

Aus der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. H. G. Bender

**Immunhistochemische Untersuchungen  
zum Verteilungsmuster von  
Steroidhormonen und Zytokeratinen beim  
Lichen sclerosus der Vulva**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der  
Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf

vorgelegt von

**Ursula Rebekka Klintworth**

2004

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Wolfgang H.-M. Raab  
Dekan

Referent: Priv.-Doz. Dr. Küppers  
Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Krüssel

Herrn PD Dr. med. V. Küppers danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und für seine wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Universitätsprofessor Dr. med. H. G. Bender möchte ich dafür danken, daß ich die dieser Arbeit zugrunde liegenden histologischen und immunhistochemischen Untersuchungen an seiner Klinik durchführen konnte.

Herrn Dr. R. Willers (Universitätsrechenzentrum der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) danke ich für die Beratung bei der Durchführung der statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Frau Prof. Dr. rer. nat. U. Koldovsky und Frau B. Friedrichs danke ich für ihre Ratschläge zur Erstellung der fotografischen Abbildungen.

Frau U. Grolik, Frau U. Lörmann und Frau H. Fröhlich danke ich für die immer freundliche und hilfsbereite Unterstützung im Labor.

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Ziel der Arbeit	3
3. Material und Methode	
3.1. Patientinnen	5
3.2. Materialien	6
3.3. Methode	9
3.3.1. Vorbereitungen	9
3.3.2. Immunhistochemische Verfahren	9
3.3.3. Immunreaktiver Score	11
3.4. Statistische Untersuchung	11
4. Ergebnisse	
4.1. Patientinnen	12
4.2. Steroidhormonrezeptoren	12
4.3. Zytokeratine	14
4.4. Tabellen	17
4.5. Diagramme	31
5. Diskussion	36
5.1. Progesteronrezeptoren	37
5.2. Östrogenrezeptoren	38
5.3. Androgenrezeptoren	43
5.4. Glucokortikoidrezeptoren	44
5.5. Zytokeratine	47

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
6. Zusammenfassung	52
7. Bildanhang	54
8. Glossar	58
9. Literatur	59
10. Lebenslauf	78

## 1. Einleitung

Lichen sclerosus ist eine seltene, chronisch entzündliche Hauterkrankung, die altersunabhängig auftritt. Am häufigsten ist die anogenitale Region perimenopausaler Frauen betroffen (Meffert u. Mitarb. 1995, Carli u. Mitarb. 1995).

Das Verhältnis zwischen betroffenen Frauen und Männern schwankt je nach untersuchter Patientengruppe zwischen 1:1 bis zu 10:1. Wir gehen heute davon aus, daß die Erkrankung häufiger Frauen als Männer betrifft (Wakelin u. Mitarb. 1997).

Die Prävalenz ist unbekannt, da es wenige epidemiologische Studien zu diesem Thema gibt. Eine ältere Untersuchung zur Epidemiologie des Lichen sclerosus von 1971 zeigt, daß die Inzidenz zwischen 1:300 bis zu 1:1000 Patienten liegt (Wallace u. Mitarb. 1971). Eine kürzlich veröffentlichte Studie über eine Kohorte von 17.000 Frauen (the Oxford Family Planning Association Contraceptive Study) schätzt die Inzidenz von histologisch nachgewiesenem Lichen sclerosus bei Patientinnen im Alter von 50-59 Jahren auf 13,7 pro 100.000 pro Jahr. Eine andere klinisch-pathologische Studie konnte zeigen, daß von 144 Patientinnen mit chronischen Beschwerden an der Vulva neun Patientinnen (7 %) an einem Lichen sclerosus erkrankt waren (Fischer u. Mitarb. 1995).

Die Ätiologie des Lichen sclerosus ist bis heute unklar. Es scheint eine multifaktorielle Genese vorzuliegen. In den letzten Jahren haben mehrere Studien einen Zusammenhang zwischen Lichen sclerosus und verschiedenen Autoimmunerkrankungen wie perniziöser Anämie, Morbus Basedow, systemischem Lupus erythematodes, Lupus-Pannikulitis, Polymyalgia rheumatica, primär bilärer Zirrhose, Diabetes mellitus, Vitiligo, Alopecia areata, und Assoziationen mit Schilddrüsenerkrankungen belegt (Kamarashev u. Mitarb. 1997, Harrington u. Mitarb. 1981, Meyrick u. Mitarb. 1988). Weiterhin konnte gezeigt werden, daß bei Patienten mit Lichen sclerosus verschiedene organspezifische Antikörper erhöht sind, wobei 40 % der untersuchten Patienten Schilddrüsenantikörper, Antikörper gegen Parietalzellen der Magenschleimhaut und antinukleäre Antikörper aufwiesen. In einer Studie mit 350 Patienten fand man in 21,5 % der Fälle eine oder mehrere assoziierte

Autoimmunerkrankungen, in 21 % einen Verwandten ersten Grades mit einer Autoimmunerkrankung und letztlich in 42 % der Fälle einen abnorm erhöhten Autoantikörpertiter. Insgesamt wiesen 60 % der untersuchten Patienten mindestens einen dieser Faktoren auf (Meyrick u. Mitarb. 1988, Carli u. Mitarb. 1991).

Weiterhin ist unklar, welche Rolle Veränderungen im Östrogenstoffwechsel bei der Entwicklung von Lichen sclerosus spielen. Es konnte beobachtet werden, daß der Lichen sclerosus meist in Phasen relativen Östrogenmangels - vor der Pubertät und in der Menopause - auftritt.

Die Östrogensubstitution führt aber zu keinem therapeutischen Erfolg (Wallace u. Mitarb. 1971). Die meisten Studien zu hormonellen Einflüssen auf die Vulva haben sich mit der Wirkung von lokal appliziertem Testosteron beschäftigt (Meffert u. Mitarb. 1995). Wir wissen heute, daß dem Testosteron keine besondere therapeutische Wirksamkeit beigemessen werden kann (Cattaneo u. Mitarb. 1996, Sideri u. Mitarb. 1994).

In der vorliegenden Arbeit wurden anhand immunhistochemischer Untersuchungen der Rezeptorstatus und das Zytokeratinmuster des Lichen sclerosus mit dem der normalen Epidermis der Vulva verglichen. Es sollte untersucht werden, ob beim Lichen sclerosus eine gestörte Hormonrezeptorbindung oder eine Ausdifferenzierungsstörung der Keratinozyten vorliegt.

## 2. Ziel der Arbeit

Die physiologische Entwicklung der Vulva wird maßgeblich von den in den Ovarien gebildeten Steroidhormonen insbesondere den Östrogenen beeinflusst (Lubahn u. Mitarb. 1993, MacLean u. Mitarb. 1990).

Androgene beeinflussen die Embryonalentwicklung des männlichen externen Genitales und bei beiden Geschlechtern die funktionelle Reifung der Schweißdrüsen, Talgdrüsen und Haarfollikel in der Pubertät. Anormalitäten in der Entwicklung oder Funktion der Haut stellen daher sensitive Indikatoren einer gestörten Androgenproduktion oder Metabolisation dar (Fitzpatrick u. Mitarb. 1993). Die Rolle der Östrogene in der Embryonalentwicklung des weiblichen externen Genitales ist weniger klar. Östrogene beeinflussen die Entwicklung des Genitaltraktes des männlichen und weiblichen Mausembryos (Stumpf u. Mitarb. 1980, Cooke u. Mitarb. 1991). Im Gegensatz zum Androgenrezeptor scheint eine Inaktivierung des Östrogenrezeptors keine signifikanten Effekte auf die embryonale Entwicklung des weiblichen und männlichen externen Genitales zu haben (Lubahn u. Mitarb. 1993). Fest steht aber, daß 17 $\beta$ -Östradiol für die Entwicklung der normalen Anatomie der Vulva von besonderer Bedeutung ist (McLean u. Mitarb. 1988).

Voraussetzung für die Wirkung von Steroidhormonen auf die Vulva ist das Vorhandensein spezifischer Hormonrezeptoren. Über die zelluläre Lokalisation dieser Rezeptoren in der Cutis der Vulva liegen im Gegensatz zum Drüsenepithel der Mamma oder des Endometriums wenige Informationen vor. Die vorliegende Untersuchung basiert auf der Annahme, daß beim Lichen sclerosus die Ausdifferenzierung der Keratinozyten gestört ist. Mögliche Ursachen sind eine gestörte Hormon-Rezeptor-Bindung oder ein Differenzierungsverlust der Basalzellen im Stratum basale der Epidermis. Mittels immunhistochemischer Untersuchungen wurden die Rezeptoren für Östrogen, Progesteron, Testosteron und Glukokortikoide in der Haut der Vulva bei Gesunden und bei Patientinnen mit Lichen sclerosus untersucht, um so die möglichen Zielzellen der Hormone zu bestimmen und zu lokalisieren. Es soll untersucht werden, ob bei Patientinnen mit einem Lichen sclerosus eine Störung des Hormonrezeptorstatus vorliegt, der zu den typischen Veränderungen der Haut führt.

Andererseits sollte mittels Zytokeratinantikörpern nachgewiesen werden, ob beim Lichen sclerosus ein gestörtes Zytokeratinmuster des Plattenepithels der Vulva vorliegt. Die Keratinozyten der menschliche Epidermis exprimieren hauptsächlich vier Zytokeratin-Polypeptide: Zytokeratin 1, Zytokeratin 5, Zytokeratin 10 und Zytokeratin 14. Ihre Expression korreliert mit dem Differenzierungsgrad des jeweiligen Gewebes (Huzar u. Mitarb. 1986). Während Zytokeratin 5 und 14 in den basalen und suprabasalen Schichten exprimiert werden, werden Zytokeratin 10 und 1 in den suprabasalen Zellen selten exprimiert und fehlen in den basalen Schichten. Diese Zytokeratine werden zu Beginn der epithelialen Differenzierung bereits exprimiert (Bowden u. Mitarb. 1984). In der vorliegenden Arbeit wurden mit dem polyspezifischen Antikörper (Klon LP 34) die Zytokeratine 5, 6 und 18 sowie mit spezifischen Antikörpern die Zytokeratine 7, 10 und 14 untersucht.

### 3. Material und Methode

#### 3.1. Patientinnen

In der vorliegenden Studie wurden Patientinnen untersucht, die wegen Beschwerden und/oder Veränderungen an der Vulva in der hiesigen Dysplasie-Sprechstunde vorgestellt wurden. Beschwerden waren Pruritus vulvae und Dyspareunie. Die Veränderungen entsprachen Hyperkeratosen, Erosionen und flächenhaften Hautatrophien, Introitusstenosen und Labiänsynechien wie beim Lichen sclerosus. Bei den Patientinnen war bereits durch niedergelassene Gynäkologen eine Leukoplakie im Bereich der Vulva, zum Teil begleitet von Beschwerden wie Juckreiz, Dyspareunie und Ulzerationen festgestellt worden.

Nach Wochen bis zum Teil jahrelangem Verlauf und nach Anwendung verschiedener Therapieverfahren wie Fettsalben, Hormonpräparaten oder auch einer Kortisonsalbenunterspritzung stellten sich die Patientinnen in der Universitäts-Frauenklinik Düsseldorf zur ambulanten Behandlung und Sicherung der Diagnose vor.

Bei 71 Patientinnen wurden gezielte Biopsien unter kolposkopischer Sicht entnommen. Die Beurteilung der Gewebeproben erfolgte an routinemäßig hergestellten, mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Schnittpräparaten. Die histologische Befunderstellung erfolgte in Anlehnung an die Vorschläge der „International Society of Vulvar Disease“ (ISSVD) und der „International Society for the Study of Gynecological Pathologists“ (ISGYP) (Ridley u. Mitarb. 1989, Report 1986).

Die feingewebliche Untersuchung ergab bei 53 Patientinnen nichtneoplastische Epithelläsionen und bei 18 Patientinnen einen Normalbefund der Vulva. Von den 53 Patienten mit nichtneoplastischen Veränderungen der Vulva lag bei 39 Patientinnen ein Lichen sclerosus und bei 14 Patientinnen eine squamöse Hyperplasie vor.

### 3.2. Materialien

Zur Entparaffinierung der Schnitte wurde die absteigende Alkoholreihe (99 %, 96 %, 80 % Alkohol) aus der hauseigenen Apotheke, Aceton (reinst) und Xylol (Isomergemisch) von MERCK, Darmstadt benutzt.

Die Schnitte wurden in der Mikrowelle mit Zitronensäuremonohydratpuffer behandelt. Die Substanzen für den Zitratpuffer wurden von der Firma MERCK, Darmstadt bezogen.

Die Antikörper wurden primär in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) gelöst und die optimalen Arbeitskonzentrationen in Verdünnungsreihen - mit PBS - ermittelt. Die Substanzen des PBS-Puffers ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) wurden von MERCK, Darmstadt bezogen und die Verdünnung der Antikörper erfolgte mit Aqua ad injectabilia von Pharmacia GmbH, Erlangen.

Der Anti-Progesteronrezeptor-Antikörper (PgR) und der Anti-Östrogenrezeptor-Antikörper (ER) waren ein Produkt der Firma CIS, Gif-sur-Yvette, Frankreich. Der Anti-Androgenrezeptor-Antikörper (AR) und Anti-Glucocorticoidrezeptor-Antikörper (GR) wurden von der Firma NOVO Castra bezogen.

Die Antikörper gegen verschiedene Zytokeratine wie Anti-Human-Cytokeratin 5, 6, 18, Anti-Human-Cytokeratin 7 und Anti-Human-Cytokeratin 10 wurden von der Firma DAKO (Glostrup, Dänemark) hergestellt. Der monoklonale Anti-Human-Cytokeratin-Peptid-14-Antikörper wurde bei der Firma SIGMA (St. Louis, Missouri) bezogen.

Desweiteren wurde Vectastain ABC-Peroxidase-Kit von VECTOR (Burlingame, USA), Rabbit Serum (Normal), Code No. X 902, Lot 054 von DAKO (Glostrup, Dänemark), Diaminobenzidin Tetrachlorid (DAB) Tabletten 10 mg von Sigma (St. Louis, Missouri) als Peroxidase-Substrat und  $\text{H}_2\text{O}_2$  der hauseigenen Apotheke benutzt.

Die Präparate wurden mit Hämalan (nach Meyer) von MERCK, Darmstadt gegengefärbt und die Deckgläser mit Aquamount (Aquaous mounting agent for microscopy) von BDH Laboratory Supplies Poole, England fixiert.

Antikörper	Klon	Spezifität	Verdünnung	Hersteller
anti-humanes Zytokeratin	LP 34 monoklonal Maus	Keratin 5, 6, 18 (polyspezifisch), reagiert nicht spezifisch mit Keratin 1, 8, oder 19	1:40	DAKO Hamburg
anti-humanes Zytokeratin 7	OV-TL 12/30 monoclonal Maus	Zytokeratin 7	1:50	DAKO Hamburg
anti-humanes Zytokeratin 10	DE-K10 monoklonal Maus	Zytokeratin 10	1:100	DAKO Hamburg
anti-humanes Zytokeratin 14	CKB1 monoklonal Maus	Zytokeratin 14	1:200	DAKO Hamburg
Data Sheet Androgen Receptor	2F12 monoklonal Maus	Androgen- rezeptor	1:25	Novo Castra Newcastle

Antikörper	Klon	Spezifität	Verdünnung	Hersteller
Data Sheet Glucocorticoid Receptor	4H2 monoklonal Maus	Glucocorticoid- rezeptor, N-terminale Modulations- region	1:20	Novo Castra Newcastle
HistoCIS ER	B10 monoklonal Maus	Östrogenrezeptor	1:8	CIS bio international, Frankreich
HistoCIS PgR	Li 417 monoklonal Maus	Progesteron- rezeptor	1:10	CIS bio international, Frankreich

Tab.3.3. Verwendete Antikörper

### 3.3. Methode

#### 3.3.1. Vorbereitungen

Objektträger wurden in 300 ml verdünnten Gewebekleber getaucht, anschließend zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen, luftgetrocknet und 12 Stunden bei 37°C inkubiert und bis zum Gebrauch bei maximal 4°C gelagert.

Die Gewebeproben wurden mit dem Mikrotom 3-5 µm dick geschnitten. Aus jeder Biopsie wurden acht Schnitte hergestellt und auf acht vorbehandelte Objektträger aufgebracht.

#### 3.3.2. Immunhistochemische Verfahren

Die Immunhistochemische Darstellung der Zytokeratine und Hormonrezeptoren erfolgte in einer Avidin-Biotin-Technik. Nach Entparaffinierung der Gewebeschnitte, Freilegen der Bindungsstellen durch Mikrowellenbehandlung und Hemmung der unspezifischen Hintergrundreaktion mit normalem Kaninchenserum wurde die Gabe verschiedener Substanzen in folgender Reihenfolge durchgeführt:

1. Primärantikörper
2. Biotinilierter Zweitantikörper
3. Vectastain ABC-Reagenz
4. Peroxidasesubstrat Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB).

Schematische Darstellung des immunhistochemischen Verfahrens für Paraffinschnitte bei der ABC-Methode:

1. Schnitte Entparaffinieren und Hydratisieren
2. Spülen mit PBS-Puffer, 10 mM, pH 7,4
3. Blockierung der endogenen Peroxidase mit 1 %  $H_2O_2$  in PBS-Puffer, 10 min bei Raumtemperatur
4. Spülen mit PBS-Puffer
5. Inkubation der Schnitte mit verdünntem Normalserum, 20 min bei Raumtemperatur oder 10 min bei  $37^\circ C$
6. Überschüssiges Normalserum mit Filterpapier absaugen, nicht waschen
7. Inkubation mit Primärantikörpergebrauchslösung, über Nacht
8. Zweimaliges Spülen mit PBS-Puffer
9. Inkubation mit dem verdünnten biotinilierten Zweitantikörper, 15 min bei  $37^\circ C$ . Vor Gebrauch 30 min bei Raumtemperatur stehen lassen
10. Dreimaliges Spülen mit PBS-Puffer
11. Inkubation mit Peroxidasesubstrat, DAB , 5-10min bei Raumtemperatur
12. Spülen mit PBS-Puffer
13. Gegenfärben mit Hämalun, Eindecken mit Aqua Mount

### 3.3.3. Immunreaktiver Score

Die einzelnen Schichten des Epithels wie Stratum corneum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum granulare sowie das Stroma und die Hautanhangsgebilde wurden jeweils getrennt beurteilt, so daß man pro Schnitt acht Score-Werte erhielt (s. Abb.).

Prozentsatz der positiven Zellen (SI)

0%	0
< 10 %	1
10-50 %	2
50-80 %	3
> 80%	4

Färbeintensität (PP)

negativ	0
schwach	1
mäßig	2
stark	3

Der immunreaktive Score wurde nach folgender Formel berechnet:  $IRS = SI \times PP$

Ein  $IRS < 2$  wurde als negativ bewertet.

### 3.4. Statistische Untersuchungen

Die statistische Untersuchung der Rezeptor-Scorewerte erfolgte mittels SPSS. Der Mann-Whitney-U-Test und die Bonferoni-Adjustierung wurden benutzt, um die Mediane der Score-Werte beim Lichen sclerosus mit den Medianen der Score-Werte bei normaler Vulva zu vergleichen.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Patientinnen

Untersucht wurden 71 Patientinnen. Bei 39 Patientinnen lag ein Lichen sclerosus und bei 14 Patientinnen eine squamöse Hyperplasie vor. Bei den 18 Patientinnen der Kontrollgruppe fand sich eine unauffällige Vulva. Das Erkrankungsalter der Patientinnen mit einem Lichen sclerosus oder einer squamösen Hyperplasie lag zwischen 23 und 84 Jahren. Das Durchschnittsalter betrug 54,7 Jahre. 31 der Patientinnen befanden sich in der Postmenopause, 22 in der Prämenopause. Die Dauer der Erkrankung wurde mit zehn Tagen bis zu 48 Jahren angegeben. Im Durchschnitt bestanden die Beschwerden 5,7 Jahre. Das Alter der Patientinnen der Kontrollgruppe lag zwischen 18 und 85 Jahren, wobei das Durchschnittsalter 48,4 Jahre betrug. Sieben Patientinnen befanden sich in der Postmenopause, 11 in der Prämenopause.

