

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
(Direktor: Prof. Dr. med. T. Schwarz)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**UNTERSUCHUNGEN ZUR BEDEUTUNG DES ANTIMIKROBIELLEN
PEPTIDS „PSORIASIN“ IM SERUM VON PSORIASISPATIENTEN**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

DOROTHEA ELISABETH EISENBEIß
aus Singen (Hohentwiel)

Kiel 2010

Referent/in: Prof. Dr. Gläser

Koreferent/in: Priv.-Doz. Dr. Kühbacher

Tag der mündlichen Prüfung: 21.03.2011

Zum Druck genehmigt: Kiel, den 21.03.2011

Der Dekan

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
1.1. Das Krankheitsbild „Psoriasis“	1
1.2. Schutzmechanismen der Haut	5
1.3. Psoriasin (S100A7)	8
1.4. Ziele der Arbeit, Fragestellung	12
2. Material und Methoden	13
2.1. Chemikalien	13
2.2. Puffer und Lösungen	13
2.3. Geräte und Verbrauchsmaterialien	14
2.4. Antikörper	14
2.5. Serumproben	15
2.6. ELISA	16
2.7. Statistik	20
3. Ergebnisse	21
3.1. Psoriasin ist im Serum Gesunder nachweisbar	21
3.2. Demographie der untersuchten Psoriasispatienten	22
3.3. Die Serumkonzentration von Psoriasin ist bei Psoriasispatienten erhöht	25
3.4. Untersuchungen der Psoriasinkonzentration im Serum in Abhängigkeit von verschiedenen krankheitsassoziierten Faktoren	28
3.5. Die Psoriasinkonzentration im Serum von Psoriasispatienten korreliert mit dem Ansprechen auf eine effektive antipsoriatische Therapie	31
3.6. Die Psoriasin-Serumkonzentration ist auch bei Patienten mit anderen entzündlichen Dermatosen erhöht	33
4. Diskussion	35
4.1. Die Bedeutung Psoriasins als essentielles antimikrobielles Peptid	35
4.2. Der Nachweis von Psoriasin im Serum ist mittels ELISA möglich	36
4.3. Das in dieser Arbeit untersuchte Kollektiv an Psoriasispatienten bestätigt bekannte Komorbiditäten und Assoziationen	38
4.4. Die Messung der Serumkonzentration von Psoriasin eignet sich zur Bestimmung der Krankheitsaktivität einer Psoriasis	40
5. Zusammenfassung	50
6. Literatur	52
7. Abkürzungsverzeichnis	59
8. Anhang	60
9. Danksagung	63
10. Curriculum vitae	64

1. Einleitung

1.1. Das Krankheitsbild „Psoriasis“

Definition

Die Psoriasis (umgangssprachlich als Schuppenflechte bezeichnet) ist eine entzündliche nicht-infektiöse Hauterkrankung, die sich durch einen akut-exanthematischen oder chronisch-schubweisen Verlauf auszeichnet. Typische Effloreszenzen sind scharf begrenzte, schuppige, erythematöse Plaques, daher wird die Psoriasis den erythematö-squamösen Dermatosen zugeordnet. Häufig betroffen sind Hautregionen an den Knien, Ellenbogen, am behaarten Kopf und der Sakralregion. Neben der Haut können Gelenke, Finger- und Zehennägel erkranken. Die eigentliche Ursache einer Psoriasis ist noch nicht vollständig erforscht. Vermutlich handelt es sich um eine polygene Dispositionskrankheit, in der ein genetischer Defekt kontinuierlich weiter vererbt wird (Nickoloff und Nestle 2004).

Epidemiologie

Zirka 1-3% der mitteleuropäischen Bevölkerung ist von dieser Erkrankung betroffen. Damit zählt die Psoriasis zu den häufigsten und bedeutsamsten Hautkrankheiten. Ob und in welchem Ausmaß die Krankheit phänotypisch zum Ausdruck kommt, hängt aber nicht nur von der genetischen Disposition ab, sondern auch von weiteren Faktoren.

Ätiologie und Pathogenese

Als Auslöser für diese Krankheit werden verschiedene endogene und exogene Provokationsfaktoren, so genannte „Trigger“, diskutiert. Bakterielle (v.a. Streptokokken) und virale Infektionen (z.B. HIV), einfache Verletzungen, physischer und psychischer Stress, Medikamente (z.B. Betablocker, Lithium, Antimalariamittel, nicht-steroidale Antirheumatika) und Umwelteinflüsse wie Nikotin und Alkohol können Grund für Krankheitsschübe sein (Ockenfels 2003; Nickoloff und Nestle 2004; Traub und Marshall 2007). Die Psoriasis ist auffallend häufig mit anderen Erkrankungen assoziiert (Christophers 2007). Zu diesen so genannten Komorbiditäten gehören beispielsweise: Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Diabetes mellitus Typ II, Hypertonus, koronare Herzkrankheit (KHK) und das „metabolische Syndrom“, welches sich durch das gemeinsame Vorkommen von Hypertriglyceridämie,

Diabetes mellitus, Hypertonus, KHK und Adipositas auszeichnet. Auch die Psoriasis-Arthritis wird zu den Komorbiditäten gezählt (Christophers 2007; Traub und Marshall 2007). Die charakteristische Hauterscheinung, die psoriatische Plaque, wird durch eine Entzündungsreaktion der Haut hervorgerufen. Die Entzündungsreaktion und die Hyperproliferation von Keratinozyten stellen die beiden typischen Phänomene einer Psoriasis dar. Die Teilungsrate der Keratinozyten ist um ein Vielfaches gesteigert, wodurch sich die Regenerationszeit der Epidermis (normalerweise 28 Tage) auf nur wenige Tage verkürzt. Des Weiteren kommt es in den betroffenen Regionen durch eine verstärkte Proliferation der Endothelzellen zu einer Blutgefäßhyperplasie und einer größeren Dichte von Adhäsionsmolekülen, die ihrerseits zu einem vermehrten Auftreten von Entzündungszellen führen. T-Zellen, die vermutlich durch Antigen-präsentierende Zellen stimuliert werden, wandern in die Läsionen ein. Der genaue Ablauf der T-Zell-Aktivierung ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt. Entzündungs- und Wachstumsfaktoren (v.a. Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)- α , Interleukin (IL-) 2, IL-6, IL-8, Interferon (IFN)- γ) werden ausgeschüttet, die wiederum einen entzündungs- und proliferationsfördernden Effekt auf die Keratinozyten besitzen. Die schnelle Proliferation der Keratinozyten führt zu einer Verbreiterung der Epidermis und zu einer unvollständigen Verhornung, so dass sich als typische histologische Veränderung der Psoriasis im Stratum corneum noch Kernreste finden (Parakeratose) (Braun Falco, Plewig et al. 1995; Lowes, Bowcock et al. 2007).

Verlaufsformen und Klinik

Je nach Erscheinungsbild werden verschiedene Formen der Psoriasis unterschieden. Die häufigste und auch bedeutsamste klinische Erscheinungsform der Psoriasis ist die Psoriasis vulgaris. Abhängig vom Zeitpunkt der Erstmanifestation der Erkrankung wird diese in zwei Verlaufsformen eingeteilt (Braun Falco, Plewig et al. 1995):

Typ I: In 60 – 70% der Fälle tritt die Krankheit vor dem 40. Lebensjahr auf („early-onset-Psoriasis“). Sie zeigt eine familiäre Häufung und ist in ihrem Krankheitsverlauf meist schwerer und mit häufigeren Rückfällen verbunden als Typ II. Zu 95% ist Typ I mit den humanen Leukozytenantigenen (HLA) Cw-6, B-13, B-17, Bw-57, DR-7 assoziiert.

Typ II: In 30 – 40% der Fälle handelt es sich um eine Typ II-Psoriasis. Sie manifestiert sich erst nach dem 40. Lebensjahr („late-onset-Psoriasis“). Im Vergleich zu Typ I zeigt sich keine familiäre Häufung, Nagelveränderungen und Gelenkbeschwerden sind dafür vermehrt anzutreffen. Der Krankheitsverlauf ist meist stabiler und ohne große Rückfallneigungen. Eine Assoziation mit HLA-Antigenen ist nur schwach ausgeprägt.

Die *Psoriasis vulgaris* wird auch als chronische Plaque-Typ-Psoriasis bezeichnet. Als klinisch häufigste Form tritt sie in den unterschiedlichsten Schweregraden auf, die sich vom minimalen Befallsmuster mit wenigen Läsionen bis hin zur großflächigen Entzündung des gesamten Integuments und stark beeinträchtigtem Allgemeinzustand präsentieren kann. Die Psoriasis verläuft im Allgemeinen schubweise. Zu Beginn eines Schubes zeigen sich meist kleine, punktförmige Herde, die sich vergrößern und konfluieren können. Auf diese Weise bilden sich die unterschiedlichsten Formen: landkartenartig (*P. geographica*), ringförmig (*P. anulare*) oder gewunden (*P. gyrata*). Die gut abgrenzbaren, erythematösen Herde bzw. Plaques, die charakteristischerweise von silbrigen Schuppen bedeckt sind, bilden sich bei Abklingen eines Schubes oder unter Therapie nahezu vollständig zurück. Schmerz oder übermäßiger Juckreiz werden nur in seltenen Fällen empfunden. Als stark beeinträchtigend beschreiben Patienten jedoch die zum Teil stark ausgeprägte Schuppung und das eigene, von den zahlreichen Läsionen gezeichnete „Erscheinungsbild“ (Nickoloff und Nestle 2004).

In 30-50% der Fälle kommt es zusätzlich zum Befall der Haut zu Veränderungen an den Nägeln. Hier werden Tüpfelnägel, Ölflecken und Krümelnägel unterschieden. Sind die Plaques nicht an den typischen Prädilektionsstellen zu finden, sondern in Körperfalten, Achselhöhlen, Gelenkbeugen und der Analgegend spricht man von einer *Psoriasis inversa*. Die Plaques sind je nach Lokalisation stark gerötet, scharf begrenzt und glänzend und die typische Schuppung kann fehlen (Braun Falco, Plewig et al. 1995). Die *Psoriasis pustulosa* zeichnet sich dagegen durch Hautbefall mit Pustelbildung aus. Bei einer Psoriasis pustulosa finden sich zahlreiche kleine, sterile Pusteln auf der Haut, die schubartig lokalisiert bzw. generalisiert auftreten können. Diese beiden Formen der Psoriasis kommen jedoch wesentlich seltener als die Psoriasis vulgaris vor und unterscheiden sich nicht nur im Erscheinungsbild, sondern auch im Krankheitsverlauf und der Therapie (Braun Falco, Plewig et al. 1995; Prinz 2004). Eine weitere sehr wichtige Erscheinungsform ist die *Psoriasis arthropathica*. In bis zu 30% der Fälle kann es bei einer bereits bestehenden Psoriasis zu einer Gelenkbeteiligung kommen. Die Psoriasis arthropathica zeichnet sich durch einen chronisch-entzündlichen Befall von Gelenken, vor allem der Finger und Zehen, aber auch der größeren Gelenke (z.B. Knie, Hüftgelenke, Sprunggelenke) aus.

Therapie und Therapiemonitoring

Die wichtigsten Ziele, die neben der Ausschaltung von möglichen Provokationsfaktoren in der Psoriasis therapie verfolgt werden, sind die Normalisierung der Hyperproliferation und die Hemmung der übersteigerten Immunreaktion mit entsprechender Hemmung der

Entzündungsreaktion. Je nach Schweregrad der Erkrankung stehen verschiedene Therapiekonzepte zur Verfügung. Leichtere Formen der Psoriasis können lokal behandelt werden. Topische Kortikoide in Kombination mit Vitamin-D3-Präparaten oder einer Phototherapie, Dithranol und Retinoide sind hier Mittel der Wahl. Die Phototherapie umfasst vor allem eine selektive UV-B-Bestrahlung und die Psoralen-UV-A-Therapie (PUVA). In schweren Fällen, die auf lokale Therapien nicht ausreichend ansprechen, kann eine Phototherapie begleitend zu systemischen Therapien mit z.B. Methotrexat (MTX), Retinoiden oder Fumarsäureestern angewandt werden. Durch die Entwicklung so genannter „Biologika“ können inzwischen auch schwere Psoriasisformen erfolgreich therapiert werden, bei denen jegliche lokale und systemische Therapieformen ohne Erfolg blieben. Bei den Biologika handelt es sich um gentechnisch hergestellte, antientzündliche Eiweißmoleküle, die gezielt in die gestörten immunologischen Vorgänge eingreifen können, indem sie spezifisch Zytokine bzw. deren Rezeptoren blockieren. Auf diese Weise kann z.B. die Wirkung des entzündungsfördernden Tumornekrosefaktors alpha (TNF- α) gezielt reguliert und gehemmt werden. Zusätzlich zur spezifischen Therapie sollte begleitend eine intensive Pflege-therapie durchgeführt werden. Auch die klimatische Abhängigkeit der Erkrankung und die psychische Stabilität des Patienten sollten in der Therapie berücksichtigt werden (Mrowietz 2003; Nast, Kopp et al. 2007; Traub und Marshall 2007).

Um den Schweregrad der Erkrankung und den Erfolg der angewendeten Therapie zu objektivieren, sollte stets der PASI (Psoriasis Area and Severity Index) erhoben werden. Dieser 1978 von Fredriksson und Pettersson entwickelte Score beschreibt die Ausdehnung und die Schwere der Hautveränderungen. Beurteilt werden 4 Körperregionen: Kopf, Rumpf, Arme und Beine. Das Ausmaß der betroffenen Hautflächen dieser Regionen wird anhand einer 7-Punkte-Skala (0 = keine Beteiligung des Körperabschnittes, 1 = < 10%, 2 = 10 bis < 30%, 3 = 30 bis < 50%, 4 = 50 bis < 70%, 5 = 70 bis < 90% und 6 = 90 bis 100%) beschrieben. Um den Schweregrad der Erkrankung zu erfassen, werden die Psoriasis-Herde anhand einer 5-Punkte-Skala (0 = nicht vorhanden, 1 = leicht, 2 = mäßig, 3 = stark, 4 = sehr stark) beurteilt, bewertet werden dabei: Erythem, Infiltration und Schuppung. Mit einer Formel, in die die Flächenanteile jeder Region und die Beschreibung der Psoriasis-herde einfließen, wird der PASI-Wert errechnet, der maximal einen Wert von 72 annehmen kann. Werte von 10 Punkten und kleiner beschreiben eine leichte Form der Erkrankung, Werte von 10 bis 50 beschreiben eine mittelschwere und Werte größer 50 eine schwere Form der Psoriasis (Fredriksson und Pettersson 1978).

1.2. Schutzmechanismen der Haut

Die „physikalische Barriere“

Die Haut, eines der größten Organe des Menschen, steht in einem ständigen Kontakt zu verschiedenen Umweltfaktoren. Zu diesen Faktoren zählt auch eine für die gesunde Haut charakteristische mikrobielle Flora. Zwischen 10^2 und 10^7 Mikroorganismen pro cm^2 leben in kleinen Kolonien organisiert über den gesamten Körper verteilt. Trotz dieser ständigen Präsenz potentiell schädlicher Mikroorganismen wie Bakterien, Pilze und Viren kommen primäre Hautinfektionen jedoch nur relativ selten vor. Der menschliche Organismus hat verschiedene Strategien entwickelt, um sich vor pathogenen Einflüssen zu schützen. Die oberste Schicht der Haut, das Stratum corneum, und die Schleimschicht der Mukosa agieren in diesem Sinne als „physikalische Barriere“. Kontinuierlich werden durch Desquamation und Schleimabsonderung an der Oberfläche festsitzende Mikroorganismen entfernt. Neben der ständigen Oberflächenerneuerung sind auch ein relativ niedriger pH-Wert („Säureschutzmantel“) und eine Lipidbarriere aus langkettigen Fettsäuren am Schutz der Haut vor einer Invasion von Mikroorganismen beteiligt. Ein ausreichender Schutz vor Infektionen wird dadurch jedoch nicht garantiert (Weinberg und Swartz 1993). Eine weitere Möglichkeit des Organismus, sich gegen Infektionen zur Wehr zu setzen, basiert auf dem Einsatz verschiedener Zellen des Immunsystems. In den Organismus eingedrungene, potentiell pathogene Erreger werden von spezialisierten Effektorzellen eliminiert. Zu diesen gehören z.B. neutrophile und eosinophile Granulozyten (zur Abwehr von Bakterien, Pilzen, Parasiten), natürliche Killerzellen (im Falle virusinfizierter Zellen) sowie Makrophagen, T- und B-Lymphozyten. Normalerweise zirkulieren diese professionellen Abwehrzellen im Blut und werden erst durch bestimmte Botenstoffe, z.B. Zytokine, dazu veranlasst, innerhalb von Stunden in entzündetes Gewebe einzuwandern. Ohne einen entzündlichen Prozess sind diese Zellen also nicht in den Epithelien vorzufinden und können somit nicht primär für die Infektionsabwehr der Haut verantwortlich sein. Des Weiteren muss die Immunität gegenüber bestimmten Erregern im Rahmen der spezifischen Abwehr erst erworben werden. Die „Aktivierung“ dieses adaptiven, erregerspezifischen Systems benötigt jedoch viel Zeit (Schroder 1999; Schroder 2002). Wenn man nun bedenkt, dass sich die Bakterienanzahl unter optimalen Lebensbedingungen innerhalb von 20 Minuten verdoppeln kann, ist es erstaunlich, dass die Besiedlung der gesunden Körperoberfläche durch Mikroorganismen relativ konstant bleibt und durch sie hervorgerufene Infektionen nur sehr selten vorkommen. Der Organismus „muss“ also neben der physikalischen Barriere und der zellulären Abwehrmechanismen noch

eine weitere, schnellere Möglichkeit zur Infektionsabwehr besitzen, um adäquat auf den permanenten Kontakt mit den zahlreichen Mikroorganismen reagieren zu können (Schroder 2002).

Die „chemische Barriere“

Pflanzen besitzen kein zelluläres Immunsystem und wirbellose Tiere, wie Insekten, verfügen nur über ein primitives Immunsystem. Ihre Oberflächen werden jedoch auch permanent von Mikroorganismen besiedelt. Um sich vor möglichen Infektionen durch diese zu schützen, sezernieren pflanzliche bzw. tierische Epithelien antimikrobielle Proteine (Schroder 1999), eine Substanzklasse evolutionsbiologisch sehr alter Moleküle, die in den letzten Jahren zunehmend Bedeutung erlangt hat. Die antimikrobiellen Proteine (AMP), auch als „Effektormoleküle der angeborenen Immunität“ bezeichnet, gelten neben der physikalischen Barriere heute als das chemische Abwehrsystem der Epithelien (Boman 2000). Dieses angeborene, unspezifische Immunsystem („innate immunity“) ergänzt bei Mensch und Tier die adaptive, zelluläre Abwehr und ermöglicht eine schnelle und effiziente Reaktion auf pathogene Erreger, bevor diese in den Organismus eindringen können. Sowohl pflanzliche, als auch tierische AMP sind in der Lage verschiedenste Mikroorganismen direkt abzutöten und somit die mikrobielle Besiedlung ihrer Oberflächen zu kontrollieren. Die AMP können in diesem Sinne als eine neue Klasse körpereigener Antibiotika betrachtet werden (Schroder 1999) und im Laufe der letzten Jahre konnte eine Vielzahl von AMP identifiziert werden. Sie unterscheiden sich in ihrer zellulären Quelle (z.B. Epithelien, Schweißdrüsen, Granulozyten), ihrem Wirkspektrum (Gram-positive und –negative Bakterien, Pilze, Viren, Parasiten) und ihrer Induzierbarkeit.

Dass auch Vertebraten über ein epitheliales chemische Schutzschild verfügen (Schroder 1999), wurde bereits 1987 vermutet. M. Zasloff und Mitarbeiter beobachteten, dass sich die Wunden frischoperierter Laborfrösche, die in einen schlammigen Laborteich zurückgesetzt wurden, nicht entzündeten (Zasloff 1987). Sie begannen daraufhin gezielt nach Faktoren zu suchen, die die Froschhaut vor Infektionen schützen und charakterisierten das erste antimikrobielle Peptid der Froschhaut, das „Magainin“ (hebräisch: Schutzschild) genannt wurde. Dieser Entdeckung folgte die Identifikation weiterer AMP. Nach der Isolierung von Magainin war es nahe liegend zu untersuchen, ob und in wie weit auch die menschliche Haut in der Lage ist, antimikrobielle Faktoren zu bilden.

Dass Alexander Fleming bereits 1922 eine solche antimikrobielle Substanz, die später als Lysozym identifiziert wurde, in menschlichem Nasensekret beschrieb, wurde lange nicht

beachtet. Erst 1986 dokumentierte die Arbeitsgruppe um Chen, dass auch Keratinozyten Lysozym produzieren können (Chen, France et al. 1986). Die antimikrobielle Wirksamkeit richtet sich vor allem gegen Gram-positive Bakterien. Der Proteaseinhibitor Antileukoprotease (ALP) (Wiedow, Harder et al. 1998) und sekretorische Phospholipase A₂ (Qu und Lehrer 1998) gehören ebenfalls zu den von Keratinozyten gesunder Haut gebildeten antimikrobiellen Proteinen. Weitere Untersuchungen zeigten, dass auch Schweiß ein antimikrobielles Peptid, Dermcidin, enthält (Schitteck, Hipfel et al. 2001). Dermcidin wird von Schweißdrüsen produziert und ist gegen Gram-positive und -negative Bakterien und Pilze gerichtet.

