micali G, Lacarrubba F, Musumeci ML, Massimino D, Nasca MR. Cutaneous vascular patterns in psoriasis. *International journal of dermatology*. Mar 2010;49(3):249-256.
5. Ardigo M, Cota C, Berardesca E, Gonzalez S. Concordance between in vivo reflectance confocal microscopy and histology in the evaluation of plaque psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. Jun 2009;23(6):660-667.
6. Wolberink EA, van Erp PE, Teussink MM, van de Kerkhof PC, Gerritsen MJ. Cellular features of psoriatic skin: imaging and quantification using in vivo reflectance confocal microscopy. *Cytometry. Part B, Clinical cytometry*. May 2011;80(3):141-149.
7. Hegyi J, Hegyi V, Messer G, Arenberger P, Ruzicka T, Berking C. Confocal laser-scanning capillaroscopy: a novel approach to the analysis of skin capillaries in vivo. *Skin Res Technol*. Nov 2009;15(4):476-481.
8. Koller S, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, Weger W, Smolle J, Hofmann-Wellenhof R. In vivo reflectance confocal microscopy of erythematosquamous skin diseases. *Exp Dermatol*. Jun 2009;18(6):536-540.
9. Menon GK, Kligman AM. Barrier functions of human skin: a holistic view. *Skin pharmacology and physiology*. 2009;22(4):178-189.
10. Menon G, Ghadially R. Morphology of lipid alterations in the epidermis: a review. *Microscopy research and technique*. May 1 1997;37(3):180-192.
11. Fritsch P. Dermatologie und Venerologie: Lehrbuch und Atlas. 1. edn (Springer Berlin Heidelberg, 1998).

12. Braverman IM. Electron microscopic studies of the microcirculation in psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. Jul 1972;59(1):91-98.
13. Braverman IM, Sibley J. The response of psoriatic epidermis and microvessels to treatment with topical steroids and oral methotrexate. *The Journal of investigative dermatology*. Dec 1985;85(6):584-586.
14. Braverman IM. The cutaneous microcirculation. *The journal of investigative dermatology. Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc. [and] European Society for Dermatological Research*. Dec 2000;5(1):3-9.
15. Braverman IM, Schechner JS, Silverman DG, Keh-Yen A. Topographic mapping of the cutaneous microcirculation using two outputs of laser-Doppler flowmetry: flux and the concentration of moving blood cells. *Microvascular research*. Jul 1992;44(1):33-48.
16. Yen A, Braverman IM. Ultrastructure of the human dermal microcirculation: the horizontal plexus of the papillary dermis. *The Journal of investigative dermatology*. Mar 1976;66(3):131-142.
17. Braverman IM, Yen A. Ultrastructure of the human dermal microcirculation. II. The capillary loops of the dermal papillae. *The Journal of investigative dermatology*. Jan 1977;68(1):44-52.
18. Proksch E. The role of emollients in the management of diseases with chronic dry skin. *Skin pharmacology and physiology*. 2008;21(2):75-80.
19. Naldi L. Epidemiology of psoriasis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. Jun 2004;3(2):121-128.
20. Christophers E. Psoriasis- auf einen Blick. *Georg Thieme Verlag*, 2002.
21. Albrecht L, Bourcier M, Ashkenas J, Papp K. Topical psoriasis therapy in the age of biologics: evidence-based treatment recommendations. *Journal of cutaneous medicine and surgery*. Nov-Dec 2011;15(6):309-321.
22. Paul C, Ortonne JP. Topical treatment and phototherapy in psoriasis: systematic review and expert opinion of a panel of dermatologists. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. May 2012;26 Suppl 3:iii-iv.
23. Rahman M, Alam K, Kazmi I, et al. Classical to Current approach for treatment of psoriasis: A Review. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*. Mar 30 2012.
24. Alwawi EA, Krulig E, Gordon KB. Long-term efficacy of biologics in the treatment of psoriasis: what do we really know? *Dermatologic therapy*. Sep-Oct 2009;22(5):431-440.

