

**Aus der Klinik und Poliklinik für
Dermatologie, Venerologie und Allergologie
der Universität Würzburg
Direktorin: Professor Dr. med. Eva-Bettina Bröcker**

Melanozyten in epithelialen Tumoren der Haut

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von
Lídia Marília Frey
aus Fortaleza, Bundesland Ceará, Brasilien**

Würzburg, Juni 2008

**Aus der Klinik und Poliklinik für
Dermatologie, Venerologie und Allergologie
der Universität Würzburg
Direktorin: Professor Dr. med. Eva-Bettina Bröcker**

Melanozyten in epithelialen Tumoren der Haut

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von
Lídia Marília Frey
aus Fortaleza, Bundesland Ceará, Brasilien**

Würzburg, Juni 2008

Referentin: Prof. Dr. med. E.-B. Bröcker
Korreferentin: Priv.-Doz. Dr. med. M. Ott
Dekan: Prof. Dr. med. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 13.11.2008

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Melanozyten	1
1.2 Epitheliale Hauttumoren	2
1.2.1 Seborrhoische Keratose.....	3
1.2.2 Basalzellkarzinom.....	3
1.2.3 Aktinische Keratose.....	4
1.2.4 Morbus Bowen.....	4
1.2.5 Keratoakanthom.....	5
1.2.6 Plattenepithelkarzinom.....	5
1.3 Zielsetzung der Arbeit	6
2. Material und Methode	7
2.1 Methoden	7
2.2 Gewebeproben	7
2.3 Melanin-Färbung	8
2.4 Immunhistochemie	8
2.4.1 Melan-A/MART-1.....	8
2.4.2 HMB-45.....	9
2.4.3 "Heat induced epitope retrieval".....	10
2.5 Statistik	11
3. Ergebnisse	12
3.1 Allgemein	12
3.2 Färbungen	18
3.2.1 Melanin.....	18
3.2.2 Melan-A/MART-1.....	20
3.2.3 HMB-45.....	21
3.3 Expression von Melanin, Melan-A/MART-1 und HMB in epithelialen Tumoren der Haut	22
3.3.1 Seborrhoische Keratose.....	22

3.3.2 Basalzellkarzinom.....	23
3.3.3 Aktinische Keratose.....	31
3.3.4 Morbus Bowen.....	32
3.3.5 Keratoakanthom.....	33
3.3.6 Plattenepithelkarzinom	34
4. Diskussion.....	37
5. Zusammenfassung.....	40
6. Literaturverzeichnis.....	42
7.Dank	
8.Lebenslauf	

Abkürzungen

AEC	3-amino-9-ethylcarbazole
AK	Aktinische Keratose
BCC	Basalzellkarzinom
bzw.	Beziehungsweise
HIER	“Heat induced epitope retrieval”
KA	Keratoakanthom
KZ	Keratinocyten
LZ	Langerhans Zellen
MB	Morbus Bowen
MZ	Melanozyten
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung
PEC	Plattenepithelkarzinom
SK	Seborrhoische Keratose

1. Einleitung

1.1 Melanozyten

Melanozyten (MZ) sind mit ca. 1 bis 2% der zweihäufigste epidermale Zelltyp. Sie sind neuroektodermaler Herkunft und dringen während der ersten Phase der Embryogenese in die Haut ein (Reedy et al, 1998). Nach der Geburt siedeln sie sich im Stratum basale der Epidermis an. Die MZ sind für die Produktion von Melanin zuständig, die sie als Melaningranula über ihre Dendriten an Keratinozyten (KZs) abgeben. Ein MZ und 36 KZs bilden eine epidermale Melanineinheit (Jimbow et al, 1998). Der schädigende Einfluss der UV-Strahlung, der mit der Entwicklung von epithelialen Tumoren zusammenhängt, wird durch das Pigmentsystem der Haut vermindert (Lin & Fischer, 2007).

Melaninpigment und/oder MZ sind bei Melanomen, Basalzellkarzinomen (BCC), pigmentierten Plattenepithelkarzinomen (PEC), seborrhoischer Keratosis (SK), Morbus Bowen (MB), pigmentierte aktinischer Keratose (AK), Keratoakanthomen (KA), Ekkrinen Poromen, Pilomatrikomen, Morbus Paget, Trichilemmoma, Hydroakanthoma simplex, und der Verruca Vulgaris beschrieben worden (Szpak et al, 1988).

Das Wachstum und die metabolische Tätigkeit der MZ wird sowohl durch humorale Faktoren, wie z.B. Endothelin-1 (Hara et al, 1995), Nerven-Wachstums-Faktor (Yaar et al, 1994), Melanozytenstimulations-Hormon (Hunt et al, 1996), Stickoxid (Romero-Graillet et al, 1997), Hepatozyten-Wachstumsfaktor, Stammzell- Faktor und extrazelluläre KZ-Matrix, (Nakazawa et al, 1995) als auch durch den direkten Zell-Zell Kontakt kontrolliert.

In der HE-Färbung sind die MZ in der Basalzellschicht zu finden. Man erkennt sie an einem basophilen Nukleus und einem helleren Zytoplasma. MZ exprimieren Vimentin als Intermediärfilamente.

MZ können mit histochemischen Färbungen (DOPA-Reaktion) oder immunhistologisch mit Antikörpern, die Melanin oder MZ-spezifische Antigene (wie

Melan-A, MART-1) detektieren, identifiziert werden. Darüber hinaus exprimieren MZ auch bcl-2, S100ab und Vimentin. Das prämelanosomengebundene Glykoprotein gp 100, das durch den HMB-45 Antikörper erkannt wird, kommt auch bei jungen MZ und aktivierten MZ der Haut und in den Haarwurzeln vor.

1.2 Epitheliale Hauttumoren

Die Inzidenz epithelialer Tumoren und ihrer Vorstufen ist weltweit in den letzten Jahren deutlich angestiegen. Hierzu trägt außer der steigenden Lebenserwartung vor allem die vermehrte Sonnenexposition bei. Hinzu kommt, dass diese Tumoren bei immer jüngeren Patienten auftreten (Szeimies et al, 2005).

Sowohl gutartige Läsionen als auch präkanzeröse und maligne Läsionen werden unter dem Begriff epitheliale Tumoren zusammengefasst. Zu gutartigen epithelialen Tumoren der Haut gehören die solare Lentigo, die seborrhoische Keratose, das Klarzellakanthom, das warzige Dyskeratom, die Verruca vulgaris, die Condylomata acuminata und das Molluscum contagiosum. In situ-Karzinome oder Präkanzerosen stellen die Bowenoide Papulose, die aktinische Keratose, und der Morbus Bowen dar. Maligne sind das Basalzellkarzinom, das Keratoakanthom und das Plattenepithelkarzinom (Kerl et al, 2003).

Therapie der Wahl bei den malignen epithelialen Hauttumoren ist am häufigsten die Exzision mit Hilfe mikroskopisch kontrollierter Chirurgie. Diese hat außerdem den Vorteil einer histologischen diagnosehoher Heilungsrate. Zu den weiteren Therapieoptionen gehören: Kürettage, Kryotherapie, Laserbehandlung, Strahlentherapie, photodynamische Therapie und topisches 5-Fluorouacil, Diclofenac-Natrium Gel und Imiquimod. Demnach beschränkt sich die Wahl des geeigneten Therapieverfahrens nicht nur auf Effektivität und Nebenwirkungen, sondern beinhaltet auch Aspekte wie das funktionelle und kosmetische Ergebnis (Szeimies et al, 2005).

Die folgenden epithelialen Tumoren der Haut wurden in dieser Arbeit analysiert:

1.2.1 Seborrhoische Keratose (SK)

(Synonym: Verruca seborrhoica, seborrhoische Warze, Basalzellpapillom)

SK ist ein benigner Tumor der Haut, der normalerweise ab der 5. Lebensdekade auftritt. Es handelt sich um kleine bis fingernagelgroße, in Einzelfällen auch größere, scharf begrenzte, weiche, hautfarbene, braun bis schwarz pigmentierte Akanthopapillome der Haut. Die Oberfläche ist am Anfang matt, gefeldert oder gepunzt und mehr oder minder exophytisch vorgewölbt (Izickson et al, 2002; Rigopoulos et al, 2002).

Es gibt verschiedene mikroskopische Varianten der SK: akanthotisch, hyperkeratotisch, adenoid, retikulär, klonal und entzündlich.

Histologisch präsentiert sich die SK als eine papillomatöse Epithelproliferation mit zumeist exophytischer Ausprägung, Akanthose, keratotischen Hornperlen und Hyperpigmentierung (Neuhaus et al, 2006).

1.2.2 Basalzellkarzinom (BCC)

Das Basalzellkarzinom (BCC) oder Basaliom ist die mit Abstand häufigste bösartige Neoplasie der Haut und auch der weltweit am häufigsten vorkommende Tumor bei hellhäutigen Menschen überhaupt (Diepgen & Mahler, 2002). Es tritt vor allem im sechsten bis achten Lebensjahrzehnt auf. Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Das BCC metastasiert selten. Deshalb wird es als semi-maligner Tumor bezeichnet (Ansarin et al, 2006). Der Sonne exponierte Haut ist am meistens betroffen (Scriveener et al, 2002).

Die von den basalen KZ abgeleiteten Tumoren sind in Knötchen mit peripher palisadenartigen Zellen angeordnet. Hier zeigen sich unauffällige interzelluläre Brücken und eine begrenzte Keratinisation. Es gibt eine direkte Verbindung zur Epidermis und eine peritumorale Stromareaktion. Bei infiltrativen Basalzellkarzinomen zeigen sich kleine hirschgeweiartig verzweigte Tumorzellverbände (Morgan et al, 2000).

Klinische und histologische Eigenschaften sind(Kirkham, 2005):

- Oberflächliches BCC: Knospen und unregelmäßige Verbreitungen des Tumorgewebes angesiedelt an der Unterseite der Epidermis mit Einwachsen in die Dermis;
- Noduläres BCC: umgrenzte Nester der Tumorzellen eingebettet in der Dermis, der häufigste Subtyp;
- Mikronoduläres BCC: Knoten kleiner als 0.15mm im Durchschnitt;
- Infiltratives BCC: unregelmäßige längliche Stränge von Tumorzellen, die in die Dermis eindringen;
- Sklerodermiformes BCC: unregelmäßige längliche Tumorstränge, eingebettet in ein faserreiches, nervenartiges Stroma.

Die nodulären und oberflächlichen Subtypen werden als „nicht-aggressive“ Gruppe von BCC bezeichnet. Da sie vermehrt rezidivieren werden sowohl das sklerodermiforme, das infiltrativ ulzerierte als auch das mikronoduläre BCC der „agressiven“ Gruppe zugeordnet.

1.2.3 Aktinische Keratose (AK)

Die AK ist eine präkanzeröse Läsion der Haut, die meist in chronisch sonnenexponierten Arealen auftritt. Männer sind am häufigsten betroffen. In bis zu 16% der Fälle gehen AK innerhalb von 10 Jahren in spinözelluläre Karzinome über. Histologisch handelt es sich um ein in situ Karzinom. AK können hyperthroph, atroph, bowenoid, akantholytisch oder pigmentiert sein.

Die histopathologische Kriterien der AK beinhalten eine Atrophie der Epidermis, eine Orthohyper- oder Hyperparakeratose, einen Polarisationsverlust, Dyskeratosen, eine aktinische Elastose und atypische KZ (Terada et al, 2003).

1.2.4 Morbus Bowen (MB)

Der MB ist ein intraepidermales Karzinom (carcinoma in-situ), der meist solitär auftritt. Prädilektionsstellen sind außer den chronisch UV-exponierten Arealen die

distalen Extremitäten und der Rumpf. Hier sind besonders häufig die Unterschenkel älterer Frauen betroffen (Szeimies et al, 2005).

MB ist charakterisiert durch eine deutliche Akanthose mit eher geringer Hyperparakeratose, aufgehobener Architektur der Epidermis, Einbeziehung der Follikelostien, scharfer Abgrenzung zur Dermis und einem zytologisch bunten Bild mit Kernpleomorphien, Kernpyknosen, multinukleären Riesenzellen, atypischen Mitosen und Einzelzelldyskeratosen. Die atypischen KZ sind in allen Epidermislagen mit Ausnahme des Basalzell-Lagers zu beobachten (Kerl et al, 2003).

1.2.5 Keratoakanthom (KA)

Das KA ist ein rasch wachsender und nach Monaten spontan regredierender Tumor mit zentralem Hornkrater und invasivem epitheliales Wachstum. In 90% der Fälle treten KA in lichtexponierten Hautarealen auf.

