

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie  
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. med. Lars French

**Nichtinvasive Untersuchung hautphysiologischer Parameter  
bei Ekzempatienten im Langzeitverlauf - Eine explorative  
Analyse**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Alexander Philip Eijkenboom  
aus  
Voorburg  
2019

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Andreas Wollenberg

Mitberichterstatter: PD Dr. med. David Anz  
Prof. Dr. med. Jürgen Schauber

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 24.10.2019

*Diese Dissertation ist meiner Familie gewidmet.*

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>6</b>
1.1	DAS ATOPISCHE EKZEM	6
1.2	PATHOGENESE UND HINTERGRUND	8
1.2.1	DYSFUNKTION DER HAUTBARRIERE	8
1.2.1.1	Die Epidermis	8
1.2.1.2	Das Stratum corneum chymotryptic enzyme	8
1.2.1.3	Filaggrin und das Profilaggrin-Gen	9
1.2.2	IMMUNMECHANISMEN	10
1.2.2.1	Das angeborene Immunsystem	10
1.2.2.2	T-Lymphozyten	11
1.2.2.3	Dendritische Zellen und adaptive Immunität in der Haut	11
1.2.2.4	Immunoglobulin E	13
1.2.2.5	Eosinophile Leukozyten	13
1.2.3	JUCKREIZ-KRATZ-ZYKLUS	14
1.3	HAUTPHYSIOLOGISCHE MESSMETHODEN	15
1.4	FRAGESTELLUNG	16
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>17</b>
2.1	PATIENTEN	17
2.1.1	PROBANDENAUFKLÄRUNG	18
2.2	SCORES ZUR SCHWEREGRADBESTIMMUNG DES ATOPISCHEN EKZEMS	18
2.3	MESSUNGEN HAUTPHYSIOLOGISCHER PARAMETER	20
2.3.1	TEWAMETER® TM 300	21
2.3.1.1	Durchführung der TEWL-Messung	22
2.3.1.2	TEWL Interpretation	22
2.3.2	MEXAMETER® MX 18	23
2.3.2.1	Interpretation der Mexameter-Werte	25
2.3.2.2	Durchführung der Erythem-Messung	26
2.3.3	CORNEOMETER® CM 825	26
2.3.3.1	Durchführung der Messung	27
2.3.4	RÄUMLICHE VORBEREITUNGEN FÜR DIE MESSUNGEN	28
2.4	KONFOKALE <i>IN VIVO</i> -LASERMİKROSKOPIE	28
2.5	ZEITLICHER ABLAUF	29
2.6	STATISTIK	30
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>31</b>
3.1	EASI-SCORE	31
3.2	DER TRANSEPIDERMALE WASSERVERLUST	32
3.2.1	DER ABSOLUTE TRANSEPIDERMALE WASSERVERLUST	32
3.2.2	DIE PROZENTUELLE VERÄNDERUNG DES TRANSEPIDERMALEN WASSERVERLUSTS	35
3.3	KORRELATION ZWISCHEN TEWL UND EASI	38
3.4	HAUTFEUCHTIGKEIT UND CORNEOMETRIE	39
3.4.1	DIE ABSOLUTEN MESSWERTE DER HAUTFEUCHTIGKEIT	39
3.4.2	DIE PROZENTUALE VERÄNDERUNG DER HAUTFEUCHTIGKEIT	41
3.5	DAS HAUTERYTHEM	43
3.5.1	DIE ABSOLUTEN MESSWERTE DES HAUTERYTHEMS	43

3.5.2	DIE PROZENTUALE VERÄNDERUNG DES HAUTERYTHEMS.....	46
3.6	<i>IN VIVO</i> -MIKROSKOPIE-BEFUNDE BEI EINEM EKZEMPATIENTEN IM ZEITVERLAUF .....	47
4	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>50</b>
4.1	DIE KLINISCHE ENTWICKLUNG DES ATOPISCHEN EKZEMS .....	50
4.2	LÄSIONALE HAUT VON EKZEMPATIENTEN WEIST EINEN ERHÖHTEN TEWL UND EIN VERMEHRTES HAUTERYTHEM AUF .....	51
4.3	WIEDERHERSTELLUNG EINER FUNKTIONALEN HAUTBARRIERE IM ZEITVERLAUF.....	51
4.4	NICHT-LÄSIONALE HAUT VON EKZEMPATIENTEN WEIST IM VERGLEICH ZU GESUNDER HAUT EINE UNTERSCHWELIGE ENTZÜNDUNG AUF .....	52
4.5	DIE HAUTFEUCHTIGKEIT UNTERSCHIEDET SICH ZWISCHEN EKZEMPATIENTEN UND HAUTGESUNDEN PROBANDEN NICHT SIGNIFIKANT .....	54
4.6	KLINISCHE SCHWEREGRADSCORES FÜR DAS ATOPISCHE EKZEM KORRELIEREN MIT DEM TRANSEPIDERMALEN WASSERVERLUST .....	55
4.7	HAUTPHYSIOLOGISCHE PARAMETER KÖNNEN KLINISCHE SCORES ERGÄNZEN .....	55
4.8	STÖRGRÖßEN UND ZUVERLÄSSIGKEIT HAUTPHYSIOLOGISCHER MESSUNGEN .....	56
4.9	DENDRITISCHE ZELLEN LASSEN SICH IN EKZEMLÄSIONEN MIT KONFOKALER LASERMIKROSKOPIE DARSTELLEN.....	58
5	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>61</b>
6	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>62</b>
7	<b>ANHANG.....</b>	<b>68</b>
7.1	VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN .....	68
8	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>70</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Das Atopische Ekzem

Das atopische Ekzem (AE) ist eine verbreitete, chronisch entzündliche Hauterkrankung die in westlichen Ländern gehäuft vorkommt. Nur teilweise verstandene Wechselbeziehungen zwischen genetischen und Umweltfaktoren sind an der Entstehung der Erkrankung beteiligt. Die Erkrankung zeichnet sich durch einen variablen klinischen Phänotyp mit einer heterogenen Pathophysiologie aus. Das atopische Ekzem ist häufig mit Asthma, allergischer Rhinoconjunctivitis und durch Nahrungsmittelallergien ausgelöst, erhöhten Immunoglobulin E (IgE)-Spiegeln assoziiert [1].

Die Prävalenz des AE wird bei Erwachsenen auf 2 – 10 % und bei Kindern auf 15 - 20 % geschätzt [2, 3]. Der Schweregrad ist bei Patienten, welche einen Arzt konsultieren, in 70 % der Fälle mild, in 20 % der Fälle moderat und in 2 % der Fälle schwer [4]. Davon treten 85 % der Fälle vor dem 5. Lebensjahr auf, wobei bis zu 70 % der Fälle bis zum Erwachsenenalter remittieren. Ein AE, das sich erst im Erwachsenenalter manifestiert, lässt sich oft schwer therapieren [5].

Ungefähr 20 - 50 % der Patienten, die an AE Symptomen leiden, weisen weder erhöhte IgE-Spiegel noch eine Sensibilisierung gegenüber Umwelt- und Nahrungsallergenen auf. Somit kann die Hautkrankheit in zwei Gruppen unterteilt werden; die extrinsische, IgE-assoziierte Form, und die intrinsische, nicht IgE-assoziierte Form, welche wie folgt definiert wird:

1. Klinischer Phänotyp des AE
2. Niedrige Gesamt-IgE-Spiegel mit negativen *in vitro* IgE-Screenings für luftübertragene Allergene und Nahrungsmittelallergene
3. Abwesenheit von anderen atopischen Erkrankungen, wie dem allergischen Asthma oder der allergischen Rhinoconjunctivitis [6]

Unabhängig von einer intrinsischen oder extrinsischen Form des AE, sind die Leitsymptome des AE ausgeprägter Juckreiz, trockene Haut und Ekzeme. Bei Säuglingen beginnt das AE oft mit Milchschorf, einer Verkrustung im Kopfbereich, oder mit stark juckenden Papeln oder Vesikeln. Außerdem treten Ekzeme beim Säugling oft an den Streckseiten der Extremitäten auf. Die Prädilektionsstellen der

Ekzeme befinden sich sowohl bei Kindern, als auch bei Erwachsenen insbesondere in Körperfalten und gelenksnah an den Beugeseiten der Extremitäten (Ellenbeugen und Kniekehlen). Das Ekzem weist je nach Stadium (akut oder chronisch) eine große Diversität im Hinblick auf Effloreszenzen auf. Während in der akuten Phase nässende, papulöse und vesikuläre Rötungen mit Erosionen und Krustenbildung im Vordergrund stehen, zeigen sich beim chronischen AE oft eine Lichenifikation (lederartige Verdickung und Vergröberung der Haut) und Hyperpigmentierung. Weitere Stigmata, die mit Atopie einhergehen, sind das Dennie-Morghan-Zeichen (doppelte Unterlidfalte), das Hertoghe-Zeichen (Ausdünnung der lateralen Augenbrauen), ein tiefer Haaransatz und ein weißer Dermographismus. Das AE ist mit seinen Effloreszenzen an den typischen Prädilektionsstellen und den assoziierten Stigmata eine klinische Blickdiagnose. Neben dem AE gibt es weitere atopische Erkrankungen, die oft gleichzeitig auftreten. Darunter fällt das allergische Asthma bronchiale und die allergische Rhinoconjunctivitis [1].

Der Juckreiz bereitet Patienten mit AE häufig einen enormen körperlichen und psychischen Leidensdruck [7]. Aus diesem Grund steht therapeutisch die Beseitigung des Juckreizes im Mittelpunkt. So hat sich die Basistherapie mit lokalen Pflegemitteln, kombiniert mit topischen Glucocorticoiden oder Calcineurininhibitoren, wie zum Beispiel Tacrolimus, bei einem mildem bis moderatem AE als antiinflammatorische Therapie bewährt. Patienten, die an einem schweren AE leiden, erhalten zumeist eine systemische antiinflammatorische Therapie.

Das AE ist behandelt wie unbehandelt durch einen phasenhaften Verlauf gekennzeichnet. So kommt es zu Ekzemverbesserungen oder Ekzemverschlechterungen, die vermehrten oder verminderten sichtbaren Zeichen und subjektiven Symptomen einhergehen. Manchmal sind Auslöser für die Verschlechterungen des Ekzems erkennbar. Diese können in Exposition gegenüber relevanten Aeroallergenen wie Gräserpollen oder Hausstaubmilben, Aufnahme relevanter Nahrungsmittelallergene wie Fisch, Tomate oder Nüssen, Stresssituationen, Infekten bestehen. Häufig ist aber auch kein Auslöser für einen Schub eines AE erkennbar.

## **1.2 Pathogenese und Hintergrund**

Obwohl die Pathogenese des AE noch nicht vollständig verstanden ist, wurden dennoch einige Hypothesen entwickelt, die mittlerweile weitgehend akzeptiert sind. So spielen genetische und immunopathogenetische Faktoren, sowie Störungen der Barrierefunktion der Haut eine Rolle.

### **1.2.1 Dysfunktion der Hautbarriere**

#### 1.2.1.1 Die Epidermis

Die Epidermis, insbesondere das Stratum corneum, ist die äußerste Schicht der Haut, die als primäre Abwehrbarriere zwischen dem Organismus und dessen Umwelt fungiert. Die Funktion des Stratum corneum reicht von der angeborenen Immunabwehr über die Minimierung des Wasserverlustes des Körpers durch Verdunstung bis zum Schutz gegen extreme Umweltfaktoren. Das Stratum corneum ist das Resultat einer organisierten Differenzierung, in der die Keratinozyten der basalen Schicht der Epidermis die spinözelluläre und granuläre Schicht durchwandern, um letztendlich die oberflächlichen Corneozyten zu formen. Das Stratum corneum wird weiterhin durch eine lipidproteinhaltige, extrazelluläre Matrix unterstützt. Dieses hydrophobe Gerüst formt gemeinsam mit interzellulären Adhäsionsproteinen wie Corneodesmosomen und Tight junctions eine sehr effektive Barriere [8]. Eine dysfunktionale Hautbarriere spielt eine zentrale Rolle bei der Pathophysiologie des AE und seinen Läsionen. Einzelne Teilaspekte dieser Barrierefunktion sollen eingehender erläutert werden:

#### 1.2.1.2 Das Stratum corneum chymotryptic enzyme

Das Stratum corneum chymotryptic enzyme (SCCE) ist eine körpereigene Protease der Haut, die den Abbau von Corneodesmosomen katalysiert [9]. Corneodesmosomen sind spezialisierte Desmosome, die benachbarte Corneozyten verbinden. In oberflächlichen Schichten des Stratum corneum, wird SCCE aktiv, da dessen natürliche Inhibitoren, namentlich der „lymphoepithelial Kazal-type-related inhibitor“ (LEKTI) und der „serine leukoprotease inhibitor“, hier weniger stark exprimiert werden, wodurch Keratinozyten leichter abschilfern [9].

In gesunder Haut besteht ein Gleichgewicht zwischen der Proliferation der Keratinozyten in der basalen Schicht und der Desquamation in den höheren Schichten des Stratum corneums, wodurch die Dicke der Epidermis konstant gehalten wird. Im Vergleich zur gesunden Haut ist in der Haut von AE-Patienten die Aktivität von SCCE gegenüber der Aktivität seiner Inhibitoren erhöht. Dies führt zu einem erhöhten Kohäsionsverlust der oberflächlichen Corneozyten [9]. Solch eine erhöhte Desquamationsrate geht mit einem, für die Haut von AE-Patienten charakteristischen, erhöhten transepidermalen Wasserverlust (transepidermal water loss, TEWL) mit verringerter Hydratation des Stratum corneum einher [10]. Klinisch manifestiert sich dieser erhöhte Wasserverlust in einer ausgetrockneten, reizbaren Haut. Vor allem an den Prädilektionsstellen zeigt sich als weitere Folge eine vermehrte Schuppenbildung. Als Resultat der vermehrten Schuppenbildung und Abschilferung von Keratinozyten kommt es in läsionaler Haut zur epidermalen Hyperplasie, die den Ausgleich des Zellverlustes bezweckt [11-13].

#### 1.2.1.3 Filaggrin und das Profilaggrin-Gen

Ein genetischer Faktor, welcher die epidermale Barrierefunktion ebenfalls beeinflusst, ist das Profilaggrin-Gen (FLG). Die FLG-Expression ist in der Haut von Patienten mit AE herabgesetzt. Bis zu 50 % der Patienten mit AE tragen eine FLG Nullmutation. Der Zusammenhang zwischen Änderungen im FLG und den Krankheiten Ichthyosis vulgaris sowie dem klinischen AE ist bereits seit Jahrzehnten bekannt [14]. FLG codiert das Filament aggregating protein (Filaggrin), ein Strukturprotein in der äußeren epidermalen Schicht. Filaggrin ist für die physiologische Kollabierung des Zytoskeletts der Keratinozyten verantwortlich, wodurch Corneozyten geformt werden und die Struktur des Stratum corneum aufrechterhalten wird. Weiterhin ist bekannt, dass FLG die Zelldifferenzierung beeinflusst, wobei Filaggrin auch eine Rolle bei der natürlichen Hydratisierung der Haut spielt. Es bestehen Hinweise, dass ein Mangel an FLG-Abbauprodukten den transepidermalen Wasserverlust, die Allergenpenetranz sowie die Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* (*S aureus*) erhöht. Dies erklärt, weswegen Loss-of-Function-Mutationen des FLG mit höheren Gesamt-IgE-Werten, mehr Sensibilisierungen, einem schwereren Verlauf des AE und allergischem Asthma einhergehen [15].

## 1.2.2 Immunmechanismen

### 1.2.2.1 Das angeborene Immunsystem

In gesunder Haut reguliert das angeborene Immunsystem die Integrität der Hautbarriere. Dazu gehört auch ein Gleichgewicht im Mikrobiom der Haut. Bekanntermaßen lassen sich auf Läsionen des AE große Mengen an *S aureus* finden. Rezente Hautanalysen zeigen, dass bei akuten Phasen des AE das Gleichgewicht des Mikrobioms entgleist, wobei die Vielfalt der Hautflora erst nach einer erfolgreichen antiinflammatorischen Therapie wiederhergestellt wird [16].

Die Vielfalt der physiologischen Hautflora wird unter anderem durch das angeborene Immunsystem reguliert. Außerdem wird eine Überwucherung von *S aureus* verhindert. Ein wichtiger Regulator hierfür ist die Gruppe der antimikrobiellen Peptide (AMPs). Dieser Regulator wird sowohl durch die Haut selbst, als auch durch die natürlichen Bakterien auf der Haut produziert, um ein ausgeglichenes Bakterienwachstum zu fördern. Dadurch werden Infektionen vorgebeugt [17].

Hautläsionen mit *S aureus* als dominantem Mikroorganismus sollten beim gesunden Patienten eine Hochregulierung der AMPs auslösen, um dem Verlust an Bakterienvielfalt vorzubeugen. Beim AE können diese AMPs nicht ausreichend hochreguliert werden [18]. Dies resultiert in einer weiteren Dominanz des *S aureus* auf der Haut von AE-Patienten. Auf diese Änderungen im extrazellulären Milieu antwortet die Haut mit einer Hochregulierung von epithelialen Zytokinen. Darunter fällt auch das Thymic stromal lymphopoietin (TSLP). Diese Hochregulierung führt zur Migration und Akkumulation von sogenannten Type 2 innate lymphoid cells (ILC2), welche die Haut nach Allergenkontakt infiltrieren und Typ 2 T-Zell Zytokine, wie zum Beispiel Interleukin (IL)-5 und IL-13, produzieren [19].

Therapeutische Ansätze könnten zur Inhibition der Freisetzung der beschriebenen Zytokine entwickelt werden und somit die fortschreitende Entzündungskaskade bremsen.

### 1.2.2.2 T-Lymphozyten

Ein weiterer entscheidender Faktor beim AE ist der T-Lymphozyt. T-Lymphozyten werden im Knochenmark als T-Vorläuferzellen (Th0) erzeugt und wandern zur Reifung in den Thymus. Der Reifungsprozess besteht hauptsächlich darin, die Th0-Rezeptoren derart zu programmieren, dass sie nur auf körperfremde Antigene reagieren und selbige bekämpfen. Eine erhöhte Anzahl an T-Zellen kann in Hautläsionen des AE gefunden werden. Die Unterteilung der T-Zellen in T-Helferzellen Typ 1 (Th1-Lymphozyten) und T-Helferzellen Typ 2 (Th2-Lymphozyten) basiert auf dem Sekretionsmuster ihrer Zytokine.

Th1-Lymphozyten produzieren vor allem IL-2 und Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ). Dadurch induzieren sie die Aktivität der Makrophagen. Aufgrund dessen sind sie bei der Infektionsabwehr von intrazellulären Pathogenen sehr effektiv.

Th2-Lymphozyten produzieren IL-4, IL-5, IL-9 sowie IL-13 und verstärken dadurch die humorale Immunantwort sowie den Widerstand gegen parasitäre Infektionen. Sie sind ebenfalls für das Auftreten allergischer Reaktionen verantwortlich [20].

Die Differenzierung der naiven Th0-Lymphozyten in Th1- und Th2-Lymphozyten ist abhängig von dem Vorhandensein spezifischer Zytokine. Th1-Lymphozyten entwickeln sich aus Th0-Lymphozyten in der Gegenwart von IL-12 aus Makrophagen oder dendritischen Zellen. Im Gegensatz dazu ist es für die Entstehung der Th2-Lymphozyten erforderlich, dass sich die Th0-Lymphozyten in einem vornehmlich IL-4-haltigen Milieu befinden [21].

Bei atopischen Krankheiten wie AE und Asthma bronchiale wird das Gleichgewicht der T-Helfer-Zellen in Richtung der Th2-Lymphozyten verschoben, wobei der entsprechende Zytokinspiegel im extrazellulären Milieu ansteigt. Th2-Zytokine resultieren im typischen AE Phänotyp: Pruritus und Entzündung der Haut. Ein Überfluss an Th2-Zytokinen, namentlich von IL-4 und IL-13, verringert zusätzlich die Expressierung von Filaggrin während der Differenzierungsphase der Keratinozyten [11]. Die anschließende Störung der Hautbarriere begünstigt die Anfälligkeit für bakterielle und virale Hautinfektionen. IL-4 und die Th2-Zytokine bieten wiederum einen Ansatz für neue antiinflammatorische Therapien.