Die bislang aufgezählten AMP des Menschen werden konstitutiv gebildet. Verschiedene Studien zeigten jedoch, dass die Synthese antimikrobieller Proteine offensichtlich auch durch Stimulation induziert werden kann. Induzierbare Peptide finden sich in gesunden Epithelien nur in sehr geringen Mengen. Um ihre Existenz in humanen Epithelien nachweisen zu können, wurde daher biologisches Material entzündeter Regionen untersucht. Für diese Analysen boten sich läsionale Hautschuppen von Psoriasispatienten an (Harder, Bartels et al. 1997; Harder, Bartels et al. 2001; Harder und Schroder 2005). Ausschlaggebend für die Wahl dieses Untersuchungsmaterials war die Erkenntnis, dass die Haut von Psoriasis-Patienten im Gegensatz zur Haut gesunder Personen wesentlich stärker von Mikroorganismen besiedelt ist, Psoriasispatienten jedoch trotz der erhöhten Bakteriendichte nur selten unter bakteriell bedingten Hautinfektionen leiden (Henseler und Christophers 1995).

Die humanen β -Defensine hBD-2 und hBD-3 konnten erstmalig in Kiel aus Psoriasissschuppen identifiziert werden. hBD-2 (Schroder und Harder 1999) besitzt eine hohe antimikrobielle Wirksamkeit gegenüber Gram-negativen Erregern und der Hefe *Candida albicans*, hBD-3 (Harder, Bartels et al. 2001) zeichnet sich dagegen durch ein eher breites Wirkungsspektrum aus. Neben den humanen β -Defensinen wurden weitere AMP in der Haut des Menschen entdeckt, wie LL-37, das zur Familie der Cathelicidine („Cathelin-artige bakterizide Proteine“) gehört. Als induzierbares AMP (Frohm, Agerberth et al. 1997) ist es gegen eine Vielzahl mikrobieller Erreger gerichtet. Dass LL-37 eine besondere Rolle in der Abwehr von Streptokokken der Gruppe A besitzt (Nizet, Ohtake et al. 2001), konnte experimentell in einem Tiermodell mit Knockout-Mäusen gezeigt werden. Der Mensch besitzt nur ein einziges LL-37-Gen, bei anderen Säugetierarten wurden dagegen bereits mehrere Cathelicidin-Gene identifiziert (Frohm, Agerberth et al. 1997).

RNase 7 konnte aus Stratum corneum-Extrakten gesunder Haut isoliert werden (Harder und Schroder 2002). Seinen Namen erhielt RNase 7 aufgrund seiner großen Homologie zu den

Mitgliedern der RNase-A-Familie. Die Expression von RNase 7 wurde in unterschiedlichen Geweben, vor allem aber in den Keratinozyten der Haut und in den Epithelien des Respirationstraktes nachgewiesen. Das Protein wird konstitutiv exprimiert, ist jedoch durch Kontakt der Epithelien mit Bakterien oder durch proinflammatorische Zytokine induzierbar (Harder und Schroder 2002). Diese Funktion lässt schlussfolgern, dass auch RNase 7 eine wichtige Funktion in der epithelialen Abwehr besitzen könnte. Die antimikrobielle Aktivität von RNase 7 betrifft ein breites Spektrum pathogener Erreger. Selbst in niedrigen Konzentrationen ist RNase 7 in der Lage z.B. *S. aureus*, *P. aeruginosa* oder auch die Hefe *C. albicans* effizient abzutöten. Von besonderem Interesse ist die Tatsache, dass selbst multiresistente Enterokokken, wie z.B. Vancomycin-resistente *E. faecium*, in das Wirkspektrum von RNase 7 fallen (Harder und Schroder 2002).

1.3. Psoriasin (S100A7)

Im Rahmen der oben aufgeführten Forschungsarbeiten über „Endogene Schutzsysteme der Haut“ konnten bereits verschiedene antimikrobielle Proteine charakterisiert werden. Diese Proteine und ihre zahlreichen Fähigkeiten erklärten aber nicht, warum das Darmbakterium *Escherichia coli* (*E. coli*) trotz seiner „ständigen“ Präsenz als ubiquitärer Darmkeim mit vielfältigen Kontaminations- und Infektionsmöglichkeiten nur selten auf der Haut nachzuweisen ist (Noble 1992). Auch Hautinfektionen werden nur sehr selten durch *E. coli* verursacht. Lediglich bei Epitheldefekten, wie z.B. bei Ulcus cruris oder bei Brandwunden, konnte *E. coli* in vereinzelten Fällen nachgewiesen werden (Louie, Bartlett et al. 1976; Han 1989). Diese Erkenntnis war Gegenstand weiterer Untersuchungen zur Identifizierung eines speziell gegen *E. coli* gerichteten AMP der Haut. *E. coli* gehört zu der Familie der Enterobacteriaceae (griechisch: „enteron“, Darm). Das Gram-negative, fakultativ anaerobe Stäbchen ist Bestandteil der physiologischen Darmflora, in der Regel finden sich pro Gramm Stuhl bis zu 10^{11} *E. coli*-Bakterien. Befindet es sich jedoch außerhalb des Darms, kann es als fakultativ pathogener Keim Auslöser von verschiedenen Infektionen sein. So wird die Konzentration an *E. coli* beispielsweise als Indikator für den fäkalen Verschmutzungsgrad von Trink- und Schwimmbadwasser sowie bei Nahrungsmitteln verwendet.

Die Haut scheint in besonderer Weise vor *E. coli*-Infektionen geschützt zu sein. Verschiedene Versuche zeigten, dass *E. coli*, im Gegensatz zu anderen Bakterien, die menschliche Haut nicht ungestört besiedeln kann und dementsprechend selten nachweisbar ist (Casewell und

Desai 1983; Glaser, Harder et al. 2005). So war es experimentell nicht möglich, auf Abklatschpräparaten *E. coli*-Bakterien, die zuvor für 30 min in einer Suspension auf Fingerbeeren von Testpersonen appliziert wurden, anschließend in Kulturen nachzuweisen, während dieses für *S. aureus* problemlos gelang (Glaser, Harder et al. 2005).

Psoriasin, ein weiteres AMP, das aus Stratum corneum-Extrakten Gesunder isoliert werden konnte, kann dieses Phänomen heute erklären (Glaser, Harder et al. 2005). Das 11,366 kDa große Protein Psoriasin (S100A7) gehört zur Familie der S100-Proteine. Entdeckt wurde es als eines der Proteine, die in läsionalen Keratinozyten bei Psoriasispatienten in stark erhöhter Konzentration vorzufinden sind (Celis, Cruger et al. 1990), die Funktion von Psoriasin blieb jedoch lange Zeit unklar.

S100-Proteine zählen zu den sauren Proteinen mit niedriger Molekülmasse. Der Begriff „S100“ entstand 1965, als Moore in Rinderhirn ein nervenspezifisches Protein entdeckte, das in zu 100% gesättigtem Ammoniumsulfat löslich war (Moore 1965). Zurzeit werden 21 Mitglieder der S100-Familie unterschieden (Eckert, Broome et al. 2004). Sie sind in eine Vielzahl zellulärer, wie auch extrazellulärer Prozesse involviert. Intrazellulär beteiligen sie sich beispielsweise an der Regulation von Zellwachstum und -motilität, am Zellzyklus, der Transkription und Differenzierung (Heizmann, Fritz et al. 2002). Die Bezeichnung „S100A7“ für Psoriasin ergab sich durch die Einführung einer neuen Nomenklatur, diese begründete sich auf der Kartierung der S100-Gene auf dem Chromosom 1q21. Die physikalische Anordnung spiegelt sich im Namen wider (Schafer, Wicki et al. 1995). Psoriasin wird den kalziumbindenden Proteinen zugeordnet (Hoffmann, Olsen et al. 1994). Aufgrund einiger Abweichungen in der dreidimensionalen Anordnung ist die Affinität zu Kalzium im Gegensatz zu anderen S100-Proteinen jedoch geringer ausgeprägt (Brodersen, Etzerodt et al. 1998). Des Weiteren besitzt Psoriasin die Fähigkeit auch andere zweiwertige Ionen, wie z.B. Zink, zu binden (Vorum, Madsen et al. 1996).

Untersuchungen zur Expression von Psoriasin zeigten, dass das Protein von Keratinozyten gesunder und erkrankter Haut gebildet wird. So konnte Psoriasin, abgesehen von Psoriasis, auch bei anderen Hautkrankheiten nachgewiesen werden, die von Hyperproliferation und Entzündung der Haut geprägt sind: atopische Dermatitis, Mycosis fungoides, Morbus Darier und Lichen sclerosus et atrophicus (Algermissen, Sitzmann et al. 1996). Des Weiteren konnte Psoriasin in Tumoren wie Mamma-Karzinomen (Moog-Lutz, Bouillet et al. 1995), Blasenkarzinomen (Celis, Rasmussen et al. 1996) und Hauttumoren (Alowami, Qing et al. 2003; Moubayed, Weichenthal et al. 2007) nachgewiesen werden. Celis et al. konnten im

Rahmen von Untersuchungen an Blasenkarzinomen zeigen, dass Psoriasin hier verstärkt exprimiert wird und auch im Urin der Patienten nachweisbar ist (Celis, Rasmussen et al. 1996). Eine Rolle Psoriasins als potentieller Tumormarker wurde diskutiert. In einer aktuellen Studie über Mamma-Karzinome konnte gezeigt werden, dass Psoriasin als Marker verschiedener Tumorstadien oder Entitäten betrachtet werden kann (Wolf, Voscopoulos et al. 2009). Die genaue „Funktion“ Psoriasins im Rahmen dieser Krebserkrankungen wird jedoch weiterhin untersucht. In gesunder Haut konnte eine Induktion der Psoriasinexpression als Reaktion auf eine UV-B-Bestrahlung gezeigt werden (Di Nuzzo, Sylva-Steenland et al. 2000; Glaser, Navid et al. 2009). Eine ebenfalls erhöhte Psoriasinexpression konnte in Exsudat und Granulationsgewebe von Wunden beobachtet werden (Lee und Eckert 2007). Das antimikrobiell aktive Psoriasin wird vermutlich von den Keratinozyten, die die Wunden umgeben, sezerniert und in das Wundexsudat abgegeben.

Die Klärung der antimikrobiellen Funktion und des Wirkmechanismus, wie auch die Frage der Induzierbarkeit und des Erregerspektrums Psoriasins, waren Gegenstand einer Reihe von Untersuchungen. Psoriasin konnte als ein stark wirksames und bevorzugt gegen *E. coli* gerichtetes antimikrobielles Protein charakterisiert werden. So konnten Gläser et al. 2005 zeigen, dass im Falle einer Interaktion zwischen dem Protein und *E. coli* Bakterien die letale Dosis für 90% der Bakterien (LD 90) $<0,5 \mu\text{M}$ Psoriasin beträgt. Auf der Haut befindet sich jedoch ein Vielfaches dieser Konzentration. Diese Erkenntnis trägt dazu bei, den fehlenden Nachweis von *E. coli* auf der Haut zu erklären. Unterschiedliche Isolate von *E. coli* wurden alle mit der gleichen o.g. Aktivität abgetötet, während die Konzentration an Psoriasin um ein Vielfaches erhöht werden musste, um andere Erreger, wie *S. aureus*, *P. aeruginosa* oder *S. epidermidis*, abzutöten (Glaser, Harder et al. 2005).

Als zelluläre Quelle von Psoriasin in der Haut konnten bisher Keratinozyten und Sebozyten (Lipid-produzierende Zellen der Talgdrüsen) identifiziert werden. Psoriasin-mRNA-Expression wurde in einer Reihe anderer Gewebe nachgewiesen, wie den Epithelien der Mundhöhle, der Luftwege, im Uterus, Colon und Thymus (Glaser, Harder et al. 2005).

Die Klärung der Frage, ob Psoriasin auf einen äußeren Reiz hin sezerniert wird, führte zu weiteren Untersuchungen. Hoffmann et al. stellten bereits 1994 eine Induzierbarkeit des Proteins durch Kalzium fest (Hoffmann, Olsen et al. 1994). Auch die Tatsache, dass die Psoriasinkonzentration in entzündeter Haut um ein Vielfaches erhöht ist, spricht für eine stimulierbare Expression des Proteins. Faktoren, die die Psoriasinausschüttung induzieren können, sind Entzündungsmediatoren wie z.B. Interleukine, der Tumor-Nekrose-Faktor α oder bakterielle Stimuli (Glaser, Harder et al. 2005). Gläser et al. konnten die Induzierbarkeit

Psoriasins nicht nur im Rahmen von *in vitro*-Versuchen mit Keratinozyten belegen, sondern auch anhand von *in vivo*-Versuchen. Keratinozyten gesunder Haut begannen innerhalb weniger Stunden mit der Produktion und Sekretion Psoriasins nach Kontakt mit bakteriellen Kulturüberständen. Ein entzündlicher Prozess ist also nicht ausschließlich für eine Induktion und Sekretion des Proteins maßgeblich (Glaser, Harder et al. 2005). Auf der Körperoberfläche wird Psoriasin regionsabhängig unterschiedlich stark sezerniert (Glaser, Harder et al. 2005). So konnte gezeigt werden, dass dort, wo die mikrobielle Besiedlung der Haut am höchsten ist (behaarte Kopfhaut, Gesicht, Achselhöhlen, Handflächen und Fußsohlen), auch die Konzentration von Psoriasin auf der Hautoberfläche am höchsten ist. Um den Wirkmechanismus Psoriasins aufzuklären, wurden weiterführende Untersuchungen durchgeführt. Da Psoriasin neben Kalzium weitere für Mikroorganismen essentielle zweiwertige Ionen (z.B. Zink) binden kann, wurde postuliert, dass die antimikrobielle Aktivität durch Entzug dieser Ionen mediiert sein könnte. In *in vitro*-Experimenten wurde beobachtet, dass die *E-coli*-zide Aktivität Psoriasins durch die Zugaben von Zink-Ionen dosisabhängig gehemmt wurde (Glaser, Harder et al. 2005). Die antimikrobielle Wirkung von Psoriasin wird also über den Entzug von Zink-Ionen vermittelt, die für den Stoffwechsel von *E. coli* essentiell sind und diese Erkenntnis wurde im Rahmen von *in vivo*-Versuchen bestätigt. Diese Ergebnisse untermauern die bedeutende Rolle, die Psoriasin im Rahmen der epithelialen Abwehr gegen *E. coli* einnimmt.

1.4. Ziele der Arbeit, Fragestellung

Das antimikrobielle Protein Psoriasin scheint über zahlreiche (größtenteils unerforschte) Fähigkeiten zu verfügen. Ziel dieser Arbeit war es, *die Bedeutung von Psoriasin bei der Psoriasis* weiter zu analysieren. Da es bisher bis auf den klinischen PASI-Score keinen relevanten Aktivitätsmarker zur Charakterisierung einer Psoriasis gibt, war es von großem Interesse zu untersuchen, ob Psoriasin als potentiell „krankheitsassoziiertes Protein“ im Serum nachweisbar ist. Durch den Vergleich gesunder (Kontroll-) Personen mit Psoriasis vulgaris-Patienten bzw. Patienten mit anderen entzündlichen, nicht infektiösen und infektiösen Dermatosen sollten Erkenntnisse in Bezug auf die Spezifität und das Expressionsmuster von Psoriasin gewonnen werden, um weitere Rückschlüsse auf die Funktion und Regulation des Proteins ziehen zu können. Weiterhin sollten Seren von Patienten in Abhängigkeit zu allgemeinen Entzündungsparametern sowie verschiedenen anamnestischen und klinischen Faktoren auf das Vorhandensein von Psoriasin analysiert werden. Sollten Korrelationen zwischen der Psoriasinkonzentration im Serum und diesen Parametern erkennbar sein, sollten sich weiterführende Fragen anschließen:

- Ist der Serumspiegel von Psoriasin ein geeigneter Messwert zur Charakterisierung einer Psoriasis?
- Korreliert der Serumspiegel mit der Aktivität/dem Schweregrad der Erkrankung?
- Korreliert der Psoriasin-Spiegel im Serum mit dem „Therapieansprechen“ einer Psoriasis und wäre demnach zum „Therapiemonitoring“ geeignet?

2. Material und Methoden

2.1. Chemikalien

ABTS	Roche Diagnostics, Mannheim
BSA	Sigma-Chemie, Deisenhofen
H ₂ O	Delta Select GmbH, Dreieich
KCL	Merck, Darmstadt
KH ₂ PO ₄	Merck, Darmstadt
Na ₂ CO ₃	Merck, Darmstadt
Na ₂ HPO ₄	Merck, Darmstadt
NaCl	Merck, Darmstadt
NaH ₂ PO ₄	Merck, Darmstadt
NaHCO ₃	Merck, Darmstadt
PBS	Bioconcept, Umkirch
Streptavidin-POD- Konjugat	Roche Diagnostics, Mannheim
Tween 20	Sigma-Chemie, Deisenhofen

Nicht aufgeführte Chemikalien wurden über die Firma Merck (Darmstadt) bzw. Sigma-Chemie (Deisenhofen) bezogen.

2.2. Puffer und Lösungen

Carbonatpuffer, 0,05M	75,0 ml Na ₂ CO ₃ (0,2M) 175,4 ml NaHCO ₃ (0,2M) ad 1l H ₂ O pH 9,6
PBS (10-fach)	80,0g NaCl 2,0g KCl 11,5g Na ₂ HPO ₄ x 2 H ₂ O 2,0g KH ₂ PO ₄ ad 1l H ₂ O pH 7,2
PBS/BSA-Lösung	PBS 1% BSA
Verdünnungspuffer	PBS 0,1% Tween 20

Waschpuffer	PBS 0,05% Tween 20
Natrium-Phosphatpuffer/BSA, 10mM	3,16 ml NaH ₂ PO ₄ (1M) 6,84 ml Na ₂ HPO ₄ (1M) ad 1l H ₂ O pH 7,2 0,1% BSA

2.3. Geräte und Verbrauchsmaterialien

Biometra OV3	Biometra, Göttingen
Biosphere Filter Tips	Eppendorf, Hamburg
Centrifuge 5417R	Eppendorf, Hamburg
EL _x 50 Auto Strip Washer	BioTek Instruments, USA
Falcon Tubes	Sarstedt, Nümbrecht
Kern-Waage	Kern & Sohn, Albstadt
Mikro Tubes	Sarstedt, Nümbrecht
Mikrotiterplatten	MaxiSorp; Nunc TM , Denmark
Multikanal Photometer Sunrise	Tecan, Crailsheim
Parafilm	Pechiney, Chicago, USA
Pipetten	Eppendorf, Hamburg
Thermomixer comfort	Eppendorf, Hamburg
Vortex VF2	Janke & Kunkel, Staufen
Zentrifuge Biofuge 17RS	Heraeus, Hanau

2.4. Antikörper

Die Antikörper 1 und 2 wurden freundlicherweise von Herrn Dr. rer. nat. Hans Lange (Institut für Experimentelle Chirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel) zur Verfügung gestellt. Diese gegen natürliches humanes Psoriasin gerichteten monoklonalen Antikörper wurden mittels standardisierter Methoden generiert und ihre Spezifität mittels Westernblot verifiziert (Glaser, Harder et al. 2005).

1. primärer Antikörper (Ak1) HL 15-4
2. sekundärer Antikörper (Ak2) HL 44-8
3. tertiärer Antikörper (Ak3) Ziege-anti-Maus (Southern Biotechnology Associates, USA).

2.5. Serumproben

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden in einem Zeitraum von zirka 3 Jahren Serumproben verschiedener Patientengruppen in der Klinik für Dermatologie am Universitäts-Klinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, sowie Proben gesunder Kontrollpersonen gesammelt. Für diese Studie lag ein positives Ethikvotum vor (Aktenzeichen AZ A 104/06). Die Blutentnahmen erfolgten nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung der Patienten und Probanden. Bis zur Untersuchung der Seren mittels ELISA-Tests wurden die Serumproben aliquotiert bei -80°C gelagert. Zur Dokumentation aller wichtigen Parameter der einzelnen Patienten wurden Erhebungsbögen erstellt, mit denen alle für diese Studie relevanten Daten erfasst und anschließend analysiert werden konnten. Diese Erhebungsbögen erfassten die Daten bei Aufnahme und im wöchentlichen Verlauf des stationären Krankenhausaufenthaltes bis zur Entlassung.

Kontrollpersonen

Serumproben von 70 gesunden Blutspendern wurden vom Institut für Transfusionsmedizin in Kiel zur Verfügung gestellt.

Patientengruppen

Neben 128 Patienten mit Psoriasis vulgaris (59 Frauen und 69 Männer im Alter von 12 – 87 Jahren) wurden Serumproben von 26 Neurodermitis-, 10 Erysipel- und 11 Zosterpatienten untersucht.