### 4.2. Steroidhormonrezeptoren

Untersucht wurde die Darstellung von Steroidhormonrezeptoren bei Patientinnen in der Prämenopause im Vergleich zu Patientinnen in der Postmenopause. Die statistische Auswertung dieser Ergebnisse ergab keine Abhängigkeit der Darstellung von Steroidhormonrezeptoren vom Menopausenstatus der Patientinnen. Desweiteren wurde der Rezeptorstatus beim Lichen sclerosus im Vergleich zur normalen Vulva untersucht. Diese Untersuchung ergab statistisch signifikante Unterschiede.

Östrogenrezeptoren konnten beim Lichen sclerosus und in der normalen Vulva in den beiden oberen Dritteln der Epidermis nicht nachgewiesen werden (Tab.4.1.). Im normalen Epithel der Vulva zeigte sich im Zytoplasma des unteren Drittels der Epidermis bei 10 von 18 Patientinnen (55 %) eine inhomogene Färbung, während dies beim Lichen sclerosus lediglich bei zwei von 53 Patientinnen (3 %) beobachtet werden konnte.

Der Progesteronrezeptor konnte im Zellkern weder beim Lichen sclerosus noch in der normalen Vulva nachgewiesen werden (Tab.4.2.). Im Zytoplasma des oberen Drittels der Epidermis konnte eine Färbung sowohl beim Lichen sclerosus bei 42 von 53 Patientinnen

(79 %) wie auch in der normalen Vulva bei 11 von 18 Patientinnen (61 %) beobachtet werden. Im Stratum spinosum konnte diese Färbung bei 37 von 53 Patientinnen (69 %) mit Lichen sclerosus nachgewiesen werden. In der normalen Vulva wurden sie nur vereinzelt, nämlich bei drei von 18 Patientinnen (16 %) dargestellt. Im unteren Drittel der Epidermis der normalen Vulva wurde bei drei von 18 Patientinnen (16 %) eine Zytoplasmafärbung beobachtet, während diese Färbung beim Lichen sclerosus nicht beobachtet werden konnte.

In den Hautanhangsgebilden ließen sich Progesteronrezeptoren ebenfalls nicht im Zellkern nachweisen. Im Zytoplasma dagegen konnte im Haarfollikelepithel bei Lichen sclerosus überwiegend, d.h. bei zehn von 13 Patientinnen (76 %) und bei allen sechs Patientinnen mit normaler Vulva eine Färbung nachgewiesen werden. Die Talgdrüsen zeigten sowohl bei vier von acht Patientinnen (50 %) mit Lichen sclerosus, als auch bei vier von sieben Patientinnen (57 %) mit normaler Vulva eine Zytoplasmafärbung.

Glukokortikoidrezeptoren konnten beim Lichen sclerosus bei 13 von 53 Patientinnen (24 %) im oberen Drittel der Epidermis im Zellkern dargestellt werden. In der normalen Vulva war dies nur bei einer von 18 Patientinnen (5 %) der Fall. Die beiden Gruppen unterschieden sich mit einem  $p < 0,05$  statistisch signifikant voneinander. Im Stratum spinosum konnten bei 40 von 53 Patientinnen (75 %) mit Lichen sclerosus Glukokortikoidrezeptoren im Zellkern dargestellt werden, in der normalen Vulva lediglich bei sechs von 18 Patientinnen (33 %). Mit einem  $p < 0,01$  war auch dieses Ergebnis statistisch signifikant. Im unteren Drittel der Epidermis konnten Glukokortikoidrezeptoren in der normalen Vulva lediglich bei fünf von 18 Patientinnen (27 %) nachgewiesen werden, während dies beim Lichen sclerosus bei 40 von 53 Patientinnen (75 %) möglich war. Der Unterschied war mit einem  $p < 0,01$  statistisch signifikant (Tab. 4.3., Abb. 4.1.). Im Zytoplasma des unteren Epidermidrittels zeigte sich bei vier von 18 Patientinnen (22 %) in der normalen Vulva die auch beim Östrogen und Progesteronrezeptor beobachtete Färbung. Beim Lichen sclerosus konnte diese Zytoplasmafärbung nicht beobachtet werden. Im Stroma ließen sich beim Lichen sclerosus im größten Teil der untersuchten Biopsien, d.h. bei 41 von 53 Patientinnen (77 %), Rezeptoren in den Zellkernen nachweisen. In der normalen Vulva war dies nur bei fünf von 18 Patientinnen (27 %) möglich. Das Ergebnis war mit einem  $p < 0,01$  statistisch signifikant (Tab. 4.3.). In den Hautanhangsgebilden wie Haarfollikel, Talgdrüsen und Schweißdrüsen konnten Glukokortikoidrezeptoren im Zellkern sowohl in der normalen Vulva wie auch beim Lichen sclerosus nachgewiesen werden. In den Haarfollikeln ließen sich bei sechs von 13 Patientinnen (46 %) mit Lichen sclerosus Glukokortikoidrezeptoren im Zellkern nachweisen

und in der normaler Vulva bei drei von sechs Patientinnen (50 %) (Tab. 4.9.). In den Talgdrüsen fand sich beim Lichen sclerosus bei fünf von acht Patientinnen (62 %) und in der normalen Vulva bei drei von sieben Patientinnen (42 %) eine Kernfärbung (Tab. 4.11.). Bei den Patientinnen mit Lichen sclerosus konnten Glukokortikoidrezeptoren bei zwei von drei Patientinnen (66 %) in den Schweißdrüsen nachgewiesen werden, während in der normalen Vulva dies nur bei einer von fünf Patientinnen (20 %) möglich war (Tab. 4.13.).

In der Vulva bei Lichen sclerosus ließen sich keine Testosteronrezeptoren nachweisen (Tab. 4.4.). In der normalen Vulva konnte ebenfalls keine eindeutige Kernfärbung dargestellt werden. Im unteren Drittel des Epithels konnte beim größten Teil der untersuchten Biopsien der normalen Vulva, d.h. bei 11 von 18 Patientinnen (61 %), eine Färbung im Zytoplasma beobachtet werden. In den Talgdrüsen konnten Testosteronrezeptoren sowohl in der normalen Vulva bei drei von sieben Patientinnen (42 %) wie auch beim Lichen sclerosus bei einer von acht Patientinnen (12 %) in den Zellkernen dargestellt werden (Tab. 4.11.).

#### 4.3. Zytokeratine

Es wurden die Expression von Zytokeratin 5, 6 und 18, von Zytokeratin 10, von Zytokeratin 7, und von Zytokeratin 14 untersucht. Dabei ergaben sich keine Unterschiede zwischen Patientinnen in der Prämenopause und Patientinnen in der Postmenopause. Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich aber in der Zytokeratinexpression beim Lichen sclerosus verglichen mit der normalen Vulva.

Sowohl im normalen Epithel der Vulva als auch im Epithel der Vulva bei Lichen sclerosus wurde bei allen Patientinnen die Expression der Zytokeratine 5, 6 und 18 im oberen und mittleren Drittel der Epidermis nachgewiesen. Zytokeratin 5, 6 und 18 wurde beim Lichen sclerosus nur bei zwei von 53 Patientinnen (3 %) im unteren Drittel der Epidermis exprimiert, während dies in der normalen Vulva nicht zu beobachten war (Tab. 4.5., Abb. 4.2.). Es konnte aber kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ( $p > 0,01$ ). Die Zytokeratine 5, 6 und 18 konnten beim Lichen sclerosus in den Haarfollikeln bei 12 von 13 Patientinnen (92 %) und in den Talgdrüsen und Schweißdrüsen bei allen Patientinnen nachgewiesen werden, während in der normalen Vulva die Zytokeratine 5, 6 und 18 in allen Haarfollikeln und allen Talgdrüsen und bei drei von fünf Patientinnen (60 %) auch in den Schweißdrüsen nachgewiesen werden konnten (Tab. 4.10., Tab. 4.12., Tab. 4.14.).

Im oberen Drittel der Epidermis war Zytokeratin 7 weder in der normalen Vulva noch beim Lichen sclerosus nachzuweisen. Im unteren Drittel der Epidermis konnte Zytokeratin 7 in der normalen Vulva bei sechs von 18 Patientinnen (33 %) nachgewiesen werden. Dieser Unterschied in der Zytokeratinexpression im Stratum basale war mit einem  $p < 0,01$  statistisch signifikant (Tab. 4.6., Abb. 4.3.).

In den Hautanhangsgebilden konnte Zytokeratin 7 in den Haarfollikeln bei einer von sechs Patientinnen (16 %) und in den Talgdrüsen bei fünf von sieben Patientinnen (71 %) mit normaler Vulva nachgewiesen werden, während die Biopsien mit Lichen sclerosus in den Haarfollikeln kein Zytokeratin 7 exprimierten und in den Talgdrüsen lediglich bei einer von acht Patientinnen (12 %). Die Reaktion in den Talgdrüsen unterschied sich mit einem  $p < 0,01$  statistisch signifikant voneinander für die beiden untersuchten Patientinnengruppen (Tab. 4.9., Tab. 4.11.). In den Epithelzellen der Schweißdrüsen konnte Zytokeratin 7 in der normalen Vulva bei allen Patientinnen und beim Lichen sclerosus bei einer von drei Patientinnen (33 %) nachgewiesen werden (Tab.4.13.).

Im normalen verhornenden Epithel der Vulva, wie auch bei Lichen sclerosus wurde die Expression von Zytokeratin 10 im oberen und mittleren Drittel der Epidermis nachgewiesen. Bei 51 von 53 Patientinnen (96 %) mit Lichen sclerosus, wie auch bei allen 18 Patientinnen mit normaler Vulva konnte Zytokeratin 10 im oberen Drittel der Epidermis nachgewiesen werden. Im mittleren Drittel war dies bei 51 von 53 Patientinnen (96 %) mit Lichen sclerosus und in der normalen Vulva bei 17 von 18 Patientinnen (94 %) der Fall. Im unteren Drittel konnte Zytokeratin 10 nicht nachgewiesen werden. Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede (Tab. 4.7., Abb. 4.4.).

Beim Lichen sclerosus wurde Zytokeratin 10 in allen Haarfollikeln exprimiert, während in der normalen Vulva bei fünf von sechs Patientinnen (83 %) Zytokeratin 10 nachgewiesen werden konnte (Tab. 4.10.). In den Talgdrüsen wurde Zytokeratin 10 beim Lichen sclerosus gelegentlich, d.h. bei drei von acht Patientinnen (37 %), hingegen in den Talgdrüsen der normalen Vulva bei sechs von sieben der untersuchten Biopsien (85 %) nachgewiesen (Tab.4.12.).

Zytokeratin 14 wurde im Epithel der Vulva bei Lichen sclerosus im mittleren Drittel der Epidermis bei 14 von 53 Patientinnen (26 %) und im unteren Drittel der Epidermis nur bei einer von 53 Patientinnen (1 %) exprimiert. In der normalen Vulva konnte Zytokeratin 14 im Stratum spinosum nicht nachgewiesen werden, während im Stratum basale bei sechs von 18 Patientinnen Zytokeratin 14 dargestellt werden konnte. Die Reaktion im Stratum spinosum

und im Stratum basale war mit einem  $p < 0,01$  statistisch signifikant verschieden für die beiden untersuchten Patientenkollektive (Tab. 4.8., Abb. 4.5.).

In den Hautanhangsgebilde konnte Zytokeratin 14 beim Lichen sclerosus in den Haarfollikeln bei drei von 13 Patientinnen (23 %) und in den Schweißdrüsen bei zwei von drei Patientinnen (66 %) nachgewiesen werden. Es wurde aber auch in den Schweißdrüsen der normalen Vulva bei zwei von fünf Patientinnen (40 %) exprimiert (Tab. 4.10., Tab. 4.14.).

## 4.4. Ergebnistabellen

Tab.4.1. Östrogenrezeptordarstellung im Zellkern

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum granulosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum spinosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum basale	LS	51	0	1	1	0	0	0	0	0	0,407
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stroma	LS	52	0	0	0	0	1	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.1.:

Tab.4.1. zeigt die Östrogenrezeptordarstellung im Zellkern bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen: LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.2. Progesteronrezeptordarstellung im Zellkern

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum granulosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum spinosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum basale	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stroma	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.2.:

Tab.4.2. zeigt die Progesteronrezeptordarstellung bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.3. Glukokortikoidrezeptordarstellung im Zellkern

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	40	4	7	0	1	0	0	0	1	0,105
	K	17	0	0	0	0	0	1	0	0	
Stratum granulosum	LS	31	9	3	0	2	3	0	1	4	0,006
	K	17	0	1	0	0	0	0	0	0	
Stratum spinosum	LS	13	0	3	0	14	15	0	5	3	0,004
	K	12	0	1	0	2	2	0	0	1	
Stratum basale	LS	12	1	6	0	9	13	0	8	4	0,005
	K	12	1	0	1	2	1	0	1	0	
Stroma	LS	12	0	9	0	8	12	0	7	5	0,001
	K	13	0	2	2	0	0	0	0	1	

Legende zu Tab.4.3.:

Tab.4.3. zeigt die Glukokortikoidrezeptordarstellung bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.4. Testosteronrezeptordarstellung im Zellkern

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum granulosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum spinosum	LS	50	3	0	0	0	0	0	0	0	0,306
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum basale	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stroma	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.4.:

Tab.4.4. zeigt die Testosteronrezeptordarstellung bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.5.: Darstellung der Zytokeratine Nr.5, 6 und 18 im Epithel

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	0	0	0	0	18	0	34	0	1	0,001
	K	0	1	0	0	0	0	8	0	9	
Stratum granulosum	LS	0	0	0	0	1	0	10	0	42	0,688
	K	0	0	0	0	0	0	3	0	15	
Stratum spinosum	LS	0	0	0	0	1	0	11	0	41	0,039
	K	12	6	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum basale	LS	21	30	0	0	0	0	1	0	1	0,042
	K	17	1	0	0	0	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.5.:

Tab.4.5. zeigt die Expression der Zytokeratine Nr. 5, 6 und 18 bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Untersuchungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz berechnet mit dem Mann-Whitney- U-Test.

Tab.4.6.: Darstellung von Zyokeratin Nr.7 im Epithel

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum granulosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum spinosum	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum basale	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	0,001
	K	12	3	1	0	1	1	0	0	0	

Legende zu Tab.4.6.:

Tab.4.6. zeigt die Expression von Zytokeratin Nr.7 bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Untersuchungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.7.: Darstellung von Zytokeratin Nr.10 im Epithel

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	1	1	0	0	0	4	7	1	39	0,973
	K	0	1	0	0	0	0	4	0	13	
Stratum granulosum	LS	1	1	0	0	0	3	5	2	41	0,942
	K	0	0	0	0	0	1	3	0	14	
Stratum spinosum	LS	1	1	0	1	0	3	5	1	41	0,928
	K	0	1	0	0	0	3	14	0	0	
Stratum basale	LS	53	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	18	0	0	0	0	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.7.:

Tab.4.7. zeigt die Expression von Zytokeratin Nr. 10 bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Untersuchungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.8.: Darstellung von Zytokeratin Nr.14 im Epithel

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Stratum corneum	LS	35	15	0	0	2	1	0	0	0	0,082
	K	16	1	0	0	1	0	0	0	0	
Stratum granulosum	LS	45	6	0	1	1	0	0	0	0	0,718
	K	16	1	0	0	1	0	0	0	0	
Stratum spinosum	LS	17	22	7	1	3	3	0	0	0	0,001
	K	16	2	0	0	0	0	0	0	0	
Stratum basale	LS	52	0	1	0	0	0	0	0	0	0,001
	K	11	0	0	1	4	2	0	0	0	

Legende zu Tab.4.8.:

Tab.4.8. zeigt die Expression von Zytokeratin Nr. 14 bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Untersuchungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (53 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (18 Patientinnen), p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.9. Steroidhormonrezeptordarstellung in den Zellkernen der Haarfollikel

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Östrogen- rezeptor	LS	13	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	6	0	0	0	0	0	0	0	0	
Progesteron- rezeptor	LS	13	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	6	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glukokorti- koidrezeptor	LS	6	1	1	0	0	2	1	1	1	0,926
	K	3	0	1	0	0	1	0	0	1	
Testosteron- rezeptor	LS	13	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	6	0	0	0	0	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.9.:

Tab.4.9. zeigt die Steroidhormonrezeptordarstellung in den Zellkernen der Haarfollikel bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (13 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (6 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.10. Zytokeratinrezeptordarstellung in den Haarfollikeln

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Zytokeratin Nr.7	LS K	13 5	0 0	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0,141
Zytokeratin Nr.10	LS K	0 1	0 0	0 0	0 0	1 0	1 0	3 0	1 0	7 5	0,388
Zytokeratin Nr.14	LS K	3 2	7 4	2 0	0 0	1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0,323
Zytokeratin Nr.5, 6, 18	LS K	1 0	0 0	0 0	0 0	1 0	1 0	1 0	0 0	9 6	0,140

Legende zu Tab.4.10.:

Tab.4.10. zeigt die Expression von Zytokeratinen in den Haarfollikeln bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (13 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (6 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.11. Steroidhormonrezeptordarstellung in den Zellkernen der Talgdrüsen

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Östrogen- rezeptor	LS	8	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	7	0	0	0	0	0	0	0	0	
Progesteron- rezeptor	LS	8	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	7	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glukokorti- koidrezeptor	LS	2	1	1	0	1	1	1	1	0	0,768
	K	3	1	0	0	1	0	0	1	1	
Testosteron- rezeptor	LS	7	0	0	0	1	0	0	0	0	0,129
	K	3	1	2	0	1	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.11.:

Tab.4.11. zeigt die Steroidhormonrezeptordarstellung in den Zellkernen der Talgdrüsen bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (8 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (7 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.12. Zytokeratindarstellung in den Talgdrüsen

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Zytokeratin Nr.7	LS	7	0	1	0	0	0	0	0	0	0,007
	K	1	1	2	0	1	1	1	0	0	
Zytokeratin Nr.10	LS	5	0	1	0	0	0	0	0	2	0,05
	K	1	0	0	0	0	0	1	0	5	
Zytokeratin Nr.14	LS	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0,204
	K	5	2	0	0	0	0	0	0	0	
Zytokeratin Nr.5, 6, 18	LS	0	0	0	0	0	1	0	0	7	0,350
	K	0	0	0	0	0	0	0	0	7	

Legende zu Tab.4.12.:

Tab.4.12. zeigt die Expression von Zytokeratinen in den Talgdrüsen bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (8 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (7 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.13. Steroidhormonrezeptordarstellung in den Zellkernen der Schweißdrüsen

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Östrogen- rezeptor	LS	3	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
Progesteron- rezeptor	LS	3	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	K	5	0	0	0	0	0	0	0	0	
Glukokorti- koidrezeptor	LS	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0,302
	K	4	0	0	0	0	0	0	0	1	
Testosteron- rezeptor	LS	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0,242
	K	3	0	1	0	1	0	0	0	0	

Legende zu Tab.4.13.:

Tab.4.13. zeigt die Steroidhormonrezeptordarstellung in den Zellkernen der Schweißdrüsen bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Rezeptordarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (3 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (5 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

Tab.4.14. Zytokeratindarstellung in den Schweißdrüsen

	Kollektiv	Anzahl der Patientinnen nach IRS-Score aufgeteilt									p (LS gegen K)
		IRS 0	IRS 1	IRS 2	IRS 3	IRS 4	IRS 6	IRS 8	IRS 9	IRS 12	
Zytokeratin Nr.7	LS K	2 0	0 0	0 1	0 0	0 0	0 1	0 0	0 0	1 3	0,201
Zytokeratin Nr.10	LS K	3 5	0 0	-							
Zytokeratin Nr.14	LS K	0 3	1 1	1 0	1 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0,164
Zytokeratin Nr.5, 6, 18	LS K	0 0	0 2	1 2	0 0	1 0	1 0	0 0	0 0	0 1	0,282

Legende zu Tab.4.14.:

Tab.4.14. zeigt die Expression von Zytokeratinen in den Schweißdrüsen bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Als Maß für die Zytokeratindarstellung wurde der IRS-Score verwendet. Dieser ergibt sich aus der Anzahl der gefärbten Zellen multipliziert mit der Intensität der Färbung. Statistische Berechnungen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Die asymptotische Signifikanz wird als p angegeben.