### 1.2.2.3 Dendritische Zellen und adaptive Immunität in der Haut

Dendritische Zellen entstammen dem Knochenmark. Sie verteilen sich vor allem peripher im Körper. Dendritische Zellen gehören zu den antigenpräsentierenden Zellen des Immunsystems. Sie besitzen Fortsätze mit einer hohen Dichte an Major Histocompatibility Complex (MHC) der Klasse II. Nach ihrer Entwicklung im Knochenmark schwimmen die Zellen in den gesamten Körper aus und lassen sich dort inaktiv nieder. Kommt es zur Infiltrierung durch Antigene im Gewebe, werden diese Antigene von der dendritischen Zelle durch Endozytose aufgenommen. Im Anschluss migrieren die dendritischen Zellen in sekundäre lymphatische Organe, wie zum Beispiel in die Lymphknoten. Dort geben sie ihre antigenaufnehmende Rolle auf und übernehmen anstatt dessen eine antigenpräsentierende Funktion. Antigene werden auf den MHC-Klasse-II-Rezeptoren präsentiert, wobei die dendritischen Zellen nebenher maturieren und weitere Zytokine ausschütten, um primäre und sekundäre Immunantworten hervorzurufen. Die Th0-Lymphozyten der sekundären lymphatischen Organe können mit entsprechenden Rezeptoren den MHC-Klasse-II-Antigenkomplex der dendritischen Zelle binden. Hierdurch werden die bisher naiven Th0-Lymphozyten aktiviert [22].

Langerhans-Zellen sind spezialisierte dendritische Zellen, welche in der Epidermis zu finden sind. Sie liegen in den basalen Schichten der Epidermis und in den oberen Schichten der Dermis. Wie es für dendritische Zellen üblich ist, bilden die Langerhans-Zellen auch hier ein Netzwerk dendritischer Ausläufer. Nachdem die Langerhans-Zelle ihre Antigene in regionalen Lymphknoten präsentieren, findet ebenfalls eine Aktivierung von naiven Th0-Lymphozyten statt. Langerhans-Zellen kontrollieren die Polarisierung der Immunreaktion in Richtung Typ 1 oder Typ 2 durch interzelluläre Signalkaskaden zwischen Langerhans-Zelle und Th0-Lymphozyt. Die Langerhans-Zellen von Atopikern favorisieren eine Th2-Polarisierung [23].

Neben den Langerhans-Zellen in der Haut befinden sich in der läSIONalen Haut von Patienten mit AE weitere antigenpräsentierende Zellen, namentlich die Inflammatory Dendritic Epidermal Cells (IDEC). Diese unterscheiden sich von Langerhans-Zellen, die Birbeck-Granula tragen, durch ihre starke Expression des Immunoglobulin-E-Rezeptors (FcεRI). Die FcεRI-Expression korreliert stark mit dem Gesamt-IgE-Spiegel [24].

Die topische Glucocorticoidtherapie bewirkt eine Herabsetzung der Ausschüttung von IL-4 durch die Langerhans-Zellen und hemmt somit die Entwicklung von Th2-Lymphozyten [25].

#### 1.2.2.4 Immunoglobulin E

Mit Immunoglobulin E (IgE) wird eine eigene Klasse von Antikörpern bezeichnet, die bei parasitären und allergischen Erkrankungen im Serum in erhöhter Konzentration nachweisbar ist.

Zu Beginn einer Allergie wird ein Antigen einem Th2-Lymphozyten durch eine dendritische Zelle oder einen Makrophagen präsentiert. Der Th2-Lymphozyt produziert IL-4 und aktiviert B-Lymphozyten. Letztere entstehen ebenfalls im Knochenmark und sind für die humorale Antikörperproduktion des gesamten Körpers verantwortlich. IL-4 stimuliert die B-Lymphozyten zur IgE-Produktion und rekrutiert durch positives Feedback weitere Th2-Lymphozyten. Das ausgeschüttete IgE bindet an den Fc $\epsilon$ RI der Mastzellen und IDEC, die beide eine akute, inflammatorische Reaktion des Immunsystems induzieren [26]. Patienten mit intrinsischem AE zeigen einen Mangel an, gegen Aero- und Nahrungsallergene gerichtetes, IgE. Mit ähnlichem klinischen Phänotyp exprimieren Patienten mit extrinsischem AE im Vergleich zu Patienten mit intrinsischem AE eine höhere Dichte an Fc $\epsilon$ RI auf ihrer Zelloberfläche [26].

#### 1.2.2.5 Eosinophile Leukozyten

Eosinophile Granulozyten (Eosinophile, Eos), gehören zu den Leukozyten, die an der zellulären Immunabwehr beteiligt sind. Sie enthalten Vesikel, sogenannte Granula, die toxische Proteine, lysosomale Enzyme und Peroxidase enthalten. Der Inhalt der Granula kann durch Exozytose an die Umgebung abgegeben werden. Auslöser hierfür sind unter anderem IgE-Antikörper. Die ausgeschütteten Proteine und Th2-Zytokine locken andere Eosinophile an, so dass eine lokale Abwehr verstärkt wird [27].

Eosinophile können jedoch auch den Organismus selbst schädigen. Bei Asthma bronchiale wie beim atopischen Ekzem werden die Epithelien durch die Inhaltsstoffe der Eosinophilen entzündlich geschädigt.

Bei Allergien ist die Anzahl der Eosinophilen oftmals erhöht, so dass die Eosinophilie ein wichtiger Indikator für das Vorhandensein einer atopischen Erkrankung ist.

### **1.2.3 Juckreiz-Kratz-Zyklus**

Die Ausschüttung von Zytokinen wie IL-4, IL-13 und TSLP führt zu einer chronischen Entzündung der Haut mit dem Leitsymptom Pruritus [28]. TSLP induziert den Juckreiz direkt durch die Aktivierung von kutanen sensorischen Neuronen [29]. Die Freisetzung der Th2-Zytokine führt zum typischen Phänotyp des AE, welcher durch Juckreiz, Rötung und Nässen an den Prädilektionsstellen gekennzeichnet ist. Der Patient reagiert mit Kratzen. Dies führt zu einer Reizung sowie zur Schädigung der Haut. Das Kratzen verursacht weiteren Schaden an der bereits dysfunktionalen Hautbarriere. Klinisch äußert sich die Verletzung durch Exkorationen und Krustenbildung. Auf Zellebene zeigt sich eine verletzte Hautbarriere auch durch einen erhöhten TEWL.

Einerseits regt die mechanische Reizung von Mastzellen die Degranulation und damit Freisetzung von Histamin an, andererseits erhöht die dysfunktionale Hautbarriere die Anfälligkeit für Infekte und die Penetranz von Allergenen. Diese Kombination zieht eine weitere Entzündung nach sich.

Das Therapieprinzip des AE basiert auf einer Durchbrechung des Juckreiz-Kratz-Zyklus. Topische und systemische Medikationen streben eine Entzündungshemmung in der Haut an. Mechanische Sperren, wie Handschuhe, werden gegen Kratztraumata und fortdauernde Allergenexposition eingesetzt.

### **1.3 Hautphysiologische Messmethoden**

Hautfunktionsparameter sind nichtinvasiv erfassbar und können damit verlässlich und objektiv bestimmt werden. Sonden können dabei auf die Haut aufgesetzt werden um Informationen des Hautzustands aufzuzeichnen.

Zu den Hautfunktionsparametern gehören zum Beispiel der TEWL, das Hauterythem, die Hautpigmentierung, der Sebumanteil auf der Haut, der pH der Haut und die Hautelastizität. Diese Hautfunktionsparameter werden auch in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie untersucht, um die Wirkung neuer Produkte zu verifizieren.

Diese Parameter sind nichtinvasiv ohne Hautbiopsien messbar und können deswegen unkompliziert neben den regelmäßigen Untersuchungen von Ekzempatienten durchgeführt werden. Durch die einfache Handhabung der Sonden lassen sich Messungen unkompliziert durchführen. Die Werte können quantitativ zusammengefasst werden und sind dadurch gut zu standardisieren.

Bisher werden klinische Scores wie der Eczema Area and Severity Index (EASI) Score und der Investigator's Global Assessment (IGA) Score häufig eingesetzt zur Schweregradbestimmung eines AE. Diese Skalen sind international verbreitet und bieten einen Standard zum Vergleich der Patienten mit AE. Allerdings bestehen auch Schwierigkeiten bei der Nutzung dieser Skalen. Die Einschätzung der Änderungen der Symptome des AE bei aufeinanderfolgenden Untersuchungen kann subjektiv, ungenau und schwer zu standardisieren sein.

Zum Beispiel ist die Beurteilung von Erythemen bei dunkelhäutigen Patienten mittels EASI-Score schwer. Vor allem schätzen unterschiedliche Untersucher den selben Patienten oft unterschiedlich ein [30].

In Abhängigkeit vom phasenhaften Verlauf des AE sollte sich auch die Hautfunktion im Zeitverlauf verbessern oder verschlechtern. Eine Verbesserung oder Verschlechterung der Barrierefunktion bei Ekzempatienten sollte somit auch mit einer Verbesserung oder Verschlechterung der nichtinvasiv messbaren Hautfunktionsparameter einhergehen.

## 1.4 Fragestellung

Im Rahmen der vorgelegten Arbeit sollten folgende Fragestellungen untersucht werden:

Wie unterscheiden sich läsionale Hautfunktionsparameter von Ekzempatienten von hautgesunden Probanden?

Wie unterscheiden sich nichtläsionale Hautfunktionsparameter von Ekzempatienten von hautgesunden Probanden?

Wie stabil sind die Hautfunktionsparameter bei Ekzempatienten im Zeitverlauf?

Wie stark verändern sich die Hautfunktionsparameter bei Ekzempatienten im Zeitverlauf bei einer Ekzemverbesserung?

Korreliert der transepidermale Wasserverlust (TEWL) mit den aktuellen klinischen Schweregrad (EASI) des AE?

Wie zuverlässig sind hautphysiologische Messungen und welche Störanfälligkeiten sind zu beachten?

Können dendritische Zellen durch nichtinvasive Bildgebung identifiziert werden?

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Patienten**

In der vorliegenden Studie wurden läsionale und nicht-läsionale Hautareale von Ekzempatienten im Zeitverlauf explorativ mit einem Hautfunktionsgerät untersucht. Die Patienten wurden entzündungshemmend behandelt und applizierten selbständig Basispflege nach Bedarf. Die Teilnahme der Patienten an den hautphysiologischen Untersuchungen erfolgte unabhängig von ihrer Behandlung. Zusätzlich waren alle Patienten dem allgemeinen, phasenhaften Verlauf der Hauterkrankung unterworfen, so dass mehrere Einflussfaktoren auf den Hautzustand bestanden.

Die eingeschlossenen Ekzempatienten waren allesamt an einem chronischen AE seit mindestens 3 Jahren erkrankt. Der EASI-Score war zum Einschluss in die explorative Studie ausreichend erhöht ( $\geq 16$ ) und das Ekzem betraf mindestens 10 % der Körperoberfläche.

Insgesamt wurden 17 Ekzempatienten eingeschlossen, wovon 15 Patienten zum Untersuchungsbeginn eine Hautläsion aufwiesen.

Um den klinischen Hautzustand mit den Ergebnissen der hautphysiologischen Untersuchungen in Bezug setzen zu können, wurde der Schweregrad der läsionalen Haut am Tag der Messung der Hautfunktionsparameter mittels klinischer Scores dokumentiert.

Für einen Teil der Auswertungen wurden einige Patienten mit Verbesserung der Hautläsionen in einer Gruppe zusammengefasst und mit hautgesunden Probanden verglichen.

Die hautgesunden Probanden wurden rekrutiert nach Erhebung der Anamnese und Durchführung einer körperlichen Untersuchung. Allergische Erkrankungen, bekannte Hauterkrankungen oder eine positive Familienanamnese, vor allem für Atopie, waren Ausschlusskriterien. Insgesamt wurden 7 hautgesunde Probanden in die explorative Studie eingeschlossen.

### **2.1.1 Probandenaufklärung**

Die Probanden erhielten vorab die Informationen zum Ablauf der explorativen nicht-invasiven Hautphysiologie-Studie und wurden mündlich sowie schriftlich über sämtliche Untersuchungsmethoden aufgeklärt. Eine Einverständniserklärung wurde von allen Teilnehmern unterschrieben. Die Probanden waren ausnahmslos über 18 Jahre alt. Die Teilnahme war freiwillig. Die Auswertung der Daten erfolgte anonymisiert.

Alle vorgeschriebenen ethischen Standards und Richtlinien der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU) für Studien mit humanen Probanden wurden eingehalten. Ein Ethikantrag mit dem Namen „Nichtinvasive Hautfunktionsanalyse im Therapieverlauf“ (NIHIT) wurde von der Ethikkommission der LMU genehmigt. Die Ethiknummer lautet 306-16.

## **2.2 Scores zur Schweregradbestimmung des atopischen Ekzems**

Um die Ergebnisse der hautphysiologischen Untersuchungen vor dem Hintergrund der Schwere des Ekzems beurteilen zu können, wurde die klinische Schwere der Läsionen mit einem Schweregradscore erfasst. Es gibt unterschiedliche klinisch Scores zur Einschätzung der Ausprägung der Schwere des AE. Darunter fällt der Eczema Area and Severity Index (EASI) für AE. Diese Skala ist international verbreitet und anerkannt.

Der EASI ist eine Modifikation des Psoriasis Area and Severity Index (PASI). Der EASI wurde entwickelt, um ein valides und zuverlässiges System für den klinischen Alltag zur einfachen Beurteilung der objektiven Hautläsionen des AE nutzen zu können. Zum einen wird die betroffene Körperoberfläche (Kopf und Hals, Körperstamm, obere und untere Extremitäten) und zum anderen wird die Ausprägung der Symptomatik des AE gemessen. Der EASI fokussiert sich auf akute und chronische Zeichen der Entzündung und misst deswegen die Ausprägung folgender Parameter: Erythem, Induration/Papeln (akute Entzündung), Exkoration, und Lichenifikation (chronische Entzündung). Unspezifische Symptome, wie Hauttrockenheit, Schuppung, Verkrustung sowie Pruritus mit

Schlafverlust werden nicht im EASI berücksichtigt, um den Score nicht weiter zu subjektivieren [30].

Der EASI-Score hat einen minimalen Wert von 0 und einen maximalen Wert von 72.

Die Körperoberfläche kann mit Hilfe der „Neuner-Regel“ geschätzt werden:

1. Arm – 9 % (je Arm)
2. Kopf – 9 %
3. Brust und Bauch – 18 %
4. Rücken – 18 %
5. Bein – 18 % (je Bein)
6. Genitalbereich – 1 %

Der betroffenen Körperoberfläche wird einer proportionalen Oberflächenscore (Area Score) zugewiesen (Tabelle 1).

Area score	Percentage of skin affected by eczema in each region
0	0: no eczema in this region
1	1 – 9 %
2	10 – 29 %
3	30 – 49 %
4	50 – 69 %
5	70 – 89 %
6	90 – 100 %: the entire region is affected by eczema

**Tabelle 1: EASI - Körperoberfläche mit zugehörigem Area Score**

Die Ausprägung des einzelnen Merkmals wird von 0 (abwesend) bis 3 (schwer) bewertet (Tabelle 2).

Score	Intensity of erythema, induration/papulation, excoriation, lichenification
0	None, absent
1	Mild
2	Moderate
3	Severe

**Tabelle 2: EASI - Umfang der Parameter, die im EASI berücksichtigt werden**

Schließlich werden die Werte dokumentiert und ein EASI-Gesamtscore mithilfe folgender Tabelle berechnet (Tabelle 3).

Body region	Erythema	Induration/ Papulation	Excoriation	Lichenification	Severity score	Area score	Multiplier	Region score
Head/ neck	_____	+_____	+_____	+_____	=_____	x_____	x 0.1	=_____
Trunk	_____	+_____	+_____	+_____	=_____	x_____	x 0.3	=_____
Upper limbs	_____	+_____	+_____	+_____	=_____	x_____	x 0.2	=_____
Lower limbs	_____	+_____	+_____	+_____	=_____	x_____	x 0.4	=_____
EASI-Score = Sum of 4 region scores								=_____ (0-72)

**Tabelle 3: Dokumentation des EASI-Scores**

Durch das Summieren der Ausprägung der vier Parameter wird der Schweregrad (Severity Score) berechnet. Für jede Region wird der Schweregrad mit dem entsprechenden Oberflächenscore (Area Score) und einem Multiplikator (Multiplier) multipliziert, um den jeweiligen Regionscore (Region Score) zu erhalten. Der Multiplikator ist eine für jede Körperregion jeweils zugewiesene Konstante. Die Summe der vier Regionscores ergibt den EASI-Gesamtscore (0-72).

### 2.3 Messungen hautphysiologischer Parameter

Folgende hautphysiologische Parameter wurden bei allen Patienten untersucht: Der Transepidermale Wasserverlust (transepidermal water loss, TEWL), die Erythemintensität und die Hautfeuchtigkeit. Die Messungen dieser Parameter wurden mit einem speziellen Messgerät (Cutometer® dual MPA 580) und dazugehörigen Messsonden der Firma Courage + Khazaka electronic GmbH (Köln, Deutschland) ausgeführt.

Je Patient wurden zwei Hautareale, nämlich jeweils ein läsionales und ein nicht läsionales Areal, für die hautphysiologischen Messungen ausgewählt. Prädilektionsstellen des AE (zum Beispiel Ellenbeugen, Kniekehlen, Hals- und Gesichtsregion) wurden oft als „läsional“ ausgewählt, da diese beim Großteil der Patienten vom Ekzem betroffen waren. Als „nicht-läsional“ wurde zumeist der mediale Unterarm ausgewählt, da dieses Hautareal bei keinem der Patienten eine Entzündung vorwies. Außerdem enthält dieses Hautareal nicht überdurchschnittlich viele Talgdrüsen, die eine Messung der Hautfeuchtigkeit, des TEWL und der Intensität des Erythems verfälschen könnten.

### 2.3.1 Tewameter® TM 300

Zur direkten Messung des Wasserverlustes der Haut wurde ein Tewameter® TM 300 benutzt. Die Tewameter-Sonde wurde am Cutometer® dual MPA 580 Rechner angeschlossen. Das Tewameter misst den TEWL, welcher als direktes Maß für die Barrierefunktion der Haut genutzt werden kann.

Die Hautläsionen der Patienten mit klinischem AE sind oft ausgetrocknet und gerötet. Eine Abdunstung findet auch bei gesunder, nicht-geschädigter Haut statt. Sobald die Haut sich entzündet, und somit die Barrierefunktion beeinträchtigt wird, schlägt sich dies in einem erhöhten TEWL nieder.

Das Fick'sche Diffusionsgesetz spielt eine entscheidende Rolle in der hier angewandten Messmethode. Es lautet wie folgt:

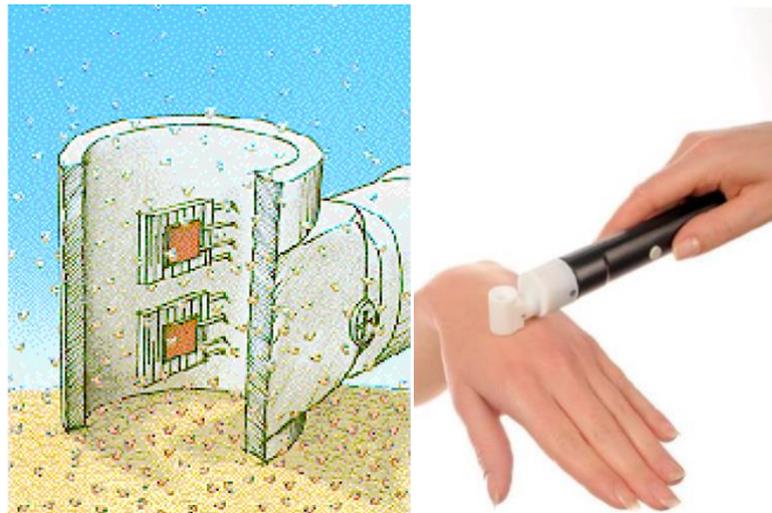
$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dc}{dx}$$

Der Diffusionsstrom  $dm/dt$  gibt an, wie viel Wasser je Zeiteinheit durch die Sonde transportiert wird. Dieser ist proportional zur Oberfläche  $A$  und dem Dichtegradienten  $dc/dx$ .  $D$  ist der Diffusionskoeffizient des Wasserdampfes in der Luft.

Das Tewameter® TM 300 benutzt hierfür folgende Einheiten:

$A$  = Oberfläche ( $m^2$ ),  $m$  = transportiertes Wasser (g),  $t$  = Zeit (h),  $D$  = Diffusionskonstante ( $=0.0877 \text{ g/m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{mm Hg}$ ),  $p$  = Wasserdampfdruck der Atmosphäre,  $x$  = Entfernung der Hautoberfläche zum Messpunkt (m)

Der Messkopf der Sonde ist ein Hohlzylinder, der einen Durchmesser von 10 mm sowie eine Höhe von 20 mm aufweist. Dadurch werden Luftturbulenzen innerhalb der Sonde reduziert. Störfaktoren werden so minimiert. Darüber hinaus wird das Mikroklima auf der Haut völlig unberührt gelassen.