Vier Varianten des KA sind bekannt, und zwar solitäre, multiple, destruierend wachsende sowie Genodermatose assoziierte. Im Rahmen dieser Untersuchung konzentriere ich mich ausschließlich nur auf das solitäre KA.

Da das KA histologisch dem PEC sehr ähnlich ist, betrachten mehrere Autoren das KA als eine distinkte Variante des PEC. Histologisch charakteristisch sind der zentral horngefüllte Krater oder eine Invagination, eine periphere lippenförmige Proliferation der KZ, Mitosen, Kernpleomorphie, ausgeprägte Keratinisation mit Einzelzelldyskeratosen und Hornperlen, ein begleitendes Entzündungs-Infiltrat, und/oder intratumorale Mikroabszesse mit eosinophilen und neutrophilen Granulozyten (Kerl et al, 2003).

1.2.6 Plattenepithelkarzinom (PEC)

Das PEC - auch bekannt als Spinaliom oder Spinozelluläres Karzinom - ist der zweithäufigste maligne Tumor der Haut mit stetig steigender Inzidenz. Es entsteht in über 90% im Kopf-Hals Bereich (Dannemann, 2007) und geht fast immer aus typischen Präkanzerosen (aktinische Keratose, Morbus Bowen, u.a.) hervor. Die

lymphogene Metastasierung erfolgt meist spät und Fernmetastasen treten sehr selten auf.

PEC liegen sowohl als differenzierte aber auch als entdifferenzierte Tumoren vor. Der Grad der Differenzierung wird im Grading ausgedrückt.

G1	Gut differenziert
G2	Mäßig differenziert
G3	Schlecht differenziert
G4	Entdifferenziert
Gx	Differenzierungsgrad kann nicht genauer beschrieben werden

Tabelle 1 Differenzierungsgrad plattenepithelialer Tumoren

Spinaliomzellen sind groß und zytoplasmareich. Sie ähneln den KZ des Stratum spinosum. Je differenzierter das Spinaliom desto stärker ist die Neigung zur Verhornung. Hornperlen, atypische KZ, Hyperplasie und Hyperchromasie der Zellen sowie atypische Mitosen werden ebenfalls gefunden. Darüber hinaus finden sich gemischtzellige Infiltrate in der Tumorumgebung (Jung, 1998).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Identifizierung und Charakterisierung der MZ in verschiedenen epithelialen Hauttumoren. Es geht vor allem um die zentrale Frage, in welchen ob und in wie weit MZ in den untersuchten epithelialen Hauttumoren vorkommen, ob diese eine Aktivierung zeigen und ob die Präsenz der MZ mit der Pigmentierung der Tumoren korreliert. Schließlich interessiere mich die Frage der gegenseitige Regulierung KZ-MZ.

2. Material und Methoden

2.1 Methoden

Aus dem Zeitraum von Juni 2006 bis Juni 2007 wurden histologische Präparate mit vorliegenden histologischen und klinischen Befunden von epithelialen Hauttumoren aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie des Universitäts-Klinikums Würzburg untersucht. Hierzu gehören: 40 Basalzellkarzinome, 20 Plattenepithelkarzinome, 20 seborrhoische Keratosen, 9 Morbi Bowen, 7 aktinische Keratosen, und 5 Kerathoakantome.

Das Patientenkollektiv bestand aus 28 Frauen und 69 Männern mit einem durchschnittlichen Alter von 69,44 Jahren (Spannweite 29 bis 87 Jahre).

Alle Tumore wurden im Gesunden exzidiert, deshalb konnten die tumorfreien Spitzen als Kontrolle benutzt werden.

Die Melaninfärbung, Melan-A/MART-1 (Dako, M7196, Glostrup, Denmark), HMB-45 (Dako, N1545, Carpinteria, CA, USA) und die Immunhistologien wurden in den Laboratorien für Histologie und Autoimmundiagnostik der Hautklinik Würzburg von mir selbstständig durchgeführt.

Da die Färbungen sehr heterogen auf einem Präparat verteilt waren, wurde die Auszählung den gefärbten Zellen pro 1000 Tumorzellen in 3 verschiedenen Flächen des Tumors durchgeführt. Um einen Durchschnittswert zu erzielen, wurden diese Werte summiert und durch drei geteilt. Wenn der Schnitt aber weniger als 1000 Tumorzellen enthielt, wurden die Werte proportional hochgerechnet. Wurden beispielsweise nur zehn Zellen in 500 angefärbt, wurde der Wert von 20 pro 1000 angenommen.

2.2 Gewebeproben

Die in dieser Arbeit untersuchten Gewebeproben wurden in Rahmen der histologischen Routinediagnostik operativ entfernt.

Die entsprechenden Paraffin-Blöcke wurden in 4 mikrometerdicke Präparate Schnitte geschnitten. Anschließend wurden sie auf beschichtete Objektträger SuperFrost® (Teningen) übertragen und wurden sie nach 20 Minuten im Brutschrank entparaffinisiert. Anschließend wurde gefärbt.

2.3 Melaninfärbung

Es wurde die nach Stämmler modifizierte Melaninfärbung benutzt. Die ammoniakalische Silberlösung von Bielschowsky wurde vorbereitet: 10 mL 10%ige Silbernitrat und 2 mL 10% Kalilauge schütteln, dann tropfenweise starken Ammoniak zusetzen bis der Niederschlag völlig gelöst ist. Tropfenweise wurde 10%ige Silbernitrat dazugegeben, bis sich der auftretende Niederschlag nur noch schwer löst und wurde um das Doppelte mit destilliertem Wasser verdünnt.

Danach wurde die Lösung gekocht, filtriert und im lauwarmen Zustand auf den aufgezogenen, entparaffinierten Schnitt gegossen. Nach drei Minuten wurde die Lösung abgegossen, der Schnitt in destilliertem Wasser gespült und für 30 Sekunden in 5%ige Natriumthiosulfatlösung gestellt. Daraufhin wurde der Schnitt in Leitungswasser für ein bis zwei Stunden gewässert. Letztendlich blieb dieser in Kernechrot für sechs Minuten und wurde dann in Ethanol und Xylol entwässert (Roulet, 1948). Wenn eine Probe positiv war, färbte sie sich dunkelbraun bis schwarz.

2.4 Immunohistochemie

Für die Immunhistochemie wurde DAKO LSAB™+/ HRP-Kit, Code-Nr. K 0679 benutzt.

2.4.1 Melan-A/ MART-1 (Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Dako M7196, Glostrup, Denmark)

Melan-A, isoliert als ein Melanom-spezifisches Antigen, ist ein Transmembranprotein mit ungeklärter Funktion, welches aus 118 Aminosäuren besteht (Chen et al, 1996). Das Gen A103 für Melan-A wurde aus einer humanen Melanomzelllinie geklont.

Seine Expression auf Melanomen wird von autologen zytotoxischen T-Zellen erkannt (Coulie et al, 1994). Melan-A wird auf Pigmentzellen der Haut, der Netzhaut, auf der Mehrzahl in Kultur angezüchteter Melanozyten und auf Melanomen exprimiert, während die überwiegende Mehrzahl anderer untersuchten Gewebe und Karzinome Melan-A nicht exprimiert (Chen et al, 1996; Coulie et al, 1994; Kawakami et al, 1994). Melan-A wird hingegen in Angiomyolipomen und steroidproduzierende Tumoren exprimiert (Jungbluth et al, 1999).

Das Zytoplasma wird sowohl von neoplastischen MZ in Melanomen, mit Ausnahme des desmoplastischen Subtyps, als auch von normalen MZ angefärbt. Die Sensitivität für MZ steht zwischen der von S-100 und HMB-45 (Coulie et al, 1994; Kawakami et al, 1994; Clarckson, 2001).

Der Antikörper wurde auf 1: 90 verdünnt. Die Schnitte wurden 25 Minuten in pH 9 im Dampftopf gekocht, bevor sie mit Melan-A/MART-1 beschichtet wurden.

2.4.2 HMB-45 (Monoclonal Mouse Anti-Human Melanosome, Dako N1545, Carpinteria, CA, USA)

Der HMB-45-Antikörper markiert ein zytoplasmatisches Antigen. Ultrastrukturelle Untersuchungen indentifizierten die Antigenbildungsstelle des HMB-45-Antikörpers in Melanosomen der Stadien 1 und 2 sowie in den nicht melanisierten Anteilen der Stadium 3- Melanosomen in pigmentierten Naevomelanozyten und in Keratinozyten. (Schaumburg-Lever et al, 1991; Taatjes et al, 1993). Das Antigen ist eine neuraminidasesensitive Oligosaccharidseitenkette eines Glykokonjugats vom Molekulargewicht 100 kiloDalton (gp 100). Es ist recht spezifisch für Melanome. In blauen Nävi, Melanomen, melanotischen Schwannomen, Klarzellsarkomen, Angiomyolipomen der Niere und in Lymphangioliomyomen ist das Antigen ebenfalls im Gegensatz zu desmoplastischen Melanomen enthalten (Gown et al, 1986). MZ, die für die Pigmentbildung aktiviert sind, werden generell angefärbt (Lommel et al, 1996). In normaler Epidermis färben sich allenfalls einige wenige MZ mit HMB-45 an. Es wurde für den Gebrauch fertig hergestelltes HMB-45 (ohne Verdünnung) verwendet. Die Schnitte wurden zuvor 25 Minuten in pH 6 im Dampftopf gekocht.

2.4.3 „Heat Induced Epitope Retrieval“-Methode

Die ist eine Methode, in der eine feuchte Hitze für die Antigendemakierung in Paraffinschnitten genutzt wird (Kerl et al, 2003).

Die entparaffinierte Schnitte wurden in einem Dampftopf für 25 Minuten in Puffer gekocht (Melan-A/MART-1 in pH 9 und HMB-45 in pH 6) und für 10 Minuten abgekühlt. Danach werden sie in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) (Merck, Darmstadt) gespült. Die Schnitte wurden dann 25 Minuten mit Melan-A/MART-1 (Dako M7196, 1:90 verdünnt) bzw. HMB-45 (Dako H7091, ohne Verdünnung) inkubiert, gefolgt von zwei Waschgängen mit PBS nach einer 25 minütigen Inkubation mit biotinylierten sekundären Antikörpern. Nach zwei weiteren Wäschen mit PBS, wurden die Schnitte 5 bis 10 Minuten in endogene Peroxidase-Blocking Lösung (Dako) und zwei Mal in PBS gewaschen. Der nächste Schritt war die Inkubation für 25 Minuten mit Streptavidin-Meerrettich Peroxidase (Dako), zwei weiteren Waschgängen mit PBS. Anschließend wurde dann nach 15 Minuten die Bindung der Antikörper mit 3-amino-9-Ethylcarbazol Substrat (AEC) (Dako) visualisiert. Im nächsten Schritt wurden die Schnitte in destilliertem Wasser kurz gespült, eine Minute in Hämalaun (als Gegenfärbung) gestellt, für fünf bis zehn Minuten in Leitungswasser gewässert und mit Aquatex (Merck, Darmstadt, Deutschland) eingedeckt.

Antigen	Antikörper	Verdünnung	Quelle
Melan-A/MART-1	A103	1:90	Dako, Glostrup, Denmark
„Melanom spezifisches Antigen“	HMB-45	fertige Produkt	Dako, Carpinteria, CA, USA

Tabelle 2 Zur Durchführung der Immunohistochemie verwendete Antikörper.

Die Intensität und Verteilung der Zellen mit den Färbungen wurde semi-quantitativ ausgewertet. Alle markierten KZ und MZ wurden in den Präparaten in einer 400-fachen Vergrößerung ausgezählt.

Für die statistischen Berechnungen habe ich die ausgesuchten Fälle nach Art des Tumors aufgeteilt und sie miteinander verglichen. Ergänzend habe ich mich bei den BCC noch auf den histologischen Subtypen konzentriert.

Zwei von einander unabhängige Personen haben die Ergebnisse kontrolliert.

2.5 Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS, Version 14.0.2. Es wurden keine parametrischen statistischen Tests angewendet.

Zum Vergleich zwischen zwei abhängigen Stichproben wurde der Friedman-Test verwendet. Mit dem Posthoc-Test (Wilcoxon) wurde herausgefunden, wo die Unterschiede lagen. Um mehr als zwei unabhängige Stichproben zu vergleichen, wurde der Kruskal-Wallis-Test benutzt. Die Interpretation des Kruskal-Wallis-Tests ist grundsätzlich mit der parametrischen einfaktoriellen ANOVA identisch, bis auf die Tatsache, dass der Kruskal-Wallis-Test auf Rängen anstatt auf Mittelwerten basiert.