Abkürzungen:

LS = Patientinnen mit Lichen sclerosus (3 Patientinnen), K = Patientinnen mit unauffälliger Vulva (5 Patientinnen); p = asymptotische Signifikanz

## 4.5. Ergebnisdiagramme

IRS

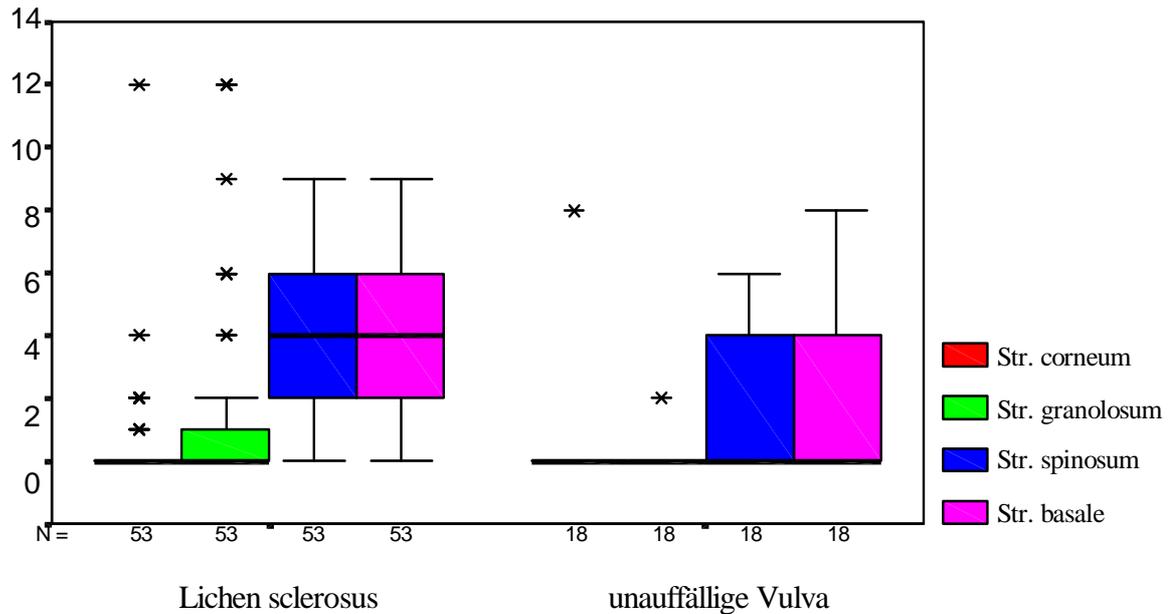


Abb.4.1. Darstellung der Glukokortikoidrezeptoren im Zellkern

Abb.4.1. zeigt die Glukokortikoidrezeptordarstellung in den einzelnen Epithelschichten bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Ordinate: N = Anzahl der Patienten, Abszisse: IRS-Score = Anzahl der gefärbten Zellen x Intensität der Färbung. Die Boxplots zeigen 50 % der Verteilung in einem Kasten (Box) und den Rest der Verteilung in Form von Ausreißern (Whiskers). Die Größe des Kastens entspricht in seiner Länge der Interquartilsdifferenz. Die waagerechte Linie innerhalb des Kastens markiert den Median der Verteilung.

IRS

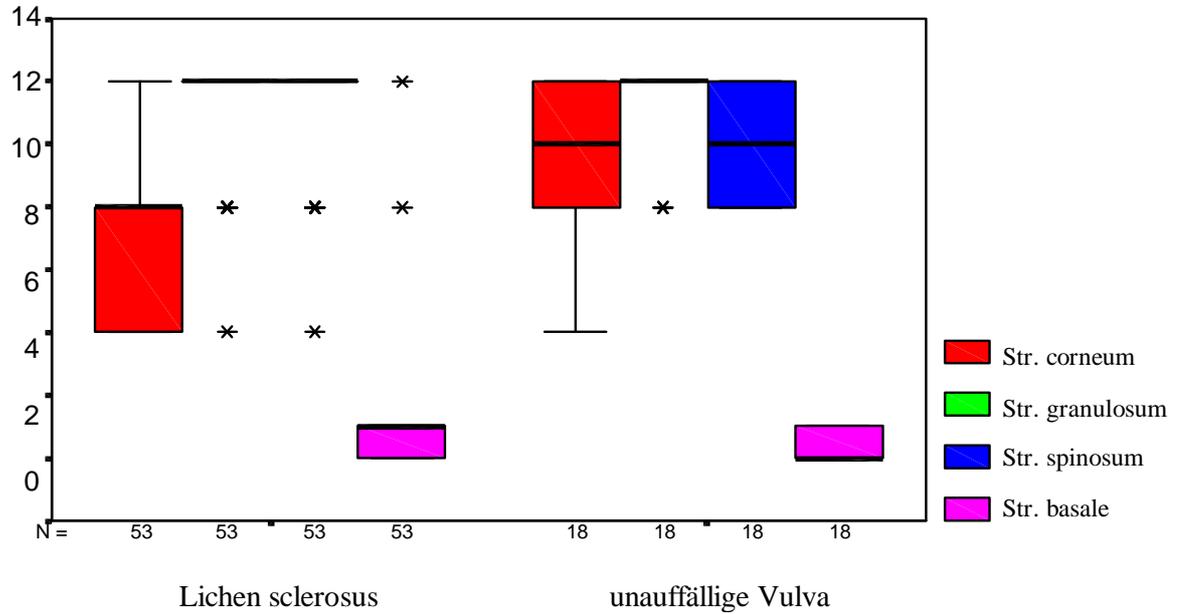


Abb.4.2. Darstellung von Zytokeratin Nr.5, 6 und 18

Abb.4.2. zeigt die Darstellung von Zytokeratin Nr.5, 6 und 18 in den einzelnen Epithelschichten bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Ordinate: N = Anzahl der Patienten, Abszisse: IRS-Score = Anzahl der gefärbten Zellen x Intensität der Färbung. Die Boxplots zeigen 50 % der Verteilung in einem Kasten (Box) und den Rest der Verteilung in Form von Ausreißern (Whiskers). Die Größe des Kastens entspricht in seiner Länge der Interquartilsdifferenz. Die waagerechte Linie innerhalb des Kastens entspricht in seiner Länge der Interquartilsdifferenz. Die waagerechte Linie innerhalb des Kastens markiert den Median der Verteilung.

IRS

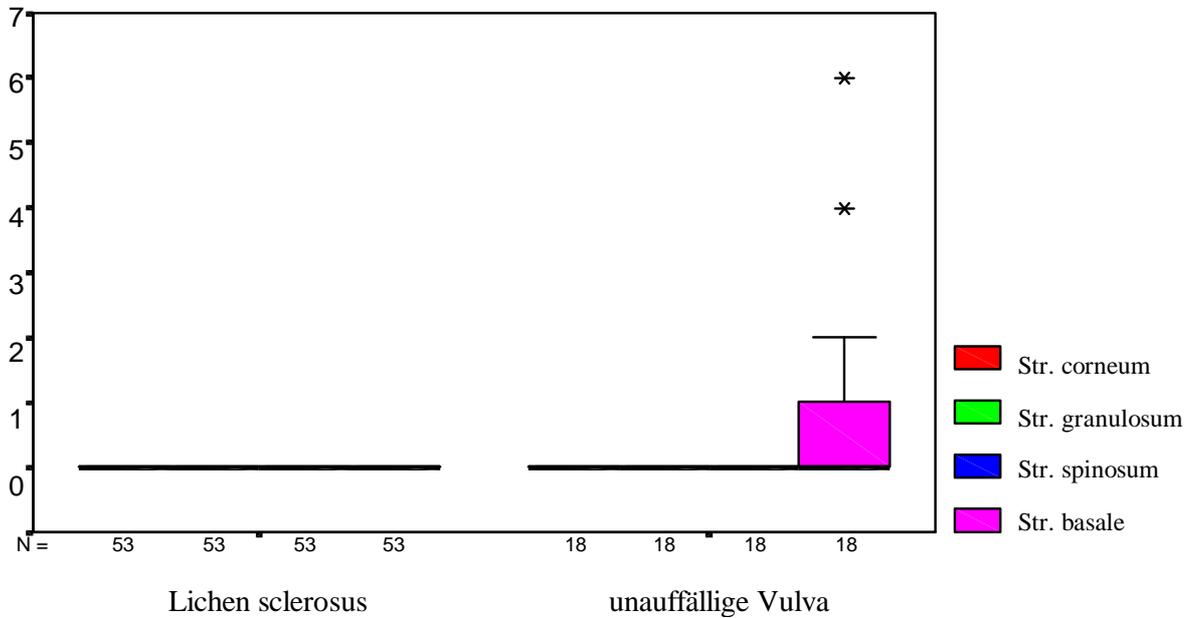


Abb.4.3. Darstellung von Zytokeratin Nr.7

Abb.4.3. zeigt die Darstellung von Zytokeratin Nr.7 in den einzelnen Epithelschichten bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Ordinate: N = Anzahl der Patienten, Abszisse: IRS-Score = Anzahl der gefärbten Zellen x Intensität der Färbung. Die Boxplots zeigen 50 % der Verteilung in einem Kasten (Box) und den Rest der Verteilung in Form von Ausreißern (Whiskers). Die Größe des Kastens entspricht in seiner Länge der Interquartilsdifferenz. Die waagerechte Linie innerhalb des Kastens markiert den Median der Verteilung.

IRS

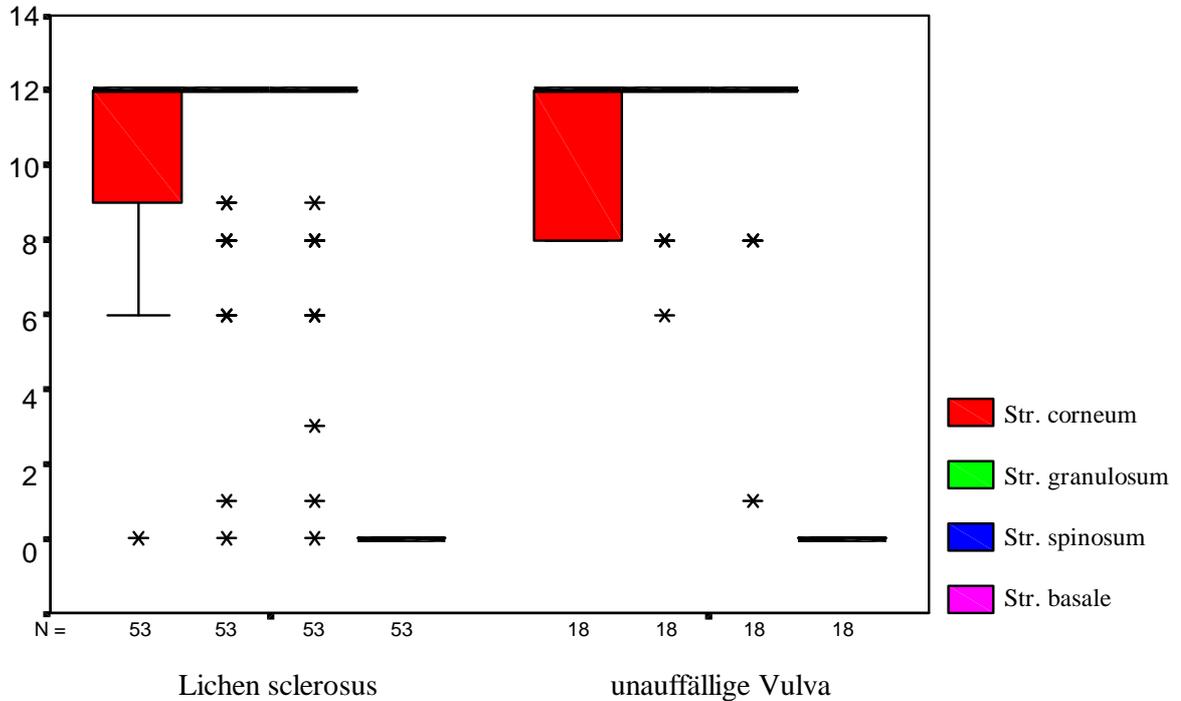


Abb.4.4. Darstellung von Zytokeratin Nr.10

Abb.4.4. zeigt die Darstellung von Zytokeratin Nr.10 in den einzelnen Epithelschichten bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Ordinate: N = Anzahl der Patienten, Abszisse: IRS-Score = Anzahl der gefärbten Zellen x Intensität der Färbung. Die Boxplots zeigen 50 % der Verteilung in einem Kasten (Box) und den Rest der Verteilung in Form von Ausreißern (Whiskers). Die Größe des Kastens entspricht in seiner Länge der Interquartilsdifferenz. Die waagerechte Linie innerhalb des Kastens markiert den Median der Verteilung.

IRS

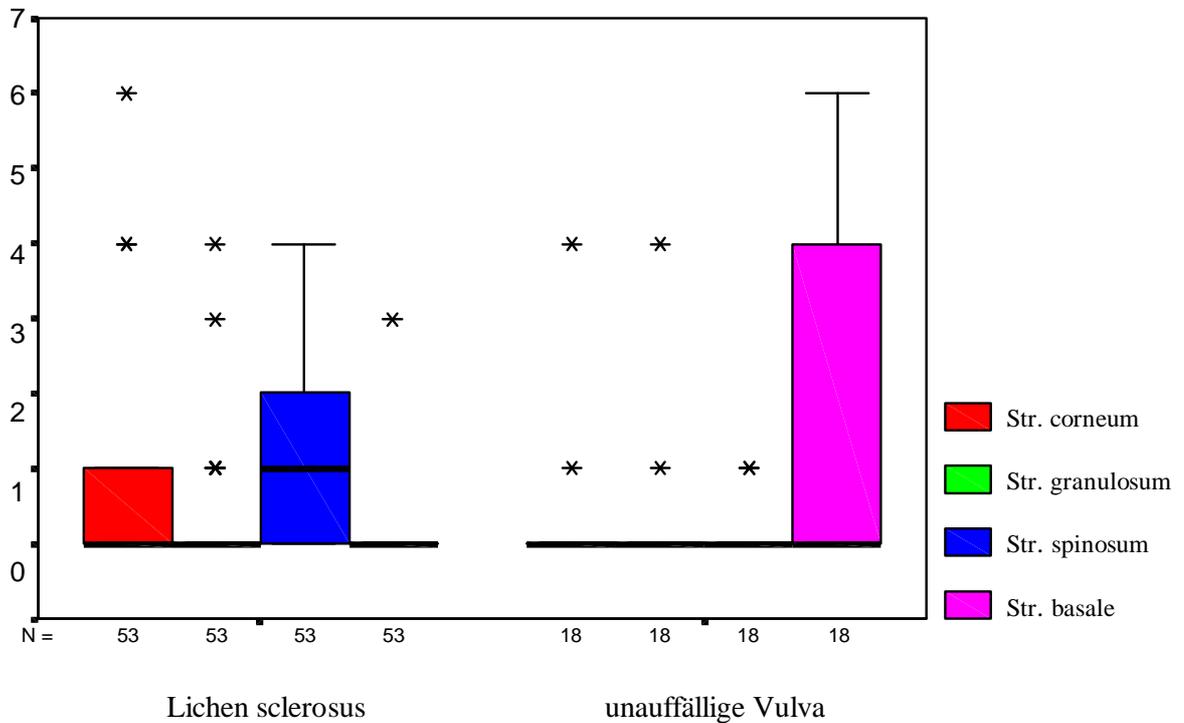


Abb.4.5. Darstellung von Zytokeratin Nr.14

Abb.4.5. zeigt die Darstellung von Zytokeratin Nr.14 in den einzelnen Epithelschichten bei Patientinnen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu Patientinnen mit unauffälliger Vulva. Ordinate: N = Anzahl der Patienten, Abszisse: IRS-Score = Anzahl der gefärbten Zellen x Intensität der Färbung. Die Boxplots zeigen 50 % der Verteilung in einem Kasten (Box) und den Rest der Verteilung in Form von Ausreißern (Whiskers). Die Größe des Kastens entspricht in seiner Länge der Interquartilsdifferenz. Die waagerechte Linie innerhalb des Kastens markiert den Median der Verteilung.

## 5. Diskussion

Lichen sclerosus ist eine seltene, chronisch entzündliche Hauterkrankung, die meist die anogenitale Region perimenopausaler Frauen betrifft. Die Ätiologie des Lichen sclerosus ist bis heute unklar. Es scheint jedoch eine multifaktorielle Genese vorzuliegen. Zum Beispiel wurde in den letzten Jahren der Zusammenhang zwischen Lichen sclerosus und unterschiedlichen Autoimmunerkrankungen untersucht. Weiterhin ist unklar, welche Rolle Veränderungen im Hormonstoffwechsel bei der Entwicklung des Lichen sclerosus spielen, da der Lichen sclerosus häufig in Phasen relativen Östrogenmangels wie vor der Pubertät und in der Menopause auftritt. Jedoch führt die Östrogensubstitution (Wallace u. Mitarb. 1971) und die lokale Applikation von Testosteron (Meffert u. Mitarb. 1995) zu keiner Besserung der Symptome (Cattaneo u. Mitarb. 1996, Sideri u. Mitarb. 1994). Die lokale Anwendung von Kortison ist dagegen wesentlich erfolgreicher (Daziel u. Mitarb. 1991, Friedman u. Mitarb. 1994, Daziel und Wojnarowska 1993, Bornstein u. Mitarb. 1998). Fest steht, daß eine Kontrolle und ein signifikanter Rückgang der vorbestehenden charakteristischen Symptome des Lichen sclerosus, wie zum Beispiel der Hautatrophie nur durch die Anwendung hochpotenter Kortikosteroide erreicht werden kann. In kürzlich vorgelegten Studien (Daziel u. Mitarb. 1991, Friedman u. Mitarb. 1994, Daziel und Wojnarowska 1993) wurde eine signifikanter Rückgang der oft vorbestehenden Hautatrophie unter der lokalen Therapie mit Clobetasol-Propionat 0,05 % Creme (Dermovat) beschrieben; eine Therapie, die einen dramatischen Rückgang der mit dem Lichen sclerosus assoziierten Symptome und Erscheinungen herbeiführt (Dahlman Gozlan u. Mitarb. 1999, Smith und Quint 2001). In der vorliegenden Arbeit sollte daher das Verteilungsmuster der Steroidhormonrezeptoren untersucht und als weiterer Parameter der Zellreifung die Expression der Zytokeratine untersucht werden.

Übereinstimmend mit anderen Autoren wurde nur eine eindeutige Kernfärbung, wie wir sie auch in den als positive Kontrolle benutzten Mammakarzinomen darstellen konnten, als positiv gewertet und statistisch analysiert (Kohlberger u. Mitarb. 1998, Kalloo u. Mitarb. 1993, Huang u. Mitarb. 1996, Hodgins u. Mitarb. 1998). Eine gelegentlich auftretende Zytoplasmafärbung, wie sie auch Scharl u. Mitarb. beobachteten, wurde als negativ gewertet

und daher nicht statistisch untersucht. In der erwähnten Studie von Scharl u. Mitarb. trat diese Zytoplasmafärbung auch in der negativen Kontrolle auf und wurde daher als nicht signifikant gewertet (Scharl u. Mitarb. 1990). In der vorliegenden Studie wurde die Zytoplasmafärbung weder in der negativen Kontrolle noch in der positiven Kontrolle, sondern lediglich in den untersuchten Biopsien der Vulva beobachtet. Im Gegensatz dazu werteten Kanai u. Mitarb. braungefärbte Produkte sowohl im Zellkern als auch im Zytoplasma als positiv (Kanai u. Mitarb. 1998).

Auf Grund dieser widersprüchlichen Interpretationen der immunhistochemischen Untersuchungen und der Tatsache, daß in der vorliegenden Untersuchung die Zytoplasmafärbung nur im Vulvagewebe, nicht aber in dem als Kontrolle dienenden Mammagewebe zu beobachten war, haben wir uns dazu entschlossen, diese Färbung lediglich deskriptiv und nicht statistisch zu analysieren.

### 5.1. Progesteronrezeptoren

Progesteronrezeptoren konnten weder in der normalen Vulva noch beim Lichen sclerosus nachgewiesen werden. Dies stimmt mit Ergebnissen von Hodgin u. Mitarb. überein, die ebenfalls keine Rezeptoren in der Vulva nachweisen konnten. In dieser Studie wurden Rezeptoren lediglich auf der Innenseite der Labia minora also im Übergangsepithel des vulvovaginalen Übergangs nachgewiesen (Hodgins u. Mitarb. 1998). Da die in der vorliegenden Studie untersuchten Biopsien von der Außenseite der Labia minora entnommen wurden, die wie die restliche Vulva mit verhornendem Plattenepithel ausgekleidet ist, wird verständlich, daß in der Labia minora keine Rezeptoren dargestellt werden. Obwohl der Progesteronrezeptor-Antikörper eine klare Kernfärbung in der positiven Kontrolle mit Mammagewebe erzeugte, wurde im oberen Epitheldrittel eine Zytoplasmafärbung sowohl beim Lichen sclerosus, als auch im gesunden Epithel beobachtet. In der normalen Vulva zeigte sich die Zytoplasmareaktion auch vereinzelt im unteren Epitheldrittel, während dies beim Lichen sclerosus nicht beobachtet wurde. Eine Zytoplasmafärbung durch den Progesteronrezeptor-Antikörper wurde an den Haarfollikeln sowohl beim Lichen sclerosus als auch in der normalen Vulva beobachtet, während die Talg- und Schweißdrüsen nur vereinzelt reagierten.