**Abb. 1: Schematische Darstellung der Wasserverdampfung von der Haut und die Messung mittels Tewameter® TM 300 (Abbildung aus [31])**

#### 2.3.1.1 Durchführung der TEWL-Messung

Die Sonde wird ohne Druck auf die ausgewählte Hautregion gesetzt. Das von der Hautoberfläche verdunstete Wasser tritt durch die Sonde aus. Der dabei auftretende Dichtegradient wird durch zwei im Messzylinder befindliche Sensorenpaare gemessen und mit einem Mikroprozessor ausgewertet. Insgesamt wurde die Sonde jeweils 30 Sekunden auf der Läsion und Nicht-Läsion belassen. Ein durchschnittlicher TEWL wurde errechnet.

#### 2.3.1.2 TEWL Interpretation

<b>TEWL-Werte g/h/m<sup>2</sup></b>	<b>Interpretationshilfe</b>
<b>0-10</b>	Sehr gesunder Hautzustand
<b>10-15</b>	Gesunder Hautzustand
<b>15-25</b>	Normaler Hautzustand
<b>25-30</b>	Belastete Haut
<b>Über 30</b>	Kritischer Hautzustand

**Tabelle 4: Interpretation des TEWL durch den Hersteller (Abbildung aus [31])**

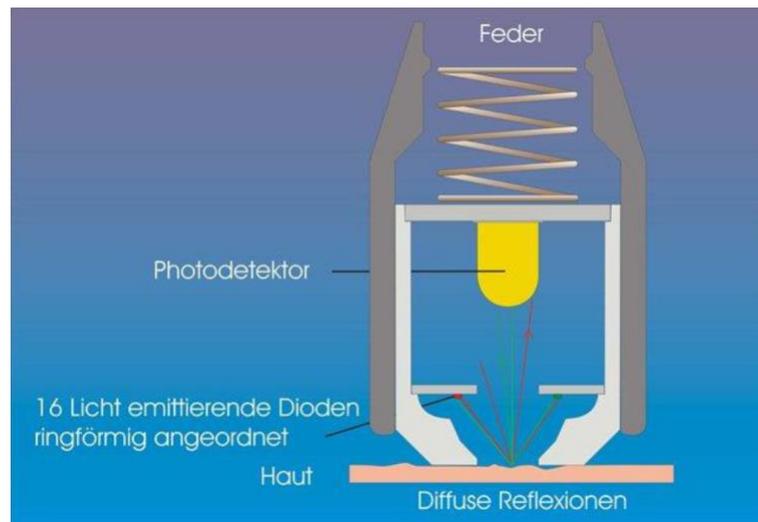
Ein Wert von 20 g/h/m<sup>2</sup> wurde in den Voruntersuchungen an verschiedenen Hautregionen gesunder Patienten nicht überschritten.

### **2.3.2 Mexameter® MX 18**

Beim atopischen Ekzem spielt nicht nur das Ausmaß des TEWL eine Rolle, sondern auch die Erythemintensität. Das Mexameter® MX 18 ist eine weitere Sonde, die am Cutometer® dual MPA 580 angeschlossen werden kann. Sie misst die beiden wichtigsten Parameter zur Farbbestimmung der Haut, namentlich den Anteil des Melanins sowie denjenigen des Hämoglobins. Ein wesentlicher Aspekt einer Entzündung, wie sie beim AE auftritt, ist die erhöhte Perfusion bzw. Durchblutung des Gewebes. Aus diesem Grund bietet die Messung der Erythemintensität mit dem Mexameter einen direkten Parameter für das Ausmaß der Entzündung von läsionaler Haut.

Das Melanin spielt bei der Beurteilung der Ausprägung der Entzündung nur eine untergeordnete Rolle. Es ist zu beachten, dass Scores, wie etwa der EASI, bei der Einschätzung eines Erythems nur begrenzte Möglichkeiten aufweisen. Insbesondere ist es für den Untersucher schwieriger ein Erythem bei stark pigmentierter Haut, sprich bei einem hohen Melaningehalt, beurteilen zu können. Das Mexameter kann unabhängig von der Hautpigmentierung ein Erythem erkennen und quantitativ bewerten.

Die Messung beruht auf dem Absorptionsprinzip. Das Mexameter® MX 18 emittiert drei definierte Wellenlängen. Die Haut unter der Messsonde absorbiert einen Teil des ausgestrahlten Lichts. Ein Photodetektor in der Sonde misst das reflektierte Licht. Die Differenz zwischen ausgestrahltem und reflektiertem Licht kann errechnet werden und ergibt die Absorptionskapazität der Haut.



**Abb. 2: Schematische Darstellung Mexameter® MX 18 (Abbildung aus [32])**

Die Melanin-Messung erfolgt durch Aussendung von Licht mit den bestimmten Wellenlängen von 660 nm und 880 nm. Diese Wellenlängen werden von Melaninpigmenten unterschiedlich stark absorbiert.

Die Erythem-Messung wird ebenfalls mit zwei Wellenlängen gemessen: Zum einen mit einer Wellenlänge von 568 nm, zum anderen mit einer von 660 nm. Die Wellenlänge von 568 nm entspricht dabei ungefähr das Absorptionsmaximum von Hämoglobin. Die Wellenlänge von 660 nm wurde so gewählt, dass andere Farbeinflüsse, wie zum Beispiel Bilirubin, möglichst ausgeschlossen werden.

Die erzielten Messwerte sind Verhältniszahlen der Absorptionen der drei Wellenlängen. Diese reichen von 0 bis 999.

### 2.3.2.1 Interpretation der Mexameter-Werte

Vom Hersteller werden folgende Anhaltspunkte vorgeschlagen [32]:

#### **Melaninmessung:**

**Durchschnittserfahrungswerte der 6 Phototypen nach Fitzpatrick** (nur Annäherung, gemessen an der Innenseite vom Unterarm):

**Phototyp I:** Nordische/keltische Haut: Weiße Haut, sehr schnell Sonnenbrand, bräunt nicht, häufig rothaarig mit Sommersprossen. Der durchschnittliche Melaniningehalt beträgt < 100.

**Phototyp II:** Hellhäutige Europäer: Helle Haut, schneller Sonnenbrand, bräunt nur wenig, häufig blond. Der durchschnittliche Melaniningehalt ist 100 bis 150.

**Phototyp III:** Europäischer Mischtyp/sehr helle Asiaten: Helle Haut, kann Sonnenbrand bekommen aber auch leicht bräunen, dunkelblond bis braunhaarig. Der durchschnittliche Melaniningehalt beträgt 150 bis 250.

**Phototyp IV:** Mediterrane Haut/helle Asiaten: Selten Sonnenbrand, bräunen sehr leicht, dunkle Haare, dunkle Augen. Der durchschnittliche Melaniningehalt ist zwischen 250 und 350.

**Phototyp V:** Dunkle Asiaten: Fast nie Sonnenbrand/bräunen tief. Der durchschnittliche Melaniningehalt beträgt 350 bis 450.

**Phototyp VI:** Schwarze Haut: Nie Sonnenbrand, bräunen sehr tief. Der durchschnittliche Melaniningehalt beträgt 450 bis 999.

<b>Mexameter-Messung</b>	<b>Klinische Einstufung</b>
< 170	Kein Erythem
170 – 330	Minimalerythem
330 – 450	Diffuse Rötung
450 – 570	Hohes Erythem
> 570	Extremes Erythem

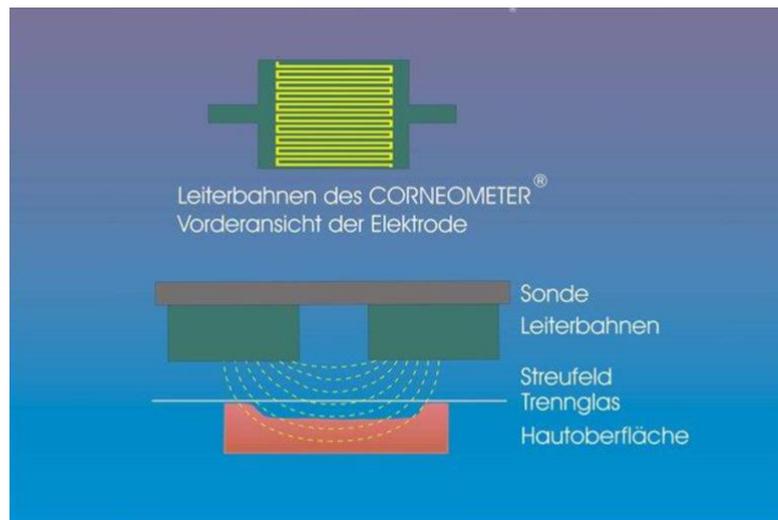
**Tabelle 5: Einstufung des Erythems nach Mexameter-Werten**

### 2.3.2.2 Durchführung der Erythem-Messung

Das Mexameter wird senkrecht auf die Hautoberfläche gesetzt. Ein leichter Druck, welcher dem Druck der Feder in der Sonde entspricht, aktiviert die Messung. Es werden bei der läsionalen Haut sowie der nicht-läsionalen Haut drei aufeinanderfolgende Messungen gemacht, sodass ein Mittelwert errechnet werden kann. Die Messungen finden an benachbarten Stellen statt. Dabei wird eine Pause von mindestens einer Sekunde zwischen den Messungen eingehalten.

### 2.3.3 Corneometer® CM 825

Ein weiteres Merkmal des AE ist die Trockenheit der Haut. Zur quantitativen Messung der Trockenheit kann das Corneometer® CM 825 eingesetzt werden. Die Messung mit dem Corneometer ist eine kapazitive Messmethode. Die trockene Hornschicht der Haut ist ein dielektrisches Medium. Wenn die Hautoberfläche nass wird, ändern sich die elektrischen Eigenschaften. Das Corneometer baut ein elektrisches Feld zwischen Elektroden auf. Während der Messung durchdringt ein elektrisches Streufeld die oberste Hautschicht. Dadurch werden die Kapazität und somit der Wassergehalt der Haut gemessen. Es entsteht keine galvanische Verbindung zwischen dem Messkreis und dem Messobjekt, wie es etwa bei der Impedanzmessung der Fall ist. Die gemessenen Werte (von 0 bis 130) haben keine Einheit.



**Abb. 3: Schematische Darstellung des Corneometer® CM 825 (Abbildung aus [33])**

Der Hersteller, des Corneometer gibt folgende Referenzwerte für eine gesunde Haut des Unterarms unter normalen Raumbedingungen (20 °C und 40 – 60 % Luftfeuchtigkeit) vor [33]:

<b>Corneometer-Messung</b>	<b>Klinische Einstufung</b>
< 30	Sehr trocken
30 – 40	Trocken
>40	Ausreichend feucht

**Tabelle 6: Einstufung der Hautfeuchtigkeit mittels Corneometer**

### 2.3.3.1 Durchführung der Messung

Es werden bei der läsionalen und nicht-läsionalen Haut jeweils drei benachbarte Stellen gemessen. Mit der Feder im Kopf der Sonde können bei leichtem Druck genaue und reproduzierbare Messungen durchgeführt werden. Zur Vorbeugung einer Wasserokklusion unter dem Kopf der Sonde wurde zwischen den Messwiederholungen mindestens 5 Sekunden gewartet, damit eventuell aufgetretenes Kondenswasser evaporieren konnte.

### **2.3.4 Räumliche Vorbereitungen für die Messungen**

Das Konstantbleiben der Raumtemperatur sowie der Luftfeuchtigkeit sind ausschlaggebend für den Vergleich der Ergebnisse bei den TEWL-, Erythem- und Hautfeuchtigkeitsmessungen. Der Hersteller empfiehlt aus diesem Grund eine Raumtemperatur zwischen 20 °C und 22 °C mit einer Luftfeuchtigkeit zwischen 40 % und 60 %. Ein Anstieg der Raumtemperatur führt zu einer exponentiell ansteigenden Abdunstung auf der Haut. Luftbewegungen, die durch offene Türen und Fenster verursacht werden, sind unmittelbar vor, während und nach den Messungen strengstens vermieden worden.

Die Umgebungsverhältnisse wurden mit einem elektronischen Raumsensor aufgezeichnet und konstant zwischen 20 °C und 25 °C bzw. einer Luftfeuchtigkeit zwischen 40 % und 60 % gehalten. Die Patienten mussten sich, zur Beruhigung des Kreislaufs, 20 Minuten im Messzimmer „akklimatisieren“. Eventuelle körperliche und emotionale Anstrengungen würden aufgrund einer erhöhten Transpiration zu hohe Messwerte verursachen und somit die Messergebnisse verfälschen. Während der Akklimatisationszeit wurden die ausgewählten läsionalen und nicht-läsionalen Hautareale entkleidet.

Außerdem wurden die Patienten gebeten, mindestens eine Stunde vor der Messung keine Creme oder sonstige Therapeutika auf der zu messenden Haut zu applizieren.

## **2.4 Konfokale *in vivo*-Lasermikroskopie**

Zurzeit wird die konfokale Lasermikroskopie (reflectance confocal microscopy, RCM) vor allem zur Unterscheidung von Melanomen von benignen Nävi *in vivo* genutzt. Für entzündliche Prozesse wird die RCM bisher zum Beispiel für Psoriasis genutzt. Bei AE spielt die RCM eine untergeordnete Rolle.

Bisher konnten dendritische Zellen und IDEC hauptsächlich mit *ex vivo*-Analysen durch Hautbiopsien und Durchflusszytometrie dargestellt werden. Nicht-invasive Methoden zur Darstellung von IDEC sind bisher kaum erforscht. Die Technologie der *in vivo*-Mikroskopie bietet möglicherweise eine solche Methode.

Bei der RCM sind entzündliche Zellinfiltrate heller als das umliegende Gewebe. Entzündliche Infiltrate sind gut zu den dunklen, wabenmusterartigen Keratinozytenfeldern abgrenzbar. Unter diese Infiltrate fallen auch die IDEC sowie Langerhans-Zellen. Die konfokale Lasermikroskopie kann die gesamte Epidermis

bis zu den Papillen und die obere Dermis gut darstellen. Die dendritischen Zellen finden sich vor allem in den basalen und suprabasalen Schichten der Epidermis, oberhalb der Papillen und ihre Kapillaren. Dies ist wichtig zu berücksichtigen, da Melanozyten eine ähnliche Morphologie wie dendritische Zellen haben können. In der Regel liegen die Melanozyten jedoch an der dermoepidermalen Grenzzone und damit tiefer als die dendritischen Zellen [34].

Ein Patient konnte auch mittels der RCM im Zeitverlauf einer entzündungshemmenden Behandlung untersucht werden. Dazu wurde das kommerziell erhältliche Vivascope® 1500 (MAVIG GmbH, München, Deutschland) genutzt. Das Vivascope® 1500 nutzt einen Laser mit einer Wellenlänge von 830 nm. Eine Baseline-Messung sowie eine Messung nach 4 Wochen entzündungshemmender Therapie wurden durchgeführt. Zu beiden Zeitpunkten wurde ein läsionales Hautareal und ein nicht-läsionales Hautareal betrachtet.

Bezüglich der Messung wird ein anhaftendes Fenster mit Öl auf dem entsprechenden Hautareal platziert. Ein Stahlring verbindet das Hautfenster mit dem Mikroskop. Zuerst wird ein dermatoskopisches Photo mit VivaCam® (MAVIG GmbH, München, Deutschland) für den makroskopischen Eindruck gemacht. Als nächstes wurde die Haut auf verschiedenen Ebenen durchgescannt. Diese Ebenen waren zwischen 60 und 200 µm tief. Die RCM-Bilddimensionen sind 500x500 µm. Die makroskopischen und mikroskopischen RCM Bilder wurden mithilfe einer deskriptiven Analyse ausgewertet.

## **2.5 Zeitlicher Ablauf**

Die klinischen und hautphysiologischen Untersuchungen wurden über einen Zeitraum von 20 Wochen durchgeführt. Damit kurzfristige Änderungen in den hautphysiologischen Parameter bei Ekzemverbesserung nicht übersehen werden, wurden TEWL, Hautfeuchtigkeit und Erythem im ersten Monat einmal pro Woche gemessen. Eine Abschlussmessung wurde nach Woche 20 durchgeführt. Der EASI Score wurde in Abständen von zwei Wochen bestimmt.

Alle Ergebnisse wurden im Zeitraum von 2015 bis 2017 gesammelt.

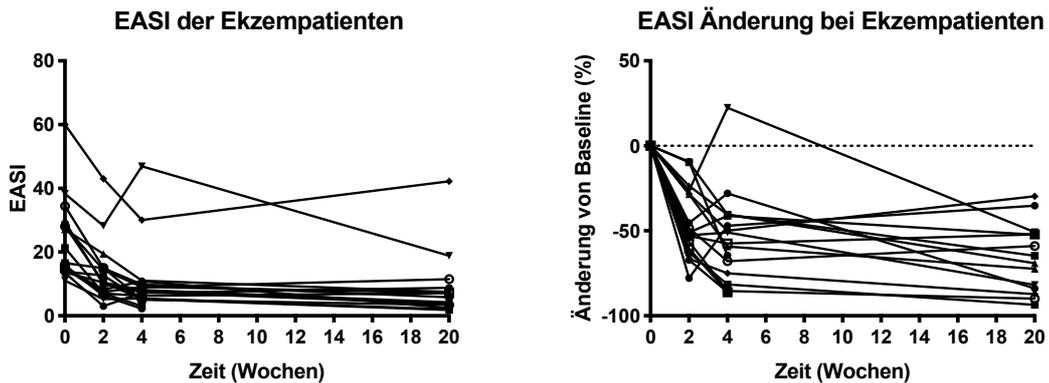
## 2.6 Statistik

Aus den einzelnen Messungen jedes Parameters der läsionalen und nicht-läsionalen Haut wurde ein Mittelwert errechnet. Zusätzlich zum Mittelwert wurde die entsprechende Abweichung errechnet, die als Standardfehler repräsentiert wird. Der Pearson-Korrelationskoeffizient wurde zur Analyse von linearen Korrelationen genutzt. Die Datensätze und Endpunkte wurden mithilfe des sog. *t*-tests sowie der Varianzanalyse (analysis of variance, ANOVA) mit einem Konfidenzintervall von 95 % geprüft. Die ANOVA wurde mit der Tukey-Methode und dem Dunnett-Test für multiple Vergleiche unterstützt. Die erwähnten *P*-Werte und statistischen Tests sind ausschließlich zweiseitig. Microsoft Excel 2017 und Graphpad Prism 7 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA) wurden zur Durchführung der statistischen Analysen und der Regressionsanalysen sowie zur Figurengeneration genutzt.

### 3 Ergebnisse

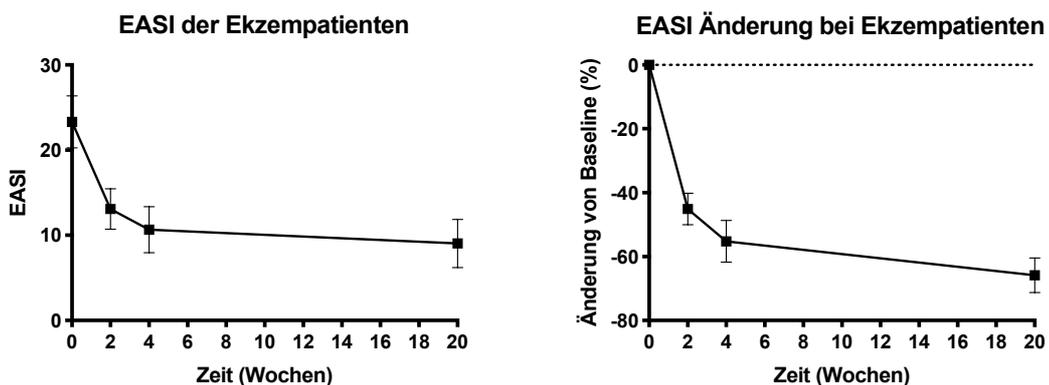
#### 3.1 EASI-Score

Der EASI-Score wurde für die Ekzempatienten berechnet und kann somit graphisch dargestellt werden. Bei unterschiedlichen absoluten Ausgangswerten des EASI-Scores kann der klinische Verlauf des AE durch prozentuale Änderung standardisiert werden (Abb. 4).