Signifikanz

Jeder Test liefert einen p-Wert ($p = \text{probability}$), der an seiner Signifikanzschranke gemessen wird. Einen p-Wert, der unterhalb dieser Schranke liegt, nennt man signifikant. Hier galt ein p-Wert $< 0,05$ als signifikant.

3. Ergebnisse

3.1 Allgemein

Insgesamt wurden 101 Gewebeproben, welche 303 Färbungen ergeben, ausgewertet. In der Melaninfärbung sind die KZ, welche das Melaninpigment von MZ bekommen, positiv, wenn sie sich schwarz anfärben lassen. Von 242 immunhistologisch bearbeiteten Schnitten waren 202 auswertbar. Gefärbte MZ stellten sich als dendritische Zellen im Epithel dar (Abbildung 1).

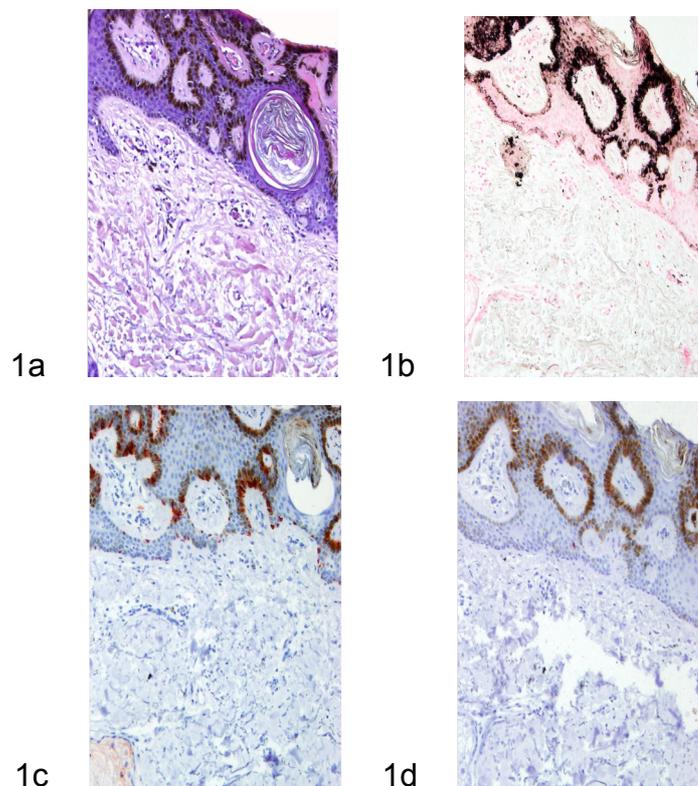


Abbildung 1 Pigmentierte Verruca seborrhoeica: Vergleich zwischen einer HE-Färbung (1a) und der Melaninfärbung (1b). Die KZ sind schwarz angefärbt. Melan-A/Mart-1 (1c) und HMB-45 (1d). Die MZ sind dunkelrot bis braun angefärbt.

Obwohl in der Statistik Ränge-Tests eingesetzt wurden, wurden die Ergebnisse aus Gründen der Übersichtlichkeit und zur Veranschaulichung der Tendenz deskriptiv auch als Mittelwert angegeben.

Die Tabelle 3 zeigt die Zahl von gefärbten Tumorzellen pro 1000 Zellen je histologischen Subtypen. Ergänzend wurde anatomische Lokalisation beschrieben.

Auszählung pro 1000 Tumorzellen			Anatomische Lokalisation
<i>SK, n=20</i>			
Melani n	Melan-A/ Mart-1	HMB- 45	
806,67	15	6	Rücken
766,67	39,33	29,67	Schulter
301,67	30,67	25	Infraorbital
800	58	54	Ohr
896,67	92,67	40,67	Schläfe
890	38	1,5	Schläfe
890	39	11	Schläfe
800	130	64	Interskapulär
911,67	49	14	Schulter
670	24,33	8,33	OS
966,67	30,67	11,67	UA
100	10	15,33	Axilla
905	73,5	5	OS Dorsal
39,67	20,33	9	Unterbauch
16,33	45	9,33	Stirn
9	39,67	10,67	Rippenbogen
13,67	26,33	23,33	Nasenflügel
12,33	33	8	Schulter
30,67	16,5	25	Stirn
67,33	18,33	12,33	Schulter
<i>Noduläres BCC, n=12</i>			
3,33	75	30,33	Stirn
930	45,33	45	UA
0	46	12,33	Nasenrücken
0	43,33	46,67	Nasenabhang
0	12	8	Brust
0	66,67	22	Supraorbital

0	90,5	59	Augenoberlid
152,33	76	80	Skapula
5	38	41	Wange
0	3,5	0	Stirn
0	15,33	0	UA
60	56	40	Hals
<i>Oberflächliches BCC, n=8</i>			
1	83	23	Rücken
13	20	7	Kinn
8	57,27	45,33	Schläfe
70	120	80	Kapillitium
10	37,33	10,67	Schulter
0	58,67	10,67	Nacken
0	15,67	19	US
0	15	12,33	Retroaurikulär
<i>Mikronoduläres BCC, n=8</i>			
3	29	10	Nasentrücken
0,67	20,67	5	Stirn
4,5	26	7	Nasenflügel
9	44	16	Thorax medial
7,67	70,33	16	Schulter
0,67	62	9,33	Wange
1,67	10	10,33	Nasenflügel
4,33	29	16,33	Nasenabhang
<i>Infiltrativ ulzeriertes BCC, n=5</i>			
7	30	17,33	Schulter
0	12,5	11	Thorakal
8	35,33	42	Wade
0	39,67	45	Schläfe
1	35	15,33	Nasenspitze
<i>Aktinische Keratose, n=7</i>			
54	21	7,5	Handrücken
700	700	100	Schläfe

26,67	27,33	18,33	US
0	14	2	Schläfe
13,33	14,67	12	Handrücken
0	300	500	Stirn
80	96	60	Ohr
<i>Morbus Bowen, n=9</i>			
24,67	24,33	20	Präaurikulär
0,67	23	22	Hochparietal
0,33	26	29	Hochparietal
12	32	18	Wange
0,67	22	15	Schläfe
9	24	18	Handrücken
3	18	21	US
8	20,33	16	Handrücken
58	60	62	Schläfe
<i>Keratoakanthom, n=5</i>			
0	11,67	16,67	OS
5	41	13,67	UA
22	23	11	UA
4,33	13	13	Wange
0,33	10	8	Schläfe
<i>PEC, n=20</i>			
3,33	6,33	5	Kieferwinkel
0	6,67	9	Ohrhelix
3,33	11	8,33	Stirn
0	9,33	9,33	US
0	22,33	7	US
0	9,67	11,33	Stirn
0	17	16,33	Präaurikulär
2,67	15	13	Nasenflügel
0	10,33	5,33	Wange
0,67	20,33	12	Ohrhelix
0	0	0	Kapillitium

0	9	4,67	Hochparietal
0	2	0	Okzipital
0	21,67	10	Ohrmuschel
0	2,67	4	OA
0	19	4	Wange
0	19	2,33	Stirn
0	4,67	4,67	Hochparietal
2	19,67	21,33	Wange
0	9,33	14,67	UA

Tabelle 3 Auszählung der gefärbten Zellen und die anatomische Lokalisation der Läsionen.

Mehr als 2/3 (70,3%) der Läsionen waren im Kopf-Hals-Bereich lokalisiert. Es gab keine Korrelation zwischen der Melanozytenanzahl und der anatomischen Lokalisation.

Nach zweimaliger mikroskopischer Untersuchung wurden die Werte zusammengefasst, dann pro n (n = Gesamtprobe) geteilt, so dass sich ein einziger Mittelwert pro Färbung pro Tumortyp ergab (Tabelle 4).

Hauttumor	Melanin/KZ	Mart-1/MZ	HMB-45/MZ
SK	494,70	41,47	19,19
BCC	32,78	41	24,1
AK	124,86	167,57	99,98
MB	12,93	27,74	24,56
KA	6,33	19,73	12,47
PEC	0,6	11,75	8,11

Tabelle 4 Zusammenfassung der Mittelwerte der gefärbten Zellen pro 1000 Tumorzellen.

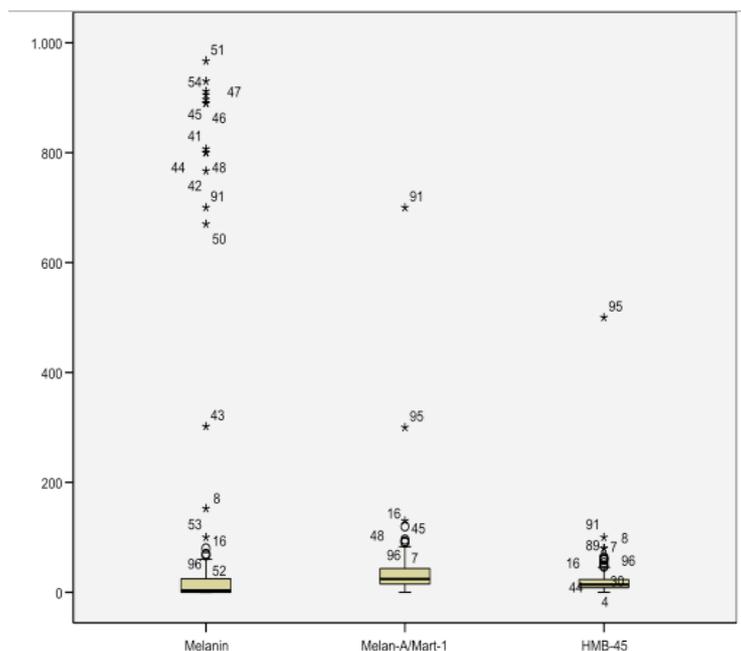
Da die Werte sehr unterschiedlich waren, wurde der Median auch dargestellt (Tabelle 5).

Hauttumor	Melanin/KZ	Mart-1/MZ	HMB-45/MZ
SK	718,33	35,5	12
BCC	1,33	36,33	16,16
AK	26,67	27,33	18,33
MB	8	24	20
KA	4,33	13	13
PEC	0	10	7,66

Tabelle 5 Zusammenfassung der Medianwerte den gefärbten Zellen pro 1000 Tumorzellen in den unterschiedlichen Tumortypen.

Mit dem Boxplot (Box-Whiskers-Plott) Diagramm können wir die verschiedenen Maße der zentralen Tendenz, Streuung und Schiefe zusammenfassen. Unabhängig von Tumortyp, vergleich Grafik 1, stellen die numerischen Daten in Bezug auf die drei Färbungen, Melanin, Melan-A/MART-1 und HMB-45 dar.

Beim Vergleich der Färbungen miteinander zeigte sich, dass die Zellen Melan-A/MART-1 stark exprimieren ($p=0,002$ bzw. $p=0,000$). Die Melaninfärbung war in vielen der untersuchten Tumoren negativ – mit Ausnahme der seborrhoischen Keratosen.



Grafik 1 Boxplots der unterschiedlichen Färbungen.

Es wurde keine Verbindung zwischen der Pigmentierung des Tumors, der Melanin Expression und der Zahl von gefärbten MZ in Melan-A/MART-1 und HMB-45 festgestellt.

Melan-A/MART-1 positive MZ waren insgesamt häufig in den epithelialen Tumoren zu finden. Auf der anderen Seite war HMB-45 weniger positiv.

Der Unterschied zwischen den einzelnen Färbungen (Friedman-Test) war signifikant ($p=0,000$) (Tabelle 6).

N	101
Chi-Quadrat	55,018
df	2
Asymptotische Signifikanz (p)	,000

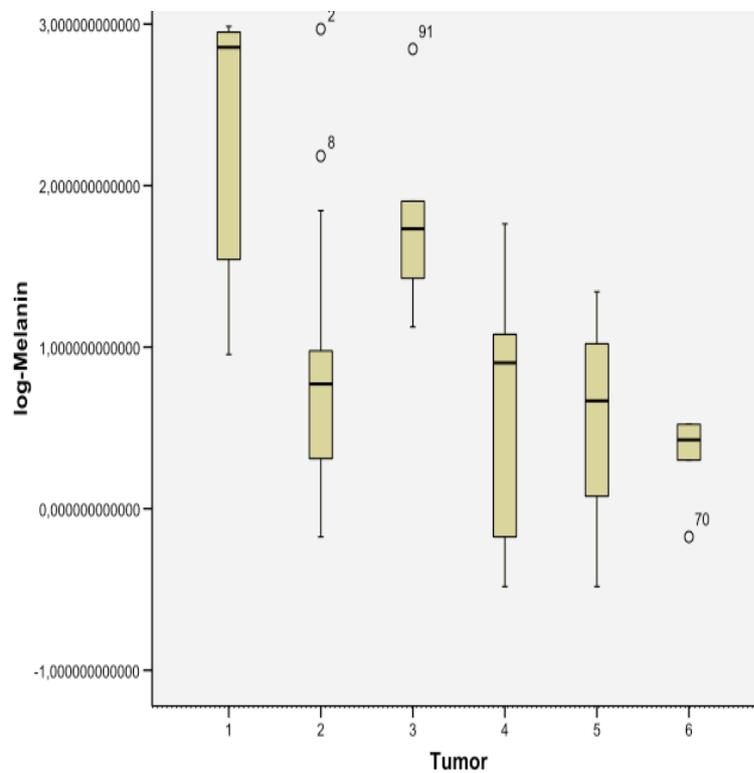
Tabelle 6 Statistik für Friedman-Test.