## 5.2. Östrogenrezeptoren

Östrogenrezeptoren ließen sich beim Lichen sclerosus nicht nachweisen. Die normale Vulva zeigte hingegen eine Zytoplasmafärbung und zwar überwiegend im unteren Drittel des Epithels. In Stroma und Hautanhangsgebilden ließen sich übereinstimmend mit Hodgkin u. Mitarb. keine Östrogenrezeptoren nachweisen. In der Studie von Hodgkin u. Mitarb. enthielten die behaarten Labia majora lediglich in der basalen Zellschicht Östrogenrezeptoren. Rezeptoren fanden sich ebenso in der Epidermis und den dermalen Fibroblasten der Vulva, jedoch nicht im Vaginaepithel und dem parakeratotischen Epithel der Labia minora. Hodgkin u. Mitarb. schlossen aus dem Vorhandensein von Östrogenrezeptoren in den Labia majora, daß Östrogene über das Vestibulum hinaus das Epithel beeinflussen (Hodgkin u. Mitarb. 1998). Dies entspricht auch Ergebnissen von MacLean u. Mitarb. Ihnen gelang es nicht, Östrogenrezeptoren in Haut oder Hautanhangsgebilden an nichtgenitaler Lokalisation wie Kopf, Hals und Thorax bei Frauen oder bei Männern nachzuweisen (MacLean u. Mitarb. 1990). In einer Studie von Kalloo u. Mitarb. zeigte sich ein intensives Anfärben der Östrogenrezeptoren in der Primordia der inneren Labia minora in weiblichen Embryos, so daß, wie für den Androgenrezeptor, eine mögliche direkte Wirkung des Östrogens auf diese Gewebe ab dem zweiten Trimester bis zum Erwachsenenleben angenommen werden kann (Kalloo u. Mitarb. 1993). Der Einfluß des Menstruationszyklus auf die Epidermishistologie scheint auf das Übergangsepithel der Innenseite der Labia minora beschränkt zu sein. Dies ist die Region mit der intensivsten Östrogenrezeptordarstellung in der Epidermis und Dermis (Nauth 1985). Darüber hinaus scheint der Rezeptornachweis im verhornenden Epithel der Vulva nicht von der ovariellen Funktion beeinflußt zu werden, wie die Ähnlichkeit der Östrogen- und Androgenrezeptorfärbung bei prämenopausalen und postmenopausalen Frauen belegt. Auch in der vorliegenden Studie ließ sich kein Zusammenhang zwischen Menopausenstatus und der Anfärbbarkeit der Steroidhormonrezeptoren nachweisen.

Es ist offensichtlich, daß ovarielle Steroide die Physiologie der Vulva beeinflussen (McLean 1988). Hormonelle Einflüsse auf die Gewebepерfusion und die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix werden daher vermutet. In neueren Studien konnten die Auswirkungen einer Östrogenbehandlung auf Hautdicke, Kollagengehalt und Blutfluss in der nichtgenitalen Haut menopausaler Frauen gezeigt werden (Maheux u. Mitarb. 1994, Castelo Branco u. Mitarb. 1992, Bartelink u. Mitarb. 1993).

In der vorliegenden Studie ließen sich Östrogenrezeptoren und Progesteronrezeptoren weder in den Blutgefäßen der Vulva noch in den Lymphgefäßen nachweisen, so daß unsere Ergebnisse eine direkte Wirkung von Östrogen oder Progesteron auf die dermale, vaskuläre oder auf die Synthese der extrazelluläre Matrix durch dermale Fibroblasten nicht unterstützen. Die Vulva ist wie die Zervix uteri, die Mamma und das Endometrium Zielgewebe von Steroidhormonen. Das Plattenepithel dieser hormonabhängigen Gewebe besitzt spezifische Bindungsproteine mit einer hohen Affinität zu Östradiol und Progesteron, die als Östrogenrezeptor und Progesteronrezeptor bezeichnet werden. Das Wachstum und die Differenzierung des Zervixepithels werden durch Steroidhormone über diese Rezeptoren reguliert. Neuere Studien haben gezeigt, daß eine maligne Transformation von steroidhormonabhängigen Geweben, wie Brust und Endometrium, häufig mit einem Verlust der Expression von Steroidhormonrezeptoren assoziiert ist. Über den Östrogenrezeptor kann Östrogen die Transkription einer Gruppe von Zielgenen steuern und scheint auf diesem Weg den Ablauf des Zellzyklus zu regulieren. An der Regulation dieses Prozesses sind verschiedene Zykline und zyklinabhängige Kinasen beteiligt (Sterr 1994). Die wichtigsten Komponenten dieses Regulationssystems in der G1-Phase sind die Zykline vom D-Typ mit ihren katalytischen Partnern cdk4 und cdk6 und Zyklin E, welches cdk2 beeinflußt (Resnitzky und Reed 1995). Neuere Untersuchungen des Zellzyklus haben gezeigt, daß Interaktionen zwischen Zyklinen, zyklinabhängigen Kinasen (cdks) und Produkten der Tumorsuppressorgene für den Ablauf des Zellzyklus essentiell sind (Sherr 1993, Nurse 1994, Clark u. Mitarb. 1992). Man geht davon aus, daß normale Zellen ein normales Regulierungssystem des Zellzyklus besitzen. Neuere Studien weisen darauf hin, daß eine gestörte Expression dieser zellzyklus-assoziierten Faktoren an der malignen Transformation der Zelle beteiligt ist (Hartwell und Kasten 1994). Kanai u. Mitarb. beobachteten eine deutliche Abnahme der Östrogenrezeptorexpression in neoplastische Läsionen der Ektozervix im Vergleich zur gesunden Zervix uteri. Gleichzeitig kam es zu einem Anstieg der Expression von Zyklinen, zyklinabhängigen Kinasen und p53 (Kanai u. Mitarb. 1998). Ein Verlust der Östrogenrezeptorexpression, der mit einer malignen Transformation assoziiert ist, gilt als wichtiger Indikator für eine Dysregulation des Zellwachstums. Dies wurde auch für Neoplasien anderer hormonabhängiger Gewebe, wie Brust und Endometrium beschrieben.

Planas-Silva u. Mitarb. untersuchten an der Mamma die Mechanismen, wie Östrogene den Zellzyklus beeinflussen und zu einer Proliferation der Epithelzellen führen. Sie beobachteten, daß Östrogen eine rasche und starke Aktivierung von Zyklin E-cdk2-Komplex auslöst, indem es die Zyklin D1-Expression steigert. Dieses spricht für einen direkten Effekt der Östrogene auf eine oder mehrere Komponenten der Zellzyklusregulierung. Sie schlossen daraus, daß Östrogene die Zyklin E-cdk2-Aktivität kontrollieren. Die herausragende Rolle, die Östrogene in der Kontrolle und Aktivität von G1-Zyklinen und ihrer Kinasen spielen, entspricht ihrer essentiellen Rolle in der Steuerung der Proliferation von Epithelzellen der Mamma (Planas-Silva und Weinberg 1997). In einer Studie von Kanai u. Mitarb. wurde Zylin E nur in einer kleinen Anzahl normaler Zellen gefunden, während es im neoplastischen Gewebe überexprimiert wurde. Eine Überexpression von Zyklin E wurde auch für Mammakarzinome und Endometriumkarzinome beschrieben. Zusätzlich wurde in dieser Studie eine Überexpression von cdk2 in allen untersuchten Neoplasien beobachtet. Nach weiteren Studien wurde dem Zyklin E, das zunächst als ein positiver Regulator des Zellzyklus beschrieben wurde, auch noch andere Funktionen zugeordnet (Kanai u. Mitarb. 1998). Dulic u. Mitarb. berichteten, daß Zyclin E in seneszenten oder in der G1-Phase gestoppten Zellen akkumuliert (Dulic u. Mitarb. 1993). Sgambato u. Mitarb. beobachteten, daß eine durch Transfektion induzierte Überexpression von Zyclin E eher zu einem Stop des Zellzyklus und nicht zu einer Zellproliferation führt (Sgambato u. Mitarb. 1996). Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß eine Überexpression von Zyclin E in den Prozeß der malignen Transformation involviert ist. In der Studie von Kanai u. Mitarb. wurde eine Expression von Zyklinen und zyclinabhängigen Kinasen im normalen Plattenepithel nur in der parabasalen Schicht beobachtet, die als der Ort der aktiven Proliferation bekannt ist. Die parabasalen Zellen waren ebenfalls positiv für die Östrogen- und Progesteronrezeptoren (Kanai u. Mitarb. 1998).

Es stellt sich die Frage, welche Rolle die Zykline in der Entwicklung des Lichen sclerosus spielen, da die Vulva wie auch die Mamma und das Endometrium Östrogenrezeptoren besitzt. Mit unseren Methoden ließ sich kein Unterschied in der Östrogenrezeptorexpression beim Lichen sclerosus und in der normalen Vulva nachweisen. Wir vermuten aber, daß Östrogene das Vulvaepithel beeinflussen. Aus klinischer Erfahrung weiß man, daß bei der älteren Frau das Vulvaepithel mit Östrogenen stimuliert werden kann und so typische Symptome der Menopause wie Atrophie der Vulva, Trockenheit und Dyspareunie behandelt werden können (Sarrel 1988, Rosano u. Mitarb. 1996, Sarrel 1985, Manson und Martin 2001, Sarrel 2002). Wir vermuten, daß Störungen zum Beispiel im Zyklinmechanismus vorhanden sind, die die

Zellreifung beeinflussen. In einer Studie von Rolfe u. Mitarb. zur Expression von Zyklin D in Karzinomen der Vulva und dem Lichen sclerosus waren Veränderungen in der Zyklin D-Expression assoziiert mit einer ausgedehnteren Tiefe der Invasion. Der Lichen sclerosus in der unmittelbaren Umgebung von Karzinomen zeigte eine Überexpression von Zyklin D im Vergleich zum normale Gewebe. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß Zyklin D eine Rolle in der Progression von prämaligen Läsionen der Vulva bis zum invasivem Tumor und speziell im Falle des Lichen sclerosus spielt (Rolfe u. Mitarb. 2001).

Ein Verlust der Östrogenrezeptoren in Verbindung mit einer erhöhten Aktivität des Zyklin D wie ihn Rolfe u. Mitarb. für den Lichen sclerosus beschrieben, läßt vermuten, daß auch in der Pathogenese des Lichen sclerosus eine Dysregulation des Zellwachstums vorliegt. Lichen sclerosus gehört zwar nicht zu den malignen Hauterkrankungen und ist auch nicht als Präkanzerose definiert, auffällig ist aber sein häufiges Auftreten in der Nachbarschaft von Karzinomen (Leibowitch u. Mitarb. 1990).

In einer Studie von Scurry u. Mitarb. ergab sich ein auffälliger Unterschied zwischen dem Lichen sclerosus der Vulva und dem extragenitalen Lichen sclerosus. Sie beobachteten nämlich eine Zunahme der Hautdicke beim Lichen sclerosus der Vulva und dies am auffälligsten in der Nähe von Karzinomen der Vulva. Ein zentrale Frage bleibt wie die Hyperplasie beim Lichen sclerosus verursacht wird. Die zuerst auftretende Veränderung des Hautkollagens beim Lichen sclerosus ist ein Ödem, das später hyalinisiert und fibrosiert (Clark und Mueller 1967, Janovski und Douglas 1972). Eine Fibrose ist mit Hyperplasie, einem chronischen Verlauf und auch der Entwicklung einer Malignität assoziiert. Mit dem Auftreten der Fibrose verschwindet in der Regel die Sklerose, was auch in einer Studie von Scurry u. Mitarb. beobachtet wurde (Scurry u. Mitarb. 1998). Carlson u. Mitarb. verglichen den Lichen sclerosus der Vulva in Verbindung mit Karzinomen oder ohne Karzinome und beobachteten, daß Lichen sclerosus assoziiert mit Karzinomen eine variablere Epidermis und Veränderungen wie Hyperplasie bis hin zu Atrophie aufweist (Carlson u. Mitarb. 1998). In dieser Studie wurde eine niedrige mitotische Aktivität im Lichen sclerosus beobachtet. Eine Ausnahme stellte aber das mit Karzinomen assoziierte Lichen sclerosus dar. Außerdem beobachteten sie, daß der Lichen sclerosus der Vulva, auch ohne mit Karzinomen assoziiert zu sein, eine mittlere Hautdicke aufweist, die dreimal so stark ist wie sie beim extragenitalen Lichen sclerosus beobachtet wird. Tate u. Mitarb. beobachteten, daß Hyperplasien und Lichen sclerosus zum Teil monoklonalen Ursprungs sind, was vermuten läßt, daß die klonale

Expansion in diesen Epithelien vor der morphologischen Atypie auftritt (Tate u. Mitarb. 1997).

Neuere Entwicklungen wie die Entdeckung eines zweiten Östrogenrezeptors ER $\beta$  (Kuiper u. Mitarb. 1996) Mitte der neunziger Jahre, die Entwicklung einer genetisch veränderten Maus mit einer Deletion im ER $\alpha$  ( $\alpha$ ERKO; Lubahn u. Mitarb. 1993), ER $\beta$  (BERKO Krege u. Mitarb. 1998) und die doppelte ER Deletion ( $\alpha\beta$ ERKO; Couse u. Mitarb. 1999, Dupont u. Mitarb. 2000, Findlay u. Mitarb. 2001) haben dazu geführt, daß das Verteilungsmuster der Östrogenrezeptoren erneut untersucht wurde. Dabei ergaben sich teils überlappende, teils unterschiedliche Expressionsmuster für ER $\alpha$  und ER $\beta$  (Shughrue u. Mitarb. 1996, Kuiper u. Mitarb. 1997, Petersen u. Mitarb. 1998). Die Expression von ER $\beta$  wurde in Ovar, Uterus, Niere, Blase und Gehirn nachgewiesen. Die Verteilung von ER $\alpha$  und ER $\beta$  in der Vulva wurde bis jetzt nicht untersucht. Critchley u. Mitarb. untersuchten die Expression von ER $\alpha$  und ER $\beta$  im Uterus. Dabei fanden sie einen auffälligen Kontrast zwischen den Expressionsmustern der beiden Rezeptoren im vaskulären Endothel und im perivaskulären Epithel, die die Blutgefäße des Endometriums umgeben. Lediglich ER $\beta$  konnte in den endothelialen Zellpopulationen nachgewiesen werden, während beide Formen des Östrogenrezeptors in den perivaskulären Zellen exprimiert wurden (Critchley u. Mitarb. 2001). Im Ovar werden ebenfalls beide Rezeptoren exprimiert, wobei ER $\beta$  der dominante Rezeptor ist (Kuiper u. Mitarb. 1996, Beyers u. Mitarb. 1997, Drummond u. Mitarb. 1999). Die mRNA beider Östrogenrezeptoren kann im Primärfollikel der Ratte nachgewiesen werden (Drummond u. Mitarb. 1999), während in den Granulosazellen lediglich ER $\beta$  nachgewiesen werden kann (Sar und Welsch 1999). Findlay u. Mitarb. beobachteten während des Follikelwachstums eine weit größere Menge an mRNA für ER $\beta$  als für ER $\alpha$ . Auffällig war in dieser Studie, daß nicht alle Granulosazellen positiv für den Östrogenrezeptor waren. Findley u. Mitarb. vermuteten, daß die angewandten Untersuchungsmethoden Grenzen aufweisen oder daß diese Beobachtung verschiedene Stadien der Granulosazellen, d.h. Proliferation versus Differenzierung, reflektiert (Findlay u. Mitarb. 2001).

Klassische Östrogenantworten im Uterus wie Hyperämie, Wassereinlagerung, Proliferation und Geninduktion fehlen bei ERKO-Tieren (Korach 1994, Couse u. Mitarb. 1995). Tamoxifen kann diese in normalen Mäusen induzieren, ist aber ineffektiv bei ERKO-Tieren. Es wurde daher vermutet, daß ER $\alpha$  die gewebespezifischen Effekte von partiellen Östrogenagonisten wie Tamoxifen und Raloxifen vermittelt (McDonnell u. Mitarb. 1995, Berry u. Mitarb. 1990, Petersen u. Mitarb. 1998). Dies erklärt, weshalb Tamoxifen die Rezeptoren der Brust blockiert, die Rezeptoren des Endometriums aber aktiviert. Wenn man unterstellt, daß mit dem in dieser Studie verwendeten monoklonalen Antikörpern lediglich ER $\alpha$  oder ER $\beta$ , d.h. nur einer der beiden Östrogenrezeptoren untersucht wurde, bleibt zu klären, welcher Rezeptor untersucht wurde und ob nicht der andere Rezeptor in der Vulva darzustellen wäre.

### 5.3. Androgenrezeptoren

Wie die Östrogene so nehmen möglicherweise auch die Androgene Einfluß auf das Immunsystem und die Entzündungsreaktion der Haut. Der von anderen Autoren beschriebene relative Rezeptorreichtum der Epidermis der normalen Vulva läßt vermuten, daß die Keratinozyten der genitalen Haut besonders empfindlich für einen solchen Einfluß sind.

Es liegen widersprüchliche Ergebnisse zur Therapie des Lichen sclerosus mit topischen Testosteronen vor. Einige Studien zeigten keine Verbesserung gegenüber dem Placebo (Sideri u. Mitarb. 1994), während andere eine Verbesserung der Symptome wie einen Rückgang der histologischen Veränderungen beobachteten (Friedrich 1979, Joura u. Mitarb. 1997). Obwohl man heute davon ausgeht, daß eine Androgenwirkung nicht erwiesen ist, ist es wahrscheinlich, daß eine Vielzahl der in unserer Studie untersuchten Patientinnen mit Testosteron vorbehandelt wurden, was die Interpretation der Ergebnisse erschwert.

In einer Studie von Hodgins u. Mitarb. reagierten im Gegensatz zu der ebenfalls untersuchten extragenitalen Haut die Keratinozyten der vulvären Epidermis relativ stark, besonders in der basalen und parabasalen Schicht (Hodgins u. Mitarb. 1998). Eine Kernfärbung wie sie Hodgins u. Mitarb. für die basale und suprabasale Schicht beschrieb, konnten wir nicht beobachten. Androgenrezeptoren wurden lediglich im unteren Drittel des Zytoplasmas der normalen Vulva beobachtet, obwohl sich in der positiven Kontrolle die Kerne anfärbten.

Ebenso wenig fanden wir eine gelegentlich positive Reaktion der dermalen Fibroblasten, wie sie Hodgkin u. Mitarb. beschrieben haben. Grundsätzlich kann man um so mehr Androgenrezeptoren im untersuchten Gewebe erwarten, je mehr Haarfollikel vorhanden sind. Die Ausbreitung des Lichen sclerosus geht jedoch nie über die Scheide hinaus, sondern endet an der Innenseite der kleinen Labie. Im verhornten Plattenepithel der Vulva bei Lichen sclerosus ließen sich in unserer Untersuchung keine Androgenrezeptoren darstellen. Auch Hodgkin u. Mitarb. beschrieben eine deutliche Abnahme der Darstellbarkeit von Androgen- und Östrogenrezeptoren in der Vulvaepidermis bei Lichen sclerosus.

Die biologische Funktion der epidermalen Androgenrezeptoren liegt vermutlich in der Beeinflussung spezieller Funktionen des Keratinozyten. Während die Labia minora bei Erwachsenen mit einem kompletten Androgeninsensitivitäts-Syndrom etwas unterentwickelt erscheint (Morris und Mahesh 1963), gibt es keine Berichte über andere speziell epidermale Anormalitäten dieser Patienten. Clifton u. Mitarb. wiesen in ihrer Studie ebenfalls einen Verlust von Androgenrezeptoren beim Lichen sclerosus der genitalen wie der extragenitalen Haut im Vergleich zu normalen ortsspezifischen Kontrollen nach (Clifton u. Mitarb. 1999).