Dokumentation

Den Patienten wurde am Tag der Aufnahme, einmal wöchentlich während des gesamten stationären Aufenthaltes (unter Therapie) und am Tag der Entlassung Blut abgenommen. Gleichzeitig wurde bei jeder Blutentnahme neben der Serumgewinnung die Gesamtleukozytenanzahl, die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) und die Konzentration an C-reaktivem Protein (CRP) bestimmt. Bei allen Psoriasispatienten wurde am Tag der Blutabnahme der PASI (psoriasis activity and severity index) (Fredriksson und Pettersson 1978) erhoben. Der PASI gibt Auskunft über den aktuellen Schweregrad der Psoriasis durch Beurteilung von Erythem, Infiltration und Schuppung im Bereich verschiedener Körperlokalisationen (Kopf, Rumpf, Arme, Beine) unter Berücksichtigung des prozentualen Anteils der jeweils betroffenen Körperregion. Werte bis 10 beschreiben auf der

PASI-Skala von 0 bis 72 eine leichte Form der Erkrankung, Werte größer 10 eine mittelschwere und Werte größer 50 eine schwere Psoriasis. Neben der Dokumentation des spezifischen Krankheitsverlaufs wurden zusätzlich allgemeine anamnestische und klinische Parameter aus den Patientenakten dokumentiert (Erhebungsbögen im Anhang).

2.6. ELISA

Prinzip der ELISA-Technik

Mit Hilfe eines „enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA) können Proteine anhand einer antikörpervermittelten Farbreaktion in verschiedenen Flüssigkeiten nachgewiesen werden. Im Gegensatz zum Festphasenimmunoassay, ebenfalls ein immunologisches Nachweisverfahren, trägt der zweite Antikörper bei einem ELISA keine radioaktive Markierung bzw. Fluoreszenz-Markierung, sondern ein Enzym. Im Detail handelt es sich bei dem hier verwendeten Test um einen „Sandwich-ELISA“. Das bedeutet, dass das Antigen zwischen den beiden Antikörpern in einem Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex eingebunden ist, quasi wie in einem „Sandwich“.

Ablauf: Das zu untersuchende Antigen (hier: Psoriasin) wird von einem spezifischen Antikörper (Ak 1) im Rahmen einer Antigen-Antikörper-Reaktion gebunden. In einem weiteren Schritt bindet ein zweiter Antikörper (Ak 2), der zuvor mit einem Enzym markiert wurde, an diesen Immunkomplex. Das Enzym löst, nach Reaktion mit einer chromogenen Substanz, die eigentliche Farbreaktion aus, die photometrisch bestimmt werden kann. Die Farbintensität ist dabei proportional zur Konzentration des untersuchten Antigens.

Zur Identifikation des antimikrobiellen Proteins Psoriasin im Serum der Patienten und Kontrollpersonen wurde im Vorfeld eigens ein ELISA mit 2 monoklonalen Antikörpern (Klon HL 15-4 und Klon HL 44-8) etabliert und standardisiert. Um eine standardisierte Auswertung aller ELISA-Daten zu ermöglichen, wurden serielle Verdünnungsreihen zur Generierung von Standardkurven hergestellt, für die aus Callus-Extrakten stammendes natürliches Psoriasin verwendet wurde. Die untere Nachweisgrenze lag bei 0,625 ng, die obere bei 10 ng Psoriasin pro ml Serum bzw. Puffer. Zur Kontrolle der Spezifität, sowie zur Erfassung der Reproduzierbarkeit wurden neben der Standardreihe jeweils eine Leerprobe und eine Serumprobe mit bekannter Psoriasinkonzentration auf jeder Platte mitgeführt. Um Schwankungen durch Pipettierungenauigkeiten zu minimieren, wurde jede Probe dreifach

pipettiert und die Psoriasinkonzentrationen der Proben aus dem Mittelwert der Dreifachwerte ermittelt.

Standardisierung des ELISA

Um für alle zu testenden Serumproben identische Versuchsbedingungen und damit vergleichbare Ergebnisse zu schaffen, war es sinnvoll, den ELISA im Vorfeld zu standardisieren und ausreichende Mengen an benötigten Antikörpern und Reagenzien zur Untersuchung aller Serumproben bereitzustellen. Im Rahmen von Vorversuchen wurde gezeigt, dass eine Lagerung fertig angesetzter Gebrauchslösungen unter verschiedenen Bedingungen zur optimalen Standardisierung möglich war.

Vorversuche

Alle benötigten Reagenzien: Ak1 (primärer Antikörper), Ak2 (sekundärer Antikörper), Ziege-anti-Maus-Antikörper (tertiärer Antikörper), PBS/1%BSA, alle Psoriasin-Verdünnungen der Standardreihe, Streptavidin und ABTS wurden auf ihre erhaltene „Funktionalität“ bei verschiedenen Lagerbedingungen untersucht. Es stellte sich heraus, dass:

- 1) Ak1, Ak2 und Ziege-anti-Maus-Ak über mehrere Monate bei -20°C aufbewahrt werden können,
- 2) die „Psoriasinstandardreihe“ > ½ Jahr bei -80°C eingefroren werden kann, und dass
- 3) ABTS bis zu 3 Tagen bei 4°C im Kühlschrank gelagert werden kann, ohne dass ein Wirkungsverlust der einzelnen Komponenten eintritt.
- 4) PBS/1%BSA und Streptavidin für jeden ELISA frisch angesetzt werden müssen.

Anhand dieser Erkenntnisse konnte ein Großteil der benötigten Reagenzien bereits im Vorfeld in der benötigten Menge hergestellt, in Gebrauchslösung aliquotiert und bei entsprechender Temperatur aufbewahrt werden. Weiterhin wurde die Konzentration der Antikörper im Rahmen von Vorversuchen austitriert und auf eine optimale Konzentration eingestellt. Dank dieser umfangreichen Vorversuche zur Optimierung und Standardisierung war es möglich, alle ELISA-Tests zur Untersuchung der vorliegenden Patienten- und Kontrollproben unter vergleichbaren Bedingungen durchzuführen. Mögliche Fehlerquellen, wie herstellungsbedingte Schwankungen in den Konzentrationen des Antigens, der Antikörper, der Pufferlösungen o.ä., konnten dadurch minimiert werden.

Ablauf des ELISA

Der ELISA wurde in 96-Well-Mikrotiterplatten und, soweit nicht anders angegeben, bei Raumtemperatur durchgeführt. Alle Reagenzien wurden vor der Verwendung vollständig aufgetaut und gründlich resuspendiert.

1. Binden des primären Antikörpers (HL 15-4) an die Festphase:

Der primäre Antikörper wurde zunächst mit Carbonatpuffer auf 50 µg/ml verdünnt. Pro Vertiefung wurden 50 µl appliziert. Die Platten wurden abgedeckt, um eine mögliche Austrocknung zu verhindern. Die Inkubationszeit betrug 20 h bei 4°C.

2. Verhinderung unspezifischer Proteinbindungen:

Nach dem Verwerfen der Inhalte der Vertiefungen wurde zur Absättigung unspezifischer Proteinbindungen 1%ige bovine Serumalbumin-Lösung (BSA) in PBS aufgetragen (200 µl pro Vertiefung). Die Inkubationszeit betrug 10 Minuten. Danach erfolgte ein dreimaliger Waschvorgang der Platten im ELISA-Waschautomaten. Als Waschsubstanz diente PBS mit 0,05% Tween 20, jeweils 200 µl/Vertiefung.

3. Applikation der Serumproben und je einer standardisierten Psoriasin-Konzentrationsreihe (10, 5, 2,5, 1,25, 0,625 und 0 ng/ml) pro Platte:

Die Proben wurden in Dreifachwerten, jeweils 50 µl/Vertiefung, aufgetragen. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wurden die Platten wiederum dreimal im ELISA-Waschautomaten mit 200 µl Waschpuffer pro Vertiefung gewaschen.

4. Auftragen des sekundären Antikörpers (HL 44-8):

Um das gebundene Antigen Psoriasin nachweisen zu können, wurde der zuvor mit PBS/Tween verdünnte sekundäre Antikörper (1:50 Verdünnung) aufgetragen. Das applizierte Volumen betrug 50 µl je Vertiefung, inkubiert wurde für 30 Minuten. Anschließend wurden die Vertiefungen dreimal mit je 200 µl Waschpuffer gespült.

5. Nachweis des sekundären Antikörpers mit Hilfe eines Biotin-markierten Ziege-anti-Maus-IgG2a Sekundärreagenz:

In jede der Vertiefungen wurden 50 µl des mit PBS/Tween verdünnten Sekundärreagenz (1:5.000 Verdünnung) gegeben und für 30 Minuten inkubiert. Nach

der Inkubationszeit wurden die Platten dreimal im ELISA-Waschautomaten mit je 200 µl Waschpuffer pro Vertiefung gewaschen.

6. Kopplung von Streptavidin-POD Konjugat an die Festphase:

Das Streptavidin wurde in einer 1:10.000 Verdünnung in Waschpuffer in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten appliziert (50 µl/Vertiefung). Jede Platte wurde nach der Inkubationszeit von 30 Minuten 5x mit je 200 µl Waschpuffer gespült.

7. Auftragen von 2,2'-Azino-bis-3-Ethylbenzthiazolin-6-Sulfonsäure (ABTS) als Entwicklungsreagenz:

Zur Herstellung der ABTS-Lösung wurden 5 ml des 10-fach konzentrierten Substrat-Puffers für ABTS (das Konzentrat wurde im Vorfeld aliquotiert und bei -20°C gelagert) mit 45 ml destilliertem Wasser verdünnt. Danach wurde ABTS in dieser Arbeitslösung gelöst (50 ml Arbeitslösung pro Tablette (50 mg)). Pro Vertiefung wurde 50 µl des Substrates aufgetragen. Die Entwicklungszeit betrug 8-10 Minuten im Dunkeln.

8. Auswertung:

Die auf den ELISA-Platten einsetzenden Farbreaktionen wurden durch Messung der Extinktion bei 405 nm in einem Multikanal Photometer bestimmt. Pro Platte wurden mehrere Messungen durchgeführt und dann beendet, wenn die höchste Standardkonzentration eine Extinktion von 1 erreicht hatte. Die zur Berechnung der Psoriasisinkonzentrationen notwendigen Standardkurven wurden aus den Standard-Konzentrationsreihen ermittelt.

Interpretation der Ergebnisse des ELISA-Tests

Um eine möglichst große Genauigkeit der Messergebnisse zu erreichen, wurden zunächst die Mittelwerte der Extinktionen der dreifach pipettierten Standard-Konzentrationsreihe, sowie der Serumproben errechnet. Die graphische Darstellung der Extinktionen der Standard-Konzentrationsreihe in Relation zur Psoriasis-Konzentration zeigt den linearen Zusammenhang von Extinktion und Psoriasis-Konzentration. Es entsteht eine Gerade mit positiver Steigung, die Regressionsgerade bzw. „Standardkurve“, die verdeutlicht, dass die Farbintensität proportional zur Psoriasisinkonzentration ist. Um die Stärke dieses linearen Zusammenhangs zu quantifizieren, wurde der Regressionskoeffizient (r) bestimmt. Je näher r

an +1 (bzw. -1) herankommt, desto stärker ist der lineare Zusammenhang (und desto dichter liegen die Punkte/Messwerte an der Regressionsgeraden). Bei $r=0$ liegt kein linearer Zusammenhang vor. Anhand der aus der Standard-Konzentrationsreihe generierten Standardkurve konnte die Psoriasis-Konzentration der einzelnen Serumproben aus den photometrischen Messwerten rechnerisch ermittelt werden (Microsoft, Excel). Die Standardkurven wurden aus den Extinktionen der Psoriasinkonzentrationen zwischen 0 und 10 ng/ml generiert (Beispiel: Abbildung 1).

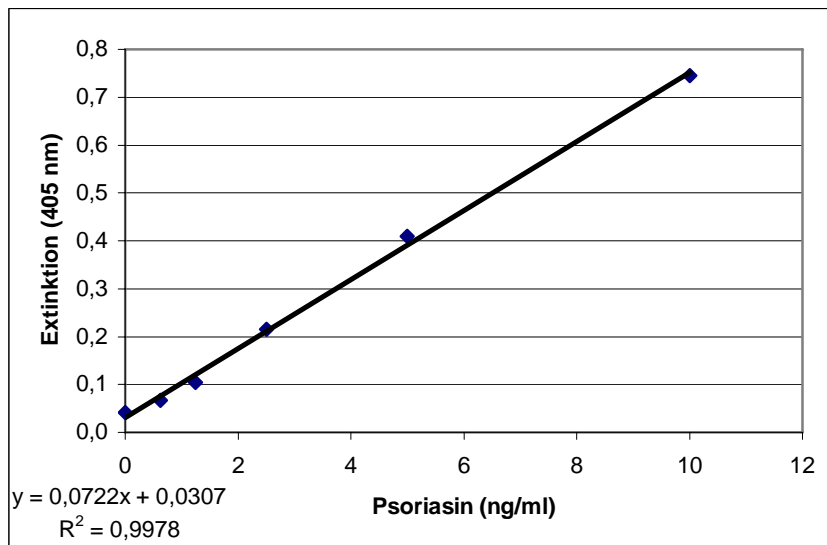


Abbildung 1: Beispiel einer Standardkurve. x-Achse=Psoriasinkonzentration in ng/ml; y-Achse=Extinktion der gemessenen Proben der Standardreihe

2.7. Statistik

Die statistischen Berechnungen wurden mit dem Softwarepaket SPSS V9.0 für Windows (SPSS, München) durchgeführt. Die deskriptive Statistik folgt Standardmethoden (Sachs 1990, Gardner 1989). Hier kamen für die Darstellung repräsentativer Zentralwerte je nach Verteilung arithmetische Mittelwerte oder Medianwerte zur Anwendung, ergänzt durch die Angabe von Standardabweichungen und/oder 95%-Vertrauensbereichen. Diese Daten wurden in Abhängigkeit vom Vorliegen normalverteilter Daten mittels t-Test oder aber U-Test (Wilcoxon-Mann-Whitney) teststatistisch verglichen. Die Darstellung kategorisierter Merkmale in der beschreibenden Statistik geschah unter Angabe von absoluten Zahlen und Prozentsätzen. Unterschiede in den Häufigkeiten wurden anhand des Chi-Quadrat-Tests auf Signifikanzen geprüft. Für alle Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 5\%$ festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1. Psoriasin ist im Serum Gesunder nachweisbar

Es wurden insgesamt 70 Blutproben gesunder Personen untersucht. Die Blutproben wurden von 32 Frauen und 38 Männern mit einem Durchschnittsalter von 54,9 Jahren rekrutiert.

Bei 14 von 70 Personen (20%) befand sich die Psoriasinkonzentration oberhalb der Nachweisgrenze von 0,625 ng/ml. Die durchschnittliche Serumkonzentration dieser 14 Kontrollpersonen lag bei 1,07 ng/ml.

Tabelle 1: Psoriasinkonzentration in der Kontrollgruppe

Psoriasin:		nicht nachweisbar	nachweisbar	p-Wert
Anzahl Probanden (n=70)		56 (80)	14 (20)	-
Alter	Mittelwert	53	62	0,062
	Median	52	66	
Geschlecht	Frauen	29	3	0,070
	Männer	27	11	

p-Wert=Fisher's Exact Test; Angaben in Anzahl und Prozent (in Klammern)

Bei 56 der 70 Kontrollpersonen (80%) befand sich der Psoriasinwert unterhalb der Nachweisgrenze. Die mediane Psoriasinkonzentration der gesamten Kontrollgruppe lag dementsprechend bei <0,625 ng/ml.

11 der 14 Personen (78,6%), bei denen Psoriasin nachgewiesen werden konnte, waren männlich (Durchschnittsalter: 61,7). 3 von 14 (21,4%) waren weiblich, mit einem Durchschnittsalter von 63,7 Jahren. Eine Korrelation der Psoriasinkonzentration mit dem Geschlecht wurde aufgrund der zu kleinen Fallzahl ausgeschlossen und ein signifikantes Ergebnis knapp verfehlt ($p=0,07$; Fisher's Exact Test). Das Durchschnittsalter der 14 Personen, bei denen Psoriasin nachgewiesen werden konnte, lag bei 62 Jahren. Das Durchschnittsalter der übrigen Kontrollpersonen, bei denen kein Psoriasin im Serum nachgewiesen werden konnte, lag dem gegenüber bei 53 Jahren. Aufgrund der zu kleinen Fallzahl wurde eine Korrelation der Psoriasinkonzentration mit dem Alter ausgeschlossen. Mit einem p-Wert von 0,062 verfehlte das Ergebnis ebenfalls knapp eine Signifikanz (Fisher's Exact Test).

3.2. Demographie der untersuchten Psoriasispatienten

In der Psoriasisgruppe wurden insgesamt 128 Patienten, 59 Frauen und 69 Männer, untersucht. Eine weitere Charakterisierung erfolgte durch die erhobenen Patientendaten anhand der Aktendokumentation.

Alter: Im Mittel waren die Patienten 52 Jahre alt. Die jüngste Patientin war 12, die älteste 85, der Altersdurchschnitt lag bei den Frauen bei 56 Jahren. Die Altersspanne bei den männlichen Patienten erstreckte sich von 18 bis 79 Jahren. Der durchschnittliche männliche Patient hatte ein Alter von 48 Jahren. Das durchschnittliche Patientenalter bei Erstmanifestation der Psoriasis lag bei 29 Jahren für das Gesamtkollektiv (< 40 Jahre=Typ I-Psoriasis).

Body-Mass-Index (BMI): Der BMI der untersuchten Frauen und Männer lag im Schnitt bei 27,66. Normalgewichtige haben BMI-Werte zwischen 20 und 25, somit hatte ein Großteil der Patienten Übergewicht.

Humanes Leukozytenantigen (HLA)-Cw6: Bei 32% der Psoriasispatienten konnte HLA-Cw6 nachgewiesen werden, 25% der Patienten waren Cw-6 negativ. Bei 43% der Patienten gab es in den Patientenakten keine Angaben zum HLA-Antigenstatus.

Familienanamnese (FA): 46,1% der Patienten wiesen eine positive FA in Bezug auf Psoriasis auf. Männliche Patienten hatten mit 50,7% eine um 10% häufigere positive Familienanamnese als weibliche Patienten mit 40,7%.

Nikotin-, Alkoholgenuß: 31,3% der Psoriasispatienten konsumierten regelmäßig Nikotin und 8,6% regelmäßig Alkohol. 8,7% der männlichen und 1,7% der weiblichen Patienten gaben eine Alkoholabhängigkeit an. In ca. 30% der Fälle gab es zu diesen Anamnese Punkten keine Angaben.

Diabetes: 14 der 128 Patienten (10,9%) waren an Diabetes mellitus Typ II erkrankt.

Bluthochdruck: Bei 38 Psoriasispatienten (29,7%) bestand ein Bluthochdruck.

Psoriasisarthritis: 11 Patienten (8,6%) litten an Psoriasisarthritis.

Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten: Signifikante Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten zeigten sich bei folgenden Anamnese Punkten: Nikotin- und Alkoholkonsum sowie Diabeteserkrankung. Doppelt so viele Männer als Frauen (40,6% gegenüber 20,3%) konsumierten regelmäßig Nikotin. Auch beim Alkoholmissbrauch zeigten sich deutliche Unterschiede: 1,7% der weiblichen Patienten gaben übermäßigen Konsum von Alkohol an, bei den männlichen Patienten waren es 8,7%. Ein umgekehrtes Bild

zeigte sich bei einem assoziierten „Diabetes“: 7,2% der männlichen und mehr als doppelt so viele weibliche Psoriasispatienten (15,3%) waren an einem Diabetes Typ II erkrankt.

Tabelle 2: Demographische Daten der Psoriasisgruppe: Anamnese

		w	m	Gesamt
Psoriasispatienten (n)		59	69	128
Alter (in Jahren bei Aufnahme)				
	Median	56	48	53
	Mittelwert	56	48	52
	Standardabweichung	17	16	17
	Umfang	12-85	18-79	12-85
Beginnalter (Jahre)	Median	36	28	29
	Umfang	4-82	5-75	4-82
BMI	Mittelwert	27,66	27,66	27,66
	Umfang	16,94-45,58	16,07-55,17	16,07-55,17
HLA-Cw6	negativ	12 (20,3)	20 (29)	32 (25)
	positiv	20 (33,9)	21 (30,4)	41 (32)
	k.A.	27 (45,8)	28 (40,6)	55 (43)
Familienanamnese	negativ	32 (54,2)	32 (46,4)	64 (50)
	positiv	24 (40,7)	35 (50,7)	59 (46,1)
	k.A.	3 (5,1)	2 (2,9)	5 (3,9)
Nikotin	Nichtraucher	26 (44,1)	11 (15,9)	37 (28,9)
	Raucher	12 (20,3)	28 (40,6)	40 (31,3)
	k.A.	18 (30,5)	23 (33,3)	41 (32)
Alkohol	selten/nie	27 (45,8)	20 (29)	47 (36,7)
	gelegentlich	10 (16,9)	14 (20,3)	24 (18,8)
	regelmäßig	3 (5,1)	8 (11,6)	11 (8,6)
	Abusus	1 (1,7)	6 (8,7)	7 (5,5)
	k.A.	18 (30,5)	21 (30,4)	39 (30,5)
Diabetes mellitus Typ II	nein	48 (81,4)	63 (91,3)	111 (86,7)
	ja	9 (15,3)	5 (7,2)	14 (10,9)
Hypertonie	nein	35 (59,3)	45 (65,2)	80 (62,5)
	ja	19 (32,2)	19 (27,5)	38 (29,7)

m=männlich, w=weiblich, n=Anzahl; k.A.=keine Angaben, BMI=Body-Mass-Index, HLA-Cw6=Humanes Leukozytenantigen Cw6; Angaben in Anzahl und Prozent (in Klammern)

Schweregrad und klinische „Verlaufsformen“ der Psoriasis im untersuchten Patientenkollektiv

Der durchschnittliche PASI (Psoriasis Area and Severity Index) der Patienten betrug bei Aufnahme im Median 17,45 Punkte. Die untersuchten Patienten waren demzufolge von einer

Psoriasis „mittelschweren“ Ausmaßes betroffen. Die Psoriasis verlief bei 90,6% der Patienten schubweise generalisierend. In 6 Fällen (4,7%) handelte es sich um eine akut exanthematisch verlaufende Psoriasis. Bei 89,8% der Patienten zeigte sich der für die Psoriasis vulgaris typische Hautbefund mit erythrosquamösen Plaques. In 83,6% der Fälle war die Kopfhaut mit befallen. Von Nagelveränderungen und einem Befall der Intertriginen waren ca. die Hälfte der Patienten betroffen (47,7% bzw. 56,3%). Männliche Patienten wiesen ca. 10% häufiger einen Befall der Kopfhaut und Veränderungen an den Nägeln auf als weibliche. 8 der 128 Patienten (6,3%; 2 weibliche und 6 männliche) litten unter einer Psoriasis guttata. 4 Patienten (3,1%) stellten sich mit einer Erythrodermie und 7 (5,5%) mit einer Psoriasis palmoplantaris vor. Wie bei der Psoriasis guttata (Verhältnis männlich zu weiblich = 3:1) waren überwiegend männliche Patienten von der palmoplantaren Form der Psoriasis betroffen (Verhältnis 6:1). 11 Patienten (8,6%; 5 weibliche, 6 männliche) waren an einer Psoriasisarthritis erkrankt.