3.2 Färbungen

3.2.1 Melaninfärbung

Meist waren die Tumorzellen negativ in der Melanin-färbung. Die pigmentierten Tumoren zeigten erhöhte Zahlen von Melanin positiven Zellen. Hier fand der Kruskal-Wallis-Test Anwendung.

Am häufigsten waren AK und SK pigmentiert. Diese waren stark positiv für Melanin (Grafik 2 und Tabelle 7). Die Ergebnisse des Vergleiches waren signifikant ($p=0,000$, Tabelle 8).



1- SK; 2-BCC; 3-AK; 4-MB; 5-KA; 6-PEC

Grafik 2 Boxplots für Melaninfärbung in allen unterschiedlichen Tumoren (in Logarithm).

Färbung	Tumor	N	Standardabweichun
			g
Melanin	SK	20	±407,46
	BCC	40	±148,01
	AK	7	±255,30
	MB	9	±18,60
	KA	5	±9,04
	PEC	20	±1,18

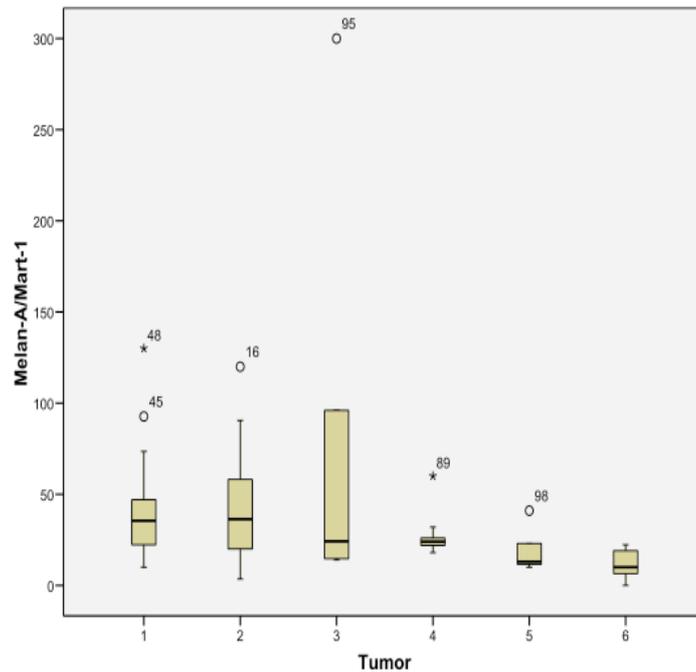
Tabelle 7 Streuung für Melanin gefärbten Zellen

	Melanin
Chi-Quadrat	52,914
df	5
Asymptotische Signifikanz (p)	,000

Tabelle 8 Statistik für den Kruskal-Wallis- Test

3.2.2 Melan-A/MART-1

Melan-A/MART-1 wurde am stärksten bei SK, BCC und AK exprimiert. In diesen Tumortypen waren die gefärbten MZ normalerweise diffus verteilt. Im Gegensatz dazu zeigten sich bei PEC am wenigsten angefärbten Zellen (Grafik 4).



1-SK; 2-BCC; 3-AK; 4-MB; 5-KA;6-PEC.

Grafik 4 Boxplots für MELAN-A/MART-1 in allen Tumortypen.

Färbung	Tumor	N	Standardabweichung
Melan-A/ Mart-1	SK	20	±28,99
	BCC	40	±26,52
	AK	7	±256,34
	MB	9	±12,71
	KA	5	±12,92
	PEC	20	±7,02

Tabelle 9 Streuung den angefärbten MZ mit Melan-A/ Mart-1.

Obwohl die Melaninfärbung häufig in den Tumorzellen negativ war, stellte sich die Melan-A/MART-1-Färbung in fast allen Fälle positiv dar.

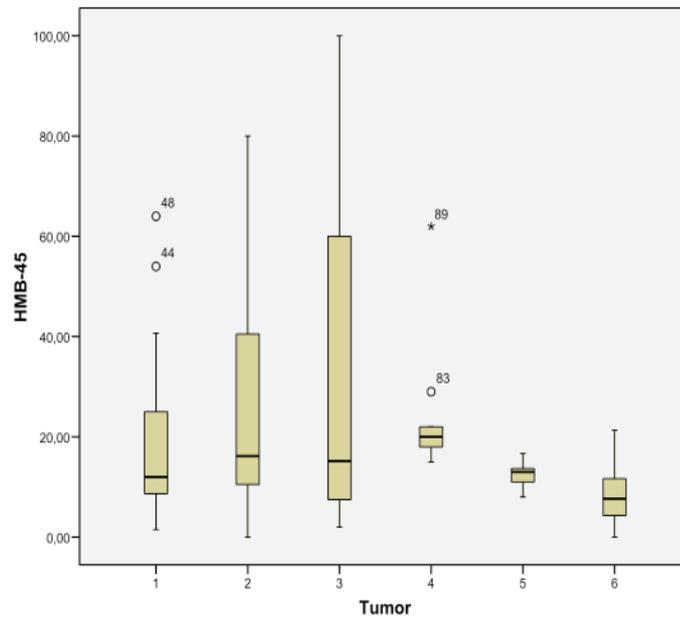
Der Kruskal-Wallis-Test zeigte, dass der Unterschied zwischen den Tumortypen bezog sich auf Melan-A/ Mart-1 signifikant war ($p=0,000$, Tabelle 10).

	Melan-A/Mart-1
Chi-Quadrat	33,179
df	5
Asymptotische Signifikanz	,000

Tabelle 10 Statistik für den Kruskal-Wallis-Test

3.2.3 HMB-45

Die aktivierten MZ (HMB-45) färbten sich am stärksten bei AK, MB und BCC an. Obwohl HMB-45 bei allen Tumortypen positiv war, war die Auszählung vom HMB-45-positiven-MZ deutlich geringer als bei Melan-A/MART-1. Die Ergebnisse des Kruskal-Wallis-Test und die Streuung sind in Grafik 5 und in der Tabelle 11 dargestellt. Der Unterschied zwischen den einzelnen Tumortypen war signifikant ($p=0,001$, Tabelle 12).



1-SK; 2-BCC; 3-AK; 4-MB; 5-KA; 6-PEC.

Grafik 5 Boxplots für HMB-45 in allen Tumortypen

Färbung	Tumor	N	Standardabweichun g
HMB-45	SK	20	±16,69
	BCC	40	±20,09
	AK	7	±179,89
	MB	9	±14,63
	KA	5	±3,22
	PEC	20	±5,53

Tabelle 11 Streuung den angefärbten MZ mit HMB-45

	HMB-45
Chi-Quadrat	21,015
df	5
Asymptotische Signifikanz (p)	,001

Tabelle 12 Statistik für den Kruskal-Wallis-Test

3.3 Expression von Melanin, Melan-A/MART-1 und HMB-45 in epithelialen Hauttumoren

3.3.1 Seborrhoische Keratose

Bei 14 von 20 untersuchten SK war schon makroskopisch eine Pigmentierung sichtbar. Von allen epithelialen Tumoren exprimierte die SK am stärksten Melanin. Aber Melan-A/MART-1 und HMB-45 wurden nicht so stark positiv festgestellt. Darüber hinaus war HMB-45 deutlich schwächer positiv als Melan-A/Mart-1 (Abbildung 2).

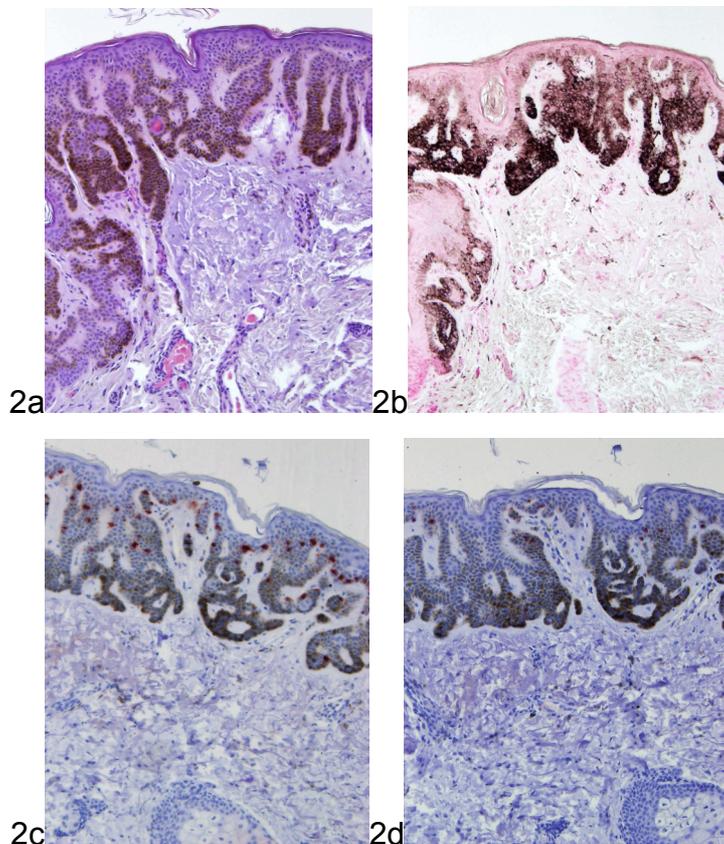


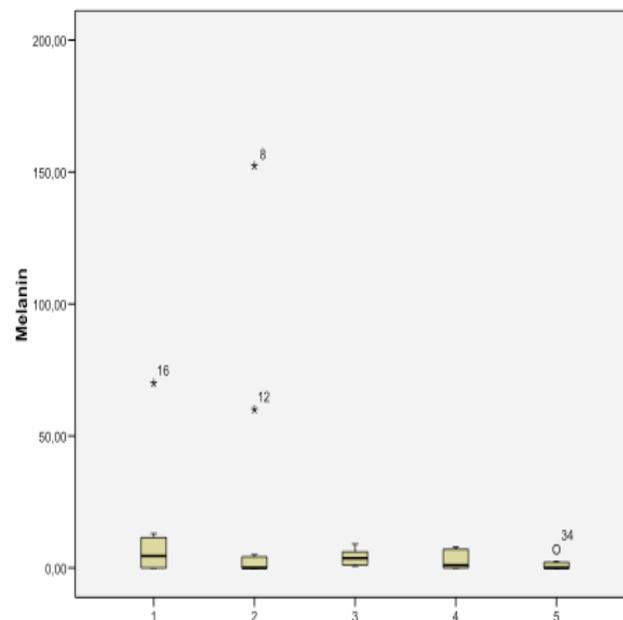
Abbildung 2 (Vergrößerung 100x) Pigmentierte SK in der HE-Färbung (2a); stark positiv für Melanin (2b), allerdings nur vereinzelte MZ exprimieren Melan-A/Mart-1 (2c) und noch weniger sind positiv für HMB-45 (2d).

3.3.2 Basalzellkarzinom

Melan-A/MART-1 und HMB-45 positive Zellen waren insgesamt häufig in BCC. Aber bei den histologischen BCC Subtypen zeigte sich ein Unterschied zwischen den einzelnen Immunfärbungen.

Die schwach positive Melaninfärbung (Ausnahme: pigmentiertes BCC) stand in keiner Verbindung mit der Anwesenheit von MZ zwischen den Tumorzellen. MZ bzw. aktivierte MZ konnten in allen histologischen BCC Subtypen mit Melan-A/MART-1 oder HMB-45 identifiziert werden.