25. Kunz M. Current treatment of psoriasis with biologics. *Current drug discovery technologies*. Dec 2009;6(4):231-240.
26. Cather JC, Menter A. Combining traditional agents and biologics for the treatment of psoriasis. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. Mar 2005;24(1):37-45.
27. Menter A, Korman NJ, Elmets CA, et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: section 4. Guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with traditional systemic agents. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Sep 2009;61(3):451-485.
28. Bourke JF, Berth-Jones J, Hutchinson PE. Hypercalcaemia with topical calcipotriol. *BMJ*. May 15 1993;306(6888):1344-1345.
29. http://www.uptodate.com/contents/treatment-of-psoriasis?source=search_result&search=treatment+of+psoriasis&selectedTitle=1~150. 2012.
30. Clark RA. Gone but not forgotten: lesional memory in psoriatic skin. *The Journal of investigative dermatology*. Feb 2011;131(2):283-285.
31. de Korte J, Sprangers MA, Mommers FM, Bos JD. Quality of life in patients with psoriasis: a systematic literature review. *The journal of investigative dermatology. Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc. [and] European Society for Dermatological Research*. Mar 2004;9(2):140-147.
32. Rapp SR, Feldman SR, Exum ML, Fleischer AB, Jr., Reboussin DM. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Sep 1999;41(3 Pt 1):401-407.
33. Ellis CN, Gorsulowsky DC, Hamilton TA, et al. Cyclosporine improves psoriasis in a double-blind study. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. Dec 12 1986;256(22):3110-3116.
34. Morris A, Rogers M, Fischer G, Williams K. Childhood psoriasis: a clinical review of 1262 cases. *Pediatric dermatology*. May-Jun 2001;18(3):188-198.
35. Capon F, Trembath RC, Barker JN. An update on the genetics of psoriasis. *Dermatologic clinics*. Oct 2004;22(4):339-347, vii.
36. Bergboer JG, Zeeuwen PL, Schalkwijk J. Genetics of Psoriasis: Evidence for Epistatic Interaction between Skin Barrier Abnormalities and Immune Deviation. *The Journal of investigative dermatology*. May 24 2012.
37. Murphy M, Kerr P, Grant-Kels JM. The histopathologic spectrum of psoriasis. *Clin Dermatol*. Nov-Dec 2007;25(6):524-528.

38. Goodfield M, Hull SM, Holland D, et al. Investigations of the 'active' edge of plaque psoriasis: vascular proliferation precedes changes in epidermal keratin. *The British journal of dermatology*. Dec 1994;131(6):808-813.
39. Telner P, Fekete Z. The capillary responses in psoriatic skin. *The Journal of investigative dermatology*. Mar 1961;36:225-230.
40. Pinkus H, Mehregan AH. The primary histologic lesion of seborrheic dermatitis and psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. Jan 1966;46(1):109-116.
41. Hull SM, Goodfield M, Wood EJ, Cunliffe WJ. Active and inactive edges of psoriatic plaques: identification by tracing and investigation by laser--Doppler flowmetry and immunocytochemical techniques. *The Journal of investigative dermatology*. Jun 1989;92(6):782-785.
42. Cordiali-Fei P, Trento E, D'Agosto G, et al. Effective therapy with anti-TNF-alpha in patients with psoriatic arthritis is associated with decreased levels of metalloproteinases and angiogenic cytokines in the sera and skin lesions. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Sep 2007;1110:578-589.
43. Nishimura M, Makino Y, Matugi H. Tacalcitol ointment for psoriasis. *Acta dermato-venereologica. Supplementum*. 1994;186:166-168.
44. Diaz BV, Lenoir MC, Ladoux A, Frelin C, Demarchez M, Michel S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in human keratinocytes by retinoids. *The Journal of biological chemistry*. Jan 7 2000;275(1):642-650.
45. Li VW, Li WW. Cyclosporine and angiogenesis in psoriasis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Dec 1996;35(6):1019-1021.
46. Hernandez GL, Volpert OV, Iniguez MA, et al. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis by cyclosporin A: roles of the nuclear factor of activated T cells and cyclooxygenase 2. *The Journal of experimental medicine*. Mar 5 2001;193(5):607-620.
47. Hacker SM, Rasmussen JE. The effect of flash lamp-pulsed dye laser on psoriasis. *Archives of dermatology*. Jun 1992;128(6):853-855.
48. Katugampola GA, Rees AM, Lanigan SW. Laser treatment of psoriasis. *The British journal of dermatology*. Dec 1995;133(6):909-913.
49. Ros AM, Garden JM, Bakus AD, Hedblad MA. Psoriasis response to the pulsed dye laser. *Lasers in surgery and medicine*. 1996;19(3):331-335.