Tabelle 3: Demographische Daten der Psoriasisgruppe: Klinik

		w	m	Gesamt
PASI (0-72)	Median	17,2	17,7	17,45
	Mittelwert	18,5	20,45	19,45
	Standardabweichung	13,52	11,02	12,31
	Umfang	2-66	3,7-50	2-66
Verlaufsform	akut exanthematisch	4 (6,8)	2 (2,9)	6 (4,7)
	schubweise generalisierend	52 (88,1)	64 (92,8)	116 (90,6)
	chronisch progredient	-	1 (1,4)	1 (0,8)
	chronisch stationär	-	1 (1,4)	1 (0,8)
	k.A.	3 (5,1)	1 (1,4)	4 (3,1)
Erscheinungsbild	Plaques	51 (86,4)	64 (92,8)	115 (89,8)
	Erythrodermie	2 (3,4)	2 (2,9)	4 (3,1)
	Psoriasis guttata	2 (3,4)	6 (8,7)	8 (6,3)
	Intertriginöser Befall	33 (55,9)	39 (56,5)	72 (56,3)
	Kopfhautbefall	46 (78)	61 (88,4)	107 (83,6)
	Nagelveränderungen	24 (40,7)	37 (53,6)	61 (47,7)
Pustulöse Formen	nein	50 (84,7)	62 (89,9)	112 (87,5)
	ja	2 (3,4)	1 (1,4)	3 (2,3)
	fraglich	1 (1,7)	-	1 (0,8)
	palmar + plantar	1 (1,7)	6 (8,7)	7 (5,5)
	generalisiert	1 (1,7)	-	1 (0,8)
	k.A.	4 (6,8)	-	4 (3,1)
PsA	nein	48 (81,4)	59 (85,5)	107 (83,6)
	ja	5 (8,5)	6 (8,7)	11 (8,6)
	fraglich	5 (8,5)	4 (5,8)	9 (7)
	k.A.	1 (1,7)	-	1 (0,8)

m=männlich, w=weiblich, n=Anzahl; k.A.=keine Angaben, PsA=Psoriasisarthritis; Angaben in Anzahl und Prozent (in Klammern)

3.3. Die Serumkonzentration von Psoriasin ist bei Psoriasispatienten erhöht

In der Psoriasisgruppe wurden 59 Frauen und 69 Männer untersucht. Bei 65 der insgesamt 128 Patienten (50,8%) befand sich die Psoriasinkonzentration am Aufnahmetag im messbaren Bereich von 0,625 bis 10 ng Psoriasin pro ml Serum. Bei 59 Patienten (46,1%) lag die Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze, also <0,625 ng/ml, bei 4 Patienten (3,1%) lag sie oberhalb 10 ng/ml. Insgesamt konnte also bei 69 von 128 Patienten (53,9%) Psoriasin im Serum nachgewiesen werden.

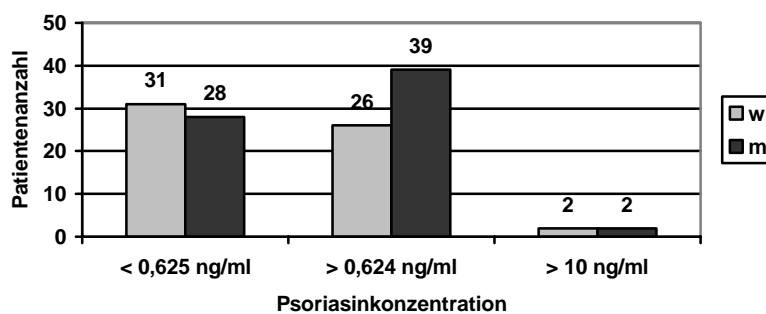


Abbildung 2: Psoriasinkonzentration im Serum bezogen auf Patientenanzahl und Geschlecht. w=weibliche Patienten, m=männliche Patienten; Gesamtpatientenanzahl=128

Bei 47% der Psoriasispatientinnen (n=28) lagen erhöhte Psoriasinkonzentrationen im Serum vor. Der durchschnittliche Serumspiegel der weiblichen Patienten lag bei 2,27 ng/ml. 59% der männlichen Psoriasispatienten (n=41) wiesen erhöhte Psoriasinspiegel im Serum auf. Der durchschnittliche Serumspiegel der männlichen Patienten lag bei 2,73 ng/ml. Die männlichen Psoriasispatienten wiesen in der untersuchten Patientengruppe gegenüber den weiblichen Psoriasispatienten häufiger einen erhöhten Psoriasinspiegel auf (59% zu 47%). Des Weiteren lag der Mittelwert des Serumspiegels an Psoriasin bei den Männern mit 2,73 ng/ml höher als bei den Frauen mit 2,27 ng/ml. Unter Berücksichtigung der Alterstruktur der männlichen und weiblichen Patienten, fällt auf, dass der Großteil der männlichen Patienten (26 von 39 Patienten (66,7%)) zwischen 40 und 70 Jahren alt war, während sich die Mehrheit der Frauen in einem Alter zwischen 30 und 60 (15 Patienten von 26 Patienten (57,7%)) befand. Im Durchschnitt war die Mehrheit der Frauen ca. 10 Jahre jünger als die Mehrheit der Männer. Korrelationen zwischen Psoriasinkonzentration, Alter und Geschlecht konnten jedoch mittels U-Test (Wilcoxon-Mann-Whitney) ausgeschlossen werden.

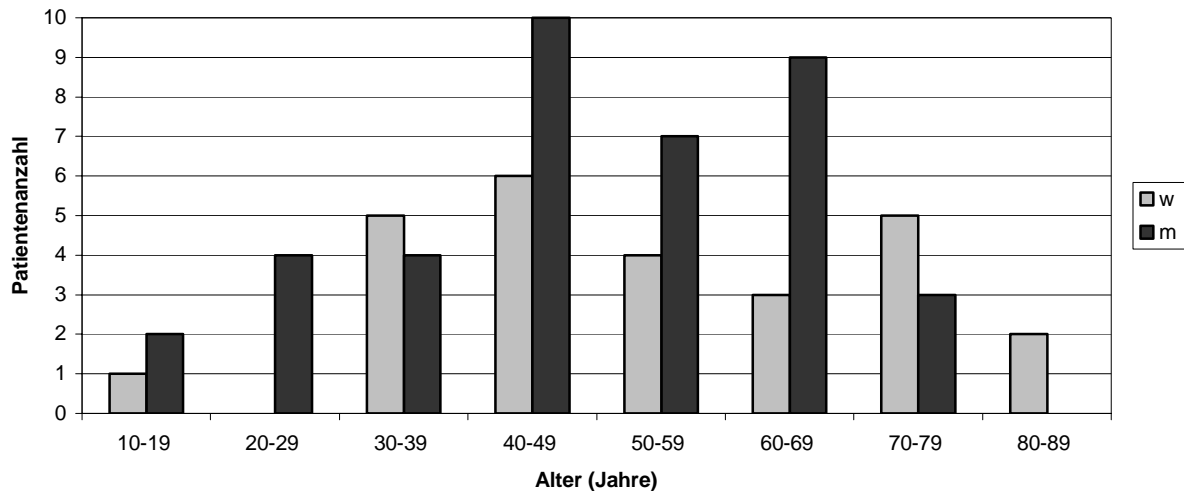


Abbildung 3: Vergleich der Altersverteilung der weiblichen (w) und männlichen (m) Psoriasispatienten mit erhöhtem Psoriasinspiegel im Serum (0,625-10 ng/ml).

46,4% aller Patienten (32 von 69), bei denen Psoriasis im Serum gemessen werden konnte, wiesen eine Psoriasinkonzentration zwischen 0,625 und 1,625 ng/ml auf. Bei 11 von 69 Patienten (15,9%) konnten Serumkonzentrationen zwischen 1,625 und 2,625 ng/ml gemessen werden. 7 Patienten (10,1%) wiesen Konzentrationen zwischen 2,625 und 3,625 ng/ml auf. Bei 15 Patienten (21,7%) lag die Konzentration an Psoriasis gleichmäßig verteilt zwischen 3,625 und 10 ng/ml. Eine höhere Konzentration als 10 ng Psoriasis pro ml konnte bei 4 der 69 Patienten (5,8%) nachgewiesen werden.

In der Psoriasisgruppe konnte in 53,9% der untersuchten Serumproben (bei 69 von 128 Patienten) Psoriasis nachgewiesen werden. In der Kontrollgruppe war dies in 20% der Proben (bei 14 von 70 Personen) der Fall. Bei Patienten mit einer Psoriasis konnte dementsprechend signifikant häufiger das S100-Protein Psoriasis im Serum nachgewiesen werden ($p < 0,001$).

Das durchschnittliche Alter der Kontrollpersonen lag bei 54,9 Jahren, das der Psoriasispatienten bei 52 Jahren. Dieser Altersunterschied war nicht signifikant ($p = 0,254$).

In der Kontrollgruppe wurden 32 Frauen und 38 Männer untersucht, in der Psoriasisgruppe 59 Frauen und 69 Männer. In der Geschlechtsverteilung gab es keinen signifikanten Unterschied, das Verhältnis war nahezu 1:1 ($p = 1,000$).

Während in der Psoriasisgruppe Psoriasinkonzentrationen zwischen 0,76 ng/ml im Median und 1,61 ng/ml im Durchschnitt nachgewiesen werden konnten (bezogen auf 128 Psoriasispatienten), wurden in der Kontrollgruppe lediglich Werte $< 0,625$ ng/ml im Median wie auch im Durchschnitt gemessen.

Tabelle 4: Vergleich der Kontrollgruppe mit der Psoriasisgruppe

		Kontrollgruppe	Psoriasispatienten	p-Wert
Personenanzahl		70	128	-
Psoriasin nachweisbar		14 (20)	69 (53,9)	<0,001
Alter	Mittelwert	54,9	52	0,254
	Median	52,5	52,5	
Geschlecht	Frauen	32	59	1,000
	Männer	38	69	
Psoriasinkonzentration (ng/ml)				
Mittelwert		<0,625	1,61	-
Median		<0,625	0,76	-

p-Wert=Fisher's Exact Test; Angaben in Anzahl und Prozent (in Klammern)

Im **direkten Vergleich** der Personen der Psoriasis- und Kontrollgruppe, bei denen Psoriasin nachgewiesen werden konnte, fielen folgende Unterschiede auf: die Psoriasispatienten waren im Durchschnitt ca. 10 Jahre jünger, das Verhältnis der Geschlechter in der Psoriasisgruppe war homogener und die durchschnittliche Psoriasinkonzentration war mehr als doppelt so hoch. Der Altersdurchschnitt dieser 65 Psoriasispatienten lag bei 50,4 Jahren, gegenüber den 14 Personen der Kontrollgruppe mit 62 Jahren. 65 der 69 Psoriasispatienten, bei denen Psoriasin nachgewiesen werden konnte, wiesen eine Psoriasinkonzentration im Messbereich von 0,625 bis 10 ng/ml auf, mit einer durchschnittlichen Konzentration von 2,55 ng/ml. Bei den übrigen 4 Patienten befand sich die Psoriasinkonzentration oberhalb der Nachweisgrenze (>10 ng/ml). In der Kontrollgruppe lag die durchschnittliche Psoriasinkonzentration der 14 (auf Psoriasin positiv getesteten) Personen dagegen bei 1,07 ng/ml.

Signifikante Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Patienten zeigten sich nicht.

Tabelle 5: Nachweis von Psoriasin im Serum (0,625 – 10 ng/ml)

Psoriasin nachweisbar:		Kontrollgruppe	Psoriasisgruppe
Anzahl Patienten		14 (20)	65 (50,8)
Alter	Mittelwert	62	50,4
Geschlecht	Frauen	3	26
	Männer	11	39
Psoriasinkonzentration (ng/ml)			
Mittelwert		1,07	2,55

Angaben in Anzahl und Prozent (in Klammern)

3.4. Untersuchungen der Psoriasinkonzentration im Serum in Abhängigkeit von verschiedenen krankheitsassoziierten Faktoren

Um den Einfluss verschiedener anamnestischer, laborchemischer und klinischer Parameter auf die Psoriasin-Serumkonzentration zu untersuchen, wurden 111 der 128 Psoriasispatienten ausgewählt, bei denen vollständige Datensätze v.a. in Bezug auf Angaben zum Aktivitätsscore PASI vorlagen. Diese Gruppe wurde als „Subpopulation“ definiert. Zu den weiteren erhobenen Parametern zählten: Geschlecht, Alter, Alter bei Krankheitsbeginn (Beginnalter), Body-mass-Index (BMI), „human leukocyte antigen“ (HLA)- Status Cw6, eine positive/negative Familienanamnese (FA), der Konsum von Nikotin und Alkohol sowie verschiedene assoziierte Krankheitsbilder (Diabetes, Hypertonie, Psoriasisarthritis). Des Weiteren wurde in der Subpopulation der Einfluss verschiedener Entzündungsparameter (Gesamtleukozytenanzahl, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) und die Konzentration an C-reaktivem Protein (CRP) in Bezug auf die Psoriasinkonzentration ausgewertet.

Die Psoriasin-Serumkonzentration korreliert mit dem Aktivitätsscore PASI

Eine erhöhte Psoriasinkonzentration konnte bei 61 der 111 Psoriasispatienten in der Subpopulation nachgewiesen werden (Gruppe a=Psoriasin nachweisbar). 50 Patienten wiesen keine erhöhten Serumspiegel auf (Gruppe b=Psoriasin nicht nachweisbar). Einen signifikanten Unterschied in Bezug auf das Durchschnittsalter, das Beginnalter oder den BMI gab es zwischen den beiden Patientengruppen a und b nicht. Signifikante Unterschiede zeigten sich jedoch in Bezug auf den PASI. Der Gesamt-PASI war bei den Psoriasispatienten mit erhöhtem Psoriasin-Serumspiegel signifikant höher (PASI-Mittelwert=23,00) als bei den Psoriasispatienten, bei denen kein Psoriasin im Serum nachgewiesen werden konnte (PASI-Mittelwert=15,23; p-Wert=0,001). Auch im Hinblick auf die „partiellen PASI“ (PASI-Erythem (E), -Infiltration (I) und -Schuppung (S)) zeigte sich, dass Psoriasispatienten der Gruppe a signifikant höhere Werte erreichten, als Patienten der Gruppe b. Der PASI-E-Wert der Gruppe a lag mit 8,58 Punkten deutlich über dem PASI-E-Wert der Gruppe b mit 5,32 Punkten (p=0,011). Patienten mit einer Psoriasis und einem erhöhten Psoriasinspiegel zeigten also signifikant häufiger eine ausgeprägte Entzündungsreaktion, die sich als Erythem darstellte. Die Parameter Infiltration und Schuppung (PASI-I, PASI-S) waren bei der Gruppe a ebenfalls deutlich höher, als bei der Gruppe b (PASI-I=7,14 zu 4,98; PASI-S=7,27 zu 4,93), erreichten jedoch keine statistische Signifikanz.

Es lässt sich zusammenfassen, dass der krankheitsspezifische Aktivitätsindex PASI mit dem Psoriasis-Serumspiegel bei Patienten mit Psoriasis korreliert.

Tabelle 6: Psoriasis-Nachweisbarkeit im Serum in Abhängigkeit von verschiedenen klinischen Parametern durch Analyse einer Subpopulation von Psoriasispatienten mit komplett erfasstem PASI

Psoriasis:		nicht nachweisbar	nachweisbar	Gesamt	p-Wert
Anzahl Patienten		50	61	111	-
Alter	Mittelwert	53	51	52	-
Beginnalter	Mittelwert	34	35	34	-
BMI	Mittelwert	28,13	26,80	27,40	-
PASI	Mittelwert	15,23	23,00	9,50	0,001
	Median	12,60	19,80	17,20	
PASI-E	Mittelwert	5,32	8,58	7,11	0,011
	Median	4,45	6,70	6,00	
PASI-I	Mittelwert	4,98	7,14	6,17	0,498
	Median	4,10	6,30	5,40	
PASI-S	Mittelwert	4,93	7,27	6,22	0,603
	Median	4,50	6,10	5,50	

BMI=Body Mass Index, PASI=psoriasis area and severity index, E=Erythem, I=Infiltration, S=Schuppung

Die Psoriasis-Serumkonzentration korreliert mit einem erhöhten CRP

Es zeigte sich, dass eine erhöhte Psoriasis-Serumkonzentration neben einem erhöhten PASI ($p=0,001$) auch mit einer erhöhten CRP-Konzentration ($p=0,005$) einhergeht. Alle übrigen Parameter zeigten keinerlei Zusammenhang mit der Psoriasis-Serumkonzentration.

Unterschiede in Bezug auf männliche und weibliche Patienten zeigten sich beim PASI. Sowohl beim Gesamt-PASI, als auch bei den partiellen PASI (-E, -I und -S) wiesen männliche Patienten in den überwiegenden Fällen einen höheren PASI auf. Das Ausmaß der betroffenen Hautflächen und die Schwere der Hautveränderungen waren demnach bei den männlichen Psoriasispatienten in nahezu allen Fällen ausgeprägter als bei den weiblichen Patientinnen.

Tabelle 7: Psoriasis-Nachweisbarkeit im Serum in Abhängigkeit von verschiedenen Laborparametern sowie klinischen und anamnestischen Assoziationen

Psoriasis:		nicht nachweisbar	nachweisbar	p-Wert
Anzahl Patienten (n=111)		50	61	-
BSG	nicht erhöht	27	21	0,192
	erhöht	22	29	
CRP	nicht erhöht	40	31	0,005
	erhöht	10	28	
Leukozyten	nicht erhöht	44	48	0,224
	erhöht	5	11	
HLA-Cw6	negativ	15	15	0,246
	positiv	19	17	
Nikotin	Nichtraucher	16	13	0,092
	Raucher	10	25	
Alkohol	kein Konsum	15	22	0,081
	wird konsumiert	11	9	
Geschlecht	Frauen	27	26	0,232
	Männer	23	35	
Diabetes (II)	nein	45	52	0,685
	ja	4	8	
Hypertonie	nein	28	42	0,472
	ja	17	15	
PsA	nein	39	52	0,424
	ja	5	5	

BSG=Blutkörperchengeschwindigkeit, CRP=C-reaktives Protein, HLA-Cw6=Histokompatibilitätsantigen, PsA=Psoriasisarthritis

28 von 61 Psoriasispatienten (45,9%) mit einer nachweisbaren Psoriasis-Serumkonzentration wiesen einen erhöhten CRP-Spiegel auf. Lediglich bei 10 der 50 Patienten (20%) ohne nachweisbares Psoriasis konnte ein erhöhter CRP-Spiegel im Serum festgestellt werden. Psoriasispatienten mit einem erhöhten Psoriasis-Spiegel wiesen signifikant häufiger einen erhöhten CRP-Spiegel im Blut auf ($p=0,005$). In Bezug auf die übrigen analysierten Parameter (Gesamtleukozytenanzahl, HLA-Cw6 Status, Geschlecht sowie eine positive/negative Familienanamnese) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Psoriasisgruppen a und b festgestellt werden. Auch in Bezug auf die verschiedenen assoziierten Krankheitsbilder (Diabetes, Hypertonie, Psoriasisarthritis) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Ein Unterschied beider Psoriasisgruppen in Bezug auf einen

erhöhten Nikotin- und Alkoholkonsum verfehlte mit einem p-Wert von 0,092 (für Nikotin) und 0,081 (für Alkohol) jedoch nur knapp eine Signifikanz (multipler Regressionstest).