Eine vorhergehende Studie, die nur die Haut der Vulva und Vagina untersuchte, kam zum gleichen Ergebnis (Hodgin u. Mitarb. 1998). Clifton u. Mitarb. wiesen darauf hin, daß der Verlust von Androgenrezeptoren sekundär als Folge der Entzündung und der Zerstörung der Basalmembran auftritt, die man beim Lichen sclerosus beobachten kann. Zum gleichen Zeitpunkt schreitet die Erkrankung histologisch fort. Laut Clifton u. Mitarb. ist es unwahrscheinlich, daß der Rezeptorverlust mit der Entzündung zusammenhängt, da die Entzündungsreaktion zurückgeht, wenn die Läsion fortschreitet. Androgenrezeptoren binden Testosteron und Dihydrotestosterone und werden in Abwesenheit ihrer Liganden schnell abgebaut (Zhou 1994). Es ist bekannt, daß die Bindung von Androgenen zu einer Zunahme der Rezeptorstabilität führt und daß diese Stabilität androgenspezifisch ist (Zhou 1995). Basierend auf diesen Erkenntnissen könnte der Verlust von Androgenrezeptoren auf eine Zerstörung des Rezeptors zurückzuführen sein, die, ebenso wie die Abnahme der Androgenspiegel in erkrankten Arealen, durch ein lokales Geschehen verursacht wird. Spontane Heilungen des Lichen sclerosus, wie sie gelegentlich beobachtet werden, könnten auf eine Änderung des Hormonstatus im Sinne eines Anstiegs des Androgenserumspiegels zurückgeführt werden (Loening-Baucke 1991). Die von Clifton u. Mitarb. beobachtete Abnahme der Androgenrezeptordichte bei histologisch ausgeprägteren Läsionen mit Lichen sclerosus im Vergleich zu frühen Läsionen läßt möglicherweise auf einen graduellen Abfall der Androgenspiegel und folgenden Rezeptorverlust, wenn die Erkrankung fortschreitet, schließen.

#### 5.4. Glukokortikoidrezeptoren

Topische Kortikosteroide werden zur Behandlung vieler Dermatosen eingesetzt; der Wirkungsmechanismus ist jedoch weiterhin noch unklar (Rolfe u. Mitarb. 2002). Man geht davon aus, daß hochpotente Steroide die Entzündungsreaktion und die Zellteilungsaktivität beeinflussen. Lokal applizierte Kortikosteroide werden auch zur Behandlung des genitalen Lichen sclerosus genutzt. Besonders zur initialen Kontrolle des Symptoms Pruritus werden hochpotente Steroide benötigt. In mehrere Studien wurde die Effektivität einer hochpotenten Therapie mit Kortikosteroiden beim Lichen sclerosus nachgewiesen (Dalziel 1991, Dalziel 1993). Man glaubt, daß sie eine lokale Immunsuppression entfalten und so zu einer Reduktion der Proliferationsaktivität führen. Es konnte gezeigt werden, daß die Patientinnen eine Linderung der Symptome verspüren und es zu einer Verbesserung der klinischen wie auch der

histologischen Aspekte kommt, obwohl eine Langzeitbehandlung mit einem schwachen oder mäßig wirksamen Steroid notwendig ist, um die Symptome weiterhin zu kontrollieren. Dies spiegelt möglicherweise die initial schlechte Resorption durch die vorbestehende Hyperkeratose wieder (Carli u. Mitarb. 1994, Sinha u. Mitarb. 1998, Rolfe u. Mitarb. 2002). Cattaneo u. Mitarb. beobachteten, daß die Steroidtherapie weniger wirksam ist, wenn die Symptome schon lange vor Therapiebeginn bestehen (Cattaneo u. Mitarb. 1991). In der vorliegenden Studie wurde eine vermehrte Expression von Glukokortikoidrezeptoren beim Lichen sclerosus im oberen Drittel der Epidermis im Vergleich zur normalen Vulva beobachtet. Dies ist eventuell auf die der Biopsie vorausgegangene Therapie mit Kortikosteroiden zurückzuführen. Es konnte kein Unterschied zwischen den Patientinnen ermittelt werden, die zum Zeitpunkt der Therapie mit niedrig dosierter Hydrokortisonsalbe behandelt wurden und den Patientinnen, bei denen die Therapie in einem Zeitraum von einem Monat bis zu einem Jahr vor Biopsieentnahme beendet worden war. Im unteren Drittel der Epidermis konnten in den Zellkernen Glukokortikoidrezeptoren in der normalen Vulva nachgewiesen werden, während dies beim Lichen sclerosus nicht möglich war. Der Unterschied war mit einem  $p < 0,05$  statistisch signifikant. Das untere Drittel der Epidermis ist von den typischen Veränderungen, die bei Lichen sclerosus auftreten am meisten betroffen. Insofern könnte ein Verlust von Rezeptoren gerade in der basalen und parabasalen Schicht Ausdruck dieser Veränderungen sein. In einigen Studien wurden die Biopsien nach der Steroidtherapie wiederholt und eine Normalisierung der histologischen Parameter beobachtet. Der Effekt einer Clobetasol-Propionattherapie beim Lichen sclerosus ist am ehesten zurückzuführen auf die Wiederherstellung der Balance zwischen der Kollagensynthese durch die Fibroblasten und/oder die Wiederherstellung der Basalmembran durch die lokale Induktion von Immunsuppression und Modulation der Expression von Zytokinen und Oberflächenmolekülen, die für die Funktion immunkompetenter Zellen notwendig sind (Marren u. Mitarb. 1997, Dahlman-Ghozlan u. Mitarb. 1999). Die potentielle Restauration der Kollagensynthese durch Clobetasol-Propionate konnte von Dahlman-Ghozlan u. Mitarb. nachgewiesen werden. Eine signifikante Abnahme der Homogenisierung und der sklerotischen Erscheinung des Kollagens wurde in Kontrollbiopsien beobachtet. Ebenso konnte eine Redifferenzierung der Epidermis, ein Rückgang der Apoptose in der Basalzellschicht und die Entwicklung einer normalen Anzahl von Spindelzellschichten beobachtet werden. Die zuvor bestehende Atrophie verbesserte sich signifikant unter der Therapie (Dahman-Ghozlan u. Mitarb. 1999). Ohta u. Mitarb. untersuchten den Effekt von

hochdosierten Glukokortikoiden auf das olfaktorische Epithel und beobachteten eine Suppression der Proliferation unter der Therapie mit Glukokortikoiden. Da Glukokortikoide die Produktion von Keratinozyten-Wachstumsfaktoren in primären dermalen Fibroblasten hemmen, vermuteten Chedid u. Mitarb., daß auch andere Wachstumsfaktoren zum Beispiel im Epithel durch Glukokortikoide gehemmt werden und es so zu einer Abnahme der Proliferationsaktivität kommt (Chedid u. Mitarb. 1996, Ohta u. Mitarb. 2002). Es ist bekannt, daß verschiedene Systeme an der Vermittlung von Steroideffekten auf molekularer Ebene beteiligt sind. Die wesentlichen Wirkungen werden über die Bindung an einen speziellen Rezeptor gefolgt von der Initiierung der Transkription diverser Zielgene einschließlich der Wachstumsfaktoren - zum Beispiel epidermale Wachstumsfaktoren - und Zellzyklusproteine vermittelt, um letztlich die Synthese spezieller Proteine zu regulieren. So ist bekannt, daß die Therapie mit Kortikosteroiden zu einer Abnahme sowohl der Kollagenproteinsynthese als auch der Kollagen-mRNA-Synthese führt (Oikarinen u. Mitarb. 1998). Rolfe u. Mitarb. untersuchten den Effekt von Kortikosteroiden auf die Expression von Ki67 und p53 beim Lichen sclerosus (Rolfe u. Mitarb. 2002). Bei Ki67 handelt es sich um einen Proliferationsmarker, der den ganzen Zellzyklus über außer in der G<sub>0</sub>-(Resting)-Phase nachweisbar ist (Gerdes u. Mitarb. 1984) und als Zellzyklusprotein die Zellproliferation und Zellapoptose kontrolliert. In der Studie von Rolfe u. Mitarb. zeigte sich ein Anstieg der Ki67-Expression beim Lichen sclerosus unter lokaler Kortisontherapie, was auf eine Zunahme der Zellproliferation schließen läßt (Rolfe u. Mitarb. 2002). Li u. Mitarb. beobachteten eine Abnahme des p21 Proteins in den Fibroblasten als Antwort auf eine Dexametasontherapie (Li u. Mitarb. 1998). In anderen Untersuchungen (Tan u. Mitarb. 1994, Soini u. Mitarb. 1994) konnte eine Überexpression von p53 in genitalem Lichen sclerosus im Vergleich zu normaler genitaler Haut und eine Expression von Ki67 beim Lichen sclerosus nachgewiesen werden (Van Hoeven u. Kovatich 1996). Durch den fehlenden immunhistochemischen Nachweis von Glukokortikoidrezeptoren im unteren Epitheldrittel beim Lichen sclerosus wird deutlich, daß eine Kortisonbehandlung, neben der vermuteten immunsuppressiven Wirkung, offensichtlich auch das Plattenepithel der Epidermis beeinflusst. Inwieweit hierbei Differenzierungsvorgänge der Basalzellschicht regeneriert werden, kann anhand der vorliegenden Untersuchung nicht beantwortet werden. Vielleicht ist die Kortisonvorbehandlung der Patientinnen mit einem Lichen sclerosus Ursache für die statistisch signifikanten Unterschiede im Glukokortikoidrezeptornachweis. Es kann nicht geklärt werden, ob die Vortherapie mit

Kortison oder die mit dem Lichen sclerosus einhergehende Entzündungsreaktion Ursache für den fehlenden Nachweis von Glukokortikoidrezeptoren ist.

### 5.5. Zytokeratine

Epitheliale Gewebe exprimieren charakteristische Zytokeratinmuster, die durch den Zelltyp, die Zelldifferenzierung und durch die Proliferationsaktivität des Gewebes beeinflusst werden (Moll 1993, Nagle 1994, Schaafsma und Rameakers 1994, Reichelt und Magin 2002). Basale Keratinozyten exprimieren Zytokeratin 5, 14 und 15, die durch die Zytokeratine 1 und Zytokeratin 10 ersetzt werden, sobald die Zellen den Kontakt zur Basalmembran verlieren und in die suprabasalen Kompartimente wandern (Fuchs und Green 1980, Reichelt und Magin 2002). Präneoplastische und neoplastische Veränderungen des Plattenepithels führen wie in anderen Organabschnitten auch im weiblichen Genitaltrakt zu einer Alteration der Zytokeratinexpression. In der vorliegenden Arbeit wurde das Muster der Zytokeratinexpression an Biopsien von 53 Patientinnen mit Lichen sclerosus und von 18 Patientinnen mit unauffälliger Vulva untersucht, um so Erkenntnisse über die Morphogenese des Lichen sclerosus zu erlangen. Es ist bekannt, daß es beim Lichen sclerosus zu histologischen, besonders subepithelial gelegenen Veränderungen kommt, die auf ein autoimmunologisches Geschehen schließen lassen. Bis heute ist über die Expression von Zytokeratinen des verhornenden und unverhornenden Plattenepithels der Vulva nur wenig bekannt. Wesentlich mehr Erkenntnisse liegen über die prämaligen und malignen Veränderungen der Zervix vor (Lorincz u. Mitarb 1987, zur Hausen 1987, Fujii u. Mitarb. 1995). In den vorliegenden immunhistochemischen Studien wurden im Normalgewebe und beim Lichen sclerosus der Vulva vier Zytokeratin-Antikörper zur immunhistochemischen Charakterisierung eingesetzt. Mit dem polyspezifischen Antikörper (Klon LP34) wurden die Zytokeratine 5, 6 und 18 sowie mit den spezifischen Antikörpern die Zytokeratine 7, 10 und 14 nachgewiesen.

Im normalen verhornenden Plattenepithel der Vulva (Labia majora und Außenseite der Labia minora) und beim Lichen sclerosus wurden von uns die Expression der Zytokeratine 5, 6 und 18 ( Klon LP 34) sowie Zytokeratin 10 im oberen Drittel der Epidermis nachgewiesen. Zytokeratin 10 wurde sowohl beim Lichen sclerosus wie auch in der normalen Vulva in den Haarfollikel exprimiert. Die Talgdrüsen exprimierten nur in der normalen Vulva Zytokeratin 10. Wir konnten zeigen, daß sowohl beim Lichen sclerosus wie in der normalen Vulva

einzelne im Korium der Haut gelegene Schweißdrüsen Zytokeratin 18 exprimierten. Haarfollikel und Talgdrüsen exprimierten in der normalen Vulva kein Zytokeratin 18. Beim Lichen sclerosus dagegen exprimierten die angeschnittenen Haarfollikel und Talgdrüsen Zytokeratin 18. Bislang bleibt die Frage ungeklärt, welches Zytokeratin mit dem von uns verwendeten polyspezifischen Antikörper der Firma DAKO (Klon LP34) tatsächlich im ausreifenden Epithel der Vulva nachgewiesen wird. Anhand der von uns erhobenen Ergebnisse muß angezweifelt werden, daß mit dem polyspezifischen Antikörper die Zytokeratine 5, 6 und 18 erfaßt werden. Denn Zytokeratin 5 wird von den Basalzellen exprimiert, Zytokeratin 6 wird im proliferierenden Epithel sowie bei inkompletter Zelldifferenzierung exprimiert und Zytokeratin 18 wird vom Drüsenepithel exprimiert, das Kontakt zur Basalzelle hat, ohne in das freie Drüsenlumen zu reichen (Lane und Alexander 1990). In den unterschiedlichen Epithelarten wird je ein Mitglied der Typ-I-Zytokeratine mit saurem pH-Wert und ein Mitglied der Typ-II-Zytokeratine mit basischem oder neutralem pH-Wert exprimiert (Moll u. Mitarb. 1982, Schiller u. Mitarb. 1982, Tseng u. Mitarb. 1982, Kim u. Mitarb. 1983, Nelson u. Sun 1983, Sun u. Mitarb. 1984). Somit bilden sich Zytokeratinpaare, bestehend aus einem sauren und einem basischen Zytokeratin (Sun u. Mitarb. 1984). Da in den oberen Dritteln des Epithels in den ausreifenden Epithelzellen der Vulva Zytokeratin 10 - ein Typ-I-Zytokeratin - exprimiert wird, liegt die Vermutung nahe, daß mit dem polyspezifischen Antikörper (Klon LP 34) eines oder mehrerer Typ-II-Zytokeratine nachgewiesen werden; legt man die Arbeit von Moll zugrunde, wird mit dem polyspezifischen Antikörper am ehesten Zytokeratin 5 nachgewiesen (Moll 1986). Die Zytokeratine 18, 19 und 20 werden im Epithel der normalen Vulva nicht nachgewiesen.

Zytokeratin 7, das normalerweise von reifen Keratinozyten exprimiert wird, wurde im unauffälligen Epithel der Vulva im unteren Drittel der Epidermis exprimiert. Beim Lichen sclerosus wurde Zytokeratin 7 nicht exprimiert. Die Reaktion im Stratum basale war mit einem  $p < 0,01$  statistisch signifikant. In der unauffälligen Vulva exprimierten sowohl die Talg- wie die Schweißdrüsen Zytokeratin 7, während beim Lichen sclerosus Zytokeratin 7 nicht exprimiert wurde.

Zytokeratin 14 wurde im normalen Epithel der Vulva überwiegend im unteren Drittel der Epidermis exprimiert. Dies stimmt auch mit Ergebnissen von anderen Autoren (Huszar u. Mitarb. 1986, Tseng u. Mitarb. 1982, Sun u. Mitarb. 1984, Doran 1980, Fuchs u. Green 1980, Woodcock-Mitchell 1982) überein. Dort wurde Zytokeratin 14 in den basalen und suprabasalen Schichten der normalen Vulva exprimiert. Beim Lichen sclerosus wurde

Zytokeratin 14 im unteren Drittel der Epidermis nicht exprimiert. Dieser Unterschied war mit einem  $p < 0,001$  hoch signifikant. Im oberen Drittel der Epidermis wurde im normalen Epithel der Vulva Zytokeratin 14 nicht exprimiert, während es beim Lichen sclerosus im Stratum spinosum exprimiert wurde. Mit einem  $p < 0,05$  war auch dieses Ergebnis statistisch signifikant. Beim Lichen sclerosus exprimierten einzelne im Korium gelegene Schweißdrüsen Zytokeratin 14, während in der normalen Vulva Zytokeratin 14 nicht exprimiert wurde. Sivan u. Mitarb. untersuchten die Zytokeratinexpression in der Epidermis von Narben durch ionisierende Strahlung. Sie beobachteten sowohl eine Hyperproliferation in der narbigen Epidermis, wie auch eine unorganisiert wirkende Differenzierung (Sivan u. Mitarb. 2002). Die für die Wundheilung typische Expression von Keratin 6 und 16 wurde in Narben beobachtet, was ein Hinweis auf aktivierte Keratinozyten ist, die einer veränderten Differenzierung unterliegen (Coulombe 1997). Eine Expression von Keratin 6 und 16 findet sich ebenfalls bei Psoriasis (Leigh u. Mitarb. 1995), in Plattenepithelkarzinomen (Stoler u. Mitarb. 1988) und in hypertrophen Narben (Machesney u. Mitarb. 1998). Sivan u. Mitarb. beobachteten eine veränderte Expression von Zytokeratin 14 in Narben, die Expression von Zytokeratin 10 blieb jedoch unverändert (Sivan u. Mitarb. 2002).

Im normalen verhornenden Plattenepithel der Vulva (Labia majora und Außenseite der Labia minora) und beim Lichen sclerosus wurde von uns die Expression von Zytokeratin 10 im oberen Drittel der Epidermis nachgewiesen. Dies stimmt mit Ergebnissen von Bowden u. Mitarb. überein, die Zytokeratin 10 in den basalen Zellschichten nicht nachweisen konnten, während es gelegentlich in den suprabasalen Schichten exprimiert wird (Bowden u. Mitarb. 1984). Zytokeratin 10 ist eines der ersten Zytokeratine, die während des Differenzierungsprozesses des Epithels exprimiert werden. Diese Befunde entsprechen früheren Untersuchungsergebnissen, in denen Basalzellen ein anderes Expressionsmuster aufweisen als suprabasal gelegene Zellen (Leigh u. Mitarb. 1985, Purkis u. Mitarb. 1990). Somit ändert sich die Zytokeratinexpression mit der Ausreifung der Basalzelle zur Superfizialzelle und zeigt im normalen Plattenepithel der Vulva ein für die Zelldifferenzierung spezifisches Zytokeratinmuster. Zum Expressionsmuster beim Lichen sclerosus liegen bisher keine Daten vor. Reichelt u. Mitarb. beobachteten bei Keratin-10-knockout-Mäusen, bei denen Zytokeratin 10 fehlt, eine deutliche Hyperproliferation der basalen Keratinozyten. Sie vermuteten daher, daß Zytokeratin 10 eine spezifische suprabasale Funktion besitzt, die von anderen Zytokeratinen nicht erfüllt werden kann. Zahlreiche andere Studien an der Maus und auch beim Menschen zeigen, daß Zytokeratin 10 bei den meisten

Karzinomen herunterreguliert wird (Ivanyi u. Mitarb. 1989, Roop u. Mitarb. 1988, Toftgard u. Mitarb. 1985, Winter u. Mitarb. 1983, Maddox u. Mitarb. 1999). Während man die Downregulation von Zytokeratin 10 als eine Konsequenz aus der veränderten Differenzierung betrachten kann, wie sie bei den meisten Tumoren vorkommt, weist eine andere Studie auf eine aktive Rolle des Zytokeratin 10 in der Regulation des Zellzyklus hin (Paramio u. Mitarb. 1999). Die Autoren vermuten, daß Zytokeratin 10 direkt über eine Sequestration der Akt-Kinase die Zellproliferation hemmt (Paramio u. Mitarb. 2001). Unter den Zytokeratinen scheint Zytokeratin 10 eine besondere Rolle zu spielen, da seine Expression auf die postmitotischen Zellen beschränkt ist (Moll u. Mitarb. 1982). Die Tatsache, daß Keratin 10 in der Wundheilung herunterreguliert und in den aktivierten Keratinozyten durch Keratin 6 und Keratin 16 ersetzt wird, wurde als weiterer Hinweis darauf betrachtet, daß die Anwesenheit von Keratin 10 nicht mit dem Zustand einer migrierenden oder proliferierenden Zelle zu vereinbaren ist (Mc Gowan und Coulombe 1998). In einer Reihe mit dieser Beobachtung stehen eine beträchtliche Anzahl anderer Publikationen, die die Abwesenheit von Zytokeratin 10 in Karzinomen der Maus (Roop u. Mitarb. 1988, Toftgard u. Mitarb. 1985, Winter u. Mitarb. 1980, Nelson und Slaga 1982) und beim Menschen demonstriert haben (Winter u. Mitarb. 1983). Obwohl Zytokeratin 10 in vereinzelt Zellen innerhalb von Tumoren gefunden wurde (Moll u. Mitarb. 1983, Moll u. Mitarb. 1998), konnte nicht geklärt werden, ob es sich dabei eher um aktiv proliferierende oder um am Ort verbleibende Zellen handelt. Diese Beobachtungen führten zu einigen Studien, die das antiproliferative Potential von Zytokeratin 10 nachweisen sollten (Santos u. Mitarb. 1997, Paramio u. Mitarb. 1999). Reichelt u. Mitarb. konnten zeigen, daß die Deletion von Zytokeratin 10 zu einer Stimulation der Proliferation in benachbarten Zellen führt. Sie schlossen daraus, daß an der Stimulation der basalen Zellproliferation durch den Verlust von Zytokeratin 10, eine Signaltransmission von den suprabasalen zu den basalen Kompartimenten der Epidermis beteiligt sein muß (Reichelt und Magin 2002). Bei der Psoriasis zum Beispiel geht ein Anstieg von Zytokeratin 16 mit einem Abfall der Expression von Zytokeratin 1 und 10 einher. Sivan u. Mitarb. beobachteten bei Narben nach Strahlentherapie eine ähnliche Veränderungen der Expression von Zytokeratin 10, wie man sie bei Plattenepithelkarzinomen und hyperproliferativen Narben beobachtet (Sivan u. Mitarb. 2002).