50. Zelickson BD, Mehregan DA, Wendelschfer-Crabb G, et al. Clinical and histologic evaluation of psoriatic plaques treated with a flashlamp pulsed dye laser. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Jul 1996;35(1):64-68.
51. Hern S, Stanton AW, Mellor RH, Harland CC, Levick JR, Mortimer PS. In vivo quantification of the structural abnormalities in psoriatic microvessels before and after pulsed dye laser treatment. *The British journal of dermatology*. Mar 2005;152(3):505-511.
52. Hern S, Allen MH, Sousa AR, et al. Immunohistochemical evaluation of psoriatic plaques following selective photothermolysis of the superficial capillaries. *The British journal of dermatology*. Jul 2001;145(1):45-53.
53. Gordon M, Johnson WC, Burgoon CF, Jr. Histopathology and histochemistry of psoriasis. II. Dynamics of lesions during treatment. *Archives of pathology*. Nov 1967;84(5):443-450.
54. Creamer D, Allen MH, Sousa A, Poston R, Barker JN. Localization of endothelial proliferation and microvascular expansion in active plaque psoriasis. *The British journal of dermatology*. Jun 1997;136(6):859-865.
55. Weinstein GD, McCullough JL, Ross PA. Cell kinetic basis for pathophysiology of psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. Dec 1985;85(6):579-583.
56. Hern S, Stanton AW, Mellor R, Levick JR, Mortimer PS. Control of cutaneous blood vessels in psoriatic plaques. *The Journal of investigative dermatology*. Jul 1999;113(1):127-132.
57. Spuls PI, Lecluse LL, Poulsen ML, Bos JD, Stern RS, Nijsten T. How good are clinical severity and outcome measures for psoriasis?: quantitative evaluation in a systematic review. *The Journal of investigative dermatology*. Apr 2010;130(4):933-943.
58. Naldi L, Svensson A, Diepgen T, et al. Randomized clinical trials for psoriasis 1977-2000: the EDEN survey. *The Journal of investigative dermatology*. May 2003;120(5):738-741.
59. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Archives of dermatology*. Jun 1988;124(6):869-871.
60. Ardigo M, Malizewsky I, Dell'anna ML, Berardesca E, Picardo M. Preliminary evaluation of vitiligo using in vivo reflectance confocal microscopy. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. Nov 2007;21(10):1344-1350.

61. Sauermann K, Gambichler T, Wilmert M, et al. Investigation of basal cell carcinoma [correction of carcinoma] by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol.* Aug 2002;8(3):141-147.
62. Minsky M. Microscopy Apparatus. *US Pat.* 3,013,467. 1961.
63. Minsky M. Memoir on Inventing the Confocal Scanning Microscopy. *Scanning, 10: 128-138.* 1988.
64. Davidovits P, Egger MD. Photomicrography of corneal endothelial cells in vivo. *Nature.* Aug 10 1973;244(5415):366-367.
65. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *The Journal of investigative dermatology.* Jun 1995;104(6):946-952.
66. Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *The Journal of investigative dermatology.* Sep 1999;113(3):293-303.
67. Nehal KS, Gareau D, Rajadhyaksha M. Skin imaging with reflectance confocal microscopy. *Seminars in cutaneous medicine and surgery.* Mar 2008;27(1):37-43.
68. Nathan S. Claxton TJF, and Michael W. Davidson. LASER SCANNING CONFOCAL MICROSCOPY. <http://www.olympusfluoview.com/theory/LSCMIntro.pdf>.
69. Swindle LD, Thomas SG, Freeman M, Delaney PM. View of normal human skin in vivo as observed using fluorescent fiber-optic confocal microscopic imaging. *The Journal of investigative dermatology.* Oct 2003;121(4):706-712.
70. Hans Skvara MD. Combining in vivo reflectance with fluorescence confocal microscopy provides additive information on skin morphology. *Dermatol Pract Concept* 2012;2(1):2.
71. <http://www.mikrohamburg.de/Tips/DER%20BRECHUNGSINDEX.pdf>.
72. <http://www.vivascope.de/produkte/geraete/in-vivo-geraete/vivascooper-1500/technische-daten.html>.
73. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica.* 1978;157(4):238-244.
74. Altmeyer P. Enzyklopädie der Dermatologie, Venerologie, Allergologie, Umweltmedizin. <http://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/> 2010.
75. Gourraud PA, Le Gall C, Puzenat E, Aubin F, Ortonne JP, Paul CF. Why statistics matter: limited inter-rater agreement prevents using the psoriasis area and severity index

as a unique determinant of therapeutic decision in psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*. Sep 2012;132(9):2171-2175.