Tabelle 8: Geschlechtsverteilung von PASI und partiellem PASI (Erythem, Infiltration, Schuppung) in der Subpopulation von Psoriasispatienten (n=111)

		w	m	Gesamt
PASI	Median	17,20	17,10	17,20
	Mittelwert	18,50	20,41	19,50
	Standardabweichung	13,52	11,24	12,36
	Umfang	2-66	3,7-50	2-66
PASI-E	Mittelwert	6,94	7,27	7,11
	Median	5,90	6,10	6,00
PASI-I	Mittelwert	5,61	6,68	6,17
	Median	4,8	5,50	5,40
PASI-S	Mittelwert	5,95	6,47	6,22
	Median	5,00	5,55	5,5

m=männlich, w=weiblich, n=Anzahl, PASI=psoriasis area and severity index, E=Erythem, I=Infiltration, S=Schuppung

3.5. Die Psoriasinkonzentration im Serum von Psoriasispatienten korreliert mit dem Ansprechen auf eine effektive antipsoriatische Therapie

Bei Aufnahme der Psoriasispatienten zu Beginn einer Therapie zeigte ein Großteil der Patienten neben einem erhöhten Aktivitätsmarker auch eine erhöhte Konzentration von Psoriasin im Serum. Im Verlauf einer erfolgreichen Therapie waren beide Parameter rückläufig. Eine vollständige Dokumentation in Bezug auf den PASI und die bei Aufnahme sowie wöchentlich unter Therapie entnommenen Serumproben zur Bestimmung der Psoriasinkonzentration lagen bei 51 Patienten (=Basispatienten) über einen Zeitraum von insgesamt 4 Wochen zur Analyse vor.

Wie bei einer effektiven Therapie erwartet, sank der Aktivitätsindex PASI signifikant ($p < 0,001$) in den ersten 4 Wochen der Behandlung (insgesamt um ca. 50% im Vergleich zum Ausgangswert), sowohl im Median als auch im Durchschnitt. Interessanterweise zeigte sich ebenfalls ein hochsignifikanter Rückgang der Psoriasin-Serumkonzentration ($p < 0,001$; im Vergleich zur Ausgangskonzentration) unter der effizienten Therapie. Auch hier sank die Psoriasin-Serumkonzentration im Mittel und im Median annähernd um 50%.

Tabelle 9: PASI und Psoriasinkonzentration im Therapieverlauf über 4 Wochen bei 51 Basispatienten mit initial nachweisbarem Psoriasis. Absolute Werte: PASI und Psoriasis (in ng/ml), Werte in Klammern = prozentualer Rückgang im Vergleich zur Vorwoche

	Pso-MW	Pso-Median	PASI-MW	PASI-Median
Aufnahme	2,88	1,57	22,55	19,70
1. Woche	1,95 (32,3)	0,85 (45,8)	15,40 (31,7)	13,00 (34)
2. Woche	1,62 (16,9)	0,71 (16,47)	12,95 (15,9)	11,70 (10)
3. Woche	1,56 (3,7)	0,64 (9,85)	11,36 (12,27)	9,00 (23,07)
4. Woche	1,51 (3,2)	0,65 (-1,56)	11,02 (3)	8,10 (10)

Pso=Psoriasis, MW=Mittelwert, PASI=psoriasis area and severity index

Die höchsten Werte des PASI (im Durchschnitt 22,55 und 19,7 im Median) und der Psoriasis-Serumkonzentration (2,88 ng/ml im Durchschnitt und 1,57 ng/ml im Median) konnten am Aufnahmetag festgestellt werden. Innerhalb der ersten Woche nach Beginn der Therapie sanken diese Werte signifikant um über 30% sowohl beim PASI als auch bei der Psoriasinkonzentration ($p < 0,001$). In den darauf folgenden Wochen zeigte sich ein langsamerer aber ebenso deutlicher Abfall beider Parameter. Der PASI verringerte sich von der 1. bis zur 4. Woche um insgesamt 51,1% (11,53 Punkte) im Durchschnitt und 58,9% (11,6 Punkte) im Median, während die Psoriasis-Serumkonzentration in diesem Zeitraum um 47,6% (1,37 ng/ml) im Durchschnitt und 58,6% (0,92 ng/ml) im Median sank. Auch die wöchentlich aufgenommenen Psoriasinkonzentrationen und PASI-Werte zeigten im Vergleich zu den Ausgangsbefunden bei Therapiebeginn hochsignifikant rückläufige Werte ($p < 0,001$).

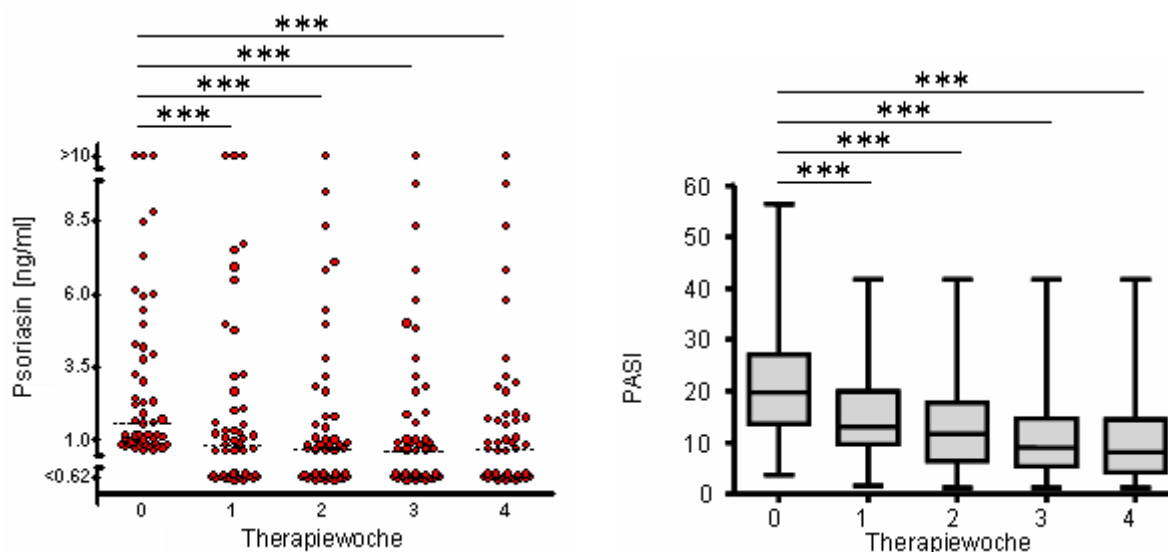


Abbildung 4: Hochsignifikanter Rückgang von Psoriasis-Serumkonzentration und PASI im Therapieverlauf über 4 Wochen im Vergleich zum Ausgangsbefund; Wilcoxon Rangsummen-Vorzeichentest (Mediane angezeigt durch Balken, ***: $p < 0,001$)

Die Patienten mit einer nachweisbaren Psoriasinkonzentration hatten einen signifikant höheren PASI (belegt mit Mann-Whitney-U-Test, $p=0,001$) als die Patienten ohne nachweisbares Psoriasin im Serum. Deutlich wurde dies vor allem in der Beurteilung des Krankheitsverlaufs der *Basispatienten* (siehe oben). Am Aufnahmetag der Patienten waren sowohl der PASI als auch die Psoriasin-Serumkonzentration am höchsten. Im Verlauf der Therapie sanken PASI und Psoriasin-Serumkonzentration und am Tag der Entlassung wurde der tiefste Wert erreicht.

3.6. Die Psoriasin-Serumkonzentration ist auch bei Patienten mit anderen entzündlichen Dermatosen erhöht

Neben dem großen Kollektiv an Psoriasispatienten wurden vergleichend zusätzlich noch drei weitere Patientengruppen mit entzündlichen nichtinfektiösen und infektiösen Hauterkrankungen auf ihre Psoriasin-Serumkonzentration hin untersucht. Zu diesen Gruppen gehörten Patienten mit atopischer Dermatitis ($n=26$), Erysipel ($n=10$) und Herpes Zoster ($n=11$). Die Psoriasinkonzentrationen dieser Gruppen wurden mit den Konzentrationen der Psoriasisgruppe und der Kontrollgruppe verglichen. Neben den (oben beschriebenen) erhöhten Serumspiegeln bei Psoriasispatienten konnten ebenfalls deutlich erhöhte Psoriasinkonzentrationen bei Patienten mit atopischer Dermatitis festgestellt werden.

In der Psoriasisgruppe wurde eine mediane Psoriasin-Serumkonzentration von 0,76 ng/ml bei insgesamt 128 Patienten festgestellt. Eine mediane Konzentration von 1,6 ng/ml wurde bei den Patienten mit atopischer Dermatitis gemessen. Bei Patienten mit Erysipel und Zoster wurden aufgrund der geringen Gruppengröße keine statistischen Korrelationsanalysen durchgeführt.

Tabelle 10: Vergleich der Psoriasinkonzentrationen bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen

	Kontrollen	Psoriasis	atop. Derm.	Erysipel	Zoster
Anzahl	70	128	26	10	11
Psoriasin (ng/ml)					
Mittelwert	<0,625	1,61	2,95	<0,625	0,97
Median	<0,625	0,76	1,6	<0,625	<0,625
Umfang	0-2,34	0-10	0-10	0-2,48	0-10

atop. Derm.=Patienten mit atopischer Dermatitis

In über 70% der Fälle von atopischer Dermatitis (19 von 26 Patienten; 73,1%) wurden Serumkonzentrationen über der Nachweisgrenze des ELISA (0,625 ng/ml) gemessen. Der Großteil dieser Patienten (14 von 19; 73,1%) wies Psoriasinkonzentrationen zwischen 0,625 und 4,625 ng/ml auf. Nur bei 26,9% der untersuchten Patienten mit einer atopischen Dermatitis (7 von 26) konnte kein Psoriasin im Serum nachgewiesen werden.

Das Durchschnittsalter der 26 Patienten mit atopischer Dermatitis lag bei knapp 34 Jahren. Von den insgesamt 11 weiblichen Patienten hatten 7 (63,6%) einen erhöhten Psoriasinspiegel. Bei den männlichen Patienten wiesen 12 von 15 (80%) messbare Konzentrationen an Psoriasin auf.

4. Diskussion

4.1. Die Bedeutung Psoriasins als essentielles antimikrobielles Peptid

Haut und Schleimhäute des Menschen sind permanent pathogenen und kommensalen Mikroorganismen ausgesetzt. Trotz dieser konstanten Besiedlung kommt es in nur sehr seltenen Fällen zu Infektionen. Grund dieser natürlichen Resistenz gegenüber pathogenen Keimen ist zum einen die „physikalische Barriere“, die dem Stratum corneum (der Hornschicht) der Haut und der Mukusschicht (Schleimschicht) der Schleimhäute entspricht. Zum anderen verfügt der Organismus über eine „chemische Barriere“, mit der das Eindringen von Mikroorganismen in den Körper äußerst effizient verhindert werden kann. Zu dieser chemischen Barriere gehören antimikrobielle Peptide, körpereigene Antibiotika, die in kleinsten Konzentrationen Gram-positive und Gram-negative Bakterien, Pilze, Viren und verschiedene Protozoen direkt abtöten können (Ganz und Lehrer 1999; Boman 2000).

Antimikrobielle Peptide (AMP) kontrollieren als Effektormoleküle der angeborenen Immunität („innate immunity“) die Zusammensetzung und das Wachstum der körpereigenen Mikroflora (Harder, Glaser et al. 2007). Neuere Erkenntnisse zeigen, dass AMP nicht nur eine antimikrobielle Aktivität besitzen, sondern ebenfalls in der Lage sind, immunmodulatorisch in das entzündliche Geschehen einzugreifen (Schauber und Gallo 2008). Durch die voranschreitende Forschung der letzten Jahre können inzwischen verschiedene AMP-Klassen unterschieden werden. Neben den humanen Beta-Defensinen (hBD 1-4) wurden auch mehrere Alpha-Defensine charakterisiert (z.B. humanes Neutrophilenpeptid (HNP) 1-5). Weitere bedeutende AMP sind das Cathelicidin LL-37, Lysozym, die Ribonuclease RNase7, Dermcidin und verschiedene S100-Proteine (Harder, Glaser et al. 2007; Yamasaki und Gallo 2008). Das S100-Protein Psoriasin wurde 1991 von der Arbeitsgruppe um Madsen aufgrund der verstärkten Expression in Keratinozyten bei Patienten mit Psoriasis isoliert (Madsen, Rasmussen et al. 1991), die genaue Funktion des Moleküls konnte zu diesem Zeitpunkt jedoch nicht geklärt werden. Kürzlich konnte von unserer Arbeitsgruppe gezeigt werden, dass Psoriasin eine große Rolle in der körpereigenen Abwehr der gesunden Haut gegen den ubiquitär vorkommenden Darmkeim *Escherichia coli* spielt (Glaser, Harder et al. 2005). Psoriasin wird nicht nur konstitutiv und abhängig von der Körperlokalisation unterschiedlich stark in gesunder Haut exprimiert, die Sekretion dieses Peptids kann auch durch direkten

Kontakt mit Bakterien, proinflammatorische Zytokine oder Barrierestörungen des Epithels induziert werden (Glaser, Harder et al. 2005; Lee und Eckert 2007; Glaser, Meyer-Hoffert et al. 2009).

Bei Patienten mit Psoriasis vulgaris konnte eine massive Induktion der Expression und Sekretion von Psoriasin und anderen AMP gezeigt werden (Gambichler, Skrygan et al. 2008; Harder, Dressel et al. 2010).

Die Vielzahl der Studien über antimikrobielle Peptide in den letzten Jahren und die neuen Erkenntnisse über das Protein Psoriasin weisen darauf hin, dass diesen Molekülen auch eine entscheidende Rolle in der Krankheitsgenese verschiedener Erkrankungen zukommen könnte. Wir haben uns daher die Frage gestellt, ob das antimikrobielle Peptid Psoriasin aufgrund seiner starken Expression in der Haut auch im Serum von Patienten mit Psoriasis vulgaris nachweisbar ist und ggf. als Krankheits- oder Aktivitätsmarker in Betracht gezogen werden könnte.

4.2. Der Nachweis von Psoriasin im Serum ist mittels ELISA möglich

Durch die ursprüngliche Entdeckung von Psoriasin in Keratinozyten von Psoriasispatienten (Madsen, Rasmussen et al. 1991) sowie diese aktuellen Untersuchungen lag die Vermutung nahe, dass ein näherer Zusammenhang zwischen Psoriasin und dem Krankheitsbild Psoriasis existieren könnte. Da vorstellbar ist, dass Psoriasin die Basalmembran der Epidermis passieren und in die dermalen Kapillargefäße gelangen könnte, postulierten wir, dass Patienten mit stark erhöhten Psoriasinkonzentrationen in der Haut auch erhöhte Serumspiegel an Psoriasin aufweisen könnten.

Ziel *dieser* Arbeit war es daher zu untersuchen, ob ein Nachweis von Psoriasin im Serum von Patienten mit Psoriasis vulgaris gelingt. Ein positiver Nachweis könnte dazu führen, die pathogenetische Bedeutung von Psoriasin bei dieser (und ggf. anderen Erkrankungen) weitergehend zu analysieren.

In der vorliegenden Arbeit konnte Psoriasin erstmalig im peripheren menschlichen Blut nachgewiesen werden. Sowohl bei einzelnen gesunden Personen, als auch im Serum von Psoriasispatienten und Patienten mit atopischer Dermatitis, einer weiteren häufigen entzündlichen Hauterkrankung, konnte das antimikrobielle Peptid mittels ELISA nachgewiesen werden.

Bereits 2006 konnte unsere Arbeitsgruppe dieses Ergebnis auf den Jahrestagungen der „Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung (ADF)“ und der „European Society of Dermatological Research (ESDR)“ vorstellen (Eisenbeiß, Ardebili et al. 2006). 2008 berichtete die Arbeitsgruppe um Zhang über den Nachweis von Psoriasin im Serum von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Lunge. Hier wurde die Rolle Psoriasins als potentieller Serummarker erstmalig in der Tumordiagnostik diskutiert (Zhang, Zhao et al. 2008). Aktuell konnten auch Anderson et al. in ihren Untersuchungen bestätigen, dass der Nachweis von Psoriasin im Serum von Patienten mit Psoriasis und Gesunden mittels ELISA möglich ist (Anderson, Wong et al. 2009).

Gläser et al. konnten zeigen, dass Psoriasin auch konstitutiv und unabhängig von entzündlichen Reizen in gesunder Haut exprimiert wird (Glaser, Harder et al. 2005). Im Vergleich zur stark erhöhten Expression und Sekretion von Psoriasin in der Haut von Psoriasispatienten und Patienten mit atopischer Dermatitis (Glaser, Harder et al. 2005; Harder, Dressel et al. 2010) konnte entsprechend der geringeren Expression in der Haut Gesunder eine vergleichbar geringere Psoriasin-Serumkonzentration erwartet werden. Diese Hypothese bestätigte sich in unseren Untersuchungen.

Bei gesunden Kontrollpersonen konnten nur vereinzelt Serumkonzentrationen über der Nachweisgrenze des ELISA (0,625 ng/ml) gemessen werden. Im Serum der Psoriasispatienten und der Patienten mit atopischer Dermatitis zeigten sich jedoch deutlich erhöhte Serumspiegel.

Ein ähnliches Ergebnis in Bezug auf die Nachweisbarkeit von einem anderen AMP im Serum bei Patienten mit Psoriasis wurde kürzlich aus der Arbeitsgruppe um Jansen und Rodijk-Olthuis berichtet. Diese untersuchte hBD-2, das wie Psoriasin in stark erhöhten Konzentrationen in läsionaler Haut von Psoriasispatienten nachweisbar ist (Jansen, Rodijk-Olthuis et al. 2009). Jansen et al. konnten zeigen, dass hBD-2 sowohl bei Gesunden als auch bei Patienten mit Psoriasis und atopischer Dermatitis in der Haut *und* im Serum nachweisbar ist. Analog zu unseren Untersuchungen konnte im Serum der gesunden Kontrollpersonen eine nur sehr geringe Serumkonzentration von hBD-2 gemessen werden, während bei Psoriasispatienten signifikant erhöhte Serumspiegel nachweisbar waren (Jansen, Rodijk-Olthuis et al. 2009).

In der vorliegenden Arbeit wurden neben dem sehr großen Kollektiv an Psoriasispatienten (n=128) und 26 Patienten mit atopischer Dermatitis noch zwei weitere kleine Patientengruppen untersucht: Patienten mit Erysipel und Herpes Zoster als Repräsentanten einer bakteriellen bzw. viralen Infektionskrankheit.

Die Psoriasin-Serumkonzentrationen bei Aufnahme wurden in allen Patientengruppen verglichen und unterschieden sich innerhalb der untersuchten Krankheitsbilder sehr deutlich. Die im Vergleich höchsten medianen Serumkonzentrationen wiesen Patienten mit atopischer Dermatitis (1,6 ng/ml) und Psoriasis (0,76 ng/ml) auf, während sich die medianen Serumkonzentrationen von Psoriasin bei Patienten mit Erysipel und Herpes Zoster ebenso wie bei Kontrollpersonen unterhalb der Nachweisgrenze von 0,625 ng/ml befanden. Aufgrund der geringen Gruppengröße und der kurzen Verweildauer der Patienten in der Klinik wurden die Patientengruppen mit Erysipel und Zoster nicht weiterführend analysiert.

Korrelationen zwischen der Psoriasin-Serumkonzentration und der Alters- bzw. Geschlechtsverteilung zeigten sich weder in der Psoriasis- noch in der Kontrollgruppe. Patienten mit atopischer Dermatitis waren (entsprechend des erkrankungsbedingten früheren Beginnalters) im Durchschnitt deutlich jünger als Psoriasispatienten bzw. Personen der Kontrollgruppe. Ob das Alter der Patienten mit atopischer Dermatitis in Bezug auf den Nachweis oder die Konzentration von Psoriasin im Serum eine signifikante Rolle spielt, konnte aufgrund der geringen Gruppengröße nicht weiter analysiert werden. Jansen et al. untersuchten die Serumkonzentration von hBD-2 in einem sehr ähnlichen Versuchsaufbau und in einem vergleichbaren Patientenkollektiv. Da sich auch in diesen Untersuchungen zeigte, dass weder Alter noch Geschlecht signifikante Auswirkungen auf die hBD-2-Serumkonzentration haben (Jansen, Rodijk-Olthuis et al. 2009), liegt die Vermutung nahe, dass die Expression von AMP unabhängig von Parametern wie Alter und Geschlecht ist.

Dass das AMP Psoriasin im Serum nachweisbar ist, konnte anhand unserer Ergebnisse sowie der zwei zusätzlich erwähnten aktuellen Publikationen unabhängig bestätigt werden. Ein direkter und spezifischer Zusammenhang zwischen dem Peptid Psoriasin und einer Psoriasis existiert jedoch nicht, da auch bei Gesunden und bei Patienten mit atopischer Dermatitis sowie Lungentumoren erhöhte Psoriasinspiegel im Serum nachgewiesen wurden.

4.3. Das in dieser Arbeit untersuchte Kollektiv an Psoriasispatienten bestätigt bekannte Komorbiditäten und Assoziationen

Durch vergleichende Analyse von verschiedenen klinischen, anamnestischen und laborchemischen Parametern sollte die Eignung von Psoriasin als Serummarker der Krankheitsaktivität einer Psoriasis weiterführend determiniert werden.