**Abb. 4: Verlauf des absoluten EASI-Scores und der prozentualen Veränderung des EASI-Scores von der Baseline aller Ekzempatienten über 20 Wochen**  
Der EASI-Score der Ekzempatienten nahm im Zeitverlauf ab. ( $n = 17$ )

Die Ausprägung des klinischen Bildes vom AE war bei den Patienten unterschiedlich. Der EASI-Score der Patienten reichte zum Zeitpunkt  $T_0$  von 13 bis 60.



**Abb. 5: Mittelwert und Standardfehler des absoluten EASI-Scores und die prozentualen Änderungen des EASI-Scores der Ekzempatienten über 20 Wochen**

Eine Verbesserung im EASI-Score bedeutet eine Abnahme der Ausprägung des klinischen Bildes des AE. ( $n = 17$ )

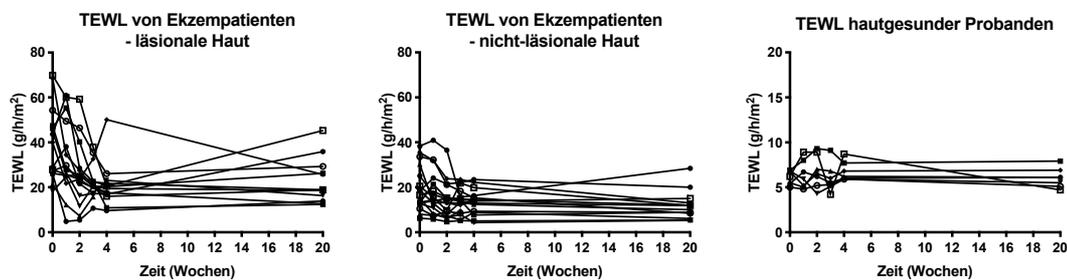
Klinisch zeigte sich durch den Verlauf des EASI-Scores, dass die Hauterscheinungen der Patienten über 20 Wochen stetig abnahmen, sodass von einer Verbesserung des AE ausgegangen werden kann. Die größte Verbesserung des EASI-Scores fand innerhalb der ersten zwei Wochen statt (Abb. 5).

Bei den Ekzempatienten lag die durchschnittliche prozentuale Veränderung des EASI-Scores nach 20 Wochen bei  $-67 \pm 5\%$ . Der EASI-Score zum Zeitpunkt T<sub>20</sub> war signifikant niedriger als zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> ( $P < 0.01$ ).

## 3.2 Der Transepidermale Wasserverlust

Der TEWL wurde bei den Ekzempatienten an mindestens zwei Hautarealen im Zeitverlauf über 20 Wochen gemessen. Zu Beginn wurde der TEWL wöchentlich bestimmt um die anfänglichen Variationen der Hautfunktionsparameter besser nachvollziehen zu können. Als langfristige Kontrolle der Behandlung wurde nach 20 Wochen nochmals eine Messung durchgeführt.

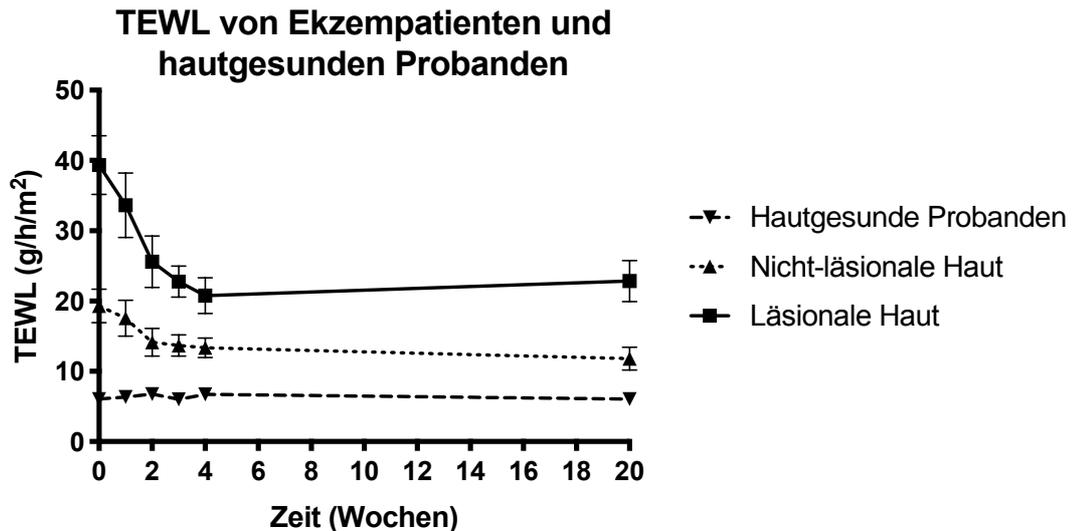
### 3.2.1 Der absolute Transepidermale Wasserverlust



**Abb. 6: Verlauf der absoluten TEWL-Werte der Haut der Ekzempatienten und hautgesunden Probanden im Zeitverlauf über 20 Wochen**

In der läsionalen ( $n = 15$ ) und nicht-läsionalen ( $n = 17$ ) Haut von Ekzempatienten zeigen sich eine Abnahme des TEWL. Bei hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ) ist keine Abnahme zu verzeichnen.

Gemäß Herstellerliteratur wird ein TEWL-Wert von  $>30$  g/h/m<sup>2</sup> als kritischer Hautzustand beschrieben. TEWL-Werte zwischen 15 und 25 g/h/m<sup>2</sup> sind mit einem normalen Hautzustand und TEWL-Werte zwischen 0 und 10 g/h/m<sup>2</sup> mit einem sehr gesunden Hautzustand vereinbar (Tabelle 4).



**Abb. 7: Mittelwert und Standardfehler des TEWL bei Ekzempatienten sowie hautgesunden Probanden**

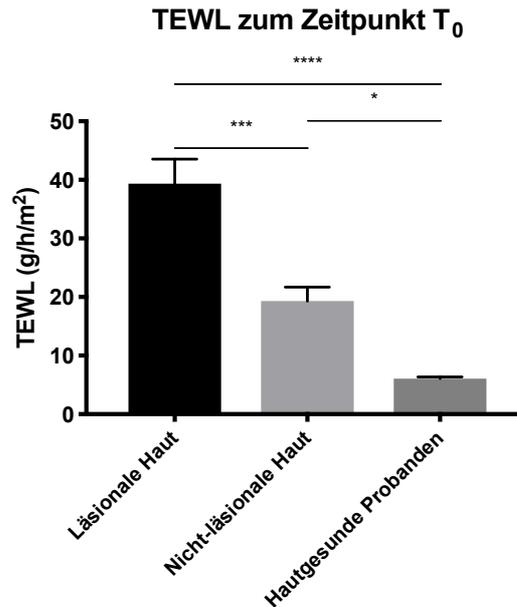
Der TEWL fiel bei Ekzempatienten in läSIONALER ( $n = 15$ ) und nicht-läsionaler Haut ( $n = 17$ ) bei Verbesserung des Ekzems ab. Bei hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ) kam es zu keiner Abnahme.

Zu Beginn der Untersuchungen zeigte die läSIONALE Haut der Ekzempatienten einen durchschnittlichen TEWL-Wert von  $39,4 \pm 4,2$  g/h/m<sup>2</sup>. Dieser Wert entspricht einem kritischen Hautzustand. Der TEWL verbesserte sich im Zeitverlauf deutlich und lag nach 20 Wochen bei einem Wert von  $22,9 \pm 2,9$  g/h/m<sup>2</sup>. Die Abnahme des TEWL-Wertes der läSIONALEN Haut im Langzeitverlauf war nach Zeitpunkt T<sub>20</sub> signifikant ( $P < 0,01$ ).

Der durchschnittliche absolute Wert des TEWL bei nicht-läsionaler Haut der Ekzempatienten zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> lag bei  $19,3 \pm 2,4$  g/h/m<sup>2</sup> (Abb. 7). Zum Zeitpunkt T<sub>20</sub> lag der durchschnittliche nicht-läsionale TEWL bei  $11,8 \pm 1,7$  g/h/m<sup>2</sup>. Dies entsprach einer signifikanten Veränderung, die zwischen den Zeitpunkten T<sub>0</sub> und T<sub>20</sub> stattgefunden hat ( $P < 0,05$ ).

Bei hautgesunden Probanden war der TEWL zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> im Durchschnitt  $6,1 \pm 0,3$  g/h/m<sup>2</sup> und zum Zeitpunkt T<sub>20</sub> im Durchschnitt  $6,0 \pm 0,4$  g/h/m<sup>2</sup>. Eine signifikante Veränderung war über den gesamten Untersuchungszeitraum nicht vorhanden.

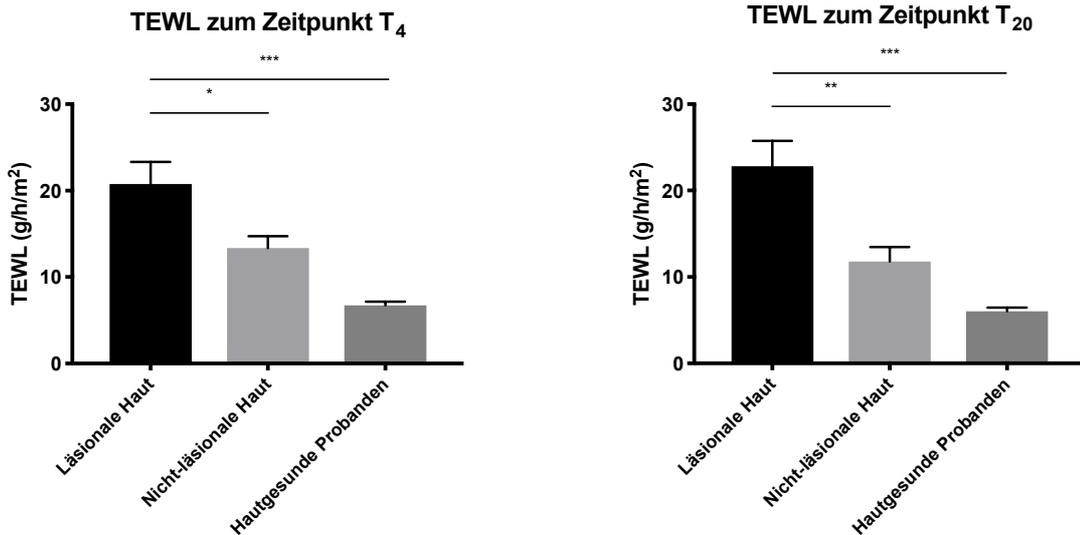
Zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> zeigten sich zwischen den verschiedenen Hautarealen läSIONALER, nicht-läsionaler Haut und hautgesunden Probanden signifikante Unterschiede in den absoluten TEWL-Werten (Abb. 8).



**Abb. 8: Mittelwert und Standardfehler der absoluten TEWL-Werte in Ekzempatienten und hautgesunden Probanden zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>**

Die Gruppen unterschieden sich signifikant voneinander. \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$ , läSIONALE Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsIONALE Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

Nach 4 Wochen unterschied sich der TEWL von hautgesunden Probanden und der TEWL von nicht-läsionaler Haut von Ekzempatienten nicht mehr signifikant. Der TEWL von läSIONALER Haut blieb signifikant höher als der TEWL der anderen beiden Gruppen (Abb. 9).

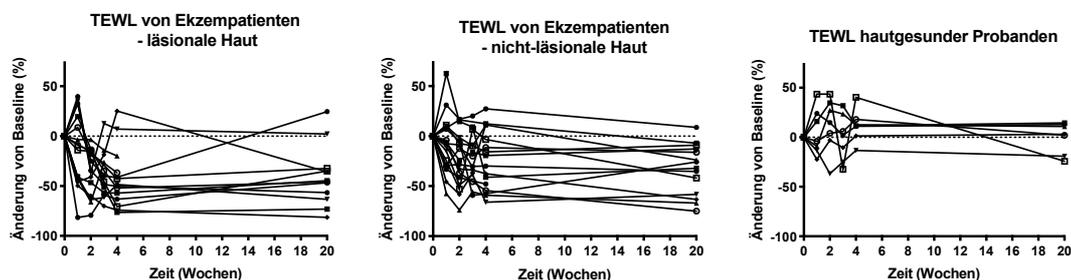


**Abb. 9: Mittelwert und Standardfehler der absoluten TEWL-Werte in Ekzempatienten und hautgesunden Probanden zum Zeitpunkt T<sub>4</sub> und T<sub>20</sub>**  
 $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ , läSIONALE Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsIONALE Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

### 3.2.2 Die prozentuelle Veränderung des Transepidermalen Wasserverlusts

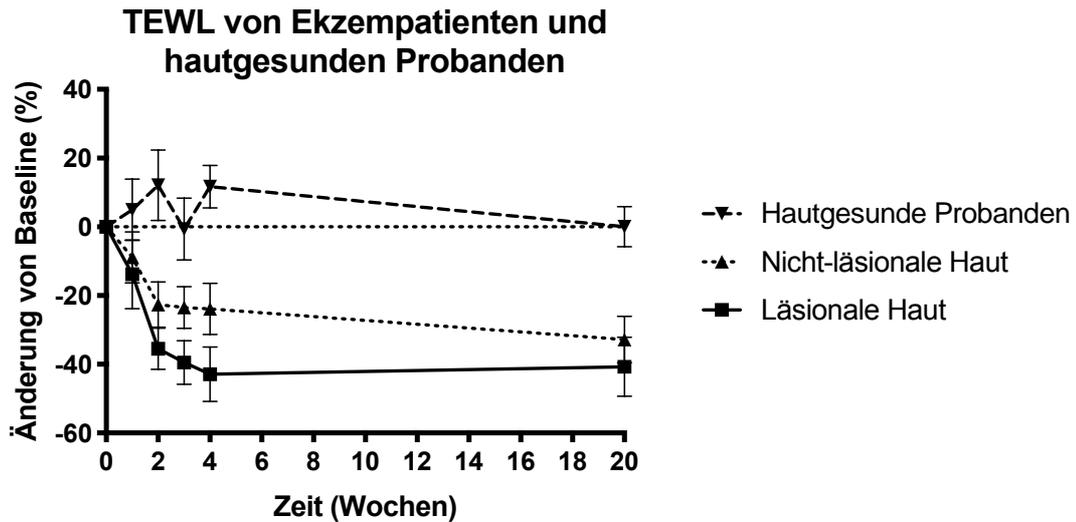
Eine Umrechnung von absoluten TEWL-Werten in prozentuale Veränderungen kann einen Vergleich der Werte vereinfachen, da nicht jeder Patient denselben TEWL-Ausgangswert, sprich dieselben absoluten TEWL-Werte zu Beginn des Beobachtungszeitraums hat.

Die prozentuale Änderung des TEWL gegenüber der Baseline erlaubt eine bessere Einschätzung zum eigenen Ausgangswert.



**Abb. 10: Prozentuale Änderung der TEWL-Werte in läsionaler und nicht-läsionaler Haut von Ekzempatienten und hautgesunden Probanden im Langzeitverlauf**

Nach 20 Wochen war der TEWL in läsionaler ( $n = 15$ ) und nicht-läsionaler Haut ( $n = 17$ ) von den meisten Ekzempatienten niedriger als der TEWL zum Beobachtungsbeginn. Bei hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ) schwankte die TEWL-Veränderung gleichermaßen über- und unterhalb der Baseline.



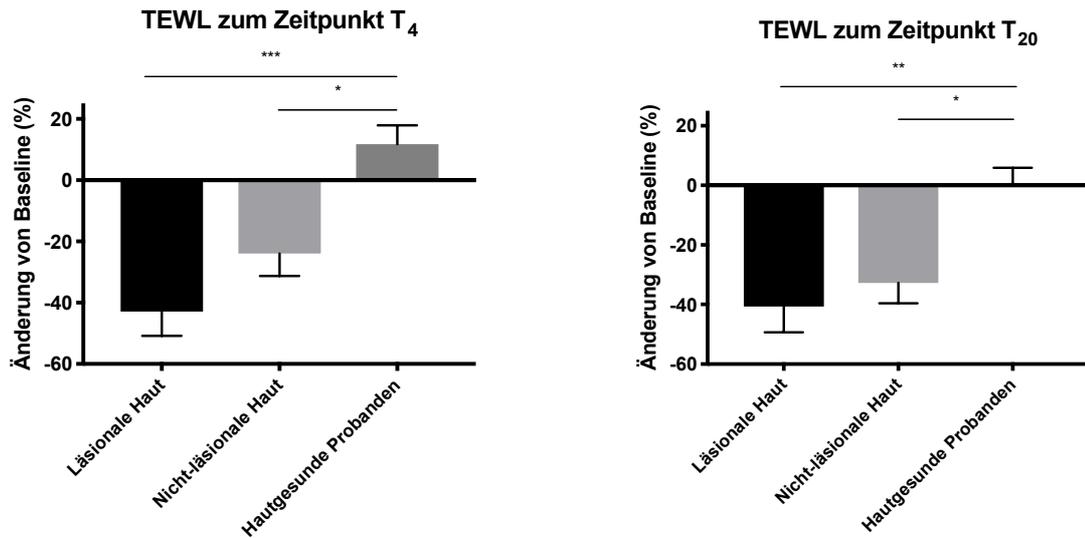
**Abb. 11: Mittelwert und Standardfehler der prozentualen TEWL-Änderungen bei Ekzempatienten und hautgesunden Probanden im Langzeitverlauf**

Der TEWL fiel bei Ekzempatienten über die 20 Wochen über 20% ab. Bei hautgesunden Probanden war die durchschnittliche TEWL-Veränderung zum Zeitpunkt T<sub>20</sub> 0%. Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

Der stärkste Abfall der TEWL-Werte fand bei läsionaler Haut und nicht-läsionaler Haut bei Ekzempatienten während den ersten vier Wochen statt (Abb. 11). Zum Zeitpunkt T<sub>4</sub> war die läsionale TEWL-Veränderung bei  $-43 \% \pm 8 \%$  und die nicht-läsionale TEWL-Veränderung bei  $-24 \% \pm 7 \%$ . Nach 4 Wochen betrug die TEWL-Veränderung bei hautgesunden Patienten  $12 \pm 6\%$ .

Die Veränderung des läsionalen TEWL lag nach 20 Wochen bei  $-41 \% \pm 9 \%$  und bei nicht-läsionaler Haut bei  $-33 \pm 7 \%$ . Der Unterschied war nicht signifikant. Bei hautgesunden Patienten war die TEWL-Veränderung  $0 \pm 6\%$ . Die Langzeitbeobachtung zeigte, dass der TEWL der Ekzempatienten deutlich niedrigere Werte annahm als bei hautgesunden Patienten.

Die TEWL-Abnahme bei Ekzempatienten war signifikant höher als die Veränderung bei hautgesunden Patienten (Abb. 12).

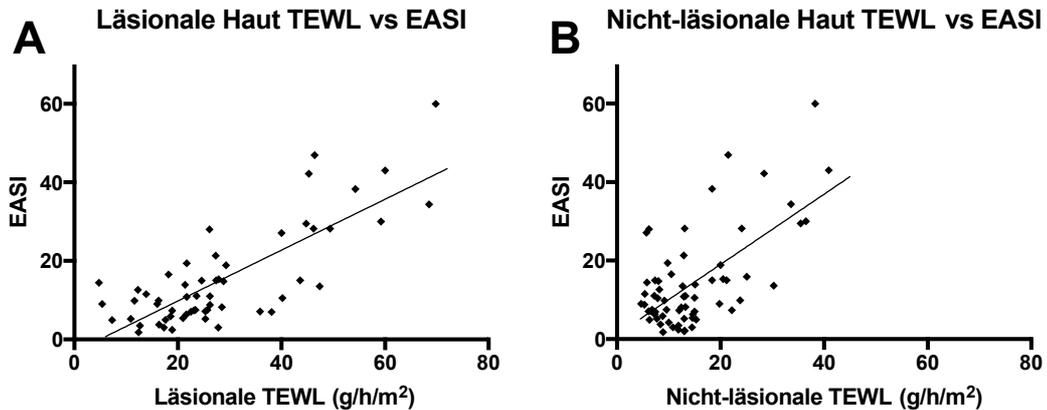


**Abb. 12: Mittelwert und Standardfehler der prozentualen TEWL-Veränderungen nach 4 Wochen und 20 Wochen**

Die läsionale Haut wies eine stärkere Abnahme des TEWL als die nicht-läsionale Haut sowohl nach 4 Wochen und nach 20 Wochen auf. Die hautgesunden Patienten zeigten im Vergleich eine leichte Zunahme im TEWL. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

### 3.3 Korrelation zwischen TEWL und EASI

Um die Wertigkeit des TEWL als Parameter zur Bestimmung der Barrierefunktion der Haut bei Entzündungen besser zu beurteilen, wurden die TEWL-Werte mit dem bereits etablierten klinischen EASI-Score korreliert.