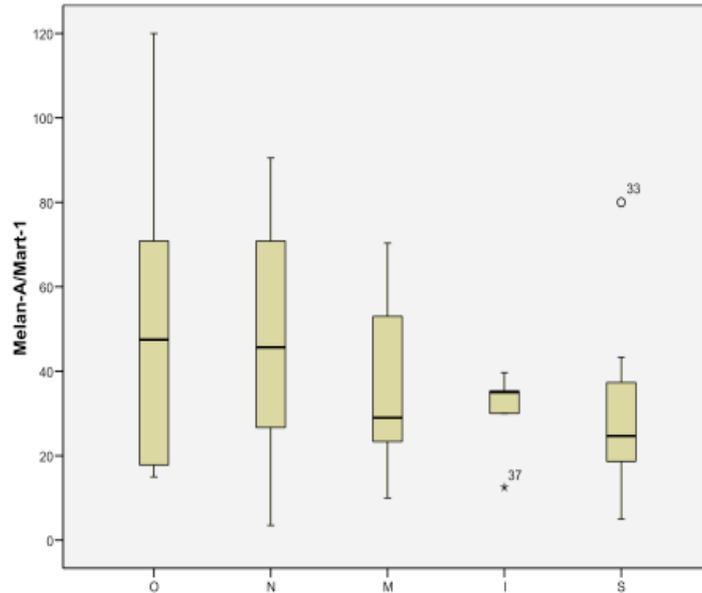
Melanin war am stärksten positiv bei den nodulären BCC. Die drei „Ausreißer“ entsprechen den drei pigmentierten BCC (2 noduläre und 1 oberflächliches). Die Melaninfärbung war in den anderen negativ (Grafik 6).



1-Oberflächlich; 2-Nodulär; 3-Mikronodulär; 4- Ulzeriert infiltrativ wachsend; 5-Sklerodermiformis

Grafik 6 Boxplots aller Subtypen von BCC für Melanin

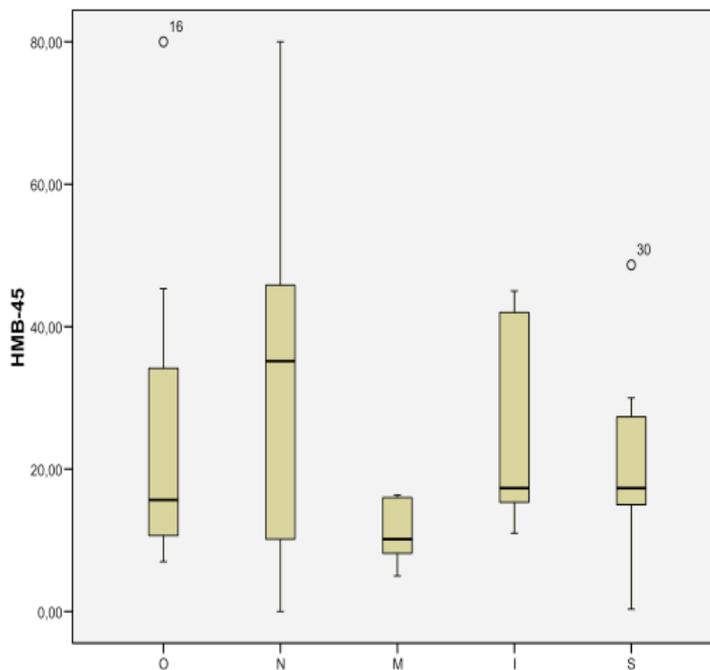
Das noduläre und oberflächliche BCC (die sog. nicht „aggressiven BCC“) waren am stärksten positiv für Melan-A/MART-1. In 100% der Fälle war Melan-A/MART-1 positiv (Grafik 7).



O-Oberflächlich; N-Nodulär; M-Mikronodulär; I- Infiltrativ wachsend; S- Sklerodermiformis

Grafik 7 Boxplots aller Subtypen von BCC für Melan-A/MART-1

Die MZ der mikronodulären BCC waren am schwächsten für HMB-45 angefärbt. Die nodulären, sklerodermiformen und ulzerierend infiltrativen BCC exprimierten am stärksten HMB-45. Auch hier waren alle Präparate HMB-45 positiv (Grafik 8).



O-Oberflächlich; N-Nodulär; M-Mikronodulär; I- Infiltrativ wachsend; S-Sklerodermiformis

Grafik 8 Boxplots aller Subtypen von BCC für HMB-45

Die 3 pigmentierten BCC waren stark positiv für Melanin (ca 20% der Tumorzellen), aber weniger positiv für Melan-A/MART-1 (ca 8% der Tumorzellen) und HMB-45 (ca 6% den Tumorzellen).

Die Gruppe der „aggressiven BCC“ zu der die infiltrativen, mikronodulären und sklerodermiformen BCC Subtypen gehören, zeigte fast keinen Unterschied zwischen die Expression für Melan-A/MART-1 und HMB-45 (Tabelle 13).

Die Unterschiede zwischen den gefärbten MZ in den verschiedenen BCC Subtypen waren nicht signifikant für Melanin und Melan-A/MART-1 ($p > 0,05$) (Tabelle 14).

Färbung	Subtypen	N	Mittelwert
Melanin	Nodulär	12	95,47
	Oberflächlich	8	12,75
	Mikronodulär	8	3,94,
	Ulzeriert Infiltrativ	5	1,59
	Sklerodermiformis	7	3,2
	<i>Gesamt</i>	40	28,51
Melan-A/ Mart-1	Nodulär		43,37
		12	
	Oberflächlich	8	50,92
	Mikronodulär	8	37,87
	Ulzeriert infiltrativ	5	31,66
	Sklerodermiformis	7	30,5
	<i>Gesamt</i>	40	40,24
HMB-45	Nodulär	12	18,28

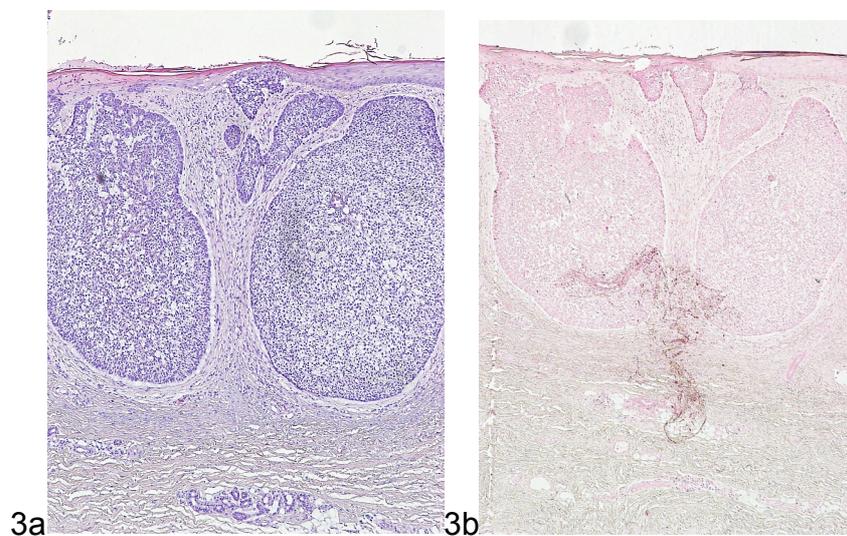
Oberflächlich	8	26
Mikronodulär	8	11,25
Ulzeriert infiltrativ	5	21,57
Sklerodermiformis	7	26,13
<i>Gesamt</i>	<i>40</i>	<i>20,89</i>

Tabelle 13 Mittelwerte der gefärbten MZ in den verschiedenen BCC Subtypen

	Melanin	Melan- A/Mart-1	HMB-45
Chi-Quadrat	3,291	2,879	5,745
df	4	4	4
Asymptotische Signifikanz	,510	,578	,219

Tabelle 14 Statistik für den Kruskal-Wallis-Test

Die Verteilung der MZ war insgesamt diffus. Melan-A/MART-1 zeigte sich im Zentrum des Tumors und/oder an dessen Rändern, insbesondere in den palisadenartigen Zellen in der Basalschicht. Die MZ waren weniger positiv für HMB-45 und schwach positiv oder negativ für Melanin (s. Abbildungen 3, 4, 5, 6, 7 und 8).



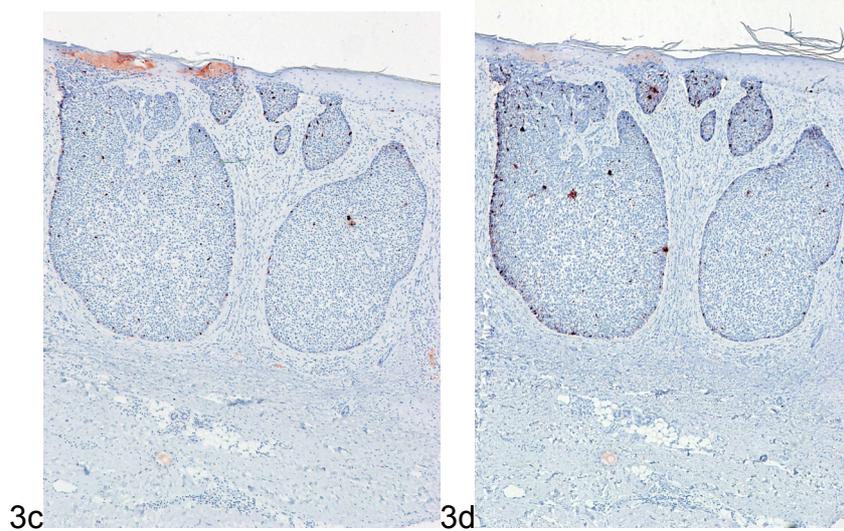


Abbildung 3 (Vergrößerung 40x) Noduläres BCC mit HE (3a); schwach positiv für Melanin (3b), schwach positiv mit Melan-A/MART-1 (3c) und HMB-45 (3d). Je näher zu der normalen Epidermis, desto stärker wird die Positivität zu den Immunofärbungen.

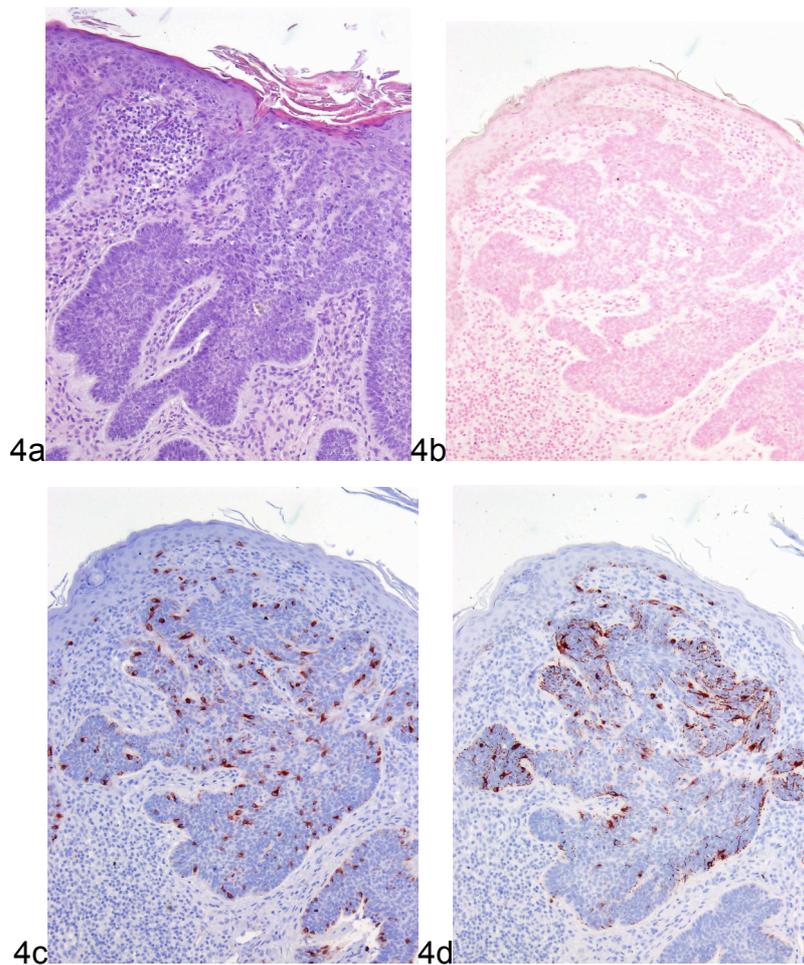


Abbildung 4 (Vergrößerung 100x) Typisches Muster eines nodulären BCC: negativ für Melanin (4b), stark positiv für Melan-A/MART-1 (4c) und HMB-45 (4d).