76. Archid R, Patzelt A, Lange-Asschenfeldt B, et al. Confocal laser-scanning microscopy of capillaries in normal and psoriatic skin. *Journal of biomedical optics*. Oct 2012;17(10):101511.
77. Rosina P, Giovannini A, Gisoni P, Girolomoni G. Microcirculatory modifications of psoriatic lesions during topical therapy. *Skin Res Technol*. May 2009;15(2):135-138.
78. Puzenat E, Bronsard V, Prey S, et al. What are the best outcome measures for assessing plaque psoriasis severity? A systematic review of the literature. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. Apr 2010;24 Suppl 2:10-16.
79. Jensen JD, Fujita M, Dellavalle RP. Validation of psoriasis clinical severity and outcome measures: searching for a gold standard. *Archives of dermatology*. Jan 2011;147(1):95-98.
80. Sampogna F, Sera F, Abeni D. Measures of clinical severity, quality of life, and psychological distress in patients with psoriasis: a cluster analysis. *The Journal of investigative dermatology*. Mar 2004;122(3):602-607.
81. Kirby B, Fortune DG, Bhushan M, Chalmers RJ, Griffiths CE. The Salford Psoriasis Index: an holistic measure of psoriasis severity. *The British journal of dermatology*. Apr 2000;142(4):728-732.

6. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Rami Archid, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„Die konfokale Laserscan-Mikroskopie: Merkmale der gesunden und psoriatischen Haut und Veränderungen der psoriatischen Haut unter einem modifizierten Goeckerman-Therapieregime“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

7. Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Publikation 1: Rami Archid, Alexa Patzelt, Bernhard Lange-Asschenfeldt, Sufian S. Ahmad, Martina Ulrich, Eggert Stockfleth, Sandra Philipp, Wolfram Sterry und Jürgen Lademann. Confocal laser-scanning microscopy of capillaries in normal and psoriatic skin. Journal of biomedical optics. Oct 2012;17(10):101511.

Beitrag im Einzelnen:

Untersuchung der Patienten und Auswertung der Daten: Rami Archid.

Arbeit an der Fertigung des Manuskripts: Rami Archid, Alexa Patzelt, Bernhard Lange-Asschenfeldt, Martina Ulrich, Eggert Stockfleth, Sandra Philipp, Wolfram Sterry und Jürgen Lademann.

Statistische Auswertung: Rami Archid und Sufian S. Ahmad.

Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Lademann

Rami Archid

8. Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht

9. Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Lademann, Leiter der Forschungsgruppe Hautphysiologie, für die Überlassung des Themas der Dissertation sowie die ausgezeichnete Betreuung, Hilfsbereitschaft und Geduld bedanken. Er gab mir wichtige gedankliche Anstöße bei der Bearbeitung meiner Dissertation und es gelang ihm stets meine Begeisterung für die Forschung weiter zu fördern.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Arbeitsgruppe der Hautphysiologie für ihre freundliche Aufnahme in die Arbeitsgruppe und die große Unterstützung bei allen Phasen dieser Studie.

Ganz besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. Torsten Zuberbier und Herrn Prof. Dr. med. Wolfram Sterry, allen Kolleginnen und Kollegen sowie den Krankenschwestern der Tagesklinik der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin, die mir trotz ihrer Belastung in Klinik und Forschung stets eine große Hilfe bei der Planung und Anpassung der Studie an den Behandlungsplan waren. Ohne ihre Hilfe wäre die Durchführung meiner Arbeit nicht vorstellbar gewesen.

Besonderer Dank gilt auch den Patienten und Probanden, die eine große Einsicht und Geduld zeigten und sich zum besseren Verständnis der Erkrankung engagiert für diese Studie eingesetzt haben.

Die größte Anerkennung gebührt meiner Familie, die meine Ausbildung überhaupt erst ermöglicht, sowie mich bei jedem Schritt meines wissenschaftlichen Werdegangs stets motiviert und unterstützt hat.

Zuletzt möchte ich mich bei allen Lehrern, Dozenten und Professoren bedanken, die mich in meiner Schulausbildung und in meinem Studium begleitet haben sowie bei den Bildungsinstitutionen in Syrien und Deutschland. Das von ihnen vermittelte Wissen war mir eine große Hilfe bei der Fertigung dieser Arbeit.