Wir haben nachgewiesen, daß beim Lichen sclerosus ein anderes Zytokeratinmuster vorliegt als bei den untersuchten Kontrollen. Mit Hilfe des Expressionsmusters von Zytokeratin 10,

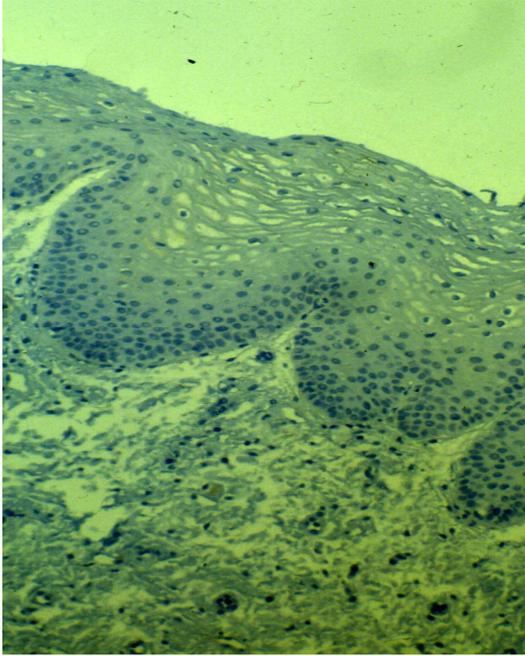
das normalerweise in ausgereiftem Epithel exprimiert wird, läßt sich kein Unterschied zwischen dem Lichen sclerosus und der unauffälligen Vulva nachweisen. Es wurde sowohl beim Lichen sclerosus wie auch in den untersuchten Kontrollen nachgewiesen. Daher ergibt sich kein Anhalt für eine Differenzierungsstörung des Plattenepithels beim Lichen sclerosus. Auf der anderen Seite konnte aber die Expression von Zytokeratin 7, das normalerweise ebenfalls in reifen Keratinozyten exprimiert wird, beim Lichen sclerosus nicht nachgewiesen werden. Man muß also doch von einer Differenzierungsstörung ausgehen.

## 6. Zusammenfassung

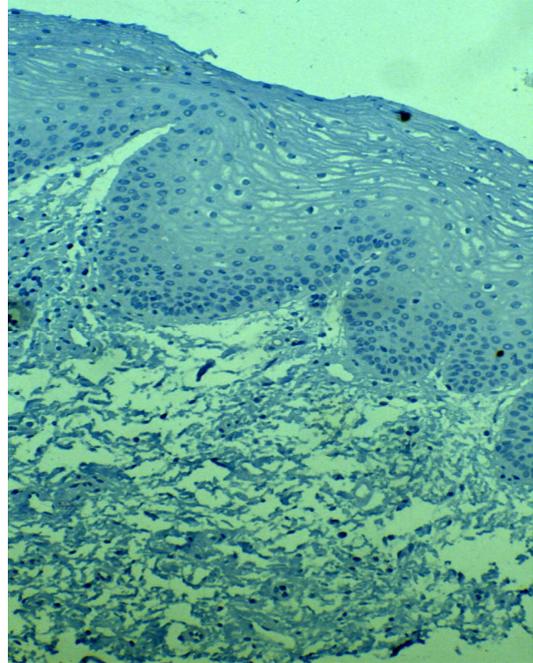
Es ist unklar, welche Rolle Veränderungen im Hormonstoffwechsel bei der Entwicklung des Lichen sclerosus spielen, obwohl er meist in Phasen relativen Östrogenmangels wie der Perimenopause und der Pubertät auftritt. Ursache ist möglicherweise eine gestörte Hormonrezeptorbindung oder ein Differenzierungsverlust der Basalzellen im Stratum basale der Epidermis. Mittels immunhistochemischer Untersuchung wurden die Rezeptoren für Östrogen, Progesteron, Testosteron und Glukokortikoide in der Haut der Vulva bei Gesunden und bei Patientinnen mit Lichen sclerosus untersucht, um so die möglichen Zielzellen der Hormone zu bestimmen. Andererseits sollte mittels Zytokeratinantikörpern nachgewiesen werden, ob beim Lichen sclerosus ein gestörtes Zytokeratinmuster des Plattenepithels der Vulva im Sinne einer Ausdifferenzierungsstörung der Keratinozyten vorliegt. Progesteron konnte übereinstimmend mit anderen Autoren nicht nachgewiesen werden. Obwohl die Vulva wie die Zervix uteri, die Mamma und das Endometrium Zielgewebe von Steroidhormonen ist, ließ sich mit unseren Methoden kein Unterschied zwischen der Östrogenrezeptorexpression beim Lichen sclerosus und in der normalen Vulva nachweisen. Ein Verlust der Östrogenrezeptoren geht häufig mit einer malignen Transformation des Gewebes einher, da Östrogene den Ablauf des Zellzyklus regulieren. Die wichtigsten Komponenten dieses Regulationssystems sind die Zyklone vom D-Typ. Nach neueren Erkenntnissen zeigt auch Lichen sclerosus eine Überexpression von Zyklon D. Ein Verlust der Östrogenrezeptoren in Verbindung mit einer erhöhten Aktivität des Zyklon D wären ein Hinweis auf eine Dysregulation des Zellwachstums in der Pathogenese des Lichen sclerosus. Glukokortikoide wurden beim Lichen sclerosus vermehrt im oberen Drittel der Epidermis exprimiert. Im unteren Drittel konnten Glukokortikoidrezeptoren nur in der normalen Vulva nachgewiesen werden. Dies ist auch die Region, die von den typischen Veränderungen beim Lichen sclerosus am stärksten betroffen ist. Es kann jedoch nicht geklärt werden, ob die Entzündungsreaktion oder die Vorbehandlung mit Kortison Ursache für den Rezeptorverlust im Stratum basale ist. Mit Hilfe von Zytokeratin 10, das normalerweise in ausgereiftem Epithel exprimiert wird, ließ sich kein Unterschied zwischen dem Lichen sclerosus und der unauffälligen Vulva nachweisen. Auf der anderen Seite ließ sich aber eine Expression von Zytokeratin 7, wie man sie normalerweise in reifen Keratinozyten findet, beim Lichen sclerosus nicht nachweisen, so daß man doch von einer Differenzierungsstörung in der Pathogenese des Lichen sclerosus ausgehen muß.

## 7. Bildanhang

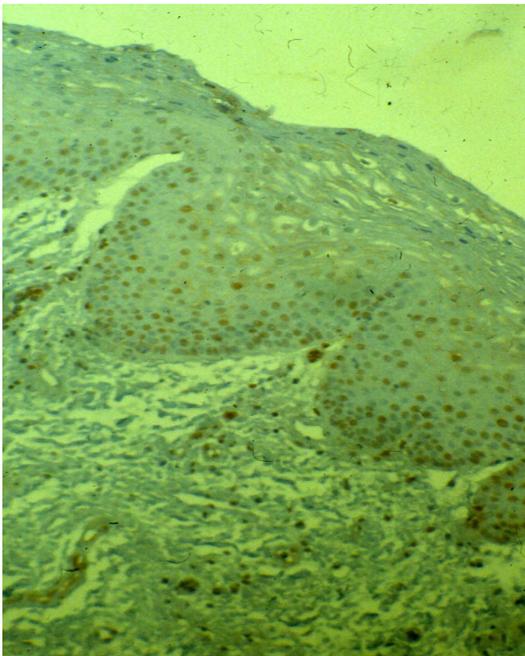
a)



b)



c)



d)

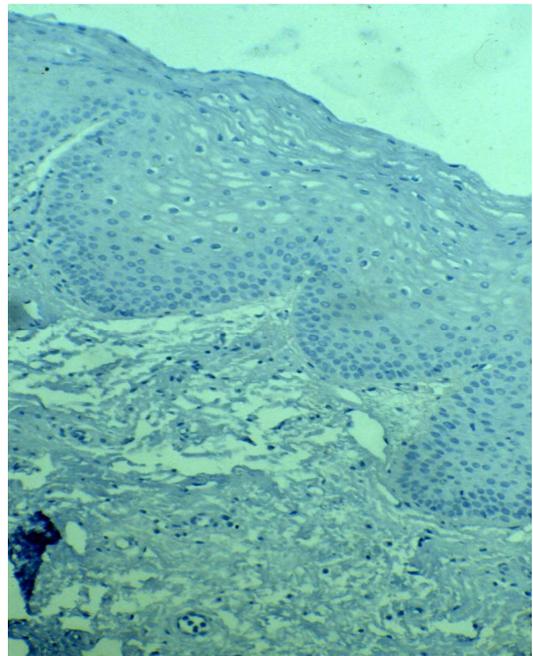
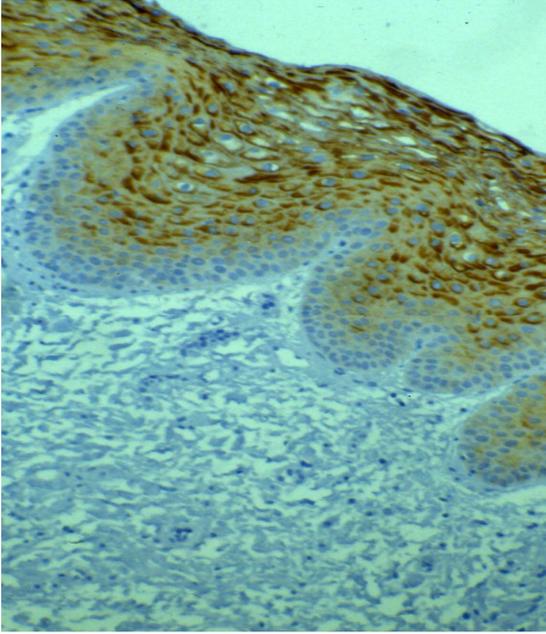


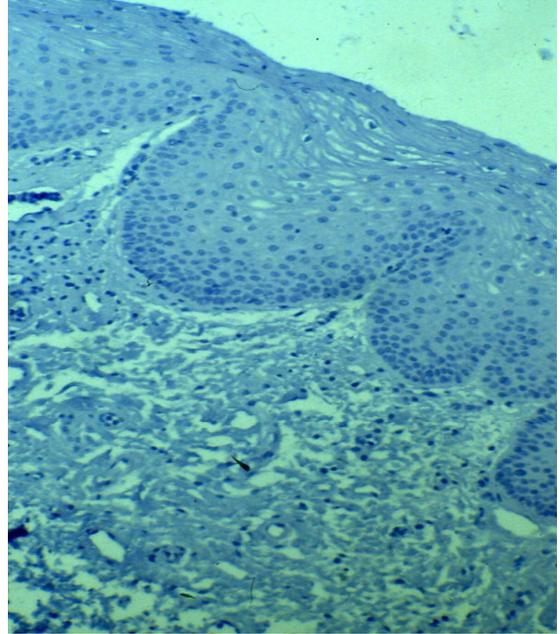
Abb. 8.1

Immunhistochemische Darstellung der Rezeptoren von Progesteron (a), Östrogen (b), Glukokortikoid (c) und Androgen (d) beim Lichen sclerosus in der Avidin-Biotin-Technik und Gegenfärbung mit Hämalaun (Vergrößerung 1: 110).

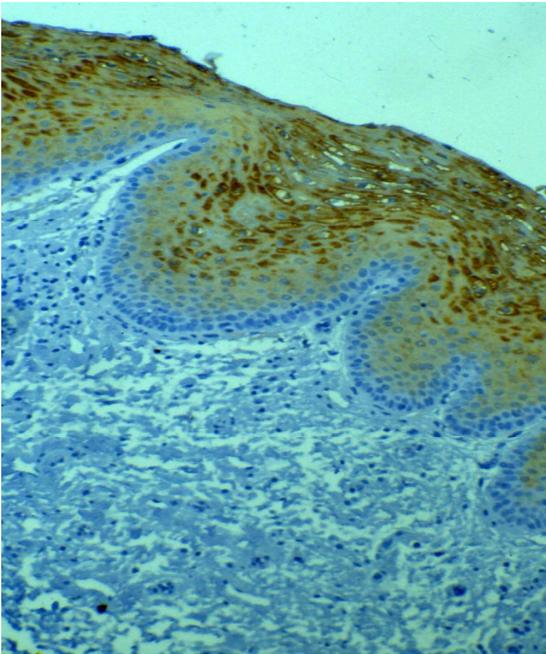
e)



f)



g)



h)

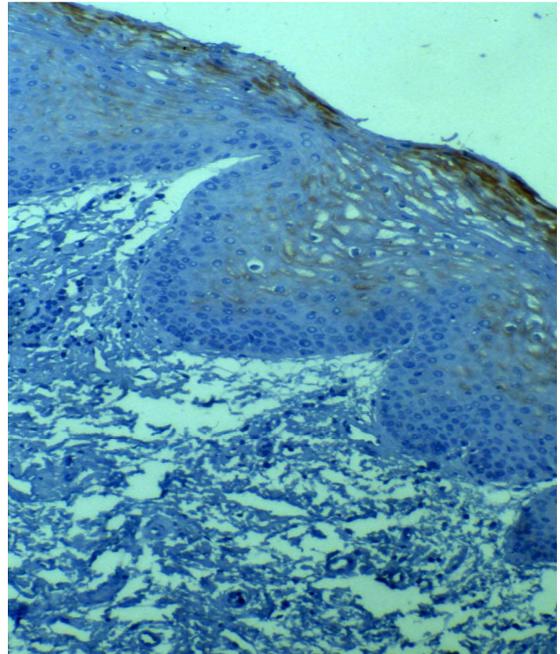
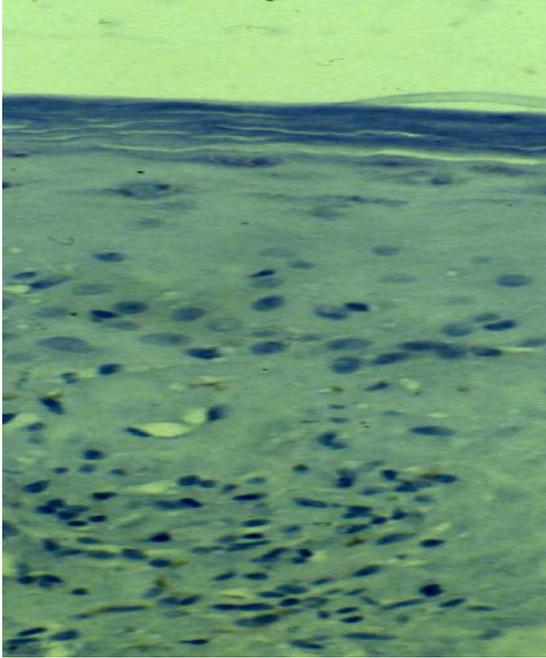


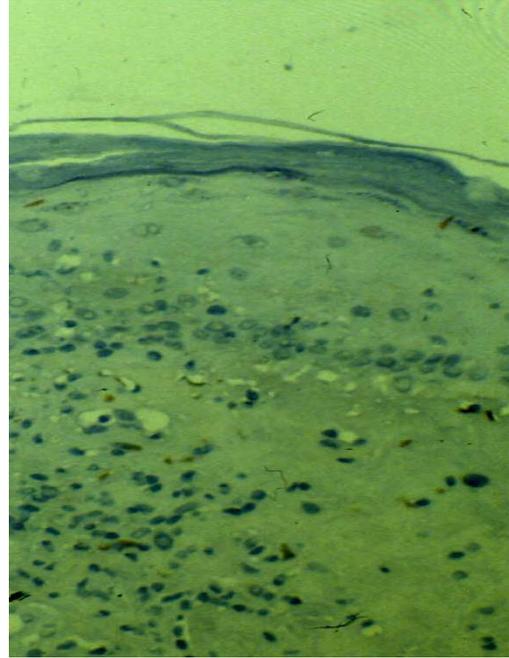
Abb. 8.2

Immunohistochemische Darstellung von Zytokeratin Nr.5, 6 und 18 (e), Zytokeratin Nr.7 (f), Zytokeratin Nr.10 (g), und Zytokeratin Nr.14 (h) beim Lichen sclerosus in der Avidin-Biotin-Technik und Gegenfärbung mit Hämalan (Vergrößerung 1: 110).

i)



j)



k)

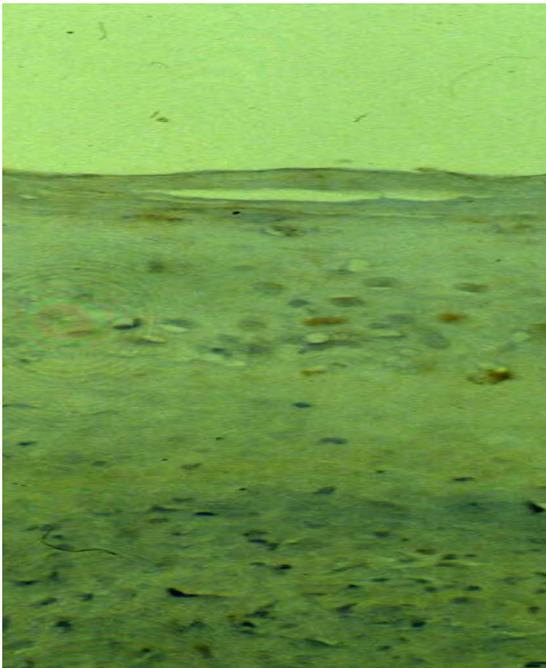
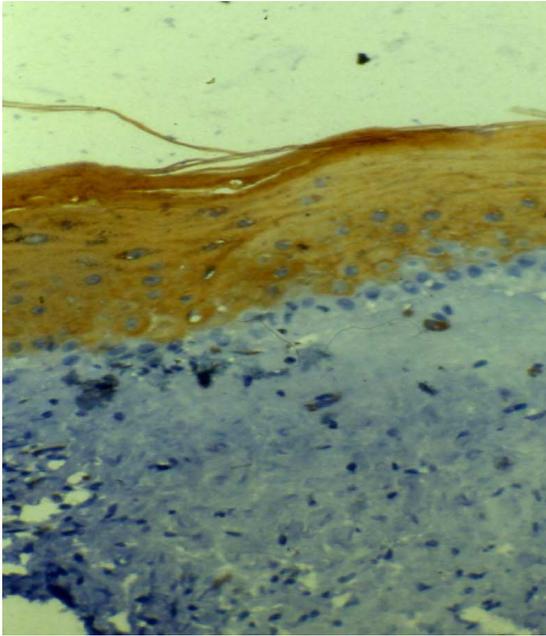


Abb. 8.3

Immunhistochemische Darstellung der Rezeptoren von Androgen (i), Östrogen (j), Glukokortikoid (k) beim Lichen sclerosus in der Avidin-Biotin-Technik und Gegenfärbung mit Hämalaun (Vergrößerung 1: 110).

l)



m)

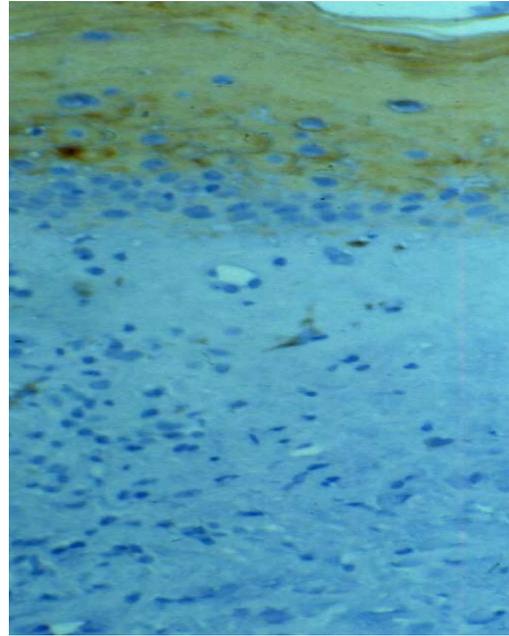


Abb.8.4

Immunhistochemische Darstellung von Zytokeratin Nr.10 (l), Zytokeratin Nr.5, 6 und 18 (m), beim Lichen sclerosus in der Avidin-Biotin-Technik und Gegenfärbung mit Hämalaun (Vergrößerung 1: 110).