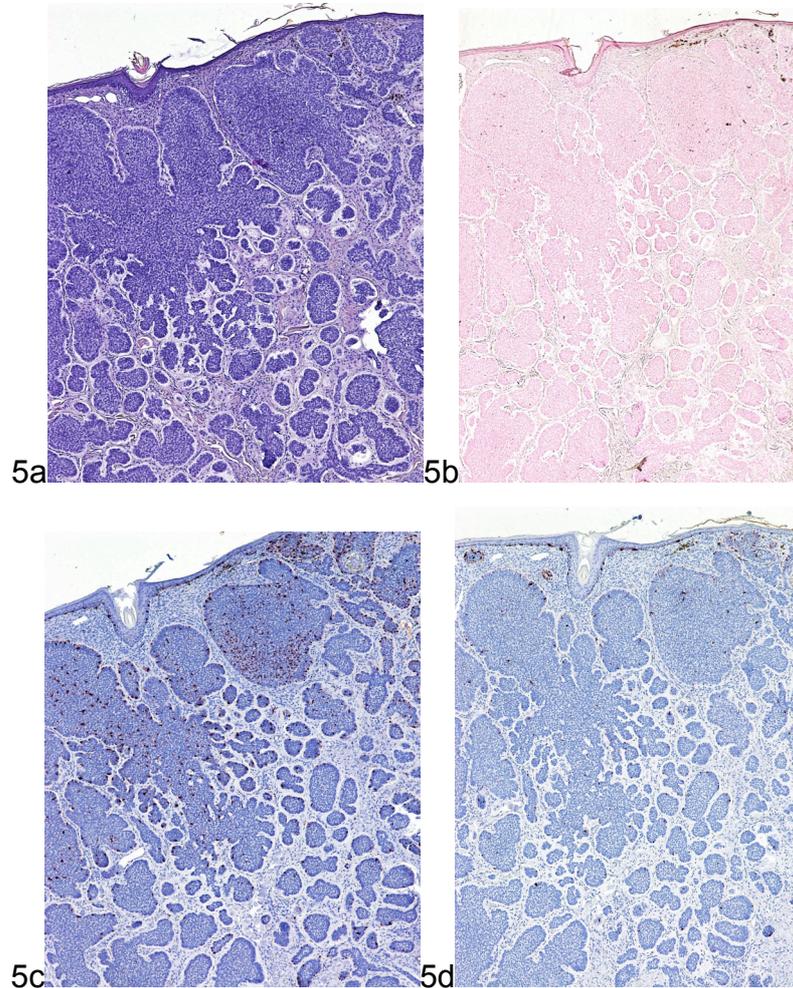


Abbildung 5 (Vergrößerung 40x) Mikronoduläres BCC (5a) negativ für Melanin (5b), aber stark positiv für Melan-A/MART-1 (5c) und mit nur vereinzelt HMB-45-positiven MZ (5d).

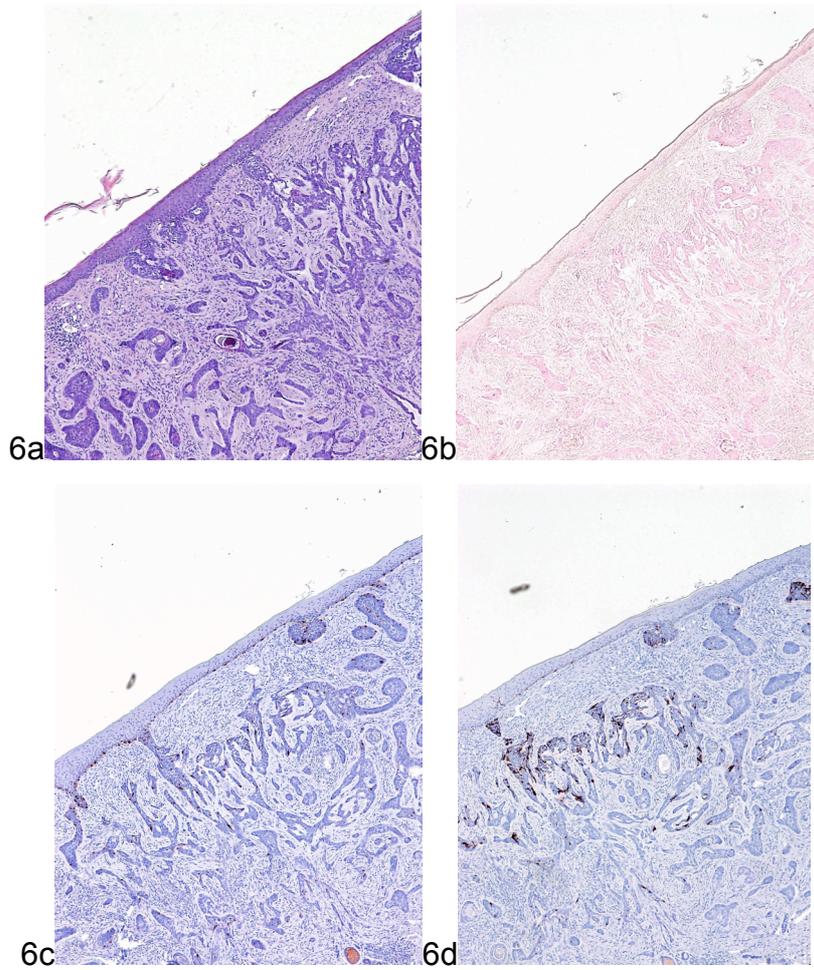
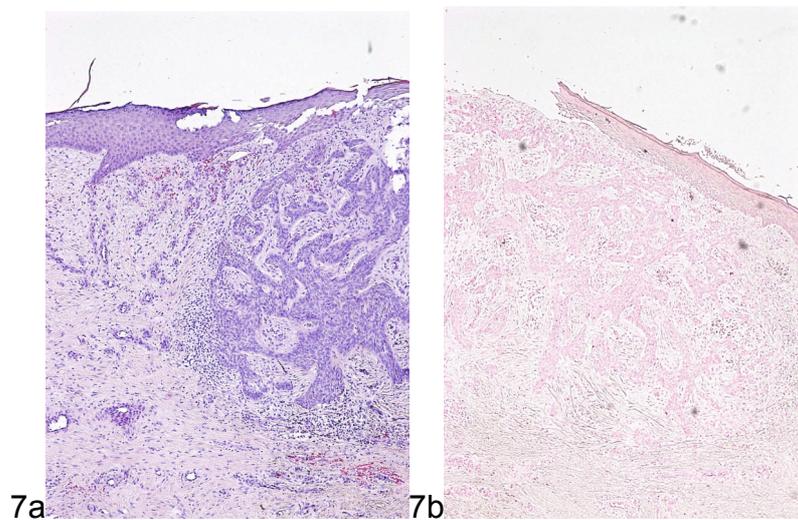


Abbildung 6 (Vergrößerung 100x) Sklerodermiformes BCC (6a): keine Melanin Darstellung (6b), aber positiv für Melan-A/MART-1 (6c) und noch stärker positiv für HMB-45 (6d).



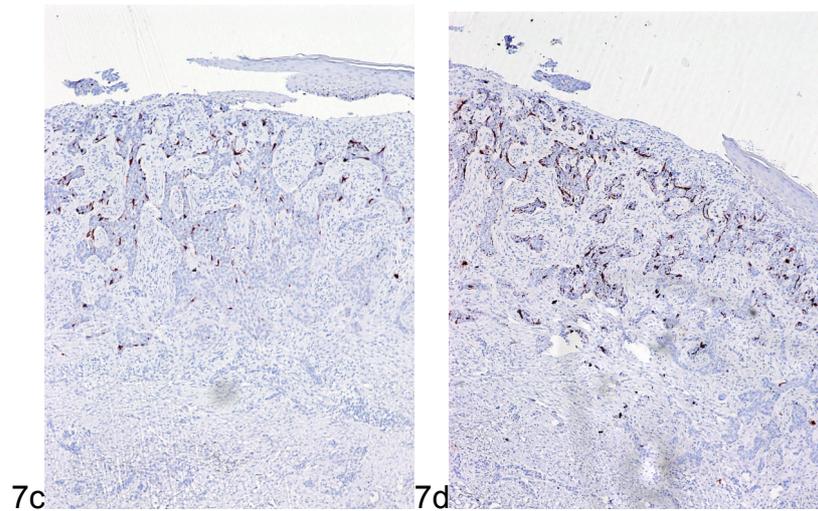


Abbildung 7 (Vergrößerung 100x) Ulzeriertes infiltratives BCC (7a). Negativ für Melaninfärbung (7b), HMB-45 (7d) stärker als Melan-A/MART-1 (7c).

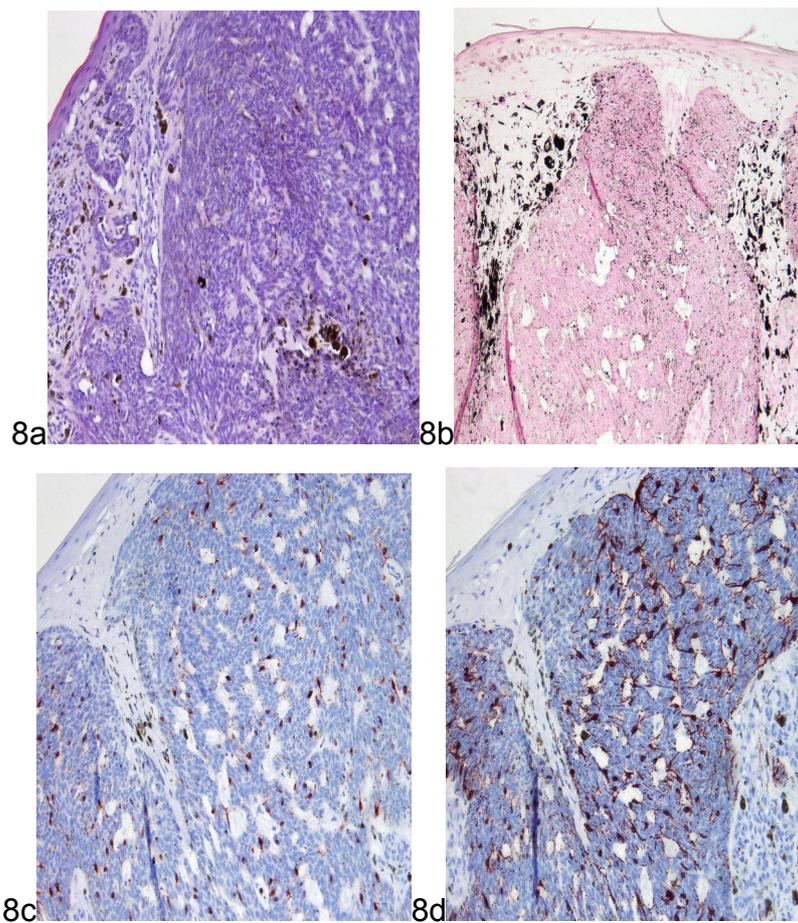


Abbildung 8 (Vergrößerung 100x) Pigmentiertes BCC (8a), stark positiv für Melanin (8b), Melan-A/ MART-1 (8c) und HMB-45 (8d).

3.3.3 Aktinische Keratose

Diese präkanzeröse Hautveränderung zeigte viele positive MZ in allen drei Färbungen. Die MZ wurden mit Melanin und Melan-A/MART-1 stark diffus angefärbt. Wenige MZ waren HMB-45-positiv (Abbildung 9).

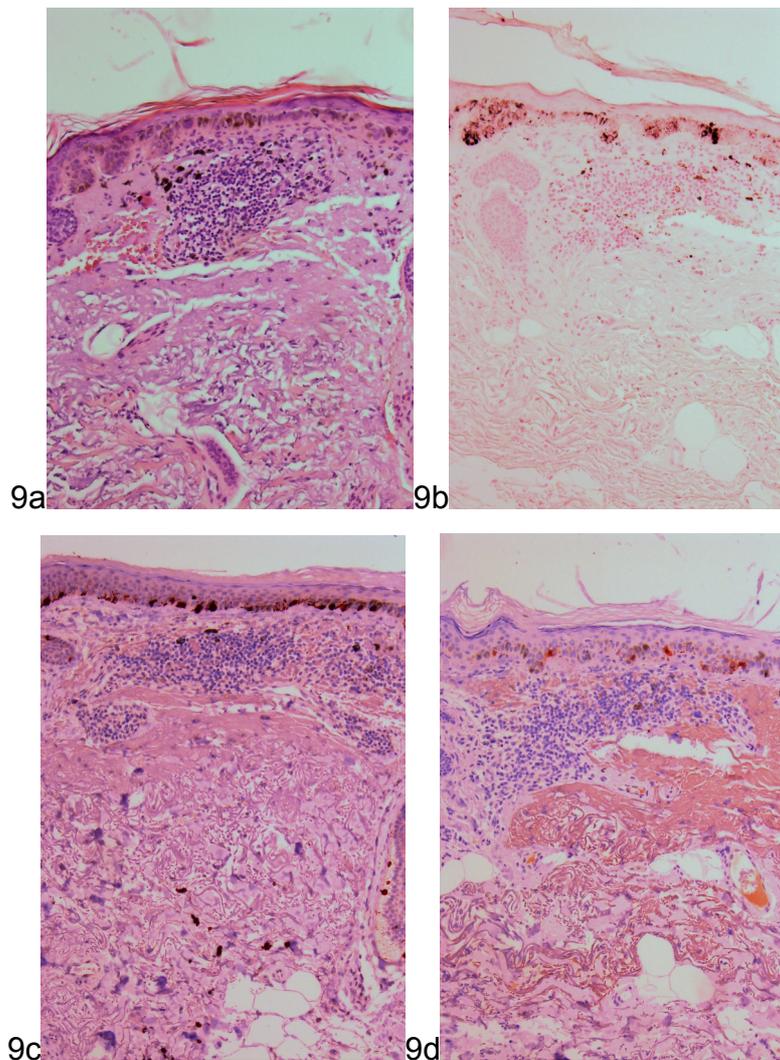


Abbildung 9 (Vergrößerung 40x) AK mit HE (9a); diffus positiv für Melanin (9b), Melan-A/Mart-1 (9c) und HMB-45 (9d).