Auffälligkeiten und Zusammenhänge der Serumkonzentration von Psoriasin in Bezug auf Alter und Geschlecht konnten im Rahmen der Korrelationsanalysen nicht festgestellt werden. Bei einem Großteil der untersuchten Psoriasispatienten zeigten sich jedoch unabhängig von der Psoriasin-Serumkonzentration ein auffällig erhöhter BMI (im Durchschnitt von 27,66), sowie eine verstärkte Neigung zum Alkohol- und Nikotinkonsum. Diese Zusammenhänge wurden schon in verschiedenen anderen Studien beobachtet (Naldi, Parazzini et al. 1996; Higgins 2000) und unterstreichen die Validität der hier erhobenen Daten. Weiterhin wiesen 46,1% der Patienten eine positive Familienanamnese in Bezug auf Psoriasis auf. Auch dieses Ergebnis entspricht der Erkenntnis, dass Psoriasis zu einem erheblichen Anteil genetisch bedingt ist. Ein relativ hoher Anteil der Psoriasispatienten (10,9%) war an Diabetes mellitus Typ II erkrankt und/oder litt an Bluthochdruck (29,7%). Zusammenhänge dieser Art wurden ebenfalls bereits in früheren Studien beobachtet (Mrowietz, Elder et al. 2006; Christophers 2007). Auch der Anteil der zusätzlich an einer Psoriasisarthritis erkrankten Patienten (8,6%) dieser Studie entspricht den allgemein für Psoriasispatienten geltenden Prävalenzen (Mrowietz, Elder et al. 2006). Die bekannte Assoziation zwischen dem HLA-Cw6 Status und einer Psoriasis konnte in der vorliegenden Untersuchung (soweit vollständige Angaben vorlagen) ebenfalls bestätigt werden. Bei 73 von 128 Psoriasispatienten lagen Angaben zum HLA-Cw6 Status vor, von diesen waren 56,2% HLA-Cw6 positiv und 43,8% HLA-Cw6 negativ. Diese Ergebnisse entsprechen den allgemein für Psoriasispatienten geltenden Prävalenzen für den HLA-Cw6 Status, denen zufolge Patienten mit einer Typ-I-Psoriasis („early-onset-Psoriasis“) eine sehr enge Kopplung mit dem Histokompatibilitätsantigen HLA-Cw6 (in bis zu 95% der Fälle) und Patienten mit einer Typ-II-Psoriasis („late-onset-Psoriasis“) eine nur geringe HLA-Kopplung aufweisen. 57% der untersuchten Psoriasispatienten (n=73) wiesen eine Typ-I- und 34% (n=44) eine Typ-II-Psoriasis auf, in 8,6% der Fälle lagen zum Psoriasis-Typ keine Angaben vor. Diese Ergebnisse bestätigen ebenfalls die bisher für Psoriasispatienten geltenden Prävalenzen. Abhängigkeiten der Psoriasin-Serumkonzentration zu weiteren in den Dokumentationsbögen erhobenen Parametern, wie verschiedenen Komorbiditäten einer Psoriasis, der anamnestischen Therapie und der spezifischen Therapie ab Beginn des Klinikaufenthaltes konnten nicht festgestellt werden. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse deutlich, dass für unsere Untersuchungen ein repräsentatives Kollektiv von Patienten vorlag, welches bisher bekannte Erkenntnisse in dem hier vorliegenden nicht selektierten Patientenkollektiv reproduzieren konnte.

4.4. Die Messung der Serumkonzentration von Psoriasin eignet sich zur Bestimmung der Krankheitsaktivität einer Psoriasis

In unseren Untersuchungen konnte deutlich gezeigt werden, dass die Psoriasin-Expression bei Psoriasispatienten gegenüber gesunden Kontrollpersonen im Serum erhöht ist. Bei 53,9% der 128 Psoriasispatienten konnten Psoriasinkonzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze des ELISA determiniert werden. Die Gruppe der Psoriasispatienten wies damit signifikant häufiger erhöhte Psoriasinkonzentrationen auf als die Kontrollgruppe, in der messbare Konzentrationen bei lediglich 20% der Probanden festgestellt werden konnten. Die Serumkonzentrationen, die in der Psoriasisgruppe gemessen wurden, lagen im Median bei 0,76 ng/ml und im Durchschnitt bei 1,61 ng/ml. Sie waren damit deutlich höher als in der Kontrollgruppe, in der sich die Psoriasinkonzentrationen im Median, wie auch im Durchschnitt unterhalb der Nachweisgrenze von <0,625 ng/ml befanden.

Die Hypothese, dass die Psoriasin-Serumkonzentration vom Schweregrad der Erkrankung abhängig ist, konnte anhand unserer Ergebnisse ebenfalls bestätigt werden.

Der Schweregrad einer Psoriasis wurde mit Hilfe des krankheitsspezifischen Aktivitätsindex PASI („Psoriasis Area and Severity Index“) dokumentiert, der das Ausmaß der betroffenen Hautfläche (in %) von Kopf, Rumpf, Armen und Beinen sowie den Schweregrad der Entzündung beschreibt. Um den Schweregrad der Entzündung im Detail zu erfassen, wurden die Psoriasis-Herde der einzelnen Areale anhand von 3 verschiedenen klinischen Parametern (Erythem, Infiltration, Schuppung) beschrieben und mit Hilfe einer Punkteskala bewertet. Alle erhobenen Parameter gehen in eine Formel ein, deren Ergebnis einen Zahlenwert von 0-72 ergibt. Die Erhebung des PASI ermöglicht damit eine weitestgehend objektive Beurteilung der Krankheitsaktivität einer Psoriasis und des Erfolges bzw. Misserfolges der angewendeten Therapie im Verlauf.

111 der 128 Psoriasispatienten wiesen vollständige Datensätze v.a. in Bezug auf die regelmäßige Dokumentation des PASI und die Erfassung der Entzündungsparameter im Verlauf des Krankenhausaufenthaltes auf, diese Gruppe wurde als „Subpopulation“ definiert und in Bezug auf die Psoriasin-Serumkonzentration im Detail untersucht. 54,9% der Patienten dieser Subpopulation wiesen messbare Psoriasinspiegel im Serum auf und es zeigte sich, dass der PASI mit der Psoriasin-Serumkonzentration in dieser Patientengruppe korrelierte. Dementsprechend fiel der Gesamt-PASI, bestehend aus den partiellen PASI PASI-Erythem (E), -Infiltration (I) und -Schuppung (S) bei dem Anteil der Subpopulation mit erhöhten Psoriasinwerten im direkten Vergleich signifikant höher aus (PASI=23), als der PASI der Psoriasin-negativen Patienten (PASI=15,23). Der partielle PASI-E erreichte mit einem Wert

von 8,58 Punkten bei den Psoriasin-positiven Patienten eine deutliche statistische Signifikanz gegenüber den Patienten ohne nachweisbare Psoriasin-Serumkonzentration, die einen PASI-E-Wert von lediglich 5,32 Punkten aufwiesen. Psoriasispatienten mit einer erhöhten Psoriasinkonzentration im Serum waren also signifikant häufiger mit einem hohen Erythemscore ihrer Erkrankung assoziiert.

Fragliche Zusammenhänge zwischen Psoriasis und Serum-Psoriasinspiegel können daher im Hinblick auf die entzündliche Komponente der Psoriasis diskutiert werden, da im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden konnte, dass vor allem der partielle PASI-E (PASI-Erythem) mit einer erhöhten Psoriasin-Serumkonzentration korreliert. Das Erythem, die Hautrötung, zählt zu den Kardinalsymptomen einer Psoriasis. Es entsteht aufgrund einer entzündungsbedingten „Mehrdurchblutung“ infolge von Gefäßerweiterungen, der Einwanderung von Entzündungszellen sowie der Freisetzung potenter Entzündungsmediatoren.

Zur Pathogenese der Psoriasis gibt es noch kein eindeutiges Konzept, man geht jedoch heute davon aus, dass es sich um eine Autoimmunerkrankung mit einer ausgeprägten entzündlichen Komponente und einer epidermalen Hyperproliferation handelt. Das charakteristische Erscheinungsbild einer Psoriasis wird durch die gesteigerte Aktivität der Keratinozyten und den Einstrom neutrophiler Granulozyten hervorgerufen. Die Freisetzung verschiedener Entzündungsmediatoren wie z.B. Wachstumsfaktoren, Zytokine und möglicherweise auch antimikrobielle Proteine (wie z.B. hBD-2, hBD-3, LL-37, Psoriasin) wird nach diesem Konzept vom Entzündungsgrad der Erkrankung beeinflusst (Lowe, Bowcock et al. 2007). Je mehr Entzündungszellen in der Hautläsion zu finden sind und je höher die Konzentration an entzündungsbedingten und -fördernden Mediatoren ist, die freigesetzt werden, desto stärker ist demzufolge das entzündliche Geschehen. Es kann daher spekuliert werden, dass die verstärkte Expression von AMP wie Psoriasin durch diese Moleküle auch *in vivo* induziert wird, analog zu den Ergebnissen von Stimulationsexperimenten mit primären Keratinozyten *in vitro* (Glaser, Harder et al. 2005). In Untersuchungen zur Gewebeexpression von Psoriasin konnte nicht nur in der Haut, sondern auch in den Epithelien der Luftwege, der Mundhöhle, des Colon, des Uterus und des Thymus eine mRNA-Expression nachgewiesen werden (Glaser, Harder et al. 2005). Ob neben Keratinozyten auch weitere Zellen Quelle für das messbare Psoriasin im Serum sind, sollte im Rahmen weiterführender Untersuchungen geklärt werden.

In aktuellen Studien wird einigen antimikrobiellen Peptiden eine komplexe Rolle im Entzündungsgeschehen eingeräumt, welche jedoch bislang noch nicht vollständig verstanden

wird. Yamasaki und Gallo berichteten in einer Übersichtsarbeit über das veränderte Expressionsmuster von AMP im Zusammenhang mit verschiedenen Hauterkrankungen und weisen deutlich darauf hin, dass diese Peptide nicht nur eine Rolle in der antibakteriellen Abwehr spielen, sondern einen bedeutenden Part im Gesamtgeschehen einer Erkrankung einnehmen (Yamasaki und Gallo 2008). Ihre immunmodulierenden Eigenschaften reichen von der Beeinflussung der Zellmigration, -proliferation und -reifung bis hin zur Beeinflussung der Zytokinproduktion und extrazellulären Matrixsynthese. Antimikrobielle Peptide wie Psoriasin, hBD-2 oder -3 können somit als Brückenglied zwischen der angeborenen und der erworbenen Abwehr des Organismus betrachtet werden. Sie tragen primär mit ihrer antimikrobiellen Aktivität zum Schutz des Organismus bei, scheinen aber sekundär auch aktiv mit verschiedenen Komponenten des adaptiven bzw. „spezifischen“ Immunsystems zu interagieren (Yamasaki und Gallo 2008).

Über die Interaktion zwischen antimikrobiellen Peptiden und dem spezifischem Immunsystem berichteten auch Büchau et al.. Im Vergleich zu gesunder Haut konnten sie bei Psoriasispatienten stark erhöhte Konzentrationen an verschiedenen antimikrobiellen Peptiden nachweisen, was als Hinweis auf eine bedeutende Rolle von AMP in der Pathogenese einer Psoriasis interpretiert wurde. Verschiedene für eine Psoriasis charakteristische Erkrankungsmerkmale wie die gesteigerte Keratinozytenproliferation, eine verstärkte Angiogenese und Chemotaxis, könnten nach Ansicht der Autoren durch das Vorhandensein antimikrobieller Peptide (z.B. durch das Cathelicidin LL-37, hBD-2 und -3, RNase7, Psoriasin und S100A15) ausgelöst und unterhalten werden (Buchau und Gallo 2007). Da AMP neben ihrer antimikrobiellen Aktivität auch über das Potential verfügen, als Chemokine immunmodulierend zu agieren, werden sie von einigen Autoren als „Alarmine“ bezeichnet (Schauber und Gallo 2007).

Unter diesen Aspekten scheint es nicht zu überraschen, dass zum einen Psoriasin bei Psoriasispatienten nicht nur auf der Haut, sondern auch, wie in dieser Arbeit und ebenfalls von Benoit et al. (Benoit, Toksoy et al. 2006) beschrieben, im Serum nachweisbar ist, und zum anderen die Konzentration von Psoriasin im Serum von der Entzündungsaktivität der Psoriasis beeinflusst wird.

Erstaunlicherweise kam eine andere Arbeitsgruppe kürzlich zu einem konträren Ergebnis (Anderson, Wong et al. 2009). Seren von Psoriasispatienten wurden mit dem Ziel untersucht, mögliche Korrelationen zwischen einer erhöhten Psoriasin-Serumkonzentration und von psoriasinspezifischen Autoantikörpern im Zusammenhang mit der Krankheitsaktivität zu ermitteln. Das Ergebnis dieser Arbeit war, dass mit steigender Krankheitsaktivität einer

Psoriasis der Psoriasin-Serumspiegel sank (Anderson, Wong et al. 2009). Diese, im Vergleich zu unseren Daten widersprüchlichen Ergebnisse, sind daher im Detail zu überprüfen: Während Anderson et al. lediglich das Serum von 14 Psoriasispatienten untersuchten, wurde in der vorliegenden Arbeit das Serum von 128 Psoriasispatienten und 70 Kontrollen analysiert. 3 der 14 von Anderson et al. untersuchten Patienten fielen aus der Analyse des Therapieverlaufs heraus, da weniger als 3 Serumproben zur Verfügung standen. Die statistische Analyse der Verlaufsuntersuchung basiert also lediglich auf den Daten von 11 Patienten. Anderson et al. verwendeten einen ELISA mit einer unteren Nachweisgrenze von 20 ng/ml und einer oberen von 2000 ng/ml. Die gemessenen Psoriasinkonzentrationen lagen daher wesentlich höher als bei unseren Messungen. Zu Therapiebeginn wiesen Anderson et al. eine mediane Psoriasinkonzentration von 213 ng/ml in der Psoriasisgruppe nach. Ein signifikanter Unterschied zu den gesunden Kontrollpersonen (331 ng/ml) zeigte sich nicht. Auch im Vergleich der Patienten mit hohem PASI (n=7) und niedrigerem PASI (n=7) konnte kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Psoriasinkonzentrationen (239 bzw. 188 ng/ml) festgestellt werden. Hier zeigte sich jedoch wie bei unseren Untersuchungen eine höhere Psoriasinkonzentration bei den Patienten mit höherer Krankheitsaktivität. Blutentnahmen erfolgten in der vorliegenden Arbeit wöchentlich im Verlauf der Therapie bis zur Entlassung, während bei den von Anderson untersuchten Patienten nur jede 2. Woche eine Blutentnahme stattfand. Aufgrund der Ergebnisse unserer Studie mit einer wesentlich größeren Patientenpopulation und einer umfangreichen wöchentlichen Verlaufskontrolle der Psoriasin-Serumkonzentrationen unter Dokumentation zahlreicher klinischer und Laborparameter sollten die Ergebnisse Andersons kritisch betrachtet werden.

Weitere aktuelle Arbeiten zur Untersuchung von Serum-Psoriasin bei Patienten mit Psoriasis vulgaris existieren bisher nicht.

Interessanterweise beschrieb Jansen et al. kürzlich hBD-2 als potentiellen Serummarker der Psoriasis. hBD-2 konnte wie Psoriasin im Serum von gesunden Kontrollpersonen und Psoriasispatienten mittels ELISA mit einer unteren Nachweisgrenze von 0,03 ng/ml nachgewiesen werden. Wie in unseren Untersuchungen zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen der hBD-2-Serumkonzentration und dem Aktivitätsindex PASI. So wiesen Psoriasispatienten mit einem PASI <10 (leichte Psoriasis) durchschnittliche hBD-2-Konzentrationen von 4,5 ng/ml auf, Patienten mit einer mittelschweren Psoriasis Konzentrationen von 11,5 ng/ml und Patienten mit einer schweren Psoriasis Konzentrationen von 84,2 ng/ml. Im Serum gesunder Kontrollpersonen wurden dagegen nur sehr geringe Konzentrationen (0,21 ng/ml) nachgewiesen. Korrelationen zwischen C-reaktivem Protein

(CRP) bzw. Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) und PASI konnten nicht festgestellt werden (Jansen, Rodijk-Olthuis et al. 2009).

Die Korrelation zwischen hBD-2-Serumkonzentrationen und Krankheitsaktivität bei Psoriasispatienten könnte sich durch die Erkenntnisse der Arbeitsgruppe um Hollox erklären lassen. Diese konnte nachweisen, dass Patienten mit Psoriasis eine signifikant höhere Anzahl an Genkopien von hBD-2 aufweisen als gesunde Kontrollpersonen und dass eine hohe Anzahl an hBD-2-Genkopien als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer Psoriasis gilt (Hollox, Huffmeier et al. 2008). Die erhöhte Konzentration von hBD-2 im Serum der Patienten könnte daher durch die erhöhte Anzahl an hBD-2-Genkopien und eine entsprechend verstärkte Protein-Expression begründet sein.

Unter diesem Aspekt wäre es sehr interessant zu untersuchen, ob dieses Phänomen auch für Psoriasisin zutrifft und die Gruppe von Psoriasispatienten mit positivem Nachweis von Psoriasisin im Serum auch eine größere Anzahl von Psoriasisin-Genkopien aufweist. Bisher ist über Kopienzahlen des Psoriasisin-Gens jedoch nichts bekannt, entsprechende molekulargenetische Analysen wären allerdings äußerst interessant.

Auch Patienten mit atopischer Dermatitis weisen erhöhte Psoriasisin-Serumspiegel auf

Die Gruppe der Patienten mit atopischer Dermatitis wurde als Vergleichsgruppe zu dem großen Kollektiv an Psoriasispatienten in die Untersuchungen aufgenommen. Bei der atopischen Dermatitis handelt es sich ebenfalls um eine chronisch-entzündliche primär nicht-infektiöse Dermatose. Im Gegensatz zu Patienten mit Psoriasis treten jedoch Superinfektionen der Haut, v.a. mit *Staphylococcus aureus* und Herpes simplex-Viren, vermehrt auf (Lin, Wang et al. 2007).

Interessanterweise zeigten sich in den Ergebnissen bei Patienten mit atopischer Dermatitis deutlich häufiger erhöhte Serumspiegel an Psoriasisin als bei den Psoriasispatienten, so dass hier weiterführende Untersuchungen folgen sollten. Bei 73,1% aller Patienten mit atopischer Dermatitis konnten am Aufnahmetag erhöhte Psoriasisinpiegel nachgewiesen werden mit einer medianen Psoriasisin-Serumkonzentration, die nahezu doppelt so hoch war wie die der Psoriasispatienten (1,6 versus 0,76 ng/ml). Aufgrund dieser Ergebnisse ist es nahe liegend, dass eine erhöhte Psoriasisin-Serumkonzentration unabhängig von einer bestimmten Erkrankung und eher Ausdruck einer allgemeinen Entzündungsreaktion der Haut ist.

Bei der atopischen Dermatitis (AD) handelt es sich ebenfalls um eine multifaktoriell bedingte Hauterkrankung mit genetischer Disposition und einer gestörten Barrierefunktion der Haut.

Die Besiedelung der Epidermis mit potentiell pathogenen Mikroorganismen, vor allem mit *S. aureus*, ist deutlich erhöht (Baker 2006). Ca. 90% der AD-Patienten sind von *S. aureus* besiedelt, während in der Kontrollpopulation lediglich 5-30% der Personen eine Besiedelung aufwiesen. Des Weiteren sind Patienten mit AD anfälliger für virale Infektionen, eine schwerwiegende Komplikation der Erkrankung ist beispielsweise das Ekzema herpeticum. Aufgrund dieser klinischen Beobachtungen wurde daher postuliert, dass bei Patienten mit atopischer Dermatitis eine Defizienz antimikrobieller Peptide Ursache der verstärkten Infektneigung sein könnte (Leung 2003). Eine erniedrigte Expression von verschiedenen AMP wurde in den folgenden Jahren bei Patienten mit atopischer Dermatitis gezeigt (Ong, Ohtake et al. 2002; Rieg, Steffen et al. 2005), ein entscheidender Kritikpunkt dieser Arbeiten ist jedoch, dass als Kontrollen Patienten mit Psoriasis vulgaris verwendet wurden.

Gamblicher et al. untersuchten in einer aktuelleren Studie nicht nur die mRNA-Expression von verschiedenen AMP (hBD-1, -2, -3, Psoriasin und RNase 7) bei Patienten mit atopischer Dermatitis und Psoriasis, sondern verglichen diese auch mit gesunden Kontrollpersonen. Die Ergebnisse zeigten erstmalig, dass sowohl Psoriasispatienten als auch Patienten mit atopischer Dermatitis im Vergleich zu gesunden Kontrollen eine *verstärkte* Expression dieser antimikrobiellen Peptide aufwiesen und widerlegten die Hypothese einer verminderten AMP-Expression bei Patienten mit atopischer Dermatitis (Gambichler, Skrygan et al. 2008).