## 8. Glossar

LS	Lichen sclerosus
K	Kontrollgruppe
ER	Östrogenrezeptor
PR	Progesteronrezeptor
GR	Glukokortikoidrezeptor
AR	Androgenrezeptor
ZK 5,6,18	Zytokeratin Nr. 5, 6 und 18
ZK7	Zytokeratin Nr.7
ZK10	Zytokeratin Nr.10
ZK14	Zytokeratin Nr.14
IRS	immunreaktive Score
Abb.	Abbildung
Tab.	Tabelle
cdk2	zyklinabhängige Kinase Nr.2
cdk4	zyklinabhängige Kinase Nr.4
cdk6	zyklinabhängige Kinase Nr.6

## 9. Literaturliste

Atula S, Grenman R, Syrjänen S. Fibroblasts can modulate the phenotype of malignant epithelial cells in vitro. *Experimental Cell research* 1997;235:180-187

Azumi N, Czernoblisky B. Immunohistochemistry. In: Kurman RJ: Blaustein's pathology of the femal genital tract. Springer, New York 1994;1131-1159

Bartelink M, DeWit A, Wollersheim H, Theeuwes A, Thien T. Skin vascular reactivity in healthy subjects: influence of hormonal status. *Appl Physiol* 1993;74:727-732

Bellacosa A, Almadori G, Cavallo S, Cadoni G, Galli J, Ferrandina G, Scambia G, Neri G. Cyclin D1 gene amplification in human laryngeal squamous cell carcinomas: Prognostic significance and clinical implications. *Clin Cancer Res* 1996;2:175-180

Bellido T, Jilka RL, Boree BF, Girasole G. Regulation of interleukin-6 osteoclastogenesis and bone mass by androgens. The role of androgen receptor. *J Clin Invest* 1995;95:2886-2895

Bergmann A, Karram M, Bhatia NN. Local steroid application for hyperplastic dystrophy of the vulva: Clinical and pathologic evaluation. *J Reprod Med* 1988;33:542-544

Berry M, Metzger D, Chambon P. Role of the two activating domains of the oestrogen receptor in the cell-type and promotor-context dependent agonistic activity of the anti-oestrogen 4-hydroxytamoxifen. *EMBO J* 1990;9:2811-2818

Beyers M, Kuiper GGJM, Gustafson JA, Park-Sage OK. Estrogen-receptor- $\beta$  mRNA expression in rat ovary: down-regulation by gonadotropins. *Mol Endocrinol* 1997;11:172-182

Blakemore AI, Tarlow JK, Cork MJ. IL-1 receptor antagonist gene polymorphism as a disease severity factor in SLE. *Arth Rheum* 1994;308:488-91

Borg AA. Antibodies to cytokeratins in inflammatory arthropathies. *Sem Arth and Rheum* 1997;27:186-195

Bornstein J, Heifetz S, Keller Y, Stolar Z, Abramovici H. Clobetasol dipropionate 0,05 % versus testosterone propionate 2 % topical application for sever vulvar lichen sclerosis. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:80-84

Bowden PE, Quinlan RA, Breikreutz D, Fusenig NE. Proteolytic modifikation of acidic and basic keratines during terminal differatiation of mouse and human epidermis. *Eur J Biochem* 1984;142:29-36

Bracco GL; Carli P, Sonni L, Maestrini G, De Marco A, Taddei GL, Cattaneo A. Clinical and histological effects of topical treatments of vulval lichen sclerosis. *J Reprod Med* 1993;38:37-40

Buchanan DL, Kutita T, Taylor JA, Lubahn DB, Cunha GR, Cooke PS. Role of stromal and epithelial estrogen receptors in vaginal epithelial proliferation, stratification and cornification. *Endocrinology* 1998;139:4345-4352

Buckley MF, Sweeney KJE, Hamilton JA, Sini RL, Manning DI, Nicholson RI, DeFazio A, Watts CKW, Musgrove EA, Sutherland RL. Expression and amplification of cyclin genes in human breast cancer. *Oncogene* 1993;8:2127-2133

Cardinal L, Gomez Rueda-Leverone N, Vighi S. p53 and MIB-1 expression in vulvar lichen sclerosis: comparison before and after treatment with topikal clobetasol. *Proc Int Soc Study Vulvo-Vaginal Dis* 1995:101

Carli P, Bracco G, Taddei G. Vulvar Lichen sclerosis: immunoistochemical evaluation before and after therapy. *J Reprod Med* 1994;39:110-114

Carli P, Cattaneo A, Gianotti B. Clobetasol propionate 0,05 % cream in the treatement of vulvar lichen sclerosis: Effect on the immunohistological profile. *Br J Dermatol* 1992;127:542-548

Carli P, Cattaneo A, De Magnis A, Biggeri A, Taddei G, Gianotte B. Squamous cell carcinoma arising in vulval lichen sclerosus: A longitudinal cohort study. *European J Cancer Prevention* 1995;4: 491-495

Carli P, Cattaneo A, Pimpinelli N. Immunohistochemical evidence of skin immune system involvement in vulvar lichen sclerosus et atrophicus. *Dermatologica* 1991;182:18-22

Carli P, Moretti S, Spallanzani A, Berti E, Cattaneo A. Fibrogenetic cytokines in vulvar lichen sclerosus. *J Reprod Med* 1997;42:161-165

Carlson JA, Lamb P, Malfetano J. Clinicopathologic comparison of vulvar and lichen sclerosus: histologic variants, evolving Lesions, and Aetiology of 141 cases. *Mod Pathol* 1998;11:844-854

CasteloBranco C, Duran M, Gonzalezmerlo J. Skin Collagen changes related to age and hormone replacement therapy. *Maturitas* 1992;15:113-119

Cattaneo A, Bracco GL, Maestrini G. Lichen sclerosus and squamous cell hyperplasia of the vulva: A clinical study of medical treatment. *J Reprod Med* 1991;36:301-305

Cattaneo A, Carli P, De Marco A, Sonni L, Bracco G, De Magnis A, Taddeo GL. Testosterone maintenance therapy. Effects on vulvar lichen sclerosus treated with clobetasol propionate. *J Reprod Med* 1996;41:99-102

Chedid M, Hoyle JR, Csaky KG, Rubin JS. Glucocortikoids inhibit keratinocyte growth factor produktion in primary dermal fibroblasts. *Endocrinology* 1996;137:2232-2237

Choudry R, Hodgins MB, Van der Kwast TH, Brinkmann AO, Boersma WJA. Localization of androgen receptors in human skin by immunohistochemistry: Implikations for the hormonal control of hair growth, sebaceous glands and sweat glands. *J Endocrinol* 1992;133:467-475

Clarke R, Dickson RB, Lippman ME Hormonal aspects of breast cancer growth factors, drugs and stromal interaction. *Crit Rev Oncol Hematol* 1992;12:1-23

Clark JA, Mueller SA. Lichen sclerosus in children. A report of 24 cases. *Arch Dermatol* 1967;95:476-482

Clay FE, Cork MJ, Tarlow JK. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism associated with lichen sclerosus. *Hum Genet* 1994;94:407-10

Clifton MM, Bayer-Garner IB, Kohler S, Smoller BR. Immunohistochemical evaluation of androgen receptors in genital and extragenital lichen sclerosus: Evidence for loss of androgen receptors in lesional epidermis. *J Am Acad Dermatol* 1999;41:43-46

Cooke PS, Buchanan DL, Young P, Setiawan T, Brody J, Korach KS, Taylor J, Lubahn DB, Cunha GR. Stromal estrogen receptors mediate mitogenic effects of estradiol on uterine epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6535-6540

Cooke PS, Young P, Hess RA, Cunha GR. Estrogen receptor expression in developing epididymis, efferent ductules, and other male reproductive organs. *Endocrinology* 1991;128:2874-2879

Coulombe PA. Towards a molecular definition of keratinocyte activation after injury to stratified epithelia. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;236:231-238

Couse JF, Curtis SW, Washburn TF, Lindzey J, Golding TS, Lubahn DB, Smities O, Korach KS. Analysis of transkription and estrogen insensitivity in the female mouse after targeted disruption of the estrogen receptor gene. *Mol Endocrinol* 1995;9:1441-1454

Couse JF, Hewitt SC, Bunch DO, Sar M, Walker VR, Davis BJ, Korach KS. Postnatal sex reversal of the ovaries in mice lacking estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$ . *Science* 1999;286:2328-31

Critchley HOD, Brenner RM, Henderson TA, Williams K, Nayak NR, Slayden OVD, Millar MR, Saunders PTK. Estrogen receptor  $\beta$ , but not estrogen receptor  $\alpha$ , is present in the vascular endothelium of the human and nonhuman primate endometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1370-1378

Dahlman Gozlan K, Hedblad MA, Von Krogh G. Penile lichen sclerosus et atrophicus treated with clobetasol dipropionate 0,05 % cream: A retrospective clinical and histopathological study. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:450-457

Daziel KL, Millard PR, Wojnarowska F. The treatment of vulvar lichen sclerosus with a potent topical steroid (clobetasol propionate 0,05 %) cream. *Br J Dermatol* 1991;124:461-464

Dalziel KL, Wojnarowska F. Long-term control of vulvar lichen sclerosus after treatment with a potent topical steroid cream. *J Reprod Med* 1993;38:25-27

Dinarello CA, Thompson RC. Blocking IL-1: interleukin-1 receptor antagonist in vivo and in vitro. *Immunol Today* 1991;12:404-410

Doran TI, Vidrich A, Sun TT. Intrinsic and extrinsic regulation of the differentiation of skin, cornea and oesophageal epithelial cells. *Cell* 1980;22:17-25

Drummond AE, Baillie AJ, Findlay JK. Ovarian estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  mRNA expression: Impact of development and estrogen. *Mol Cell Endocrinol* 1999;149:153-161

Dulic V, Drullinger LF, Lees E, Reed SI, Stein GH. Altered regulation of G1 cyclins in senescent human diploid fibroblasts. Accumulation of inactive cyclin E-Cdk2 and cyclin D1-Cdk2 complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11034-11038

Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierrich A, Chambon P, Mark M. Effect of single and compound knockouts of estrogen receptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) and  $\beta$ . (ER $\beta$ ) on mouse reproductive phenotypes. *Development* 2000;127:4277-4291

Findlay JK, Britt K, Kerr JB, O'Donnell L, Jones ME, Drummond AE, Simpson ER. The road to ovulation: the role of oestrogens. *Reprod Fertil Dev* 2001;13:543-547

Fischer G, Spurrett B, Fischer A. The chronically symptomatic vulva: Aetiology and management. *Br J Obstet Gynecol* 1995;102:773-779

Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF. *Dermatology in general medicine*. New York: McGraw Hill Inc 1993

Friedman M, Weissman A, Kerner H, Itskovitz Eldor I. Vulvar lichen sclerosus treated with superpotent topical corticosteroid (clobetasol propionate 0,05 %). *Cervix* 1994;12:21-24

Friedrich EG Jr. Topical testosterone for benign vulvar dystrophie. *Obstet Gynecol* 1971;37:677-686

Friedrich EG Jr. Vulvar dystrophy. *Clin Obstet Gynecol* 1985;28:178-187

Friedrich EG Jr, Kalra PS. Serum levels of sex hormones in vulvar lichen sclerosus and the effect of topical testosterone. *N Engl J Med* 1984;310:488-491

Friedrich EG, Burch K, Bahr JP. The vulvar clinic: an eight-year appraisal. *Am J Obstet Gynecol* 1979;135:1036

Fuchs E, Green H. Changes in keratin gene expression during terminal differentiation of the keratinocyte. *Cell* 1980;19:1033-1042

Fujii T, Tsukazaki K, Kiguchi K, Kubuchiro K, Gajima M, Nozawa S. The major E6/E7 transcript of HPV-16 in exfoliated cells from cervical neoplasia patients. *Gynecol Oncol*. 1995;58:210-215

Garau JM, DiPaola GR, Charreau EH. Estrogen and progesterone receptor assays on the vulvar epithelium. *J Reprod Med* 1986;31:987-991

Gerdes J, Lemke H, Baisch H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984;133:1710-1715.

Gillet C, Smith P, Gregory W, Richards M, Millis R, Peters G, Barnes D. Cyclin D1 and prognosis in human breast cancer. *Int J Cancer* 1996;69:92-99

Harrington CI, Dunsomore IR. An investigation into the incidence of auto-immune disorders in patients with lichen sclerosus et atrophicus. *Br J Dermatol* 1981;104:563-566

Hartwell LH, Kasten MB. Cell cycle control and cancer. *Science* 1994;266:1821-1828

Hodgins MB, Spike RC, Mackie RM, Mac Lean AB. An immunohistochemical study of androgen, oestrogen and progesterone receptors in the vulva and vagina. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:216-222

Huang A, Pettigrew NM, Watson PH. Immunohistochemical assay for oestrogen receptors in paraffin wax sections of breast carcinoma using a new monoclonal antibody. *J Patol* 1996;180:223-227

Huszar M, Gigi-Leitner O, Moll R, Franke WW, Geiger B. Monoclonal antibodies to various acidic (Type I) cytokeratins of stratified epithelia. *Differentiation* 1986;31:141-153

Ivanyi D, Ansink A, Groeneveld E, Hageman PC, Mooi WJ, Heintz AP. New monoclonal antibodies recognizing epidermal differentiation-associated keratins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Keratin 10 expression in carcinoma of the vulva. *J Pathol* 1989;159:7-12

Ivanyi D, Ansink A, Mooi WJ, de Kraker NW, Heintz AP. Absence of differentiation-related expression of keratin 10 in early stages of vulvar carcinoma. *Differentiation* 1989;42:124-129

Janovski NA, Douglas CP. Progressive sclerotic and atrophic processes of the vulva. In: *Diseases of the vulva*. Hagerstown, MD: Harper and Row, 1972:57-62

Joura EA, Zeisler H, Todesca DB, Sator MO, Schneider B, Gitsch G. Short-term effects of topical testosterone in vulvar lichen sclerosus. *Obstet Gynecol* 1997;89:297-299

Kaloo NB, Gearhart JP, Barrack ER. Sexually dimorphic expression of estrogen receptors but not androgen receptors in human fetal external genital. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:692-698

Kamarashev JA, Vassileva SG. Dermatologic disease of the vulva. *Clinics in Dermatol.* 1997;15:53-65

Kanai M, Shiozawa T, Xin L, Nikaido T, Fujii S. Immunohistochemical detection of sex steroid receptors, cyclins and cyclin-dependent kinases in the normal and neoplastic squamous epithelia of the uterine cervix. *Cancer* 1998;82:1709-1719

Kato JY and Sherr CJ. Inhibition of granulocyte differentiation by G1 cyclins D2 and D3 but not D1. *Proc Nat Acad Sci (Wash)* 1993;90:11513-11517

Kim KH, Rheinwald J, Fuchs EV. Tissue specificity of epithelial keratins: Differential expression of mRNAs from two multigene families. *Mol Cell Biol* 1983;3:495-489

Kirnbauer R, Kock A, Neuner P. Regulation of epidermal cell interleukin 6 production by UV light and corticosteroids. *J Invest Dermatol* 1991;96:484-489

Kohlberger PD, Joura EA, Bancher D, Gitsch G, Breitenecker G, Kieback DG. Evidence of androgen receptor expression in lichen sclerosis: An immunohistochemical Study. *J Soc Gynecol Invest* 1998;5:331-333

Korach KS Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science* 1994;1524-1527

Krege JH, Hodgson JB, Couse JF, Enmark E, Warner M, Mahler JF, Sar M, Korach KS, Gustafson JA, Smithies O. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor  $\beta$ . *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15677-15682

Kuiper GGJM, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafson JA. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in the rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:5925-5930

Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafson JA. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 1997;138:863-870

Lane EB, Alexander BM. Use of keratin antibodies in tumor diagnosis. *Sem. Cancer Biol.* 1990;1:1135-1139

Leibowitch M, Neill S, Pelisse M, Moyal-Baracco M. The epithelial changes associated with squamous cell carcinoma of the vulva; a review of the clinical, histological and viral trends in seventy eight woman. *Br J Obstet Gynecol* 1990;97:1135-1139

Leigh IM, Pulford GF, Kurman RJ, Jenson AB, Lancaster WD. Psoriasis: maintenance of an intact monolayer basal cell differentiation compartment in spite of hyperproliferation. *Br J Dermatol.* 1985;113:53-64

Leigh IM, Navsaria H, Purkis PE. Keratins (K16 and K17) as markers of keratinocyte hyperproliferation in psoriasis in vivo and in vitro. *Br J Dermatol* 1995;133:501-511

Li S, Mawal-Dewan M, Cristofalo VJ, Sell C. Enhanced Proliferation of human fibroblasts, in the presence of dexamethasone, is accompanied by changes in p21 and the insulin-like growth factor type 1 receptor. *J Cell Physiol* 1998;177:396-401

Loening-Baucke V. Lichen sclerosus et atrophicus in children. *Am J Dis Child* 1991;145:1058-1061

Lorincz AT, Quinn AP, Lancaster WP, Temple GF. A new type of papillomavirus associated with cancer of the uterine cervix. *Virology* 1987;159:187-90

Lorincz AT, Temple GF, Kuman RJ, Jensen AB, Lancaster WD. Oncogenetic association of specific papillomavirus types with cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst.* 1987 Oct;79:671-7

Lubahn DB, Moyer JS, Golding TS, Couse JF, Korach KS. Alteration of reproductiv function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11162-11166

Machesney M, Tidman N, Waseem A. Activated keratinocytes in the epidermis of hypertrophic scars. *Am J Pathol* 1998;152:1133-1141

MacLean AB, Nicol LA, Hodgins MB. Immunohistochemical localization of estrogen receptors in the vulva and vagina. *J Reprod Med* 1990;35:1015-1016

Maddox P, Sasieni P, Szarewski A, Anderson M, Hanby A. Differential expression of keratins 10, 17 and 19 in normal cervical epithelium, cervical intraepithelial neoplasia, and cervical carcinoma. *J Clin Pathol* 1999;52:41-46

Maheux R, Naud F, Rioux M. A randomized double-blind, placebo-controlled study on the effect of conjugated estrogens on skin thickness. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:642-649

Manson JE, Martin KA. Postmenopausal hormone replacement therapy. *N Engl J Med* 2001;345:34-40

Marren P, Deab D, Charnock M, Wojnarowska F. The basement membran zone in lichen sclerosis: An immunhistochemical study. *Br J Dermatol* 1997;136:508-514

Marren P, Cherry C, Day A. Lichen sclerosis: The patient, the hormonal influences and disease impact. *Br J Dermatol* 1995;133 suppl 45 (Abstr)

Masciullo V, Scambia G, Marone M, Giantelli C, Ferrandina G, Belacosa A, Benedetti Panici P, Mancuso S. Altered expression of cyclin D1 and CDK4 genes in ovarian carcinomas. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1997;74:390-395

McDonnell DP, Clemm DL, Hermann T, Goldman ME, Pike JW. Analysis of estrogen receptor funktion in vitro reveals three distinct classes of antiestrogens. *Mol Endocrinol* 1995;9:659-969