3.3.4 Morbus Bowen

Die Ergebnisse in MB waren ähnlich wie in PEC aber mit höheren Werten. Wie in PEC war hier die Positivität von HMB-45 fast ebenso wie mit Melan-A/Mart-1. Die

Verteilung von MZ war insbesondere in den Tumorperipherie erkennbar (Abbildung 10).

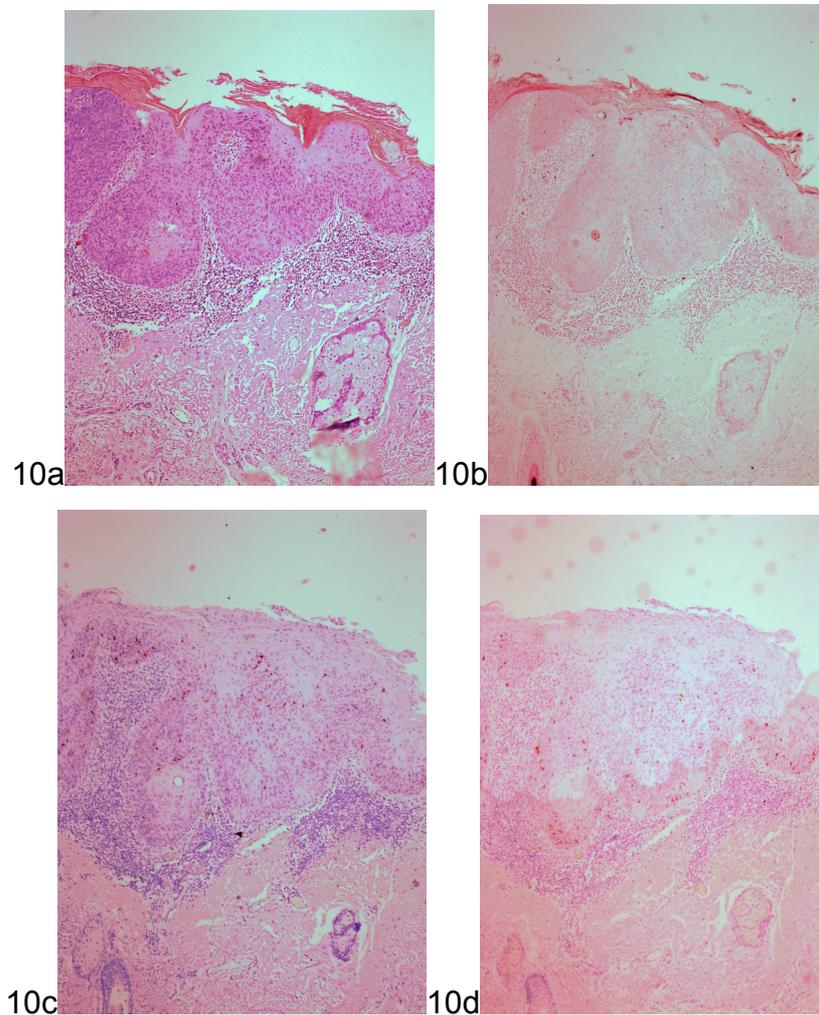


Abbildung 10 (Vergrößerung 40x) MB mit HE (10a), schwach positiv für Melanin (10b), und mit vereinzelt gefärbten MZ in Melan-A/MART-1 (10c) und HMB-45 (10d).

3.3.5 Keratoakanthom

Beim solitären KA zeigten sich mehr gefärbte MZ mit Melan-A/MART-1 als mit HMB-45, die sich in den Tumorbegrenzungen verteilt haben (Abbildung 11). Die Verteilung von den positiven MZ war ähnlich wie bei PEC.

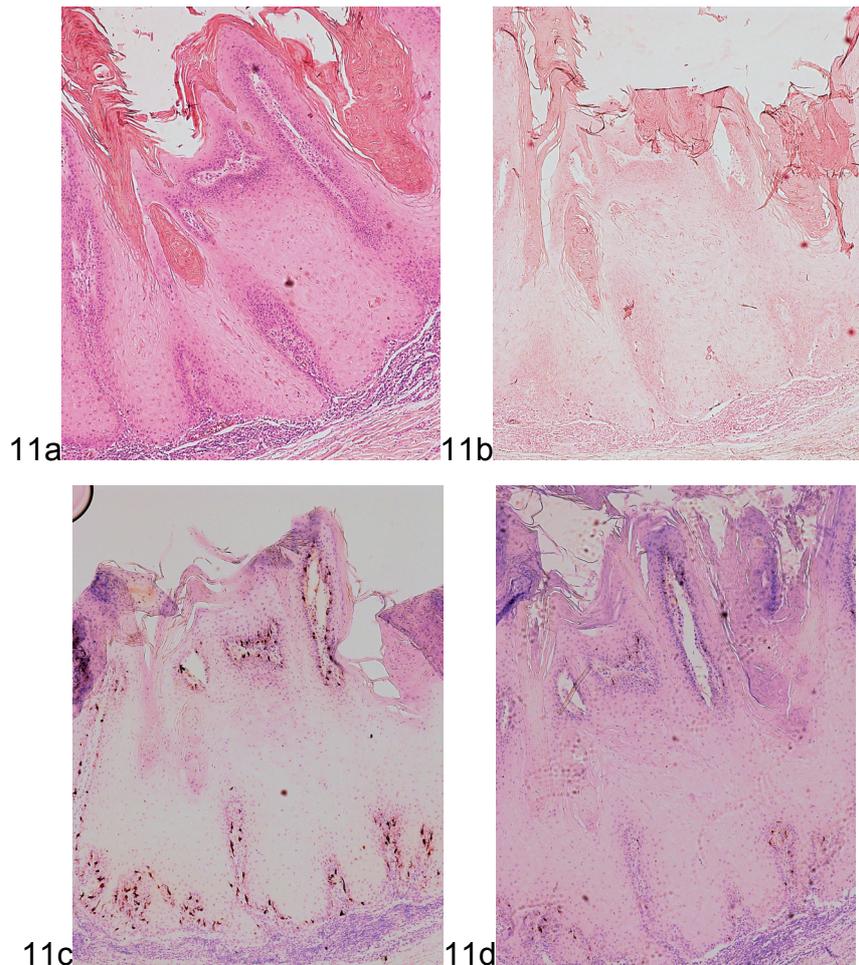


Abbildung 11 (Vergrößerung 40x) KA in HE (11a), negativ für Melaninfärbung (11b), mit gefärbten MZ in den Tumorbegrenzungen mit Melan-A/MART-1 (11c) und HMB-45 (11d).

3.3.6 Plattenepithelkarzinom

Das PEC war von den epithelialen Tumortypen derjenige, der sich insgesamt am schwächsten alle drei Färbungen dargestellt hat.

Je weniger differenziert, desto weniger MZ wurden in den Tumoren angefärbt. Melanin war fast immer negativ und Melan-a/MART-1 und HMB-45 positiven MZ haben sich auf die Ränder des Tumors konzentriert. Die MZ waren nur selten im Zentrum des Tumors zu sehen (s. Abbildungen 12 und 13).

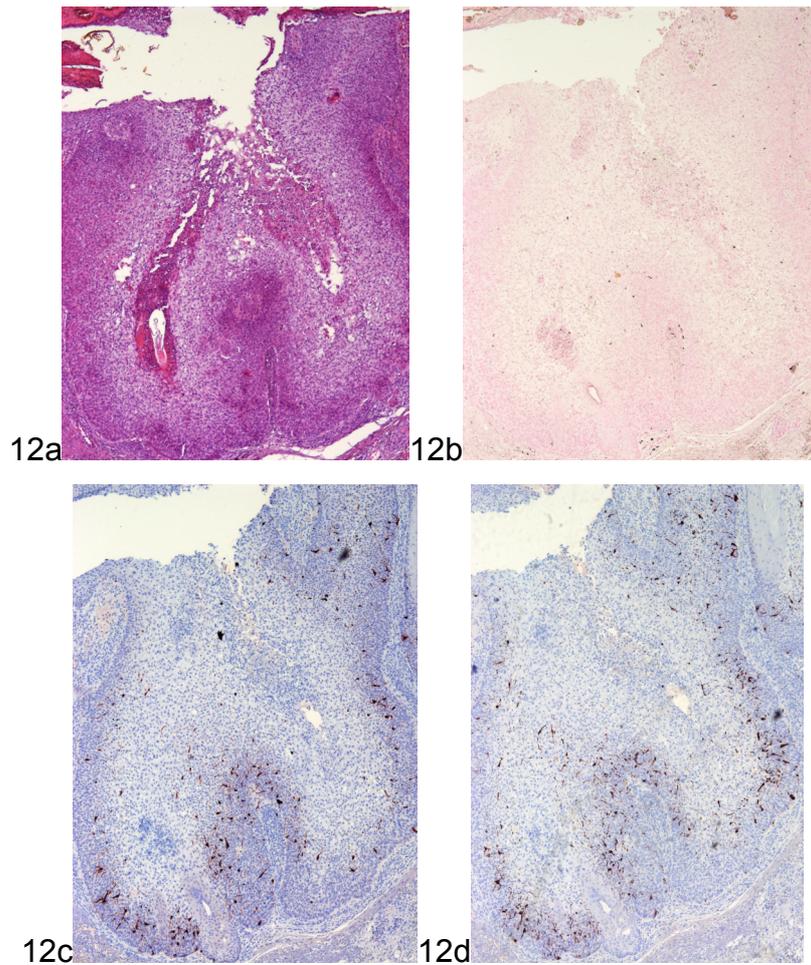
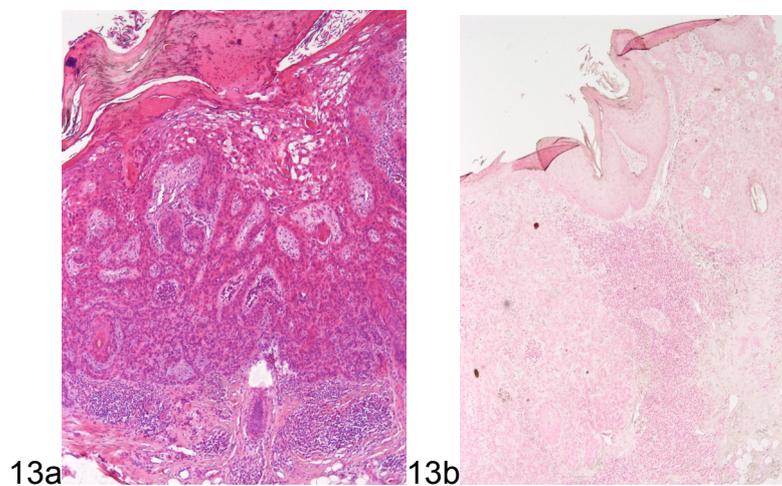


Abbildung 12 (Vergrößerung 40x) 12a: HE-Färbung eines hochdifferenzierten PEC. Die Melaninfärbung war negativ (12b); Melan-A/MART-1 und HMB-45 positiv, besonders in den Tumorbegrenzungen (12c und 12d). Die Epidermis neben dem Tumor zeigte teilweise eine Anfärbung von Melan-A/MART-1 und HMB-45.