**Abb. 13: Proportionale Korrelation zwischen läsionalem und nicht-läsionalem TEWL und dem EASI-Score aller gemessenen Patienten**

Läsionaler TEWL (**A**) und nicht-läsionaler TEWL (**B**) aller Patienten im Vergleich mit den EASI-Scores am jeweiligen Messtag. **A** Der läsionale TEWL und der EASI wiesen eine starke Korrelation auf. Dies wurde durch die Regressionsgerade gezeigt.  $R_2 = 0.62$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 57$ . **B** Der nicht-läsionale TEWL und der EASI zeigten auch eine positiv proportionale Korrelation.  $R_2 = 0.42$ ,  $P < 0.0001$ ,  $n = 65$ . Der Korrelationskoeffizient wurde nach Pearson berechnet.

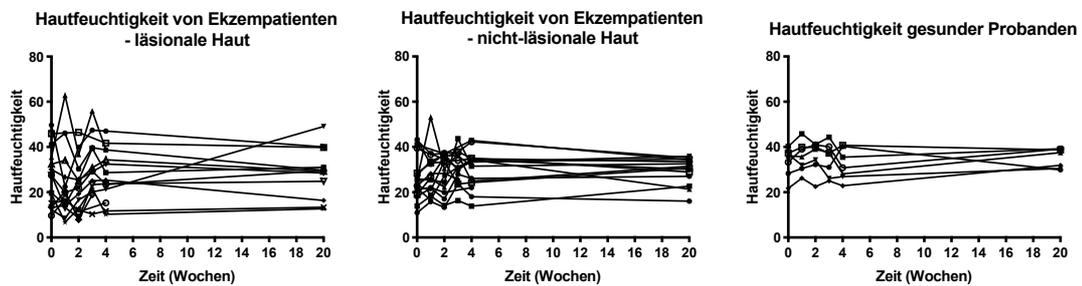
Der gemessene TEWL und der EASI-Score für läsionale und nicht-läsionale Haut korrelierten stark miteinander (Abb. 13). Der EASI nahm mit steigenden TEWL-Werten proportional zu. Das Verhältnis wurde mittels einer linearen Geraden am besten veranschaulicht. Bei gleichen Skalen der Achsen war die Trendlinie im nicht-läsionalen Datensatz steiler als im läsionalen Datensatz.

Zur Maximierung der Datenpaare wurden alle gemessenen TEWL- und EASI-Werte genutzt.

### 3.4 Hautfeuchtigkeit und Corneometrie

Hauttrockenheit ist ein zentrales Symptom des AE. Mittels Corneometrie sollte untersucht werden, ob und wie sich die Hauttrockenheit beziehungsweise Hautfeuchtigkeit im Langzeitverlauf bei Ekzempatienten und hautgesunden Probanden verändert. Die untersuchten Probanden wurden gebeten, die zu messenden Hautareale mindestens eine Stunde vor der Messung nicht mit Basispflegeprodukten eincremen.

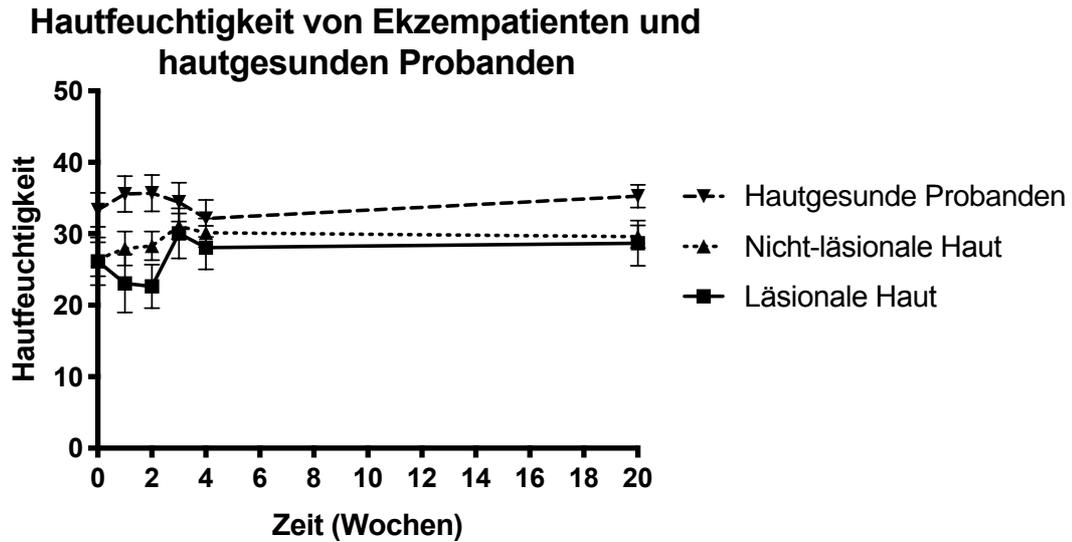
#### 3.4.1 Die absoluten Messwerte der Hautfeuchtigkeit



**Abb. 14: Verlauf der Hautfeuchtigkeit von Ekzempatienten und hautgesunden Probanden im Langzeitverlauf**

Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ).

Ein Hautfeuchtigkeitswert von  $<30$  spricht nach der Benutzeranleitung des Corneometers (Tabelle 6) für eine sehr trockene Haut. Ein Wert von  $>40$  wird als ausreichend feucht bezeichnet.



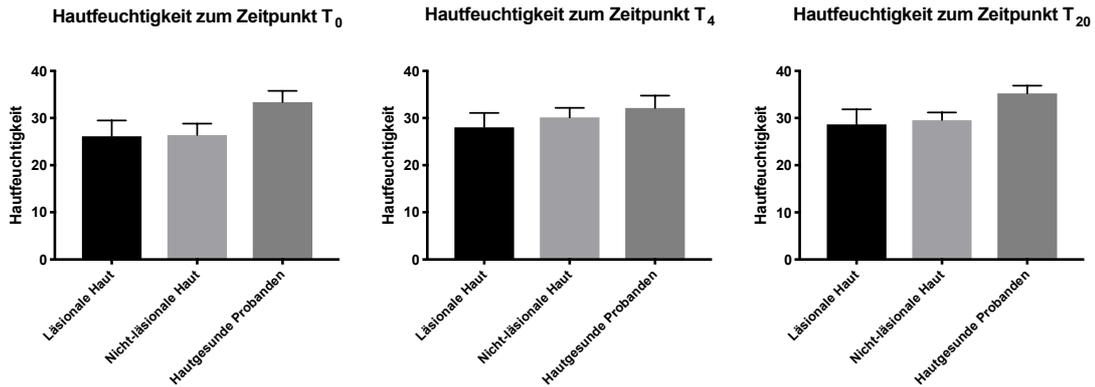
**Abb. 15: Mittelwert und Standardfehler der Hautfeuchtigkeit bei Ekzempatienten sowie hautgesunden Probanden im Langzeitverlauf**

Die hautgesunden Probanden zeigten eine höhere Hautfeuchtigkeit als die läsionale und nicht-läsionale Haut von Ekzempatienten. Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

Zu Beginn der Beobachtung betrug die durchschnittliche läsionale Hautfeuchtigkeit bei Ekzempatienten  $26 \pm 3$ . Nach 20 Wochen Behandlung betrug sie  $29 \pm 3$ . Bei nicht-läsionaler Haut von Ekzempatienten lag die durchschnittliche Hautfeuchtigkeit bei  $26 \pm 2$  zum Zeitpunkt  $T_0$  und zum Zeitpunkt  $T_{20}$  bei  $30 \pm 2$ .

Die Hautfeuchtigkeit bei hautgesunden Probanden war jederzeit höher als bei Ekzempatienten. Zum Zeitpunkt  $T_0$  betrug sie  $33 \pm 2$  und zum Zeitpunkt  $T_{20}$   $35 \pm 2$ . Diese Veränderungen waren statistisch nicht signifikant.

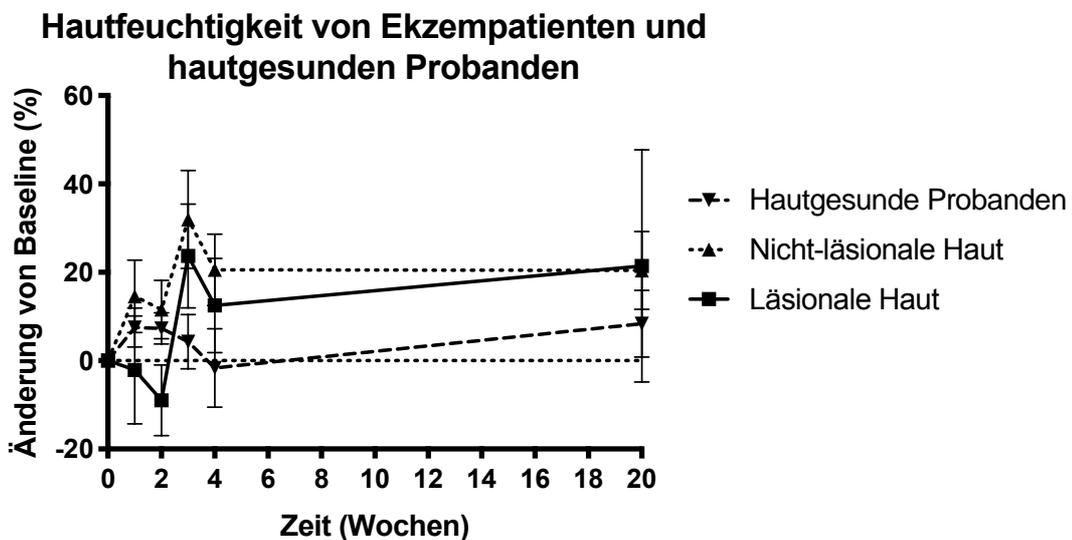
Die absoluten Messwerte der Hautfeuchtigkeit von Ekzempatienten und von hautgesunden Probanden unterschieden sich zu den verschiedenen Messzeitpunkten nicht signifikant (Abb. 16).



**Abb. 16: Mittelwert und Standardfehler der Hautfeuchtigkeit von Ekzempatienten und hautgesunden Probanden nach 0, 4 und 20 Wochen.** Hautgesunde Patienten tendierten zu einer höheren Hautfeuchtigkeit als Ekzempatienten. Dieser Unterschied war nicht signifikant. Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ).

### 3.4.2 Die prozentuale Veränderung der Hautfeuchtigkeit

Zum Vergleich wurde die prozentuale Änderung der Hautfeuchtigkeit berechnet und graphisch dargestellt (Abb. 17).



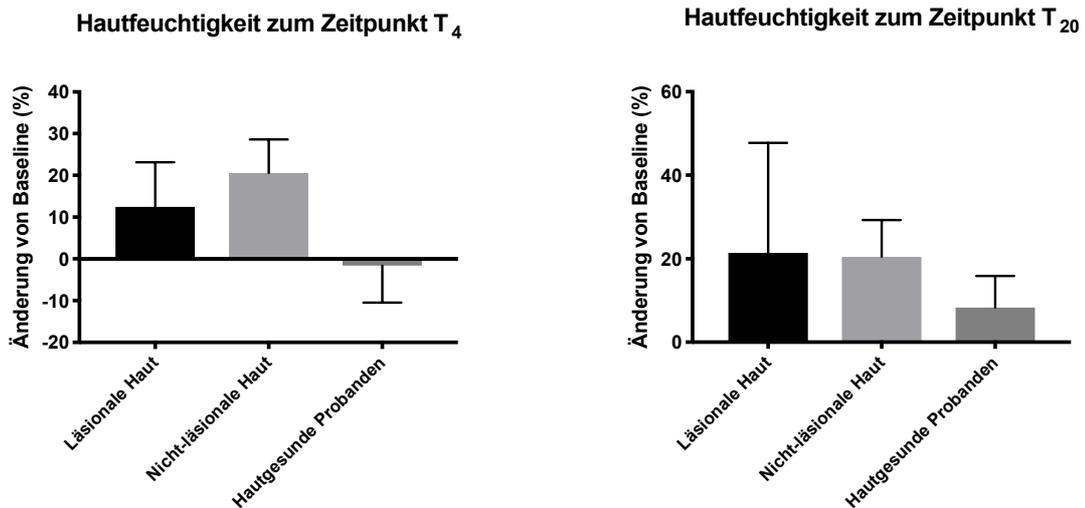
**Abb. 17: Mittelwert und Standardfehler der prozentualen Veränderung der Hautfeuchtigkeit in läsionaler und nicht-läsionaler Haut von Ekzempatienten und von hautgesunden Probanden im Langzeitverlauf**

Die drei Gruppen zeigten allesamt eine Zunahme in der Hautfeuchtigkeit. Diese Zunahme war nicht signifikant zur entsprechenden Hautfeuchtigkeit zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>. Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ).

Die Hautfeuchtigkeit der Ekzempatienten zeigte in der läsionalen Haut nach 20 Wochen eine Zunahme von  $21 \pm 26$  %. In nicht-läsionaler Haut war die Zunahme

nach 20 Wochen bei  $20 \pm 9$  %. Bei hautgesunden Probanden fand vergleichsweise eine geringere Änderung der Hautfeuchtigkeit über den 20 Wochen statt:  $8 \pm 8$  %.

Im gesamten Beobachtungszeitraum von 20 Wochen unterschieden sich die prozentualen Veränderungen der Hautfeuchtigkeit in den drei Gruppen nicht signifikant (Abb. 18).



**Abb. 18: Mittelwert und Standardfehler der Veränderungen der läsionalen und nicht-läsionalen Hautfeuchtigkeit von Ekzempatienten und der Haut von hautgesunden Probanden nach 4 und 20 Wochen**

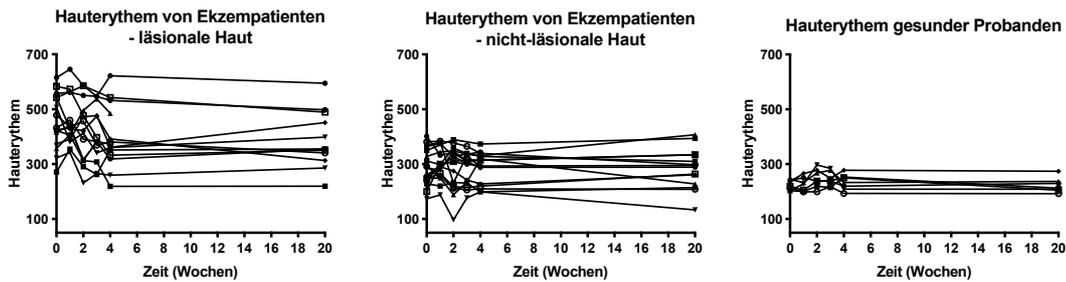
Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ).

Die Untersuchung der Hautfeuchtigkeit bei Ekzempatienten und hautgesunden Probanden zeigte nach 20 Wochen Beobachtung insgesamt keine signifikanten Änderungen der hautfeuchtigkeits-spezifischen Hautfunktionssparameter.

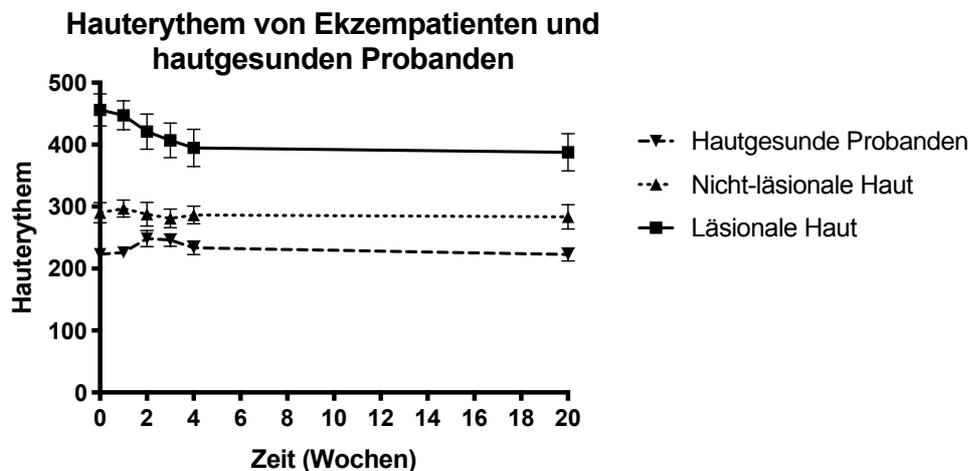
### 3.5 Das Hauterythem

Die Hautrötung (Erythem) wurde im Rahmen des EASI-Scores bewertet. Mit dem Mexameter konnte die Veränderung im Erythem über den gesamten Behandlungszeitraum hinweg quantitativ dargestellt werden.

#### 3.5.1 Die absoluten Messwerte des Hauterythems



**Abb. 19: Verlauf des Hauterythems von Ekzempatienten und hautgesunden Probanden im Zeitverlauf im Langzeitverlauf**  
 Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunden Probanden ( $n = 7$ ).



**Abb. 20: Mittelwert und Standardfehler des Hauterythems bei Ekzempatienten und hautgesunden Probanden im Langzeitverlauf**  
 Die Hautrötung läsionaler Haut nahm in den ersten 4 Wochen stark ab, wohingegen die Hautrötung nicht-läsionaler Haut von Ekzempatienten geringer ausgeprägt war und nur wenig abnahm. Bei hautgesunden Probanden blieb die Ausprägung des Hauterythems konstant. Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

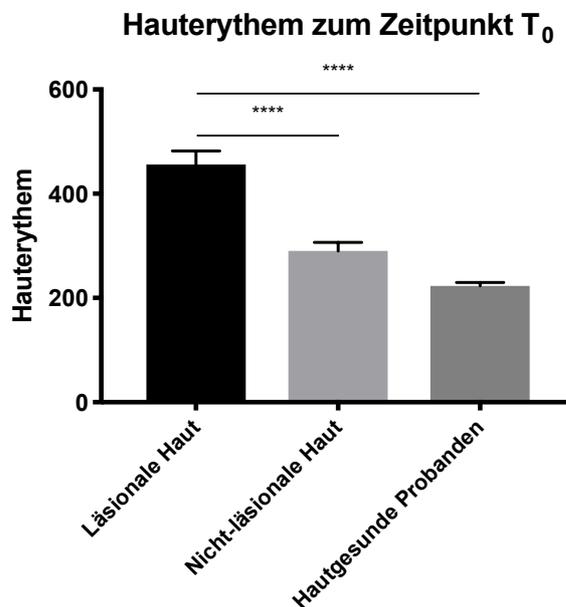
Die durchschnittliche läsionale Hautrötung bei Ekzempatienten war zum Zeitpunkt  $T_0$  bei  $456 \pm 26$  und war als hohes Erythem zu bewerten (Tabelle 5). Die Hautrötung nahm mit der Behandlungszeit ab (Abb. 20). Nach 4 Wochen war die Hautrötung auf

395 ± 30 und nach 20 Wochen auf 388 ± 30 gesunken. Dies entsprach einer diffusen Hautrötung. Diese Abnahme in der Ausprägung des Hauterythems in läSIONALER Haut war nicht signifikant.

Bei nicht-läsionaler Haut betrug das durchschnittliche Hauterythem zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> 290 ± 16. Die Rötung nahm im Vergleich zur läSIONALen Haut über die 20 Wochen weniger ab. Zum Zeitpunkt T<sub>4</sub> war das Hauterythem 287 ± 14 und zum Zeitpunkt T<sub>20</sub> betrug es 284 ± 20. Die nicht-läsionale Haut bei Ekzempatienten wurde als Minimalekzem beurteilt (Tabelle 5).

Im Durchschnitt war das Hauterythem bei hautgesunden Probanden niedriger als bei der läSIONALen und nicht-läsionalen Haut von Ekzempatienten. Zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> betrug das Hauterythem 223 ± 7, nach 4 Wochen 234 ± 11 und nach 20 Wochen 223 ± 10.