Kürzlich konnte von unserer Arbeitsgruppe gezeigt werden, dass auch die Protein-Expression von Psoriasin bei Patienten mit atopischer Dermatitis im Vergleich zu gesunden Kontrollen verstärkt ist und erhöhte Konzentrationen von Psoriasin auf die Hautoberfläche sezerniert werden (Glaser, Meyer-Hoffert et al. 2009). Die verstärkte Proteinexpression wurde immunhistologisch charakterisiert, die gesteigerte Sekretion mittels ELISA in Waschlösungen der Haut von Patienten und Kontrollen quantifiziert. Weiterhin konnte im Rahmen dieser Studie gezeigt werden, dass eine experimentelle Barrierestörung zu einer schnellen und effizienten Induktion und Freisetzung von Psoriasin führt (Glaser, Meyer-Hoffert et al. 2009). Diese Ergebnisse könnten gemeinsam mit den mRNA-Daten von Gamblicher et al. eine Erklärung dafür liefern, warum bei Patienten mit AD keine Infektionen mit dem Darmkeim *E. coli* auftreten, obwohl dieser Keim ubiquitär zu finden ist und bei gestörter Barrierfunktion das Risiko einer Hautinfektion durchaus zu erwägen wäre.

Die schnelle Induktion und über mehrere Tage anhaltende Freisetzung Psoriasins nach einer akuten Verletzung bzw. bei chronischen Barrierestörungen, wie sie bei Patienten mit atopischer Dermatitis und Psoriasis auftreten, lassen vermuten, dass Psoriasin bereits präformiert im Stratum corneum vorliegt (Glaser, Meyer-Hoffert et al. 2009). So könnte

diskutiert werden, dass primär die Barrierestörung und sekundär der Kontakt mit proinflammatorischen Zytokinen oder Bakterien ursächlich für die Induktion und Freisetzung Psoriasins ist (Glaser, Meyer-Hoffert et al. 2009).

Diese aktuellen Erkenntnisse sind mit den Befunden in dieser Arbeit sehr gut vereinbar. Die erhöhte Expression des Moleküls in der Haut, die verstärkte Sekretion auf die Hautoberfläche und die erhöhten Serumspiegel von Psoriasin bei beiden Erkrankungen lassen auf einen über die Haut hinausgehenden Effekt schließen. In diesem Sinne sollte ebenfalls diskutiert werden, *wie* Psoriasin in das Serum gelangen könnte. Da es sich sowohl bei der Psoriasis als auch bei der atopischen Dermatitis um eine entzündliche Hauterkrankung handelt, finden sich verstärkt durchblutete Hautareale (wie z.B. die psoriatische Plaque) und eine erhöhte Permeabilität der Gefäße. In diesen Arealen könnte das von den Keratinozyten sezernierte Psoriasin in die dermalen Blutgefäße und auf diese Weise in den gesamten Blutkreislauf gelangen.

Die Messung von Serum-Psoriasin ist zum Therapie-Monitoring bei Patienten mit Psoriasis vulgaris geeignet

Neben dem Nachweis einer statistisch signifikanten Korrelation zwischen Psoriasin-Serumkonzentration und Gesamt-PASI bzw. partiellen PASI-E konnte aufgrund der vorliegenden Ergebnisse gezeigt werden, dass bei initial erhöhtem Serumspiegel von Psoriasin der Psoriasin-Spiegel der Psoriasispatienten mit dem tatsächlichen Ansprechen auf eine Therapie korreliert und demnach zum „Therapiemonitoring“ geeignet sein könnte. Initial erhöhte Psoriasin-Serumspiegel konnten bei 55% der Psoriasispatienten (61 von 111) nachgewiesen werden und ein paralleler Verlauf von PASI und Psoriasinkonzentration zeigte sich in der Gruppe der 51 Basispatienten, bei denen der Therapieverlauf über 4 Wochen vollständig dokumentiert werden konnte.

Es sollte an dieser Stelle jedoch auch kritisch angemerkt und diskutiert werden, dass 45% der untersuchten Psoriasispatienten zwar einen erhöhten PASI aufwies, aber *keinen* erhöhten Psoriasin-Serumspiegel. Ein „Therapiemonitoring“ anhand eines rückläufigen Serumspiegels ist bei solchen Patienten demnach nicht möglich. Die Konstellation „erhöhter PASI und nicht nachweisbare Psoriasin-Serumkonzentration“ traf im Rahmen dieser Studie auf 50 von 111 Patienten der Psoriasisgruppe zu, bei der der Aktivitätsmarker PASI zwar erhöht, aber im Verhältnis zum Psoriasin-positiven Anteil der Gruppe signifikant niedriger war. An dieser Stelle zeigt sich wiederum deutlich, dass der Psoriasin-Serumspiegel eng mit dem Aktivitätsgrad der Psoriasis, der mit Hilfe des PASI dargestellt wird, zusammenhängt:

verläuft die Psoriasis eher „moderat“, wie es bei den 50 Patienten mit einem initialen PASI von durchschnittlich 15,23 der Fall war, war keine Psoriasin-Serumkonzentration messbar. Ist die Erkrankung jedoch ausgeprägter und der initial dokumentierte PASI höher, wie es bei 55% der untersuchten Psoriasispatienten der Fall war (durchschnittlicher PASI von 23), ist die Wahrscheinlichkeit, Psoriasin im Serum nachzuweisen, erheblich größer.

An dieser Stelle sollte auch diskutiert werden, ob der „fehlende Nachweis“ von Psoriasin bei den 50 Psoriasispatienten mit geringerem PASI lediglich durch eine zu geringe Sensitivität des hier verwendeten ELISA bedingt sein könnte. In den Untersuchungen von Zhang et al. wurde ein ELISA mit einer etwas höheren Sensitivität verwendet (Zhang, Zhao et al. 2008). Die untere Nachweisgrenze lag dort bei 0,275 ng/ml, in unseren Tests bei 0,625 ng/ml. Dementsprechend konnten Zhang et al. geringere Psoriasin-Serumkonzentrationen detektieren und damit bei einer höheren Zahl von Patienten nachweisbare Psoriasinspiegel messen. Von den 53 von Zhang untersuchten Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom der Lunge hatten 52,8% messbare Psoriasin-Serumspiegel, die mediane Serumkonzentration dieser Patienten lag mit 0,296 ng/ml knapp über der unteren Nachweisgrenze des ELISA. Lediglich ein Patient wies eine Psoriasin-Serumkonzentration von >0,625 ng/ml auf.

Neben der Etablierung eines sensitiveren Testsystems ist jedoch ein Therapiemonitoring der Psoriasis anhand des Psoriasinspiegels unabhängig vom verwendeten ELISA für alle Patienten denkbar, die initial erhöhte Psoriasinspiegel aufweisen.

Zhang et al. untersuchten Psoriasin im Zusammenhang mit verschiedenen Subtypen von Lungenkarzinomen. In der Diagnostik von Lungentumoren konnte bislang kein spezifischer Serummarker identifiziert werden, der möglichst frühzeitig einen Hinweis auf die Diagnose, Progression und/oder Prognose geben könnte. Mittels molekularbiologischer Methoden (RT-PCR) und Proteinanalytik (Westernblot) konnte die Arbeitsgruppe bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen und großzelligen Lungenkarzinomen erhöhte Psoriasinkonzentrationen im Gewebe nachweisen, nicht jedoch bei Adenokarzinomen und kleinzelligen Karzinomen der Lunge. Im Serum konnte Psoriasin ausschliesslich bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen mittels ELISA nachgewiesen werden, bei Patienten mit anderen Lungentumorentitäten, gutartigen Lungenerkrankungen und bei gesunden Kontrollpersonen hingegen nicht (Zhang, Zhao et al. 2008). Zhang et al. folgerten aus diesem Ergebnis, dass Psoriasin ein geeigneter Serummarker für Plattenepithelkarzinome der Lunge sei und schon frühzeitig eine Abgrenzung von anderen Lungentumoren oder gutartigen Lungenerkrankungen erlaubte. Die genaue Funktion Psoriasins konnte in diesen

Untersuchungen nicht geklärt werden, eine Rolle des Proteins als chemotaktischer Faktor für Entzündungszellen wurde jedoch diskutiert.

Die Wertigkeit Psoriasins als spezifischer Serummarker für Plattenepithelkarzinome der Lunge sollte jedoch kritisch betrachtet werden. 52,8% der Patienten mit einem gesicherten Lungenkarzinom wiesen Psoriasin-Serumkonzentrationen oberhalb der Nachweisgrenze des verwendeten ELISA auf (0,275 ng/ml), dabei wurde nur bei einem von 112 Patienten eine Psoriasin-Serumkonzentration $>0,625$ ng/ml gemessen (Nachweisgrenze des in dieser Arbeit verwendeten ELISA). In Anbetracht dieser Ergebnisse zeigt sich, dass die gemessenen Konzentrationen an Psoriasin grundsätzlich sehr gering und keineswegs spezifisch für Plattenepithelkarzinome der Lunge sind, da die Konzentrationen in unserem untersuchten Patientengut von Patienten mit Psoriasis und atopischer Dermatitis deutlich höhere Messwerte aufwiesen.

Anhand der Analyse des Therapieverlaufs von 51 „Basispatienten“, bei denen über einen Zeitraum von insgesamt 4 Wochen vollständige Datensätze in Bezug auf den wöchentlich erhobenen Aktivitätsindex PASI und die wöchentlich bestimmte Psoriasin-Serumkonzentration vorlagen, konnte gezeigt werden, dass beide Parameter im Verlauf einer erfolgreichen Therapie deutlich rückläufig waren. Sowohl der zu Therapiebeginn erhöhte PASI, als auch die erhöhte Psoriasinkonzentration sanken insgesamt um ca. 50% (im Vergleich zum Ausgangswert) im Verlauf der Therapie.

Die Arbeitshypothese, dass der Serumspiegel von Psoriasin als geeigneter Parameter zur Charakterisierung der Krankheits- und Entzündungsaktivität einer Psoriasis geeignet ist und ein zusätzliches Instrument zur Therapieüberwachung darstellen könnte, ist bei Patienten mit *initial erhöhtem* Psoriasinlevel entsprechend der vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Psoriasin scheint somit als Aktivitätsmarker im Serum von Psoriasispatienten geeignet und lässt einen Rückschluss auf den Schweregrad bzw. den Entzündungsgrad der Erkrankung zu.

Im direkten Vergleich mit den konventionellen hämatologischen und laborchemischen Entzündungsparametern CRP, Leukozytenzahl und BSG stellt Psoriasin bei Patienten mit Psoriasis einen interessanteren Serummarker dar. Bereits nach der ersten Woche konnte im Kollektiv der Basispatienten parallel zum Absinken des PASI ein deutlicher Rückgang der Psoriasin-Serumkonzentration registriert werden, was eine frühzeitige Aussage über den Erfolg der angewandten Therapie erlaubt. Die Messung der Psoriasin-Serumkonzentration schafft somit neben der klinischen Einschätzung eine zusätzliche Information über die Krankheits- und Entzündungsaktivität aus dem Serum der Patienten. Hier sollte zukünftig im

Rahmen serieller Messungen des Psoriasin-Serumspiegels vor und nach Therapiebeginn untersucht werden, ob eine Aussage über einen therapeutischen Erfolg bzw. ein Therapieversagen der klinischen Evaluation vorausgeht und das frühzeitige Umstellen auf eine alternative Therapie ermöglichen könnte. Im Hinblick auf die kostenintensiven neuen Therapien mit Biologika wäre dies ein sehr großer Vorteil.

Biljan et al. berichteten, dass das C-reaktive Protein als psoriasisspezifischer Serummarker geeignet sei, da es mit der Entzündungsaktivität korreliert (Biljan, Situm et al. 2009). Auch in unseren Untersuchungen konnten wir eine Korrelation zwischen dem CRP und dem PASI nachweisen, die Eignung als spezifischer Entzündungsmarker einer Psoriasis sollte jedoch kritisch interpretiert werden. Es ist bekannt, dass das Protein bei verschiedenen akuten Entzündungen nach einer Verzögerung von ca. 12-24 Stunden im Serum nachweisbar ist und eine zeitlich exakte Beurteilung der Krankheitsaktivität bzw. des Entzündungsgrades nur eingeschränkt möglich ist. Psoriasin dagegen wird unmittelbar als Reaktion auf z.B. eine Verletzung oder bakterielle Stimuli sezerniert. So konnten Gläser et al. in einer Untersuchung über die Rolle Psoriasins bei der experimentellen Barrierestörung bereits nach 30 Minuten deutlich erhöhte Psoriasinkonzentrationen nachweisen (Glaser, Meyer-Hoffert et al. 2009).

Welcher Laborparameter in Bezug auf Sensitivität und Spezifität zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs von Patienten mit Psoriasis überlegen ist und für einen klinischen Einsatz geeignet scheint, müssen weiterführende Untersuchungen klären. Korrelationen zwischen der Leukozytenzahl oder der BSG und dem PASI konnten im Rahmen der Auswertungen nicht festgestellt werden.

5. Zusammenfassung

Die menschliche Haut ist permanent einer großen Anzahl und Vielfalt von Mikroorganismen ausgesetzt, aber trotz der ständigen Besiedelung durch potentiell pathogene Erreger nur selten infiziert. Heute verstehen wir, dass sich der menschliche Organismus vor allem mit Hilfe von antimikrobiellen Peptiden (AMP) vor einer Infektion der Haut schützt. AMP werden konstitutiv exprimiert oder durch verschiedene Reize induziert. In kleinsten Konzentrationen können sie innerhalb kürzester Zeit sehr effizient Gram-positive und -negative Bakterien, Pilze, Viren sowie verschiedene Protozoen direkt abtöten, lange bevor das erworbene Immunsystem imstande ist zu reagieren. Als Effektormoleküle der angeborenen Immunität werden sie auch als „körpereigene Antibiotika“ bezeichnet und kontrollieren unter anderem die Zusammensetzung und das Wachstum der körpereigenen Mikroflora.

Das S100-Protein Psoriasin (S100A7) gehört ebenfalls zu der Klasse der AMP und besitzt eine ausgeprägte antimikrobielle Aktivität gegenüber dem ubiquitär vorkommenden Darmkeim *E. coli*. Psoriasin wird nicht nur in der gesunden Haut sondern auch verstärkt in der läsionalen Haut von Psoriasispatienten exprimiert und schützt im Zusammenspiel mit zahlreichen weiteren AMP vor Hautinfektionen. Dieses Phänomen könnte erklären, warum Psoriasispatienten trotz defekter Hautbarriere auffallend selten Hautinfektionen aufweisen.

Im Rahmen dieser Arbeit stellten wir uns die Frage, ob Psoriasin bei Patienten mit Psoriasis vulgaris auch im Serum nachweisbar ist und einen Marker für die Krankheitsaktivität der Erkrankung darstellen könnte. Dazu wurde eine große Kohorte von Patienten mit Psoriasis vulgaris (n=128) in diese Studie eingeschlossen und serielle Serumproben bei Aufnahme sowie im wöchentlichen Verlauf unter Therapie auf ihre Konzentration an Psoriasin analysiert. Als Kontrollgruppen dienten neben gesunden Probanden (n=70) Patienten mit atopischer Dermatitis (n=26), Erysipel (n=10) und Herpes Zoster (n=11). Ergänzend wurden eine Reihe anamnestischer, klinischer und laborchemischer Parameter dokumentiert und Korrelationsanalysen in Bezug auf die Serumkonzentration an Psoriasin durchgeführt.

Deutlich erhöhte Psoriasinkonzentrationen im Serum konnten bei beiden chronisch-entzündlichen Hauterkrankungen, Psoriasis (53,9% der Patienten) und atopische Dermatitis (73,1%), gemessen werden. Auch bei gesunden (Kontroll-) Personen konnte Psoriasin vereinzelt im Serum nachgewiesen werden, die Serumspiegel waren jedoch vergleichsweise gering. Patienten mit Erysipel und Herpes Zoster wiesen keine erhöhten Serumspiegel von

Psoriasin auf. Die Hypothese, dass ein Zusammenhang zwischen dem Krankheitsbild Psoriasis und dem AMP Psoriasin existiert, konnte in dieser Arbeit bestätigt werden. Die Psoriasin-Serumkonzentration korrelierte bei den Patienten mit nachweisbarem Serumspiegel mit dem Aktivitätsscore der Psoriasis, dem „Psoriasis Activity and Severity Index (PASI)“. Patienten mit einer erhöhten Psoriasinkonzentration im Serum wiesen einen signifikant höheren PASI auf als Patienten ohne nachweisbares Psoriasin. Die Messung der Psoriasinkonzentration im Blut könnte demzufolge als zusätzlicher neuer Parameter zur Beurteilung der Krankheitsaktivität einer Psoriasis eingesetzt werden. Eine erhöhte Konzentration von Psoriasin korrelierte ebenfalls mit dem Nachweis des „C-reaktiven Proteins (CRP)“ als etablierten (unspezifischen) Entzündungsparameter. Ein Zusammenhang zu weiteren hämatologischen oder laborchemischen Parametern konnte nicht identifiziert werden.

Anhand einer Verlaufskontrolle über mehrere Wochen konnten wir zeigen, dass der Psoriasin-Serumspiegel mit dem Ansprechen auf eine Therapie streng korreliert. Bei Patienten mit initial erhöhtem Serumpsoriasin sank die Psoriasinkonzentration im Rahmen einer erfolgreichen Therapie in Korrelation zum PASI. Die Aktivität einer Psoriasis und auch der Erfolg einer Therapie kann somit anhand des Psoriasin-Serumspiegels unabhängig erfasst werden.

Da Psoriasis eine komplexe Systemerkrankung ist, untersuchten wir die Psoriasin-Serumkonzentration auch in Bezug auf weitere Parameter wie Alter und Geschlecht, Familienanamnese, psoriasistypische Komorbiditäten, Verlaufsformen der Psoriasis, anamnestische, aktuelle spezifische und Begleittherapien. Auch Gewohnheiten wie z.B. Alkohol- und Nikotinkonsum wurden in die Analyse aufgenommen. Wir konnten im untersuchten Kollektiv an Psoriasispatienten die bisher bekannten Erkenntnisse über die Abhängigkeiten dieser Faktoren bei Patienten mit Psoriasis reproduzieren und damit zeigen, dass ein repräsentatives Patientengut für diese Studie verwendet wurde. Alter und Geschlecht der Patienten und der Kontrollen sowie alle weiteren dokumentierten anamnestischen und klinischen Parameter hatten jedoch keine signifikanten Auswirkungen auf die Psoriasinkonzentration.

Zusammenfassend scheint Psoriasin ein interessanter Kandidat als neuer „Serummarker“ für eine Psoriasis zu sein. Im Hinblick auf ein potentiell „Therapiemonitoring“ sowie zum frühzeitigen Erfassen eines „Therapieversagens“ eröffnen sich damit auch unter ökonomischen Gesichtspunkten interessante Möglichkeiten, da heute zunehmend bei schwerem Krankheitsverlauf teure Medikamente (z.B. Biologika) zum Einsatz kommen.

6. Literatur

Algermissen B, Sitzmann J, LeMotte P, Czarnetzki B (1996). "Differential expression of CRABP II, psoriasin and cytokeratin 1 mRNA in human skin diseases." Arch Dermatol Res **288**(8): 426-30.

Alowami S, Qing G, Emberley E, Snell L, Watson PH (2003). "Psoriasin (S100A7) expression is altered during skin tumorigenesis." BMC Dermatol **3**: 1.

Anderson KS, Wong J, Polyak K, Aronzon D, Enerback C (2009). "Detection of psoriasin/S100A7 in the sera of patients with psoriasis." Br J Dermatol **160**(2): 325-32.

Baker BS (2006). "The role of microorganisms in atopic dermatitis." Clin Exp Immunol **144**(1): 1-9.

Benoit S, Toksoy A, Ahlmann M, Schmidt M, Sunderkotter C, Foell D, Pasparakis M, Roth J, Goebeler M (2006). "Elevated serum levels of calcium-binding S100 proteins A8 and A9 reflect disease activity and abnormal differentiation of keratinocytes in psoriasis." Br J Dermatol **155**(1): 62-6.

Biljan D, Situm M, Kostovic K, Batinac T, Maticic D (2009). "Acute phase proteins in psoriasis." Coll Antropol **33**(1): 83-6.

Boman HG (2000). "Innate immunity and the normal microflora." Immunol Rev **173**: 5-16.

Braun Falco O, Plewig G, Wolff HH (1995). Dermatologie und Venerologie. Berlin, Springer.

Brodersen DE, Etzerodt M, Madsen P, Celis JE, Thogersen HC, Nyborg J, Kjeldgaard M (1998). "EF-hands at atomic resolution: the structure of human psoriasin (S100A7) solved by MAD phasing." Structure **6**(4): 477-89.

Buchau AS, Gallo RL (2007). "Innate immunity and antimicrobial defense systems in psoriasis." Clin Dermatol **25**(6): 616-24.

Casewell MW, Desai N (1983). "Survival of multiply-resistant *Klebsiella aerogenes* and other gram-negative bacilli on finger-tips." J Hosp Infect **4**(4): 350-60.

Celis JE, Rasmussen HH, Vorum H, Madsen P, Honore B, Wolf H, Orntoft TF (1996). "Bladder squamous cell carcinomas express psoriasin and externalize it to the urine." J Urol **155**(6): 2105-12.

Celis JE, Cruger D, Kiil J, Dejgaard K, Lauridsen JB, Ratz GP, Basse B, Celis A, Rasmussen HH, Bauw G, et al. (1990). "A two-dimensional gel protein database of noncultured total normal human epidermal keratinocytes: identification of proteins strongly up-regulated in psoriatic epidermis." Electrophoresis **11**(3): 242-54.