McGowan K, Coulombe PA. The wound repair-associated keratins 6, 16 and 17: insights into the role of intermediate filaments in specifying keratinocyte architecture. *Subcell Biochem* 1998;31:205-262

Mc Kenzie RC, Sauder DN. The role of keratinocyte cytokines in inflammation and immunity. *J Invest Dermatol* 1990;95:105-107

McLean JM. Anatomy and physiology of the vulval area. In: Ridley CM, editor. *The vulva*. London Churchill Livingstone 1988

Meffert JJ, Davis BM, Grimwood RE. Lichen sclerosus. *J Am Acad Dermatol* 1995;32:393-416

Meyrick Thomas RH, Ridley CM, McGibbon DH. Lichen sclerosus et atrophicus and autoimmunity a study of 350 women. *Br J Dermatol* 1988;118:41-46

Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24

Moll R: Epitheliale Tumormarker. *Verh. Dtsch. Ges Path* 1986;70:28-50

Moll R Cytokeratins as markers of differentiation: Expression profiles in epithelia and epithelial tumors. Fischer, Stuttgart. 1993;1-197

Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. *Subcell Biochem* 1998;31:205-262

Moll R, Krepler R, Franke WW. Complex cytokeratin polypeptide patterns observed in certain human carcinomas. *Differentiation* 1983;23:256-269

Morris JM, Mahesh VB. Further observations on the syndrome of testicular feminisation. *Am J Obstet Gynecol* 1963;87:731-748

Musgrove EA, Hamilton JA, Lee CSL, Sweeney KJE, Watts CKW, Sutherland RL. Growth factor, steroid, and steroid antagonist regulation of cyclin gene expression associated with changes in T-47D human breast cancer cell cycle progression. *Mol Cell Biol* 1993;13:3577-3587

Nagle RB. A review of intermediate filament biology and their use in pathologic diagnosis. *Mol Biol Rep* 1994;19:3-21

Nardelli GB. Vulvar hormonal receptor modification during topical steroid treatment. *Clin Exp Obst Gyn* 1988;XV:170-173

Nauth HF. Cytologic and histologic observations on the sex hormone dependence of the vulva. *J Reprod Med* 1985;30:667-674

Nelson KG, Slaga TJ. Keratin modifications in epidermis, papillomas, and carcinomas during two-stage carcinogenesis in the SENCAR mouse. *Cancer Res* 1982;42:4176-4181

Nelson WG, Sun TT. The 50-and 58 kDalton keratin classes as molecular markers for stratified squamous epithelia: Cell culture studies *J Cell Biol* 1983;97:244-225

Nurse P Ordering S phase and M phase in the cell cycle. *Cell* 1994;79:547-550

Ohta Y, Takanosawa M, Matumoto C, Makino N, Ishimoto S, Ichimura K. High-dose glucocorticoids inhibit proliferation of rat olfactory epithelium. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002 Oct;111:909-911

Oikarinen A, Haapasaari KM, Sutinen M, Tasanen K. The molekular basis of glucocorticoid-induced skin atrophy: topikal glucocorticoid apparently decreases both collagen synthesis and the corresponding collagen mRNA level in human skin in vivo. *Br J Dermatol* 1998;139:1106-1110

Onnis A, Becagli L. Topical treatment of vulvar dystrophies with progesterone. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1986;13:15-17

Onnis A, Nardelli GB, Becagli L, Maggino T, Marchetti M. Androgen, Estrogen and progesteron receptors in vulvar dystrophy. *Clin Exp Obst Gyn* 1983;X:159-165

Onnis A, Nardelli GB, Lamaina V, Mozzahega B, Becagli L, Fais GF. Hormonal receptors in vulvar tissues. *Eur J Gynaec Oncol* 1985;VI:125-128

Paramio JM, Casanova ML, Segrelles C, Mittnacht S, Lane EB, Jorcano JL. Modulation of cell proliferation by cytokeratins K10 and K16. *Mol Cell Biol* 1999;19:3086-3094

Paramio JM, Segrelles C, Ruiz S, Jorcano JL. Inhibition of protein kinase B(PKB) and PKC zeta mediates keratin K10-induced cell cycle arrest. *Mol Cell Biol* 2001a;21:7449-7459

Peters G, Fantl V, Smith R, Brookes S, Dickson C. Chromosome 11q13 markers and D-type cyclin in breast cancer. *Breast cancer Res Treat* 1995;33:125-135

Petersen DN, Tkalcevic GT, Koza-Taylor PH, Turi TG, Brown TA. Identifikaion of estrogen receptor  $\beta_2$ , a functional variant of estrogen receptor  $\beta$  expressed in normal rat tissues. *Endocrinology* 1998;139:1082-1092

Planas Silva MD, Weinberg RA. Estrogen-dependent Cyclin e-cdk2 activation through p21 redistribution. *Mol Cell Biol* 1997;17:4059-4069

Pottratz S, Bellido T, Morchala H, Crabb D, Manologas SC.  $17\beta$ -estradiol inhibits expression of human interleukin-6 promoter-reporter constructs by a receptor dependent mechanism. *J Clin Invest* 1994;93:944-950

Purkis PE, Steel JB, Mackenzie IE, Narath WBJ, Leigh IM, Lane EB. Antibody markers of basal cells in complex epithelia. *J Cell Sci.* 1990;97:39-50

Quelle DE, Ashmun RA, Shurtleff SA, Kato J, Bar-Sagi D, Roussel MF, Sherr CJ. Overexpression of mouse D-type cyclins accelerates G1 phase in rodent fibroblasts. *Genes Develop* 1993;7:1559-1571

Ramaekers FCS, Huysman A, Moeker O, Kant A, Jap P, Herman C, Voojjs P. Monoclonal antibody to keratin filaments specific for glandular epithelia and their tumors: use in surgical pathology. *Lab Invest* 1983;49:353-361

Reichelt J, Magin TM. Hyperproliferation, induction of c-Myc and 14-3-3 $\sigma$ , but no cell fragility in keratin-10-null mice. *J Cell Sci* 2002;115:2639-2650

Report of the ISSVD Terminology Commission. Proc VIII Word Congress, Stockholm, Sweden. *J Reprod Med* 1986;31:973-936

Resnitzky D, Reed SI. Different roles for cyclins D1 and E in regulation of the G1-to-S Transition. *Mol Cell Biol* 1995;15:3463-3469

Ridley CM, Frankman O, Jones ISCI. New nomenclature for vulvar diseases. International Society for the Study of Vulvar diseases (letter). *Hum Pathol.* 1989;20:495-496

Rolfe KJ, Crow JC, Benjamin E, Reid WMN, MacLean AB, Perrett CW. Cyclin D1 and retinoblastoma protein in vulvar cancer and adjacent lesions. *Int J Gynecol Cancer* 2001;11:381-386

Rolfe KJ, Crow JC, Reid WMN, Benjamin E, MacLean AB, Perrett CW. The effect of topical corticosteroids on Ki67 and p53 expression in vulval lichen sclerosis. *Br J Dermatol* 2002;147:503-508

Roop DR, Krieg TM, Mehrel T, Cheng CK, Yuspa SH. Transcriptional control of high molecular weight keratin gene expression in multistage mouse skin carcinoma. *Cancer Res* 1988;48:3245-3252

Rosano GMC, Peters NS, Lefroy D, Lindsay D, Sarrel PM, Collins P. 17 $\beta$ -estradiol therapy lessens angina in postmenopausal women with syndrome X. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1500-1505

Ruizveld de Winter JA, Trapmann J, Vermey M, Mulder E, Zegers ND, Van der Kwast TH. Androgen receptor expression in human tissues: an immunohistochemical study. *J Histochem Cytochem* 1991;39:927-936

Sar M, Welsch F. Differential expression of estrogen receptor- $\beta$  and estrogen receptor- $\alpha$  in the rat ovary. *Endocrinology* 1999;140:963-71

Sarrel PM. Estrogen replacement therapy. *Obstet Gynecol* 1988;72Suppl:2-5

Sarrel PM. Androgen deficiency: menopause and estrogen-related factors. *Fertil Steril* 2002;77Suppl:63-67

Sarrel PM, Whitehead MI. Sex and menopause: defining the issues. *Maturitas* 1985;7:217-224

Santos M, Ballestin C, Garcia-Martin R, Jorcano JL. Delays in malignant tumor development in transgenic mice by forced epidermal keratin 10 expression in mouse skin carcinomas. *Mol Carcinog* 1997;20:3-9

Schaafsma HE, Ramaekers FCS. Cytokeratin subtyping in normal and neoplastic epithelium: Basic principles and diagnostic applications. *Pathol Annu* 1994;29:21-62

Schaafsma HE, Ramaekers FCS, van Mujien GNP, Lane EB, Leigh IM, Robben H, Huijsmans A, Ooerns ECM, Ruiter DJ. Distribution of cytokeratin polypeptides in human transitional cell carcinomas, with special emphasis on changing expression patterns during tumor progression. *Am J Pathol* 1990;136:239-343

Scharl A, Vierbuchen M, Conradt B, Moll W, Würz H, Bolte A. Immunohistochemical detection of progesterone receptor in formalin-fixed and paraffin-embedded breast cancer tissue using a monoclonal antibody. *Arch Gynecol Obstet* 1990;247:63-71

Schiller DL, Franke WW, Geiger B. A subfamily of relatively large and basic cytokeratine polypeptides as defined by one or several polypeptides in epithelial cells. *EMBO J* 1982;1:761-769

Schmidt JB, Lindmeier A, Spona J. Hormone receptors in pubic skin of premenopausal and menopausal females. *Gynecol Obstet Invest* 1990;30:97-100

Schuuring E, Verhoeven E, van Tinteren H, Peterse JL, Nunnink B, Thunissen FBJM, Devillee P, Cornelisse CJ, Van de Vijver MJ, Mooi WJ, Michalides RJAM. Amplification of genes within the chromosome 11q13 region is indicative of poor prognosis in patients with operable breast cancer. *Cancer Res* 1992;52:5229-5234

Scurry J, Whitehead J, Healy M. Histology of lichen sclerosus varies according to site and proximity to carcinoma. *Am J Dermatopathol* 2001;23:413-418

Scurry J, Flowers LC, Wistuba I. Human papilloma virus, lichen sclerosus and vulvar squamous cell carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 1998;8:298-306

Shugrue PJ, Komm B, Merchenthaler I. The distribution of estrogen receptor- $\beta$  mRNA in the rat hypothalamus. *Steroids* 1996;61:678-681

Sgambato A, Han EK, Zhou P, Schieren I, Weinstein IB. Overexpression of cyclin E in the HC11 mouse mammary epithelial cell line is associated with growth inhibition and increased expression of p27Kip 1. *Cancer Res* 1996;56:1389-1399

Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993;73:1059-65

Sideri M, Origoni M, Spinaci L. Topical testosterone in the treatment of vulvar lichen sclerosus. *Int J Gynecol Obstet* 1994;46:53-56

Sinha P, Luesley DM, Sorinola L. Long-term maintenance therapy with graduated topical steroid for women with lichen sclerosus of the vulva. *Br J Obstet Gynecol* 1998;105(Suppl.17):123

Sivan V, Vozenin-Brotans MC, Tricaud Y, Lefaix JL, Cosset JM, Dubray B, Martin MT. Altered proliferation and differentiation of human epidermis in cases of skin fibrosis after radiotherapy. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 2002;53:385-393

Smith E, Frenkel B, Schlegel R, Giordano A, Lian JB, Stein JL, Stein GS. Expression of cell cycle regulatory factors in differentiating osteoblast: Postproliferative up-regulations of cyclin B and E. *Cancer Res* 1995;55:5019-5024

Smith YR, Quint EH. Clobetasol Propionate in Treatment of premenarchel vulvar lichen sclerosis. *Obstet Gynecol* 2001;98:588-591

Soini Y, Pääkkö P, Vähäkangas K. Expression of p53 and proliferating cell nuclear antigen in lichen sclerosis et atrophicus with different histological features. *Int J Gynecol Pathol* 1994;13:199-204

Sterr CJ. G1 phase progression: Cycling on cue. *Cell* 1994;79:551-555

Stoler A, Kopan R, Duvic M. Use of monospecific antisera and cRNA probes to localize the major changes in keratin expression during normal and abnormal epidermal differentiation. *J Cell Biol* 1988;107:427-446

Stumpf WE, Narbaitz R, Sar M. Estrogen receptors in the fetal mouse. *J Steroid Biochem* 1980;12:55-64

Sun TT, Eichner R, Schemer A, Cooper D, Nelson WG, Weiss RA. Classification, expression and possible mechanisms of evolution of mammalian epithelial keratins: An unifying model. In: Lewine A, Van de Woude GF, Topp WE, Watson JD: *Cancer Cells*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York 1984;169-176

Tan SH, Derrick E, McKee PH. Altered p53 expression and epidermal cell proliferation is seen in vulval lichen sclerosis. *J Cutan Pathol* 1994;21:316-323

Tarlow JK, Clay FE, Cork MJ, et al. Severity of alopecia areata is associated with a polymorphism in the interleukin-1 receptor antagonist gene. *J Invest Dermatol* 1994;103:387-390

Tate JE, Mutter GL, Boynton KA, Crum CP. Monoclonal origin of vulvar intraepithelial neoplasia and some vulvar hyperplasias. *Am J Pathol* 1997;150:315-322

Tseng SCG, Jarvinen MJ, Nelson WG, Huang JW, Woodcock-Mitchel J, Sun TT. Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: Monoclonal antibody studies. *Cell* 1982;30:361-372

Toftgard R, Yuspa SH, Roop DR. Keratin gene expression in mouse skin tumors and in mouse skin treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetat. *Cancer Res* 1985;45:5845-5850

Vanderbilt JN, Miesfeld R, Maler BA, Yamamoto KR. Intracellular receptor concentration limits glucocorticoid dependent enhancer activity. *Mol Endocrinol* 1987;1:68-74

Van Hoeven KH, Kovatich AJ. Immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen, Bcl-2, Ki-67 in vulvar tissues. *Int J Gynecol Pathol* 1996;15:10-16

Wakelin S, Marren P. Lichen sclerosus in Women. *Clinics in Dermatology* 1997;15:155-169

Wallace HJ. Lichen sclerosus et atrophicus. *Trans Rep St John's Hospital Dermatol Soc* 1971;57:9-30

Watts CKW, Brady A, Sarcevic B, de Fazio A, Musgrove EA, Sutherland RL. Antiestrogen inhibition of cell cycle progression in breast cancer cells is associated with inhibition of cyclin-dependent kinase activity and decreased retinoblastoma protein phosphorylation. *Mol Endocrinol*. 1995;9:1804-1813

Webb P, Lopez GN, Green GI, Baxter JD, Kushmer PJ. The limits of the cellular capacity to mediate an estrogen response. 1992;6:157-167

Wilkinson EJ, Normal histology and nomenclature of the vulva and malignant neoplasms, including VIN. *Dermatol Clin* 1992;10:238-295

Winter H, Schweizer J, Goerttler K. Keratins as markers of malignancy in mouse epidermal tumors. *Carcinogenesis* 1980;1:391-398

Winter H, Schweizer J, Goerttler K. Keratinpolypeptide composition as a biochemical tool for the discrimination of benign and malignant epithelial lesions in man. *Arch Dermatol Res* 1983;275:27-34

Woodcock-Mitchell J, Eichner R, Nelson WG, Sun TT. Immunolocalization of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies. *J Cell Biol* 1982;95:580-588

Yan G and Ziff EB. NGF regulates the PC12 cell cycle machinery through specific inhibition of the Cdk kinases and induction of cyclin D1. *J Neurosci* 1995;55:6200-6212

Zhou ZX, Lane MV, Kempainen JA, French FS, Wilson EM. Specificity of ligand dependent androgenreceptor stabilization: receptor domain interactions influence ligand dissociation and receptor stability. *Mol Endocrinol* 1995;9:208-218

Zhou ZX, Wong CI, Sar M, Wilson EM. The androgen receptor: an overview. *Recent Prog Horm Res* 1994;49:249-274

Zur Hausen H. Papillomavirus in human genital cancer. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 1987;4:187-192

## 10. Lebenslauf

Name: Ursula-Rebekka Klintworth

geboren am: 06.09.1973 in Hilden

Eltern: Claus-Diedrich Klintworth, Jurist  
Jutta-Luise Klintworth, MTA

Schulausbildung: 1980-1984: Gemeinschaftsgrundschule Urdenbach, Düsseldorf  
1984-1993: Gymnasium - Koblenzer - Straße, Düsseldorf  
Juni 1993: Abitur

Studium: Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf von Oktober 1993 bis Oktober 2000

Ärztliche Vorprüfung im August 1995

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im August 1996

Studium an der Universität Nantes in Frankreich von September 1997  
bis Juni 1998

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im September 1999

Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im Oktober 2000

Ärztliche Tätigkeit: Februar 2001 bis Juli 2002 Ärztin im Praktikum in der Abteilung  
für Anästhesie und Intensivmedizin im St. Josephs Krankenhaus Hilden  
August 2002 bis Januar 2003 als Assistenzärztin in derselben Abteilung  
beschäftigt  
Seit Februar 2003 Assistenzärztin in der Klinik für Anästhesie und  
Intensivmedizin der Ruppiner Kliniken in Neuruppin, Lehrkrankenhaus  
der Charité Berlin

## **Immunhistochemische Untersuchungen zum Verteilungsmuster von Steroidhormonen und Zytokeratinen beim Lichen sclerosus der Vulva**

Ursula Rebekka Klintworth

Es ist unklar, welche Rolle Veränderungen im Hormonstoffwechsel bei der Entwicklung des Lichen sclerosus spielen, obwohl er meist in Phasen relativen Östrogenmangels wie der Perimenopause und der Pubertät auftritt. Ursache ist möglicherweise eine gestörte Hormonrezeptorbindung oder ein Differenzierungsverlust der Basalzellen im Stratum basale der Epidermis. Mittels immunhistochemischer Untersuchung wurden die Rezeptoren für Östrogen, Progesteron, Testosteron und Glukokortikoide in der Haut der Vulva bei Gesunden und bei Patientinnen mit Lichen sclerosus untersucht, um so die möglichen Zielzellen der Hormone zu bestimmen. Andererseits sollte mittels Zytokeratinantikörpern nachgewiesen werden, ob beim Lichen sclerosus ein gestörtes Zytokeratinmuster des Plattenepithels der Vulva im Sinne einer Ausdifferenzierungsstörung der Keratinozyten vorliegt. Progesteron konnte übereinstimmend mit anderen Autoren nicht nachgewiesen werden. Obwohl die Vulva wie die Zervix uteri, die Mamma und das Endometrium Zielgewebe von Steroidhormonen ist, ließ sich mit unseren Methoden kein Unterschied zwischen der Östrogenrezeptorexpression beim Lichen sclerosus und in der normalen Vulva nachweisen. Ein Verlust der Östrogenrezeptoren geht häufig mit einer malignen Transformation des Gewebes einher, da Östrogene den Ablauf des Zellzyklus regulieren. Die wichtigsten Komponenten dieses Regulationssystems sind die Zykline vom D-Typ. Nach neueren Erkenntnissen zeigt auch Lichen sclerosus eine Überexpression von Zyklin D. Ein Verlust der Östrogenrezeptoren in Verbindung mit einer erhöhten Aktivität des Zyklin D wären ein Hinweis auf eine Dysregulation des Zellwachstums in der Pathogenese des Lichen sclerosus. Glukokortikoide wurden beim Lichen sclerosus vermehrt im oberen Drittel der Epidermis exprimiert. Im unteren Drittel konnten Glukokortikoidrezeptoren nur in der normalen Vulva nachgewiesen werden. Dies ist auch die Region, die von den typischen Veränderungen beim Lichen sclerosus am stärksten betroffen ist. Es kann jedoch nicht geklärt werden, ob die Entzündungsreaktion oder die Vorbehandlung mit Kortison Ursache für den Rezeptorverlust im Stratum basale ist. Mit Hilfe von Zytokeratin 10, das normalerweise in ausgereiftem Epithel exprimiert wird, ließ sich kein Unterschied zwischen dem Lichen sclerosus und der unauffälligen Vulva nachweisen. Auf der anderen Seite ließ sich aber eine Expression von Zytokeratin 7, wie man sie normalerweise in reifen Keratinozyten findet, beim Lichen sclerosus nicht nachweisen, so daß man doch von einer Differenzierungsstörung in der Pathogenese des Lichen sclerosus ausgehen muß.

  
Privatdozent Dr. med. V. Küppers