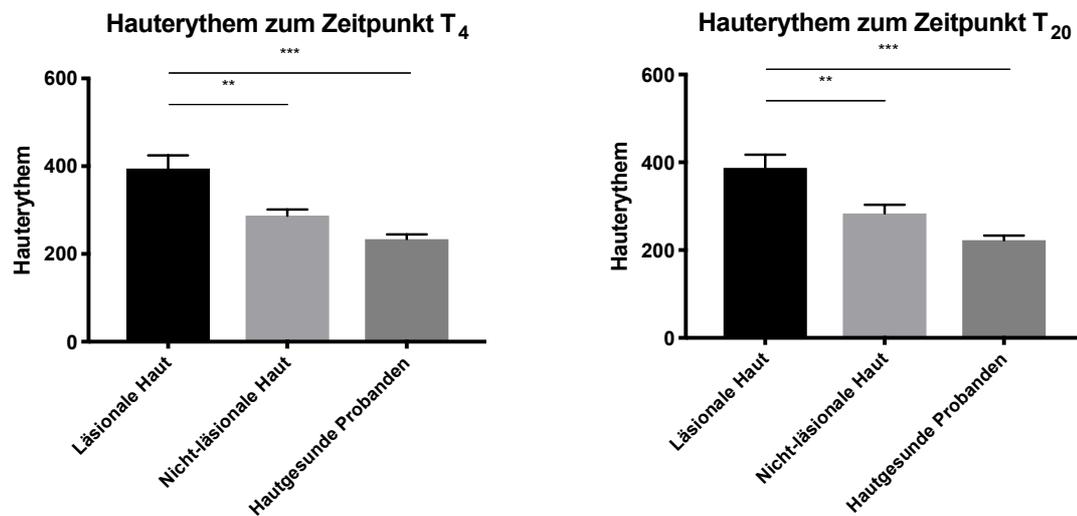
Zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> unterschied sich die Ausprägung des läSIONALen Hauterythems von Ekzempatienten deutlich von der Hautrötung der nicht-läsionalen Haut von Ekzempatienten und von der Ausprägung der Hautrötung bei hautgesunden Patienten (Abb. 21).



**Abb. 21: Mittelwert und Standardfehler des Hauterythems in Ekzempatienten und hautgesunden Probanden zum Zeitpunkt T<sub>0</sub>**

\*\*\*\*  $P < 0.0001$ , läSIONALE Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

Der Erythem-Wert der läSIONalen Haut blieb über die 20 Wochen hinweg signifikant höher als die Erythem-Werte der anderen beiden Gruppen (Abb. 22).

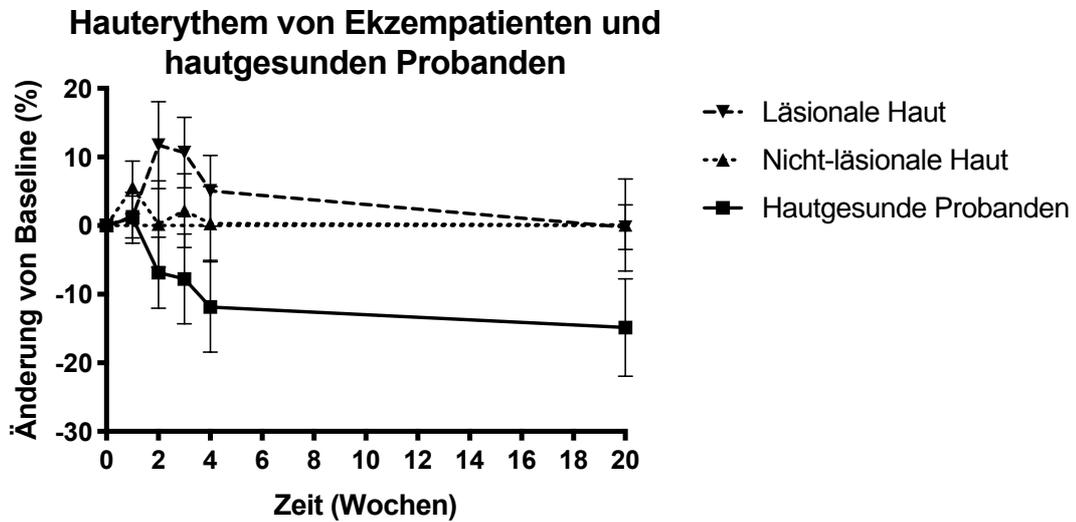


**Abb. 22 Mittelwert und Standardfehler des Hauterythems bei Ekzempatienten und hautgesunden Probanden zum Zeitpunkt T<sub>4</sub> und T<sub>20</sub>**

\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , läSIONale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

### 3.5.2 Die prozentuale Veränderung des Hauterythems

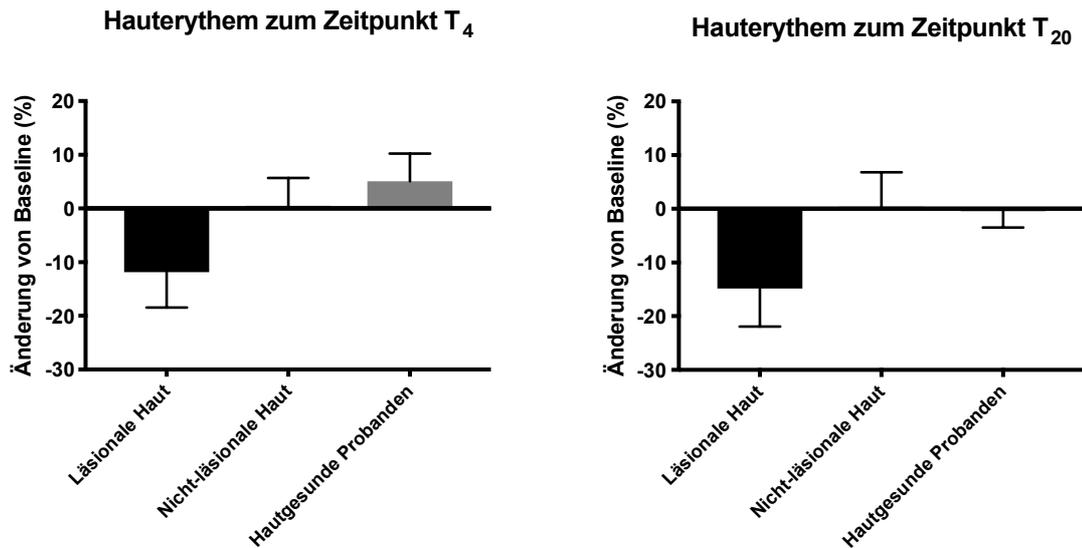
Auch die Veränderungen des Hauterythems wurden berechnet.



**Abb. 23: Mittelwert und Standardfehler der prozentualen Veränderung des Hauterythems bei Ekzempatienten und hautgesunden Patienten im Langzeitverlauf**

Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

Das Hauterythem der läsionalen Haut war über die 20 Wochen mit  $-15 \pm 7 \%$  rückläufig, welches für eine klinische Ekzemverbesserung spricht. Die nicht-läsionale Haut sowie die Haut der hautgesunden Patienten zeigten nach 20 Wochen keinen Unterschied (Abb. 23). Nach 4 Wochen zeigte sich bei den hautgesunden Probanden eine geringfügige Zunahme der Hautrötung mit  $5 \pm 5 \%$ .



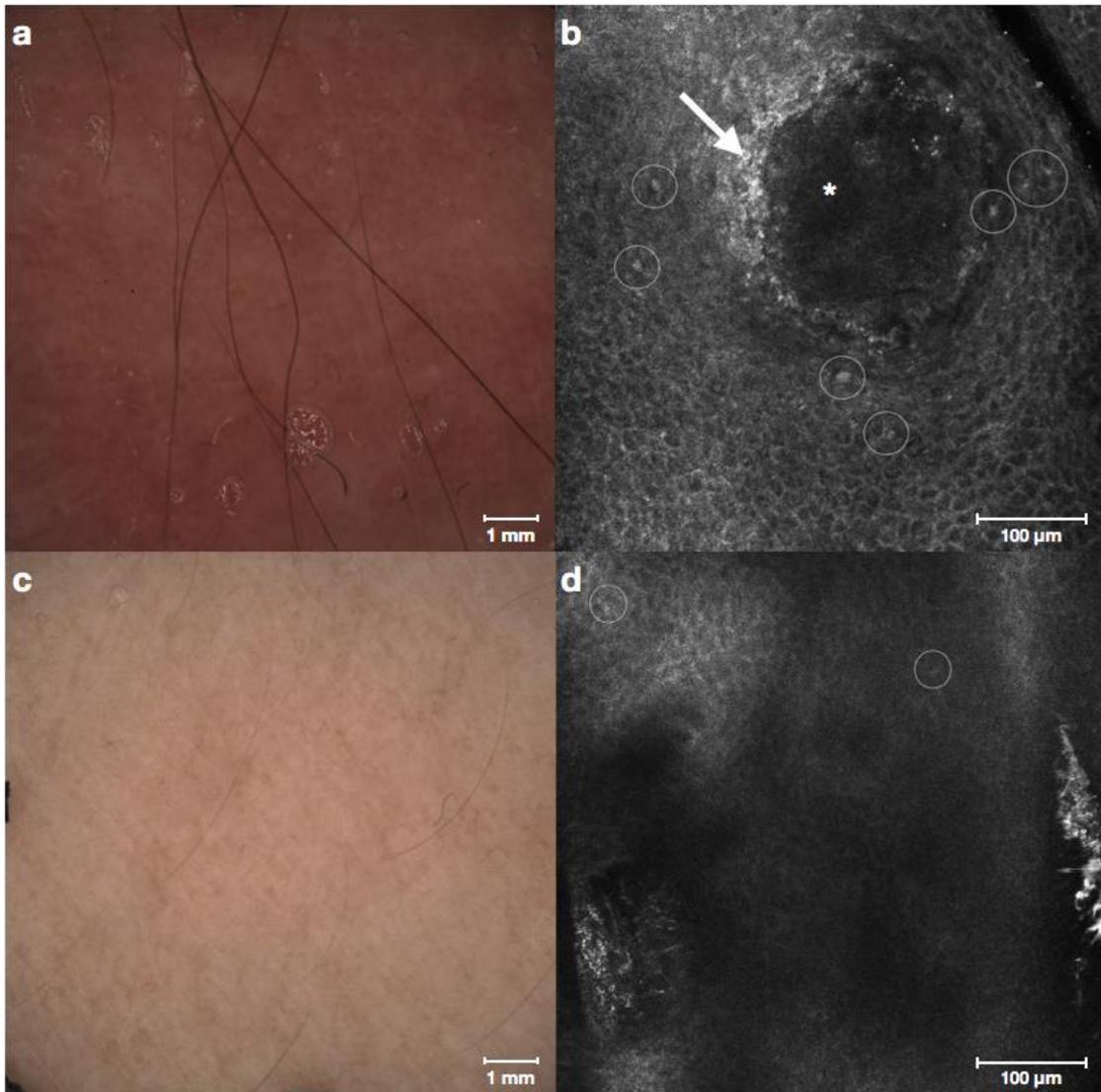
**Abb. 24: Mittelwert und Standardfehler der prozentualen Veränderung des Hauterythems bei Ekzempatienten und hautgesunden Probanden zum Zeitpunkt T<sub>4</sub> und T<sub>20</sub>**

Läsionale Haut ( $n = 15$ ), nicht-läsionale Haut ( $n = 17$ ), hautgesunde Probanden ( $n = 7$ ).

Die prozentualen Änderungen im Hauterythem in den verschiedenen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant voneinander (Abb. 24).

### 3.6 *In vivo*-Mikroskopie-Befunde bei einem Ekzempatienten im Zeitverlauf

Zusätzlich zu den hautphysiologischen Untersuchungen und dem klinischen Schweregradscore wurde ein Patient auch mittels eines *in vivo*-mikroskopischen Standardverfahrens, nämlich der konfokalen Lasermikroskopie (RCM), im Zeitverlauf untersucht. Die erste RCM-Analyse wurde durchgeführt, als der unbehandelte Patient klinisch eine deutliche Hautrötung im Bereich der läsionalen Haut der Ellenbeuge zeigte (Abb. 25a). Die Mexameter-Messung desselben Hautareals ergab einen Wert von 421.



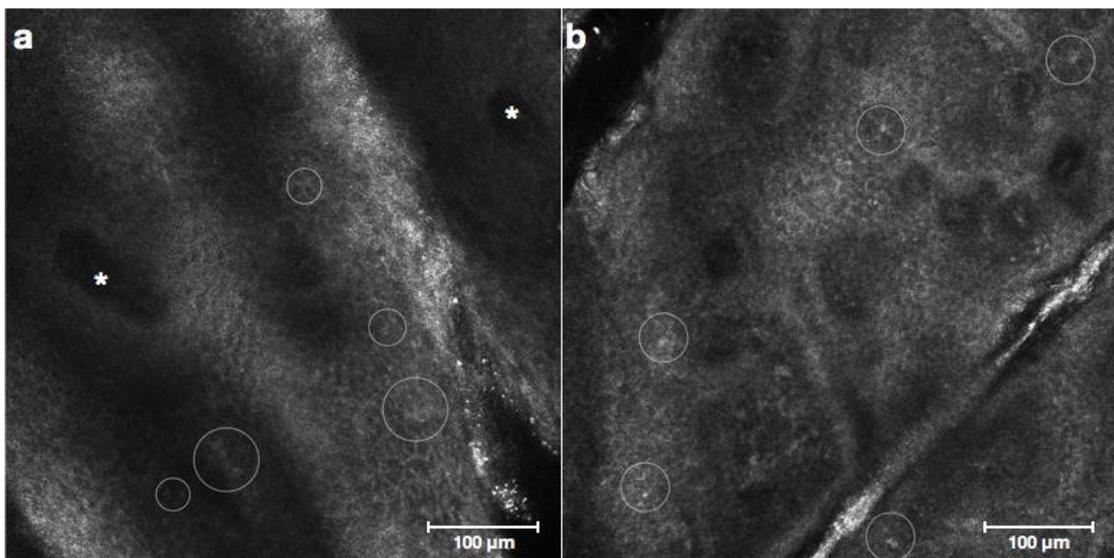
**Abb. 25: Repräsentative makroskopische Bilder und RCM-Bilder einer unbehandelten Ekzempläsion vor Behandlung (a, b) sowie nach 4 Wochen Behandlung (c, d)**

**a** Läsionale Ekzemhaut der Ellenbeuge zeigte ein stark ausgeprägtes Erythem. **b** Das RCM-Bild der entzündlichen Ekzempläsion in (a) fokussierte sich auf die entzündete basale Hautschicht, die eine große Hautpapille (Stern) sowie eine dilatierte Kapillare enthält. Perivaskuläre, entzündliche Infiltrationen sowie Melanozyten konnten an der Grenze zwischen Epidermis und Papille (Pfeil) erkannt werden. Dendritisch geformte Zellen mit Ausläufern konnten vom umliegenden Honigwabemuster der Keratinozyten (Kreise) unterschieden werden. **c** Die läsionale Haut des gleichen Areals zeigte nach 4-wöchiger Behandlung kein Erythem mehr. **d** In der abheilenden Haut zeigte sich ein normales, gesundes Honigwabemuster der Keratinozyten in der basalen Epidermis mit wenigen dendritischen Zellen (Kreis).

Die RCM-Bilder eines unbehandelten, floriden Ekzemherdes zeigten inflammatorische Infiltrate und dendritische Zellen (Abb. 25). Die weißen Kreise umfassen einige dieser Zellen. Bei manchen helleren, klar abgrenzbaren Zellen

konnten dendritische Ausläufer erkannt werden. Die weißlichen Areale (Pfeil) neben den Hautpapillen zeigten eine weitere Inflammation der basalen Schichten der Haut.

Die RCM-Untersuchung am epidermalen-dermalen Übergang offenbarte eine hohe Dichte der dendritischen Zellen. Diese konnten als Melanozyten (spindelförmig, hoher Reflexionsgrad, neben den Hautpapillen) und epidermale dendritische Zellen bzw. Langerhans-Zellen (hell, groß) klassifiziert werden [35]. Nach 4-wöchiger Behandlung war das Erythem abgeklungen (Abb. 25c), die Mexameter-Messung dieser, zuvor läsionalen, Haut betrug 219.



**Abb. 26: RCM-Morphologie einer floriden Ekzempläsion (a) im Vergleich zu nicht-läsionaler Haut (b).**

**a** Das RCM-Bild des Stratum basale mit angrenzender Hautpapille der Dermis von läsionaler Haut zeigte mehrere gruppierte dendritische Zellen (Kreise). Die dilatierten Kapillaren (Sterne) zeigten bei der *in vivo*-Untersuchung eine erhöhte Perfusion. **b** Das RCM-Bild der suprabasalen Hautschicht von nicht-läsionaler Haut. Die hellen, gruppierten Zellen entsprachen inflammatorische Infiltrate (Kreise) mit dendritischen Zellen.

Die nicht-läsionale Haut eines Ekzempatienten vor Behandlung zeigte entzündliche Infiltrationen, sowie abgrenzbare und prominente dendritisch geformte Zellen (Abb. 26).

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich läsionale Hautfunktionsparameter von Ekzempatienten von läsionalen Hautfunktionsparameter hautgesunder Probanden unterscheiden, und dass auch bei nicht-läsionalen Hautfunktionsparametern Unterschiede zwischen Ekzempatienten von hautgesunden Probanden bestanden. Die läsionalen Hautfunktionsparameter TEWL und Hauterythem besserten sich bei klinischer Besserung der Läsionen. Der transepidermale Wasserverlust korrelierte dabei mit dem am gleichen Tag bestimmten klinischen Schweregrad des Ekzems (EASI). Schließlich konnten dendritische Zellen bei einem Ekzempatienten durch nichtinvasive Bildgebung mithilfe der *in vivo*-RCM in läsionaler Ekzemhaut identifiziert werden.

### 4.1 Die klinische Entwicklung des Atopischen Ekzems

In der durchgeführten Arbeit konnte bei der Mehrzahl der Patienten eine Symptomverbesserung des AE im Zeitverlauf nachgewiesen werden. Dies konnte durch die signifikante Abnahme des klinischen Schweregradscore EASI nachgewiesen werden ( $P < 0.01$ ). In der vorliegenden Untersuchung wurde nach 20 Wochen eine durchschnittliche Abnahme des EASI-Scores um  $66 \% \pm 5 \%$  beobachtet.

Diese wesentliche Verbesserung des klinischen Zustands könnte dadurch erklärt werden, dass die untersuchten Patienten eine engere Anbindung an eine Universitätsklinik hatten, regelmäßig zu Verlaufskontrollen erschienen und damit verfügbare Therapieformen konsequenter angewandt haben. Die Ergebnisse der multizentrischen Studie von Heratizadeh *et al.* zeigten, dass sich die klinische Besserung des AE bei Patienten, die an Schulungen über die Erkrankung teilnahmen signifikant höher war als bei Patienten ohne Schulungen [36].

Die klinische Besserung des AE der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten kann auch darauf zurückgeführt werden, dass sich medizinische Kenntnisse über Auslösefaktoren und Therapiemöglichkeiten durch Schulungen erhöhten. In Folge der Aufklärung über die Erkrankung kam es wahrscheinlich zu einer besseren Compliance.

## **4.2 Läsionale Haut von Ekzempatienten weist einen erhöhten TEWL und ein vermehrtes Hauterythem auf**

Zu Beginn des Untersuchungszeitraums wurden die hautphysiologischen Parameter und die klinische Ausprägung des Ekzems bestimmt. Hierbei stellte sich klinisch eine vermehrte Hautrötung dar, welche sich in einem erhöhten EASI-Score widerspiegelte. Durch das Mexameter wurde ebenfalls ein erhöhter Hauterythem-Wert auf der läsionalen Haut erfasst. Die Hautrötung der läsionalen Haut war vor Beginn der entzündungshemmenden Behandlung signifikant höher als das durchschnittliche Hauterythem nicht-läsionaler Haut und die Haut von hautgesunden Probanden.

Der TEWL läsionaler Haut bei Ekzempatienten zeigte sich ebenfalls signifikant höher als bei nicht-läsionaler Haut von Ekzempatienten oder von hautgesunden Probanden. Die Erhöhung des TEWL entspricht den Erwartungen, da eine zytokin-induzierte Entzündung und Reizung der Haut, wie beim klinisch-manifesten AE, mit einer Vasodilatation und dadurch mit einem vermehrten Hauterythem einhergeht [37]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden durch die Untersuchungen von Darlenski unterstützt, die auch einen signifikant erhöhten TEWL bei AE Patienten im Vergleich zu hautgesunden Probanden nachweisen konnte [38].

Der durchschnittliche TEWL von läsionaler Haut war auch nach Durchführung der entzündungshemmenden Behandlung nach 20 Wochen noch signifikant höher als von hautgesunden Patienten. Dies bedeutet, dass auch bei klinischer Verbesserung des AE, wie mit der EASI-Abnahme gezeigt wurde, eine messbare Erhöhung des TEWL und somit eine dysfunktionale Hautbarriere verbleibt.