Chen VL, France DS, Martinelli GP (1986). "De novo synthesis of lysozyme by human epidermal cells." J Invest Dermatol **87**(5): 585-7.

Christophers E (2007). "Comorbidities in psoriasis." Clin Dermatol **25**(6): 529-34.

Di Nuzzo S, Sylva-Steenland RM, Koomen CW, de Rie MA, Das PK, Bos JD, Teunissen MB (2000). "Exposure to UVB induces accumulation of LFA-1+ T cells and enhanced expression of the chemokine psoriasin in normal human skin." Photochem Photobiol **72**(3): 374-82.

Eckert RL, Broome AM, Ruse M, Robinson N, Ryan D, Lee K (2004). "S100 proteins in the epidermis." J Invest Dermatol **123**(1): 23-33.

Eisenbeiß D, Ardebili S, Harder J, Lange H, Rudolph B, Schroder J, Weichenthal M, Glaser R (2006). "Detection of the antimicrobial proteins psoriasin (S100A7) and RNase 7 in the peripheral blood of psoriasis patients and healthy controls." Experimental Dermatology. **15**(2):206.

Fredriksson T, Pettersson U (1978). "Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid." Dermatologica **157**(4): 238-44.

Frohm M, Agerberth B, Ahangari G, Stahle-Backdahl M, Liden S, Wigzell H, Gudmundsson GH (1997). "The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL-37 is induced in human keratinocytes during inflammatory disorders." J Biol Chem **272**(24): 15258-63.

Gambichler T, Skrygan M, Tomi NS, Othlinghaus N, Brockmeyer NH, Altmeyer P, Kreuter A (2008). "Differential mRNA expression of antimicrobial peptides and proteins in atopic dermatitis as compared to psoriasis vulgaris and healthy skin." Int Arch Allergy Immunol **147**(1): 17-24.

Ganz T, Lehrer RI (1999). "Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications." Mol Med Today **5**(7): 292-7.

Glaser R, Harder J, Lange H, Bartels J, Christophers E, Schroder JM (2005). "Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from Escherichia coli infection." Nat Immunol **6**(1): 57-64.

Glaser R, Navid F, Schuller W, Jantschitsch C, Harder J, Schroder JM, Schwarz A, Schwarz T (2009). "UV-B radiation induces the expression of antimicrobial peptides in human keratinocytes in vitro and in vivo." J Allergy Clin Immunol.

Glaser R, Meyer-Hoffert U, Harder J, Cordes J, Wittersheim M, Kobliakova J, Folster-Holst R, Proksch E, Schroder JM, Schwarz T (2009). "The antimicrobial protein psoriasin (S100A7) is upregulated in atopic dermatitis and after experimental skin barrier disruption." J Invest Dermatol **129**(3): 641-9.

Han ZX (1989). "[A variety of microorganism species at the burn ward]." Zhonghua Wai Ke Za Zhi **27**(9): 546-9, 574.

Harder J, Schroder JM (2002). "RNase 7, a novel innate immune defense antimicrobial protein of healthy human skin." J Biol Chem **277**(48): 46779-84.

Harder J, Schroder JM (2005). "Psoriatic scales: a promising source for the isolation of human skin-derived antimicrobial proteins." J Leukoc Biol **77**(4): 476-86.

Harder J, Glaser R, Schroder JM (2007). "The role and potential therapeutical applications of antimicrobial proteins in infectious and inflammatory diseases." Endocr Metab Immune Disord Drug Targets **7**(2): 75-82.

Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM (1997). "A peptide antibiotic from human skin." Nature **387**(6636): 861.

Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder JM (2001). "Isolation and characterization of human beta -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic." J Biol Chem **276**(8): 5707-13.

Harder J, Dressel S, Wittersheim M, Cordes J, Meyer-Hoffert U, Mrowietz U, Folster-Holst R, Proksch E, Schroder JM, Schwarz T, Glaser R (2010). "Enhanced Expression and Secretion of Antimicrobial Peptides in Atopic Dermatitis and after Superficial Skin Injury." J Invest Dermatol.

Heizmann CW, Fritz G, Schafer BW (2002). "S100 proteins: structure, functions and pathology." Front Biosci **7**: d1356-68.

Henseler T, Christophers E (1995). "Disease concomitance in psoriasis." J Am.Acad.Dermatol. **32**: 982-986.

Higgins E (2000). "Alcohol, smoking and psoriasis." Clin Exp.Dermatol 2000.Mar;25(2):107-10. **25**: 107-110.

Hoffmann HJ, Olsen E, Etzerodt M, Madsen P, Thogersen HC, Kruse T, Celis JE (1994). "Psoriasin binds calcium and is upregulated by calcium to levels that resemble those observed in normal skin." Journal of Investigative Dermatology **103**: 370-375.

Hollox EJ, Huffmeier U, Zeeuwen PL, Palla R, Lascorz J, Rodijk-Olthuis D, van de Kerkhof PC, Traupe H, de Jongh G, den Heijer M, Reis A, Armour JA, Schalkwijk J (2008). "Psoriasis is associated with increased beta-defensin genomic copy number." Nat Genet **40**(1): 23-5.

Jansen PA, Rodijk-Olthuis D, Hollox EJ, Kamsteeg M, Tjabringa GS, de Jongh GJ, van Vlijmen-Willems IM, Bergboer JG, van Rossum MM, de Jong EM, den Heijer M, Evers AW, Bergers M, Armour JA, Zeeuwen PL, Schalkwijk J (2009). "Beta-defensin-2 protein is a serum biomarker for disease activity in psoriasis and reaches biologically relevant concentrations in lesional skin." PLoS One **4**(3): e4725.

Lee KC, Eckert RL (2007). "S100A7 (Psoriasin)--mechanism of antibacterial action in wounds." J Invest Dermatol **127**(4): 945-57.

Leung DY (2003). "Infection in atopic dermatitis." Curr Opin Pediatr **15**(4): 399-404.

Lin YT, Wang CT, Chiang BL (2007). "Role of bacterial pathogens in atopic dermatitis." Clin Rev Allergy Immunol **33**(3): 167-77.

Louie TJ, Bartlett JG, Tally FP, Gorbach SL (1976). "Aerobic and anaerobic bacteria in diabetic foot ulcers." Ann Intern Med **85**(4): 461-3.

Lowes MA, Bowcock AM, Krueger JG (2007). "Pathogenesis and therapy of psoriasis." Nature **445**(7130): 866-73.

Madsen P, Rasmussen HH, Leffers H, Honore B, Dejgaard K, Olsen E, Kiil J, Walbum E, Andersen AH, Basse B, et al (1991). "Molecular cloning, occurrence, and expression of a

novel partially secreted protein "psoriasin" that is highly up-regulated in psoriatic skin." J Invest Dermatol **97**: 701-712.

Moog-Lutz C, Bouillet P, Regnier CH, Tomasetto C, Mattei MG, Chenard MP, Anglard P, Rio MC, Basset P (1995). "Comparative expression of the psoriasin (S100A7) and S100C genes in breast carcinoma and co-localization to human chromosome 1q21-q22." Int J Cancer **63**(2): 297-303.

Moore BW (1965). "A soluble protein characteristic of the nervous system." Biochem Biophys Res Commun **19**(6): 739-44.

Moubayed N, Weichenthal M, Harder J, Wandel E, Sticherling M, Glaser R (2007). "Psoriasin (S100A7) is significantly up-regulated in human epithelial skin tumours." J Cancer Res Clin Oncol **133**(4): 253-61.

Mrowietz U (2003). "[Psoriasis therapy with biologicals]." Hautarzt **54**(3): 224-9.

Mrowietz U, Elder JT, Barker J (2006). "The importance of disease associations and concomitant therapy for the long-term management of psoriasis patients." Arch Dermatol Res **298**(7): 309-19.

Naldi L, Parazzini F, Peli L, Chatenoud L, Cainelli T, Rebora A, Peserico A, Tognoni G, Fornasa CV, Forte I, Rossi E, Galbiati G, Recchia G, Cristofolini M, Schena D, Barba A, Polenghi MM, Betti R, Tosti A, Sapuppo A, Di Prima T, Virgili AR, Negrini A, Balato N (1996). "Dietary factors and the risk of psoriasis. Results of an Italian case-control study." British Journal of Dermatology **134**: 101-106.

Nast A, Kopp I, Augustin M, Banditt KB, Boehncke WH, Follmann M, Friedrich M, Huber M, Kahl C, Klaus J, Koza J, Kreiselmaier I, Mohr J, Mrowietz U, Ockenfels HM, Orzechowski HD, Prinz J, Reich K, Rosenbach T, Rosumeck S, Schlaeger M, Schmid-Ott G, Sebastian M, Streit V, Weberschock T, Rzany B (2007). "German evidence-based guidelines for the treatment of Psoriasis vulgaris (short version)." Arch Dermatol Res **299**(3): 111-38.

Nickoloff BJ, Nestle FO (2004). "Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities." J Clin Invest **113**(12): 1664-75.

Nizet V, Ohtake T, Lauth X, Trowbridge J, Rudisill J, Dorschner RA, Pestonjamas V, Piraino J, Huttner K, Gallo RL (2001). "Innate antimicrobial peptide protects the skin from invasive bacterial infection." Nature **414**(6862): 454-7.

Noble W (1992). "Other cutaneous bacteria." Cambridge University press.

Ockenfels HM (2003). "[Trigger factors for psoriasis]." Hautarzt **54**(3): 215-23.

Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, Gallo RL, Leung DY (2002). "Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis." N Engl J Med **347**(15): 1151-60.

Prinz JC (2004). "[New aspects in the pathogenesis of psoriasis]." J Dtsch Dermatol Ges **2**(6): 448-56; quiz 457.

Qu XD, Lehrer RI (1998). "Secretory phospholipase A2 is the principal bactericide for staphylococci and other gram-positive bacteria in human tears." Infect Immun **66**(6): 2791-7.

Rieg S, Steffen H, Seeber S, Humeny A, Kalbacher H, Dietz K, Garbe C, Schittek B (2005). "Deficiency of dermcidin-derived antimicrobial peptides in sweat of patients with atopic dermatitis correlates with an impaired innate defense of human skin in vivo." J Immunol **174**(12): 8003-10.

Schafer BW, Wicki R, Engelkamp D, Mattei MG, Heizmann CW (1995). "Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family." Genomics **25**(3): 638-43.

Schauber J, Gallo RL (2007). "Expanding the roles of antimicrobial peptides in skin: alarming and arming keratinocytes." J Invest Dermatol **127**(3): 510-2.

Schauber J, Gallo RL (2008). "Antimicrobial peptides and the skin immune defense system." J Allergy Clin Immunol **122**(2): 261-6.

Schittek B, Hipfel R, Sauer B, Bauer J, Kalbacher H, Stevanovic S, Schirle M, Schroeder K, Blin N, Meier F, Rassner G, Garbe C (2001). "Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands." Nat Immunol **2**(12): 1133-7.

Schroder JM (1999). "Epithelial antimicrobial peptides: innate local host response elements." Cell Mol Life Sci **56**(1-2): 32-46.

Schroder JM (1999). "Epithelial peptide antibiotics." Biochem Pharmacol **57**(2): 121-34.

Schroder JM (2002). "[Antimicrobial peptides: effector molecules of the skin as immune organ]." Hautarzt **53**(6): 424-34; quiz 435-7.

Schroder JM, Harder J (1999). "Human beta-defensin-2." Int J Biochem Cell Biol **31**(6): 645-51.

Traub M, Marshall K (2007). "Psoriasis--pathophysiology, conventional, and alternative approaches to treatment." Altern Med Rev **12**(4): 319-30.

Vorum H, Madsen P, Rasmussen HH, Etzerodt M, Svendsen I, Celis JE, Honore B (1996). "Expression and divalent cation binding properties of the novel chemotactic inflammatory protein psoriasin." Electrophoresis **17**(11): 1787-96.

Weinberg A, Swartz M (1993). Bacterial diseases with cutaneous involvement. New York, McGraw-Hill.

Wiedow O, Harder J, Bartels J, Streit V, Christophers E (1998). "Antileukoprotease in human skin: an antibiotic peptide constitutively produced by keratinocytes." Biochem Biophys Res Commun **248**(3): 904-9.

Wolf R, Voscopoulos C, Winston J, Dharamsi A, Goldsmith P, Gunsior M, Vonderhaar BK, Olson M, Watson PH, Yuspa SH (2009). "Highly homologous hS100A15 and hS100A7 proteins are distinctly expressed in normal breast tissue and breast cancer." Cancer Lett **277**(1): 101-7.

Yamasaki K, Gallo RL (2008). "Antimicrobial peptides in human skin disease." Eur J Dermatol **18**(1): 11-21.

Zasloff M (1987). "Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(15): 5449-53.

Zhang H, Zhao Q, Chen Y, Wang Y, Gao S, Mao Y, Li M, Peng A, He D, Xiao X (2008). "Selective expression of S100A7 in lung squamous cell carcinomas and large cell carcinomas but not in adenocarcinomas and small cell carcinomas." Thorax **63**(4): 352-9.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABTS	2,2`-Azino-bis-3-Ethylbenzthiazolin-6-Sulfonsäure
AMP	antimikrobielles Protein
aqua dest.	Destilliertes Wasser
BSA	„bovine serum albumin“ (bovines Serumalbumin)
C. albicans	Candida albicans
ca.	circa
Da	Dalton
E. coli	Escherichia coli
ELISA	„enzyme-linked immunosorbent assay“ (Enzym vermitteltes immunologisches Nachweisverfahren)
et al.	et alii (und andere)
h	Stunde
HBD	humanes Beta-Defensin
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
KBE	Koloniebildende Einheiten
kDa	Kilo-Dalton
LD90	Letale Dosis 90%
LPS	Lipopolysaccharide
M	Molar (mol/l)
min	Minute
nm	Nanometer
OD	optische Dichte
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
PBS	„phosphat buffered saline“ (Phosphat gepufferte Kochsalzlösung)
PCR	Polymerase chain reaction=Polymerase Kettenreaktion
RNA	„ribonucleic acid“ (Ribonukleinsäure)
RNAase	Ribonuklease
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	Reverse Transkriptase-PCR
s	Sekunde
s.	siehe
Std.	Standard
Tab.	Tabelle
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
U	Unit
Upm	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche

8. Anhang

Abbildung 5: Erhebungsbogen zur Dokumentation der allgemeinen Patienteninformationen

Name:	1. Probennr.:
Vorname:	restl. Nr.:
geboren: _ _ _ _ _ _ _ _	
Geschlecht: f: <input type="checkbox"/> m: <input type="checkbox"/>	
Beginnalter: _ _	
Hollerith-Nr.: _ _ _ _ _ _	
Größe: _ _ cm	
Gewicht: _ _ kg	
Aufn.-Datum: _ _ _ _ _ _ _ _	
HLA-Status: A B C	
_ _ _	
_ _ _	

Familienanamnese: Ang. 1. Grades |___| Ang. 2. Grades |___|
(positiv) (Anzahl)

Beruf:

Raucher: Nichtraucher Ex-Raucher Raucher:...(x/d)
Alkohol: selten/nie gelegentlich:,
 Abusus regelmäßig:

Erkrankungen:

Diabetes mellitus |___|
(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)
- Erkrankungsalter |_|_|
- insulinpflichtig
- orale Antidiabetika

Arterielle Hypertonie |___|
(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)
- β -Blocker
- sonstige Antihypertensiva

Hyperurikämie |___|
(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)
- Harnsäure-red. Med.

Hyperlipidämie |___|
(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)
- Fettsenker

sonstiges:

Morbus Crohn <input type="checkbox"/>	Ekzeme <input type="checkbox"/>
Colitis ulcerosa <input type="checkbox"/>	Atopie <input type="checkbox"/>
Allergien <input type="checkbox"/> →	
sonstige <input type="checkbox"/> →	

Anamnestiche Therapie: (der letzten 4 Wochen)

Lokalthherapie:

- Steroide offen
- Steroide okklusiv
- Cignolin
- Vitamin D3
-
-

Lichttherapie:

- UVB – Therapie

Psoralen UVA:

- Bade PUVA
- Orale PUVA

systemische Therapie:

- Methotrexat (MTX)
- Retinoide (Vit.A-Säure)
- Cyclosporin A
- Fumaderm
- Steroide
- Nichtsteroidale Antirheumatika/Antiphlogistika
-

andere:

- Infliximab
- Etanercept
-
-
-

Krankheitsbild:

Verlaufsform:

- akut exanthematisch
- schubw. generalisierend
- chronisch progredient
- chronisch stationär

Erscheinungsbild:

- Plaques
- Erythrodermie
- Psoriasis guttata
- Intertriginöser Befall
- Kopfhautbefall

Pustulosis:

(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)

- palmar
- plantar
- Plaques cum pustul.
- generalisata
- Acrodermatitis cont. supp.

Gelenkbeteiligung:

(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)

- deformierend
- Füße
- Hände
- Wirbelsäule
- sternoclaviculär
- Rheumafaktor
- erhöht:

Nagelveränderungen:

(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)

- Hände
- Füße

Abbildung 6: Erhebungsbogen zur wöchentlichen Dokumentation des Therapieverlaufs

Name:	Probennr.:
Vorname:	
Datum der Blutentnahme:	
	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

PASI:

Bewertungsskala: nicht - 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - sehr stark

(0 = nicht; 1 = leicht; 2 = mittel; 3 = stark; 4 = sehr stark)

	Kopf	Rumpf	Arme	Beine
Erythem				
Infiltration				
Schuppung				
betroffener Anteil der Körperregion (%)				

Labor:

	Laborparameter	normal	erhöht	k.A.
Leukozyten				
BSG		/		
CRP				
ASL				
ADNase				

Aktuelle Therapie:	(Woche / Tag vor der BA)
---------------------------	--------------------------

Lokaltherapie:

- Steroide offen
- Steroide okklusiv
- Cignolin
- Vitamin D3
-
-

Lichttherapie:

- UVB – Therapie
- (m) J/cm²

Psoralen UVA:

- Bade PUVA
- Orale PUVA

systemische Therapie:

- Methotrexat (MTX)
- Retinoide (Vit.A-Säure)
- Cyclosporin A
- Fumaderm
- Steroid
- Nichtsteroidale Antirheumatika/Antiphlogistika

andere:

- Infliximab
- Etanercept
-
-
-

Komplikationen:

- Dermatitis
- UV-Erythem

9. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Regine Gläser für die hervorragende Betreuung, ihre Unterstützung und Geduld und ihre stete gute Laune während der Durchführung der Versuche und insbesondere bei der Abfassung der Dissertation bedanken.

Prof. Dr. Thomas Schwarz danke ich für die Bereitstellung des „Arbeitsplatzes“ in der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie in Kiel.

Prof. Dr. Michael Weichenthal danke ich für die konstruktive Beratung und Unterstützung in Bezug auf die Gestaltung der Dokumentationsbögen und die statistische Auswertung der Ergebnisse.

Ein großer Dank gilt auch Birgit Leopold und Doris Jurkschat für die Bereitstellung der Patientenakten und die immer nette Arbeitsatmosphäre.

Des Weiteren möchte ich mich beim gesamten 6. Stock der Dermatologie für die freundliche Unterstützung, die nette Zusammenarbeit und die vielen Tipps und Hilfeleistungen bedanken. Insbesondere danke ich Heilwig Hinrichs für die Unterstützung bei der Durchführung der ELISA-Experimente und Dr. Sascha Gerdes für die „Bereitstellung“ zahlreicher Kontrollseren.

10. Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name	Dorothea Elisabeth Eisenbeiß
Geburtsdatum/ort	21.08.1980, Singen (Hohentwiel)
Anschrift	Holtenuer Str. 181, 24118 Kiel
Familienstand	ledig

Schulbildung

1987-1991	Grundschule: „Waldschule Groß-Grönau“
1991-2000	humanistisches Gymnasium: „Katharineum zu Lübeck“ Abschluss: Abitur

Hochschulbildung

2001-2007	Studium der Zahnmedizin an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
2005	Beginn der Doktorarbeit am Institut für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
2007	Zahnmedizinisches Staatsexamen in Kiel

Beruflicher Werdegang

10/07-03/09 seit 04/09	Assistenz Zahnärztin in freier Praxis, Marklohe (Niedersachsen) Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein-Campus Kiel, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (Prof. Dr. C. Dörfer)
---------------------------	---

Weiterqualifizierung

2008-2009	Curriculum für Endodontie, DG-Endo (Bonn)
-----------	---

Veröffentlichungen

1. D. Eisenbeiß , S. Ardebili , J. Harder , H. Lange , B. Rudolph , J. Schröder , M. Weichenthal , R. Gläser (2006): Detection of the Antimicrobial Proteins Psoriasin (S100A7) and RNase 7 in the Peripheral Blood of Psoriasis Patients and Healthy Controls. *Exp Dermatology*, 15(2): 206 (Abstract)
2. D. Eisenbeiß , S. Ardebili , J. Harder , H. Lange , B. Rudolph , J. Schröder , M. Weichenthal , R. Gläser (2006): The Antimicrobial Proteins Psoriasin (S100A7) is significantly upregulated in the Peripheral Blood of Psoriasis Patients. *J Invest Dermatol* 126 (3): S61 (Abstract)