## **4.3 Wiederherstellung einer funktionalen Hautbarriere im Zeitverlauf**

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass Hautläsionen, an denen Patienten zu Beobachtungsbeginn litten, zunehmend rückläufig waren. Dies wurde auf der einen Seite durch einen reduzierten EASI-Score bestätigt. Auf der anderen Seite reduzierte sich der TEWL der läsionalen Haut über den Zeitraum von 20 Wochen signifikant. Der TEWL wurde zur direkten Messung der Intaktheit der Hautbarriere eingesetzt. Die Hautbarriere ist bei läsionaler Haut bei Patienten mit AE bekanntermaßen gestört. Dies ist auf das Strukturprotein Filaggrin

zurückzuführen. Filaggrin vernetzt Keratin-Filamente in Keratinozyten des Stratum granulosum [39]. Eine Nullmutation für das FLG-Gen, welches das Filaggrin kodiert, führt zu einer funktionalen Beeinträchtigung des Stratum granulosum [40]. Ein erhöhter TEWL spricht indirekt für eine verstärkte Entzündung in der Haut. Die vorherrschende Typ-2-Entzündung im AE, die durch Lymphozyten induziert ist, kann ebenfalls in einer Herunterregulierung von Filaggrin resultieren [41, 42]. Nach 20 Wochen betrug der durchschnittliche TEWL-Wert bei Ekzempatienten auf ehemaligen Hautläsionen  $22,9 \pm 2,9$  g/h/m<sup>2</sup> welches für einen normalen Hautzustand spricht. Die antientzündliche Behandlung bewirkte somit eine Wiederherstellung der Integrität der Hautbarriere in Hautläsionen.

Das gemessene Hauterythem reduzierte sich unter Ekzemverbesserung ebenfalls von  $456 \pm 26$  auf  $388 \pm 30$ . Dies entsprach eine Verbesserung von einem ausgeprägten Erythem zu einer diffusen Hautrötung. Die Vasodilatation reduzierte sich somit mit Ekzemverbesserung. Dies bekräftigt die Plausibilität der Aussage, dass eine Ekzemverbesserung mit einer Wiederherstellung der Hautbarriere einher geht.

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit sowie die Erkenntnisse anderer Arbeitsgruppen deuten darauf hin, dass eine Ekzemverbesserung, zum Beispiel durch Hemmung der Typ-2-Entzündung, einen strukturellen Umbau der Epidermis in läsionaler Haut beim AE induziert und damit eine normale Hautphysiologie wiederherstellt.

#### **4.4 Nicht-läsionale Haut von Ekzempatienten weist im Vergleich zu gesunder Haut eine unterschwellige Entzündung auf**

Der TEWL der nicht-läsionalen Haut unserer Ekzempatienten unterschied sich zum Zeitpunkt T<sub>0</sub> signifikant vom TEWL der Haut gesunder Probanden. Bei beiden Gruppen wurden die Messungen vom Unterarm erhoben. Dies spricht dafür, dass nicht-läsionale Haut eine niederschwellige Entzündung aufweist, die klinisch nicht erkennbar ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützen die Aussage, dass die nicht-läsionale Haut eines Patienten mit AE nicht wirklich normal ist. Die nicht-läsionale

Haut nimmt eine Zwischenstellung zwischen der Haut gesunder Patienten und der Haut einer floriden Ekzempläsion ein [43]. Die unterschwellige Entzündung geht mit einer gestörten Hautbarriere oder geringeren Hydratisierung des Stratum corneum einher [44]. Diese beeinträchtigte Hautbarrierefunktion ist nicht nur an der freien Haut vorhanden, sondern auch in nasalen, bronchialen und intestinalen Schleimhäuten nachweisbar, welche die Manifestationsorte von allergischer Rhinitis, zum allergischem Asthma bronchiale sind [45]. Histologisch zeigt sich diese minimale Entzündungsreaktion durch Aktivierung von Venolen und einem lymphozytären Infiltrat in nicht-läsionaler Haut [46]. Dies spiegelt sich in dem gemessenen stärker ausgeprägten Hauterythem der nicht-läsionalen Haut im Vergleich zur gesunden Haut wider. In nicht-läsionaler Haut von Patienten mit AE konnte mittels Durchflusszytometrie auf der Oberfläche von Langerhans-Zellen eine signifikant höhere Dichte hochaffiner IgE-Rezeptoren nachgewiesen werden als auf der Membran von Langerhans-Zellen gesunder Haut [47].

In der vorliegenden Arbeit konnte für läsionale Haut gezeigt werden, dass der TEWL sich bei Ekzemverbesserung reduziert. Dies wird als Wiederherstellung einer gesunden Hautbarriere gewertet. Diese Beobachtung deutet auf eine Entzündungshemmung im entzündeten Gewebe bzw. in der läsionalen Haut hin. Die Arbeit von Hamilton et al. zeigt, dass sich unter einer Hemmung der IL-4 und IL-13 Signalkaskade auch die Genexpression anderer Zytokine in der läsionalen Haut verändert [48]. Die vorliegende Arbeit konnte nicht nur bei der läsionalen Haut, sondern auch bei der nicht-läsionalen Haut eine signifikante Reduktion des TEWL nachweisen. Der Unterschied zur Baseline war signifikant. Aus diesem Grund scheint es plausibel, dass die therapeutische Mitbehandlung ebenfalls eine molekulargenetische Veränderung in nicht-läsionaler Haut bewirkt. Mehrere Studien haben bereits gezeigt, dass die Immunzelleinwanderung und die Zytokinproduktion in nicht-läsionale, vermeintlich gesunde Haut von Patienten mit AE im Vergleich zur Haut von gesunden Patienten erhöht ist [49].

Das Vorhandensein dieser Mikroinflammation liefert außerdem die wissenschaftliche Grundlage für proaktive Behandlungsschemata für das AE, bei denen rezidivierende Hautläsionen zweimal wöchentlich mit topischen Glucocorticoiden oder topischen Calcineurininhibitoren behandelt werden [50-52]. Es ist bekannt, dass induzierbare antimikrobielle Peptide, wie Cathelicidin und

Beta-Defensin in AE-Läsionen weniger stark aufreguliert werden als beispielsweise in psoriatischer Haut [53]. Die Reduzierung der Typ-2-Entzündung normalisiert die antimikrobielle Antwort der Haut [54-56].

Die traditionelle Behandlung des AE besteht aus einer reaktiven Anwendung von topischer Glucocorticoiden und Calcineurininhibitoren [57]. Der kurzfristige Nutzen dieses Therapieansatzes ist allgemein anerkannt, wohingegen eine langfristige Remission hiermit schwer zu erreichen ist. Obwohl Glucocorticoide eine starke präventive und entzündungshemmende Wirkung haben, beeinträchtigen sie die Wiederherstellung der Hautbarriere durch die verringerte Expression von lipidsynthetisierenden Enzymen bei langfristiger Anwendung [58]. Zur genaueren Analyse von proaktiver Therapie mit Calcineurininhibitoren, Glucocorticoiden oder neuere Biologika wäre eine additive hautphysiologische Untersuchung mit Messung der Hautfeuchtigkeit, des TEWL und des Sebums indiziert.

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Studie der wesentliche Unterschied zwischen läsionaler Haut und nicht-läsionaler Haut und die dazugehörigen hautphysiologischen Veränderungen bei Ekzemverbesserung eingehend dargestellt werden.

#### **4.5 Die Hautfeuchtigkeit unterscheidet sich zwischen Ekzempatienten und hautgesunden Probanden nicht signifikant**

In der vorliegenden Arbeit konnte kein signifikanter Unterschied in der Hautfeuchtigkeit zwischen läsionaler und nicht-läsionaler Haut von Patienten mit AE und der Haut von hautgesunden Probanden nachgewiesen werden. Tendenziell zeigte sich jedoch eine höhere durchschnittliche Hautfeuchtigkeit bei gesunden Probanden als bei Ekzempatienten, was durch eine geringere Menge an „natural moisturizing factor“ erklärt werden kann.

Eine verbesserte Hautbarriere führt prinzipiell zu einer erhöhten Hautfeuchtigkeit, da der reduzierte TEWL in einer verminderten Verdunstung mit weniger Austrocknung resultiert. Wahrscheinlich ist der mangelnde Unterschied dadurch zu erklären, dass sich die Patienten mit AE, die untersucht wurden, alle bereits unter regelmäßiger dermatologischer Behandlung befanden. Somit waren die Patienten

ausreichend über die Notwendigkeit der Anwendung von Hautbasispflege aufgeklärt [59, 60]. Mit einer größeren Fallzahl könnte eine genauere Aussage über die Hautfeuchtigkeit getroffen werden.

#### **4.6 Klinische Schweregradscores für das Atopische Ekzem korrelieren mit dem Transepidermalen Wasserverlust**

Die Messung des TEWL wurde mit dem klinischen Verlauf des AE während der Beobachtungsperiode korreliert. Der TEWL läsionaler und nicht-läsionaler Hautareale korrelierte stark mit dem EASI-Score.

Zu beachten ist, dass der TEWL zwischen verschiedenen Körperstellen des gleichen Patienten variiert. Es wurde bereits nachgewiesen, dass der Brustbereich den niedrigsten TEWL aufwies, wobei der höchste TEWL in der Axilla gemessen wurde [61]. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten hatten ihre Hautläsionen nicht an identischen Stellen, sodass ein direkter Vergleich der absoluten TEWL-Werte kritisch betrachtet werden muss. Aus diesem Grund erfolgte ebenfalls die Umrechnung in prozentuale Veränderungen, um den TEWL als individuellen Verlaufsmarker für jeden einzelnen Patienten zu nutzen.

Nichtsdestotrotz korrelierten die absoluten TEWL-Werte mit dem EASI-Score und somit dem Schweregrad des AE. In einer anderen Studie aus der Arbeitsgruppe von Lünemann korrelierte eine Abnahme des SCORAD (Scoring Atopic Dermatitis), ein weiterer Schweregradscore des AE, mit einer Abnahme des TEWL auf der Stirn von Säuglingen nach Anwendung von Basispflege [62]. Somit bestätigt auch die vorliegende Arbeit, dass der TEWL mit der klinischen Ausprägung des AE einhergeht.

#### **4.7 Hautphysiologische Parameter können klinische Scores ergänzen**

Der TEWL wurde in der vorliegenden Arbeit als valider Parameter der Ausprägung des AE bestätigt. Im Umkehrschluss wurde der EASI-Score gleichermaßen durch die Korrelation validiert. Die korrekte Anwendung von klinischen Schweregradscores erfordert einen erfahrenen Untersucher. Obwohl sich der TEWL und die Hautphysiologie bei Patienten mit unterschiedlicher Hautfarbe auch unterscheiden [63, 64], kann die Wahrnehmung der Ausprägung des AE durch den Untersucher bei

Patienten mit dunkler Hautfarbe unterschätzt werden [65]. Der Grund ist die relativ schlechte Sichtbarkeit eines Erythems. Die Messung der hautphysiologischen Parameter, namentlich des TEWL und der Erythemintensität, könnte diese Problematik beheben. Die Messungen der Hautphysiologie können somit bei Patienten hilfreich sein, bei denen der EASI-Score nicht verlässlich angewandt werden kann. Im Gegensatz zum EASI-Score ist für eine korrekte Durchführung der hautphysiologischen Messungen keine akademische Ausbildung notwendig.

Ein weiterer Vorteil ist, dass der Wert des TEWL subtilere Unterschiede als der EASI-Score erkennen lässt. Darüber hinaus kann das Tewameter durch unterschiedliche Anwender einfacher und konsistenter genutzt werden. Demgegenüber sollte der EASI-Score nach Möglichkeit in klinischen Studien immer vom selben, erfahrenen Untersucher erhoben werden.

#### **4.8 Störgrößen und Zuverlässigkeit hautphysiologischer Messungen**

Bei den durchgeführten hautphysiologischen Untersuchungen fielen gewisse Störfaktoren bei der Nutzung des Tewameter auf. Im Rahmen der Untersuchungen wurde versucht, diese zu minimieren. Insgesamt ist die *in vivo* Messung des TEWL empfindlich für Störfaktoren aus der Umgebung. Die Raumtemperatur und die Luftfeuchtigkeit wurden während der Messung konstant gehalten. Türen sollten geschlossen bleiben und Luftzüge durch das Zimmer minimiert werden. Die Messungen wurden immer im selben Zimmer durchgeführt. Es wurde ebenfalls darauf geachtet, dass Raumtemperatur und -feuchtigkeit bei wiederholten Messungen über den Messzeitraum so weit wie möglich konstant blieb. Bei unglaublichen Werten wurden die Messungen umgehend wiederholt.

Die Störanfälligkeit ist wahrscheinlich dadurch bedingt, dass das Tewameter TM 300 nach einem „offenen Kammer“-Prinzip arbeitet. Obwohl das Tewameter TM 300 der klinische Standard für konventionelle *in vivo* TEWL Messungen ist, zeigt das Gerät mit seiner „offenen Kammer“ eine höhere Variabilität als Messgeräte, die nach der „geschlossenen Kammer“-Messmethode arbeiten [66, 67].

Bei den durchgeführten Untersuchungen gab das Tewameter fälschlicherweise hohe Werte an, wenn die Sonde zu fest auf die Haut gedrückt wird. Aus diesem Grund sollte die Sonde nur mit ihrem Eigengewicht auf die Haut gelegt werden. Eine

eingebaute Feder, wie sie etwa beim Mexameter und Corneometer installiert ist, könnte dieser Faktor beheben.

Weitere Störfaktoren traten in Erscheinung, wenn die Sonde beim Aufsetzen die darunter liegende Haut nicht vollständig okkludiert. Auf der einen Seite kann vermehrt feuchte Luft durch die Sonde strömen. Auf der anderen Seite kann vermehrt trockene Luft einen fälschlicherweise niedrigen TEWL-Wert erzeugen. Aus diesem Grunde müssen die gemessenen Hautareale exakt ausgewählt werden. Flache Hautareale ohne Falten sollten vorzugsweise ausgesucht werden.

Untersuchungsfehler waren aber auch abhängig von der Homöostase des Probanden. Probanden, die sich unmittelbar vor einer hautphysiologischen Untersuchung stark körperlich beansprucht haben oder nicht ausreichend lange im Untersuchungsraum akklimatisiert haben, wiesen aufgrund einer erhöhten Hautperfusion erhöhte TEWL-, Hautfeuchtigkeits- und Hauterythemwerte auf.

Der TEWL ist auch alters- und geschlechtsabhängig [68]. Die Arbeitsgruppe von Mündlein kam zur Schlussfolgerung, dass die TEWL-Messung nicht nur vom Hauttyp, sondern auch vom emotionalen Zustand des Patienten abhängig ist [69]. Der TEWL kann ebenfalls mit dem Tagesrhythmus variieren [70]. Die medizinische Interpretation des TEWL-Werts muss diese nur teilweise kontrollierbare Parameter berücksichtigen.

Ebenso wird eine Messung deutlich beeinflusst, wenn Patienten vor der Untersuchung Hautprodukte topisch appliziert haben. Du Plessis *et al.* haben bereits gezeigt, dass auch Rauchen oder die Einnahme von koffeinhaltigen Getränken den TEWL beeinflussen können [71].

Die anderen hautphysiologischen Parameter können ebenfalls störanfällig sein. Beim Mexameter wurde sichergestellt, dass kein zusätzliches Licht von einer anderen Quelle die Sonde erreicht. Die Messung der Hautfeuchtigkeit konnte falschhohe Werte ergeben, wenn die Sonde zu fest auf die Haut gesetzt wird, oder wenn dieselbe Stelle mehrmals in kurzer Abfolge gemessen wird, da sich ausgeschiedenes Wasser oder Schweiß unter dem Sondenkopf bildete.

Letztendlich mussten die Sonden regelmäßig geeicht und überprüft werden damit sich in Untersuchungen keine systemischen Fehler einschleichen.

Zusammenfassend bleibt die hautphysiologische Untersuchung vorerst eine Ergänzung zu den klinischen Scores zur Beurteilung der Ausprägung des AE. Eine komplette Ablösung von klinischen Scores durch hautphysiologische Untersuchungen ist unwahrscheinlich, da die klinische Untersuchung und Beurteilung bei jedem Patienten individuell bleiben muss, damit ein maximaler Therapieerfolg erreicht wird.

#### **4.9 Dendritische Zellen lassen sich in Ekzempläsionen mit konfokaler Lasermikroskopie darstellen**

Im Rahmen dieser Arbeit wurde bei einem Patienten die zelluläre Entzündungsreaktion vor und nach 4 Wochen Behandlung mikroskopisch mit RCM *in vivo* untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die dendritische Zellzahl und die inflammatorischen Infiltrate in läsionaler Haut nach 4 Wochen abgenommen hatten. Zuvor dilatierte und hyperperfundierte Kapillaren der Papillen bildeten sich zurück. Dies spiegelt den Rückgang der Entzündung wider, der auch durch die Abnahme des läsionalen TEWL demonstriert wurde.

Die Verläufe anderer Krankheitsbilder wurden bereits mit RCM dokumentiert: Die Arbeitsgruppe von Grönemeyer konnte beim Morbus Hailey-Hailey (auch Familiärer Gutartiger Pemphigus) die Abnahme von Entzündungsinfiltraten und diffus-polymorphen Kapillaren nach einer CO<sub>2</sub>-Laserablation mit RCM nachweisen [72].

Dendritische Zellen, die prädominant in der Entzündungsreaktion des AE mitwirken, wurden bereits 1999 mittels quantitativer Durchflusszytometrie *ex vivo* identifiziert und klassifiziert [47]. Die dendritischen Zellen in läsionaler Haut, IDECs, differenzieren sich von klassischen Langerhans-Zellen, die auch in gesunder Haut vorzufinden sind [24]. Mit epidermalen Zellsuspensionen konnte die Expression eines hochaffinen IgE-Rezeptors einer Unterform der dendritischen Zellen zugeordnet werden [73]. Diese dendritischen Zellen ließen sich in der vorliegenden Arbeit auch *in vivo* mit RCM darstellen. Es ist bekannt, dass die

Einwanderung von IDEC in frischen Läsionen innerhalb von 48 Stunden mit einem Atopie-Patch-Test induziert werden kann [74].

Die konfokale Lasermikroskopie wird derzeit häufiger bei malignen Erkrankungen als bei entzündlichen Erkrankungen der Haut eingesetzt, so zum Beispiel bei der Abklärung von Melanomen [75]. Hier zeigten sich Melanozyten als helle Areale [34]. Die Differenzierung zwischen Melanozyten und dendritischen Zellen kann schwierig sein, da sich beide Zellarten durch ihre hellere Farbe von den Keratinozyten unterscheiden und eine ähnliche dendritische Morphologie aufweisen.

Dendritische Zellen liegen allerdings in der Regel oberflächlicher als Melanozyten, die in der basalen Schicht der Epidermis ruhen. In der vorliegenden Arbeit war die Differenzierung beider Zelltypen mithilfe des Vivascope® 1500 aufgrund der ähnlichen Morphologie schwierig. Die Lage der Zellen (Melanozyten liegen basal, dendritische Zellen suprabasal) und die Tatsache, dass sich die Anzahl der Melanozyten wenig verändert, erlaubt dennoch eine gewisse Differenzierung beider Zelltypen.

Die vorliegende Arbeit konnte die RCM-Bilder qualitativ bewerten. In zukünftigen Studien könnte die Fluoreszenzanalyse in Kombination mit RCM zur quantitativen *in vivo*-Analyse dendritischer Zellen an Bedeutung gewinnen. Das verwendete Vivascope® 1500 nutzte eine Wellenlänge von 830 nm. Ein weiteres Gerät, namentlich das Vivascope® 1500 Multilaser, welches Laser mit drei verschiedenen Wellenlängen (785 nm Nah-Infrarot, 658 nm rot, 488 nm blau) nutzt, könnte eine Lösung bieten. Dieses Gerät wurde bereits zur *in vivo*-Fluoreszenzanalyse der Haut genutzt, um mithilfe von Indocyaningrün eine hoch detaillierte Zellmorphologie zeigen zu können [76].

Die physiologischen Eigenschaften der Melanozyten sind im Gegensatz zu derjenigen der dendritischen Zellen (Pinozytose, Endozytose) entscheidend bei der erfolgreichen Differenzierung durch *in vivo*-Fluoreszenzmikroskopie. Dendritische Zellen sind antigen-präsentierende Zellen. Daher sind sie zur Phago- bzw. Pinozytose befähigt [77]. Ein Farbstoff, der zum Beispiel durch Endozytose ausschließlich durch dendritische Zellen aufgenommen wird, wäre optimal.

Die quantitative Analyse dendritischer Zellen mithilfe der konfokalen Lasermikroskopie könnte eine gute Ergänzung zur Bestimmung hautphysiologischer Parameter bei Ekzempatienten darstellen.

In der Zukunft könnten die Untersuchungen mit *in vivo*-RCM auf eine größere Zahl von Patienten mit einem AE angewandt werden.

## 5 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden explorativ nichtinvasiv messbare Hautfunktionsparameter bei Ekzempatienten im Langzeitverlauf untersucht und die Resultate mit dem klinischen Schweregrad der Ekzempläsionen im Bezug gesetzt. Zusätzlich wurde ein Patient mit nichtinvasiver Bildgebung im Zeitverlauf untersucht.

Hierzu wurden Patienten mit einem stark ausgeprägten atopischen Ekzem (AE) ausgewählt und im Zeitverlauf von 20 Wochen klinisch und mit einem Hautfunktionsgerät untersucht. Pro Patient wurden zwei Hautareale, ein läsionales und ein nicht-läsionales Hautareal, mit einem Hautfunktionsgerät wiederholt gemessen. Zu den überwachten hautphysiologischen Parametern gehörten die Intensität des Hauterythems, der Transepidermale Wasserverlust (TEWL) und die Hautfeuchtigkeit. Klinische Scores, wie etwa der EASI-Score, wurden zur Abschätzung der Ausprägung des AE am gesamten Körper ebenfalls erhoben. Zusätzlich wurde die Haut eines Patienten mit konfokaler Lasermikroskopie (RCM) *in vivo* untersucht.

Die Verbesserung der epidermalen Hautbarriere konnte durch eine Abnahme des TEWL der läsionalen Haut nachgewiesen werden. Auch in der nicht läsionalen Haut zeigte sich eine Reduktion des TEWL. Der EASI-Schweregradscore des Ekzems und der TEWL als Maß der epidermalen Barrierefunktion korrelierten stark miteinander und validierten sich dabei gegenseitig als geeignete Parameter zur Verlaufsbeurteilung des AE. Relevante Änderungen der Parameter für Hautrötung und Hautfeuchtigkeit konnten hingegen nicht nachgewiesen werden.

Mittels RCM konnte bei einem Patienten eine Reduktion der dendritischen Zellzahl visualisiert werden, was die Resultate publizierter, älterer Beobachtungen mit durchflußzytometrischer Methodik bestätigt. Die RCM könnte eine weitere Methode zur nichtinvasiven, objektiven Erfassung des Schweregrades von Ekzempläsionen darstellen.

Zusammenfassend scheinen sowohl hautphysiologische Untersuchungen als auch die nichtinvasive Bildgebung eine Verbesserung von Ekzempläsionen im Zeitverlauf widerzuspiegeln. Dies könnte in einer zukünftigen prospektiven Studie verifiziert werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 2008;358(14):1483-94.
2. Silverberg JI, Hanifin JM. Adult eczema prevalence and associations with asthma and other health and demographic factors: A US population-based study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2013;132(5):1132-8.
3. Peroni DG, Piacentini GL, Bodini A, Rigotti E, Pigozzi R, Boner AL. Prevalence and risk factors for atopic dermatitis in preschool children. *British Journal of Dermatology.* 2008;158(3):539-43.
4. Willemsen MG, van Valburg RWC, Dirven-Meijer PC, Oranje AP, van der Wouden JC, Moed H. Determining the Severity of Atopic Dermatitis in Children Presenting in General Practice: An Easy and Fast Method. *Dermatology research and practice.* 2009;2009:5.
5. Zeppa L, Bellini V, Lisi P. Atopic dermatitis in adults. *Dermatitis : contact, atopic, occupational, drug.* 2011;22(1):40-6.
6. Wollenberg A, Bieber T. Atopic dermatitis: from the genes to skin lesions. *Allergy.* 2000;55:205-13.
7. Senra MS, Wollenberg A. Psychodermatological aspects of atopic dermatitis. *The British journal of dermatology.* 2014;170 Suppl 1:38-43.
8. Proksch E, Brandner JM, Jensen J-M. The skin: an indispensable barrier. *Experimental dermatology.* 2008;17(12):1063-72.
9. Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, Hadgraft J, Lane ME, Moustafa M, et al. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2009;129(8):1892-908.
10. Wollenberg A, Seba A, Antal AS. Immunological and molecular targets of atopic dermatitis treatment. *Br J Dermatol.* 2014;170 Suppl 1:7-11.
11. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, Debenedetto A, et al. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120(1):150-5.
12. Sehra S, Yao Y, Howell MD, Nguyen ET, Kansas GS, Leung DYM, et al. IL-4 Regulates Skin Homeostasis and the Predisposition toward Allergic Skin Inflammation. *The Journal of Immunology.* 2010;184(6):3186-90.
13. Boguniewicz M, Leung DYM. Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunological Reviews.* 2011;242(1):233-46.
14. Wollenberg A, Feichtner K. Atopic dermatitis and skin allergies - update and outlook. *Allergy.* 2013;68(12):1509-19.
15. Irvine AD, McLean WHI, Leung DYM. Filaggrin Mutations Associated with Skin and Allergic Diseases. *New England Journal of Medicine.* 2011;365(14):1315-27.
16. Kong HH, Oh J, Deming C, Conlan S, Grice EA, Beatson MA, et al. Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome research.* 2012;22(5):850-9.

17. Kopfnagel V, Harder J, Werfel T. Expression of antimicrobial peptides in atopic dermatitis and possible immunoregulatory functions. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2013;13:531-6.
18. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, et al. Endogenous Antimicrobial Peptides and Skin Infections in Atopic Dermatitis. *New England Journal of Medicine*. 2002;347(15):1151-60.
19. Salimi M, Barlow JL, Saunders SP, Xue L, Gutowska-Owsiak D, Wang X, et al. A role for IL-25 and IL-33-driven type-2 innate lymphoid cells in atopic dermatitis. *The Journal of Experimental Medicine*. 2013;210(13):2939-50.
20. O'Garra A. Cytokines Induce the Development of Functionally Heterogeneous T Helper Cell Subsets. *Immunity*. 1998;8(3):275-83.
21. Sornasse T, Larenas PV, Davis KA, de Vries JE, Yssel H. Differentiation and stability of T helper 1 and 2 cells derived from naive human neonatal CD4+ T cells, analyzed at the single-cell level. *The Journal of Experimental Medicine*. 1996;184(2):473-83.
22. Lanzavecchia A, Sallusto F. Dynamics of T Lymphocyte Responses: Intermediates, Effectors, and Memory Cells. *Science*. 2000;290(5489):92-7.
23. Matsui K, Mori A, Ikeda R. Langerhans cell-like dendritic cells stimulated with an adjuvant direct the development of Th1 and Th2 cells in vivo. *Clinical and experimental immunology*. 2015;182(1):101-7.
24. Wollenberg A, Kraft S, Hanau D, Bieber T. Immunomorphological and ultrastructural characterization of Langerhans cells and a novel, inflammatory dendritic epidermal cell (IDEC) population in lesional skin of atopic eczema. *J Invest Dermatol*. 1996;106(3):446-53.
25. Matsui K, Tamai S, Ikeda R. Betamethasone, but Not Tacrolimus, Suppresses the Development of Th2 Cells Mediated by Langerhans Cell-Like Dendritic Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2016;39(7):1220-3.
26. Oppel T, Schuller E, Günther S, Moderer M, Haberstock J, Bieber T, et al. Phenotyping of epidermal dendritic cells allows the differentiation between extrinsic and intrinsic form of atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2000;143:1193-8.
27. Taha RA, Minshall EM, Leung DYM, Boguniewicz M, Luster A, Muro S, et al. Evidence for increased expression of eotaxin and monocyte chemoattractant protein-4 in atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2000;105(5):1002-7.
28. Mollanazar NK, Smith PK, Yosipovitch G. Mediators of Chronic Pruritus in Atopic Dermatitis: Getting the Itch Out? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;51(3):263-92.
29. Wilson SR, The L, Batia LM, Beattie K, Katibah GE, McClain SP, et al. The epithelial cell-derived atopic dermatitis cytokine TSLP activates neurons to induce itch. *Cell*. 2013;155(2):285-95.
30. Hanifin JM, Thurston M, Omoto M, Cherill R, Tofte SJ, Graeber M, et al. The eczema area and severity index (EASI): assessment of reliability in atopic dermatitis. *Experimental dermatology*. 2001;10(1):11-8.

31. Courage+Khazaka. TM-Das Tewameter 300 Bedienungsanleitung. 2016.
32. Courage+Khazaka. MX - Das Mexameter MX 18 Bedienungsanleitung. 2016.
33. Courage+Khazaka. CM - Das Corneometer CM 825 Bedienungsanleitung. 2016.
34. Busam KJ, Charles C, Lee G, Halpern AC. Morphologic Features of Melanocytes, Pigmented Keratinocytes, and Melanophages by In Vivo Confocal Scanning Laser Microscopy. *Mod Pathol.* 2001;14(9):862-8.
35. Pellacani G, Guitera P, Longo C, Avramidis M, Seidenari S, Menzies S. The Impact of In Vivo Reflectance Confocal Microscopy for the Diagnostic Accuracy of Melanoma and Equivocal Melanocytic Lesions. *Journal of Investigative Dermatology.* 2007;127(12):2759-65.
36. Heratizadeh A, Werfel T, Wollenberg A, Abraham S, Plank-Habibi S, Schnopp C, et al. Effects of structured patient education in adults with atopic dermatitis: Multicenter randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(3):845-53 e3.
37. Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *Journal of clinical & cellular immunology.* 2011;2(3):110.
38. Darlenski R, Kazandjieva J, Tsankov N, Fluhr JW. Acute irritant threshold correlates with barrier function, skin hydration and contact hypersensitivity in atopic dermatitis and rosacea. *Exp Dermatol.* 2013;22(11):752-3.
39. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(4):328-40.
40. McAleer MA, Irvine AD. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;131(2):280-91.
41. Seltmann J, Roesner LM, von Hesler FW, Wittmann M, Werfel T. IL-33 impacts on the skin barrier by downregulating the expression of filaggrin. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135(6):1659-61 e4.
42. Nygaard U, van den Bogaard EH, Niehues H, Hvid M, Deleuran M, Johansen C, et al. The "Alarmins" HMBG1 and IL-33 Downregulate Structural Skin Barrier Proteins and Impair Epidermal Growth. *Acta Derm Venereol.* 2017;97(3):305-12.
43. Ogawa H, Yoshiike T. Atopic dermatitis: studies of skin permeability and effectiveness of topical PUVA treatment. *Pediatr Dermatol.* 1992;9(4):383-5.
44. Werner Y, Lindberg M. Transepidermal water loss in dry and clinically normal skin in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol.* 1985;65(2):102-5.
45. Proksch E, Folster-Holst R, Jensen JM. Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema. *J Dermatol Sci.* 2006;43(3):159-69.
46. Mihm MC, Soter NA, Dvorak HF, Austen KF. The structure of normal skin and the morphology of atopic eczema. *J Invest Dermatol.* 1976;67:305-12.

47. Wollenberg A, Wen S, Bieber T. Phenotyping of epidermal dendritic cells: clinical applications of a flow cytometric micromethod. *Cytometry*. 1999;37(2):147-55.
48. Hamilton JD, Suárez-Fariñas M, Dhingra N, Cardinale I, Li X, Kostic A, et al. Dupilumab improves the molecular signature in skin of patients with moderate-to-severe atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2014;134(6):1293-300.
49. Wollenberg A, Ehmann LM. Long term treatment concepts and proactive therapy for atopic eczema. *Ann Dermatol*. 2012;24(3):253-60.
50. Wollenberg A, Bieber T. Proactive therapy of atopic dermatitis - an emerging concept. *Allergy*. 2009;64:276-8.
51. Wollenberg A. Proaktive und reaktive Behandlungsansätze der Neurodermitis mit differenten Externa. *JDDG*. 2007;5, Suppl 2:S105.
52. Ehmann LM, Vogel S, Müller-Wiefel S, Wollenberg A. Proaktive Therapie – ein innovatives Langzeittherapiekonzept zur Schubreduktion des atopischen Ekzems 2012. 425-32 p.
53. Wollenberg A, Rawer HC, Schaubert J. Innate immunity in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2011;41(3):272-81.
54. Wollenberg A, Wetzel S, Burgdorf WH, Haas J. Viral infections in atopic dermatitis: pathogenic aspects and clinical management. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112(4):667-74.
55. Wollenberg A, Zoch C, Wetzel S, Plewig G, Przybilla B. Predisposing factors and clinical features of eczema herpeticum: a retrospective analysis of 100 cases. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49(2):198-205.
56. Beck LA, Boguniewicz M, Hata T, Schneider LC, Hanifin J, Gallo R, et al. Phenotype of Atopic Dermatitis Subjects with a History of Eczema Herpeticum. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(2):260-9.e7.
57. Stalder JF, Bernier C, Ball A, De Raeve L, Gieler U, Deleuran M, et al. Therapeutic patient education in atopic dermatitis: worldwide experiences. *Pediatr Dermatol*. 2013;30(3):329-34.
58. Jensen JM, Scherer A, Wanke C, Brautigam M, Bongiovanni S, Letzkus M, et al. Gene expression is differently affected by pimecrolimus and betamethasone in lesional skin of atopic dermatitis. *Allergy*. 2012;67(3):413-23.
59. Wollenberg A, Barbarot S, Bieber T, Christen-Zaech S, Deleuran M, Fink-Wagner A, et al. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(5):657-82.
60. Wollenberg A, Barbarot S, Bieber T, Christen-Zaech S, Deleuran M, Fink-Wagner A, et al. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part II. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(6):850-78.
61. Kottner J, Lichterfeld A, Blume-Peytavi U. Transepidermal water loss in young and aged healthy humans: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dermatol Res*. 2013;305(4):315-23.

62. Lunnemann L, Ludriksone L, Schario M, Sawatzky S, Stroux A, Blume-Peytavi U, et al. Noninvasive monitoring of plant-based formulations on skin barrier properties in infants with dry skin and risk for atopic dermatitis. *Int J Womens Dermatol*. 2018;4(2):95-101.
63. Wesley NO, Maibach HI. Racial (ethnic) differences in skin properties: the objective data. *Am J Clin Dermatol*. 2003;4(12):843-60.
64. Jungersted JM, Hogh JK, Hellgren LI, Jemec GB, Agner T. Ethnicity and stratum corneum ceramides. *Br J Dermatol*. 2010;163(6):1169-73.
65. Ahmad Fadzil MH, Ihtatho D, Mohd Affandi A, Hussein SH. Objective assessment of psoriasis erythema for PASI scoring. *J Med Eng Technol*. 2009;33(7):516-24.
66. Yoshihara T, Shimada K, Momoi Y, Konno K, Iwasaki T. A new method of measuring the transepidermal water loss (TEWL) of dog skin. *J Vet Med Sci*. 2007;69(3):289-92.
67. Gardien KL, Baas DC, de Vet HC, Middelkoop E. Transepidermal water loss measured with the Tewameter TM300 in burn scars. *Burns*. 2016;42(7):1455-62.
68. Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Skin physiology in men and women: in vivo evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. *Int J Cosmet Sci*. 2013;35(5):477-83.
69. Mündlein M, Valentin B, Chabicovsky R, Nicolics J, Weremczuk J, Tarapata G, et al. Transepidermal Water Loss (TEWL) measurements with two novel sensors based on different sensing principles 2008.
70. Yosipovitch G, Xiong GL, Haus E, Sackett-Lundeen L, Ashkenazi I, Maibach HI. Time-dependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and skin temperature. *J Invest Dermatol*. 1998;110(1):20-3.
71. du Plessis J, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, et al. International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Res Technol*. 2013;19(3):265-78.
72. Grönemeyer L-L, Thoms K-M, Bertsch HP, Hofmann L, Schön MP, Haenssle HA. Reflectance confocal microscopy and Hailey-Hailey disease: Assessment of response to treatment after CO<sub>2</sub> laser ablation. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2014;12(12):1135-7.
73. Schuller E, Teichmann B, Haberstok J, Moderer M, Bieber T, Wollenberg A. In situ-expression of the costimulatory molecules CD80 and CD86 on Langerhans cells and inflammatory dendritic epidermal cells (IDEC) in atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res*. 2001;293:448-54.
74. Kerschenlohr K, Decard S, Przybilla B, Wollenberg A. Atopy patch test reactions show a rapid influx of inflammatory dendritic epidermal cells in patients with extrinsic atopic dermatitis and patients with intrinsic atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(4):869-74.
75. Saral S, Hartmann D, Letulè V, Ruzicka T, Ruini C, von Braunmühl T. "Twin lesions": Which one is the bad one? Improvement of clinical diagnosis with

reflectance confocal microscopy. *Dermatology Practical & Conceptual*. 2017;7(1):11-7.

76. Jonak C, Skvara H, Kunstfeld R, Trautinger F, Schmid JA. Intradermal Indocyanine Green for In Vivo Fluorescence Laser Scanning Microscopy of Human Skin: A Pilot Study. *PloS one*. 2011;6(8):e23972.
77. Wollenberg A, Mommaas M, Oppel T, Schottdorf EM, Gunther S, Moderer M. Expression and function of the mannose receptor CD206 on epidermal dendritic cells in inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol*. 2002;118(2):327-34.

## 7 Anhang

### 7.1 Verzeichnis der Abkürzungen

<i>A</i>	Oberfläche ( $m^2$ )
AE	Atopisches Ekzem
AMP	Antimikrobielle Peptide
ANOVA	Statistisches Model zur Varianzanalyse
<i>D</i>	Diffusionskoeffizient des Wasserdampfes in der Luft
$dm/dt$	Diffusionsstrom
$dc/dx$	Dichtegradient
EASI	Eczema Area and Serverity Index
Eos	Eosinophile Granulozyten
FcεRI	Immunglobulin-E-Rezeptor
FLG	Profilaggrin Gen
IDEC	Inflammatory Dendritic Epidermal Cells
IGA	Investigator's Global Assessment
IgE	Immunglobin E
IL	Interleukin
ILC2	Type 2 Innate Lymphoid Cells
LEKTI	Lymphoepithelial Kazal-type-related Inhibitor
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität München
<i>m</i>	Transportierte Wassermenge ( $g$ )
MHC	Major Histocompatibility Complex
<i>n</i>	Zahl der Studienteilnehmer
NIHIT	Nichtinvasive Hautfunktionsanalyse im Therapieverlauf
<i>p</i>	Atmosphärischer Wasserdampfdruck ( $Pa$ )
<i>P</i>	Wahrscheinlichkeitsmaß
RCM	Reflectance Confocal Microscopy
$R_2$	Korrelationskoeffizient der Regression
<i>S Aureus</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>
SCCE	Stratum Corneum Chymotryptic Enzyme
SCORAD	Scoring Atopic Dermatitis
<i>t</i>	Zeit ( $h$ )
$T_0$	Behandlungswoche 0

T <sub>4</sub>	Behandlungswoche 4
T <sub>20</sub>	Behandlungswoche 20
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
Th	T-Helfer Zellen
Th0-Lymphozyt	T-Lymphozyt Vorläuferzellen
Th1-Lymphozyt	T-Helfer Zellen Typ 1
Th2-Lymphozyt	T-Helfer Zellen Typ 2
TSLP	Thymic Stromal Lymphopietin
x	Entfernung der Hautoberfläche zum Messpunkt ( <i>m</i> )

## 8 Danksagung

Meinen besonderen Dank spreche ich meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Dr. h.c. Andreas Wollenberg für die freundliche Überlassung des Themas und die stets gewährte, ausgezeichnete Förderung und Betreuung aus.

Mein weiterer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Dr. h.c. mult. Thomas Ruzicka und Herrn Professor Dr. med. Lars French für die Bereitstellung der großzügigen Arbeitsmöglichkeiten in der Klinik.

Für die Patientenrekrutierung und Hilfsbereitschaft bei dem Aufbau des Hautphysiologie-Labors der Klinik möchte ich mich bei Frau Dr. med. Melda Pinarci, Herrn Jerome Srouf und Herrn Dr. med. Christoph Rothenberger bedanken. Frau Dr. med. Cristel Ruini und Frau PD Dr. med. Elke Sattler danke ich für die freundliche Einweisung und Einarbeitung in die praktische Tätigkeit am konfokalen Lasermikroskop.

Ich danke allen Freunden, besonders Herrn Meron Branik, für die zuverlässige Unterstützung während meiner Studienzeit und Dissertation.

Nicht zuletzt geht ein großer Dank an meine Familie für den allzeit gewährten Rückhalt.

## **Eidesstattliche Versicherung**

**Eijkenboom, Alexander Philip**

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Nichtinvasive Untersuchung hautphysiologischer Parameter bei  
Ekzempatienten im Langzeitverlauf - Eine explorative Analyse**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 23. Februar 2019

\_\_\_\_\_ Alexander Eijkenboom \_\_\_\_\_