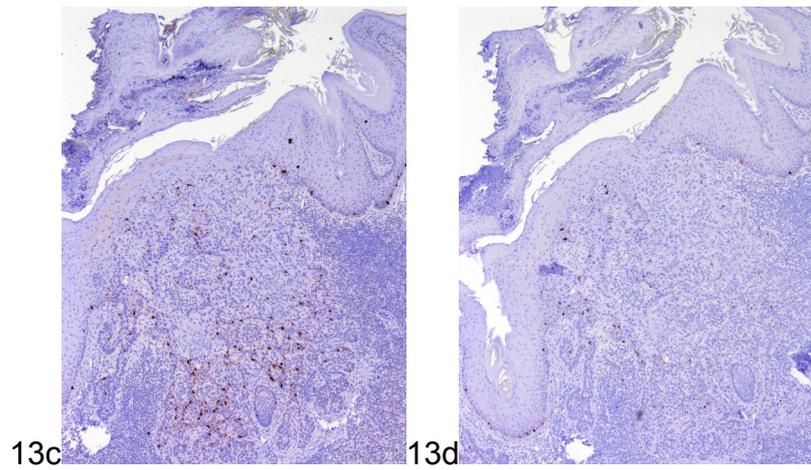


Abbildung 13 (Vergrößerung 40x): Mäßig differenziertes PEC HE-Färbung (13a), negativ für Melanin (13b), aber positiv für Melan-A/MART-1 (13c) und schwach positiv für HMB-45 (13d).

4. Diskussion

In der normalen humanen Haut verbinden sich MZ mit vielen KZ (Medalie et al, 1998, Kippenberger et al, 1998), um Melaninpigment zu übertragen. KZ stimulieren MZ-Wachstum sowohl in vivo als auch und in vitro (Gordon, 1989). Gelegentlich tritt ein Aufsteigen von nicht neoplastischen MZ in oberen epidermalen Schichten auf (Tronnier & Wolff, 1995). Deshalb ist es auch nicht überraschend, dass epitheliale Tumoren MZ enthalten.

1984 berichteten Mehregan und Plotnick, dass ein Patient mit Xeroderma pigmentosum ein KA entwickelt hat, vermuteten sie, dass aufgrund einer genetischen Abnormalität die MZ aufgetreten seien. Sanchez-Yuz und Gonzalez-Moran (1985) antworteten entgegneten mit den Beschreibungen von zwei Patienten die KA hatten, jedoch keine genetischen Anomalien hatten. Dennoch waren hier die dendritischen MZ in der HE-Färbung zu sehen. Es lässt sich vermuten, dass wenn die KZ-MZ Interaktion wie in den epithelialen Tumoren gestört ist, eine reaktive Hyperplasie der MZ auftreten kann.

Verschiedene Autoren haben nachgewiesen, dass MZ in epithelialen Tumoren vorhanden sind (Szpak et al, 1988; Lommel et al, 1996; Florell et al, 2001). Allerdings hat keine dieser Studien:

1. die unterschieden histologischen BCC-Subtypen;
2. systematisch MZs in SKs, BCCs, AKs, MBs, KAs und PECs untersucht;
3. Melaninfärbung, Melan-A/Mart-1 und HMB-45 miteinander verglichen und
4. eine quantitative Statistik angefertigt.

Weiter gibt es bisher keine Studie, die mit immunohistochemischen Methoden darlegt, dass MZ in Morbus Bowen vorzufinden sind.

Florell et al (2001) haben mit Melan-A/MART-1, HMB-45 und S-100 gezeigt, dass in BCCs (5 noduläre BCCs und 5 oberflächliche BCCs) LZ und MZ enthalten sind. Die MZ sind in der Peripherie des Tumors oder im ganzen Tumor verteilt. Aber es wurde

nur die sog. nicht aggressiven BCCs erforscht. Die anderen histologischen BCC-Subtypen (Sklerodermiformes BCC und Mikronoduläres BCC) fehlen bislang.

Schubert und Rudolph (2001) haben ebenfalls positive-HMB-45 und S-100 MZ in einer Serie von 15 BCCs identifiziert. Eine Interaktion zwischen MZ und undifferenzierten KZ wurde diskutiert. Sie haben beschrieben, dass je undifferenzierter ein BCC ist, desto mehr MZ in der Basalschicht zu sehen sind. Es scheint ein grotesker Versuch zu sein, eine normale Basalschicht in den BCC zu kreieren. Wie auch in unserer Studie wurde keine Beziehung zwischen einer erhöhten Anzahl von MZ in pigmentierten BCC und den nicht pigmentierten BCCs gefunden.

Das Basalzellkarzinom (BCC) ist einer der häufigsten Krebsarten. Es ist ein bösartiger Hauttumor, der häufig mit einer p53 Mutation verbunden ist (Zhang et al. 2001). Aufgrund der melanozytären Kolonisationen innerhalb des Tumors, weist eine Fraktion dieser Tumoren Pigmentierung auf, gleichwohl sind es Neoplasmen, die von Keratinozyten abstammen (Bleehen, 1975).

Die Daten von Cui et al (2007) demonstrierten eine enge Beziehung zwischen dem veränderlichen Status von p53 und der Aktivierung von MITF in benachbarten Melanozyten von humanen BCC. Im Rahmen der Onkogenese ist die Aktivierung von p53 als Beispiel für ein non-UV Signal zu sehen, welches die Antwort für die Bräunungspigmentierung induziert.

Die Kenntnis von den abweichenden Reaktionen und die Mechanismen, die die Expression induzieren können, sind bei der differentialdiagnostischen Interpretation des Färbemusters von Pigmenttumoren von großer Bedeutung. Wie Salter (2007) in pigmentierten PEC beobachtete, gibt es eine Korrelation zwischen MZ und neoplastischen KZ. Es ist aber noch nicht nachgewiesen, was die MZ dazu stimuliert, zu proliferieren und darüber hinaus zu kolonisieren.

Es folgten Studien mit HMB-45 bei denen in nicht melanozytären Tumoren und benignen Hautveränderungen eine positive Reaktion beobachtet wurde. Ergänzend beobachteten Smoller et al (1989, 1991) eine HMB-45-Reaktivität in MZ der Haut

über Hämangiomen, chirurgischen Narben und BCC. Sie vertraten die Hypothese, dass der HMB-45 Antikörper ein Marker für induzierbare und reversible Zellaktivierung der MZ sei. Diese Annahme stützt sich auf der Beobachtung, dass der HMB-45-Antikörper MZ unter verschiedenen pathologischen Bedingungen markiert wurde. Es ist wichtig hervor zu heben, dass keine Korrelation zwischen Reaktivität und melanozytär mitotischer Aktivität bestand.

Unsere Ergebnisse unterscheiden sich von denen von Orchard (2002), García-Solano et al (1997) und Orosz (1999). Orchard beschrieb in seiner Serie von 10 BCCs und 10 PECs, dass es keine Positivität für Melan-A/Mart-1 und HMB-45 gebe. García-Solano zeigte in seiner Studie, dass fast alle neoplastischen Zellen in BCCs negativ für HMB-45 waren. Orosz wies nach, dass fast alle Hautkarzinome negativ für Melan-A und HMB-45 waren. In der vorliegenden Arbeit waren allerdings 100% den MZs in den BCCs und 90% in den PECs positiv für Melan-A/Mart-1 und HMB-45.

In der Studie von Lommel et al (1996) fand sich eine große Anzahl von aktivierten MZ in Läsionen mit verstärkter entzündlich reaktiver oder neoplastischer Proliferation der KZ (z. B., BCC und PEC). Bei epithelialer Neoplasie konnte eine Kolonisierung der Tumorzellaggregationen durch HMB-45-positive MZ beobachtet werden. Sie nahmen an, dass ein Zusammenhang zwischen einer Proliferation von KZ und einer HMB-45 Expression sehr wahrscheinlich sei. Außerdem erwähnten sie, dass in Läsionen mit einer auffälligen Gefäßkomponente, wie bei der BCC, Hämangiomen oder Verruca vulgaris, eine größere Anzahl positiv reagierender MZ nachzuweisen waren.

Unsere Ergebnisse decken sich mit denen von El Shabrawi-Caelen et al (2004) und Wiltz et al (2006), wo ebenfalls eine starke Positivität von MZ in AK mit Melan-A/MART-1 nachgewiesen wurde.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen eine Korrelation zwischen der epithelialen Pigmentierung und der Anzahl an MZ nur in gutartigen epithelialen Hauttumoren (seborrhischen Keratosen), während in allen malignen Tumoren keine Korrelation zwischen der Melanozytenzahl und eventueller Pigmentierung bestand. Das weist darauf hin, dass hier die Regulation der Pigmentierung zerstört ist.

5. Zusammenfassung

Melanozyten (MZ) sind mit ca. 1 bis 2% der zweihäufigste epidermale Zelltyp. Ein MZ und 36 Keratinozyten bilden eine epidermale Melanineinheit. Der schädigende Einfluss der UV-Strahlung, der mit der Entwicklung von epithelialen Tumoren zusammenhängt, wird durch das Pigmentsystem der Haut vermindert. Melaninpigment und/oder MZ sind bei Melanomen, Basalzellkarzinomen (BCC), pigmentierten Plattenepithelkarzinomen (PEC), seborrhoischen Keratosen (SK), Morbus Bowen (MB), pigmentierten aktinischen Keratosen (AK), Keratoakanthomen (KA), Ekkrinen Poromen, Pilomatrikomen, Morbus Paget, Trichilemmoma, Hydroakanthoma simplex, und der Verruca Vulgaris beschrieben worden. Aus dem Zeitraum von Juni 2006 bis Juni 2007 wurden histologische Präparate mit vorliegenden histologischen und klinischen Befunden von epithelialen Hauttumoren aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie des Universitäts-Klinikums Würzburg untersucht. Hierzu gehören: 40 Basalzellkarzinome, 20 Plattenepithelkarzinome, 20 seborrhoische Keratosen, 9 Morbi Bowen, 7 aktinische Keratosen, und 5 Keratoakanthome. Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Identifizierung und Charakterisierung der MZ in verschiedenen epithelialen Hauttumoren. Es geht vor allem um die zentrale Frage, in welchen ob und in wie weit MZ in den untersuchten epithelialen Hauttumoren vorkommen, ob diese eine Aktivierung zeigen und ob die Präsenz der MZ mit der Pigmentierung der Tumoren korreliert. Schließlich interessiert mich die Frage der gegenseitigen Regulierung KZ-MZ. Mehr als 2/3 (70,3%) der Läsionen waren im Kopf-Hals-Bereich lokalisiert. Es gab keine Korrelation zwischen der Melanozytenanzahl und der anatomischen Lokalisation. Meist waren die Tumorzellen negativ in der Melaninfärbung. Die pigmentierten Tumoren zeigten erhöhte Zahlen von Melanin positiven Zellen. Am häufigsten waren AK und SK pigmentiert. Melan-A/MART-1 wurde am stärksten bei SK, BCC und AK exprimiert. In diesen Tumortypen waren die gefärbten MZ normalerweise diffus verteilt. Im Gegensatz dazu zeigten sich bei PEC am wenigsten angefärbten Zellen. Die aktivierten MZ (HMB-45) färbten sich am stärksten bei AK, MB und BCC an. Obwohl HMB-45 bei allen Tumortypen positiv war, war die Auszählung vom HMB-45-positiven-MZ deutlich geringer als bei Melan-

A/MART-1. Die Kenntnis von den abweichenden Reaktionen und die Mechanismen, die die Expression induzieren können, sind bei der differentialdiagnostischen Interpretation des Färbemusters von Pigmenttumoren von großer Bedeutung. Es gibt eine Korrelation zwischen MZ und neoplastischen KZ, jedoch ist noch nicht nachgewiesen, was die MZ dazu stimuliert, zu proliferieren und darüber hinaus zu kolonisieren.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen eine Korrelation zwischen der epithelialen Pigmentierung und der Anzahl an MZ nur in gutartigen epithelialen Hauttumoren (seborrhoischen Keratosen), während in allen malignen Tumoren keine Korrelation zwischen der Melanozytenzahl und eventueller Pigmentierung bestand. Das weist darauf hin, dass hier die Regulation der Pigmentierung zerstört ist.

6. Literaturverzeichnis

Barlow JO, Maize Sr J, Lang PG (2007) The density and distribution of melanocytes adjacent to melanoma and nonmelanoma skincancers. *Dermatol Surg* 33: 199-207

Bleehen SS (1975) Pigmented basal cell epithelioma. Light and electron microscopic studies on tumours and cell cultures. *Br J Dermatol* 93: 361-370

Chen Y-T, Stockert E, Jungbluth A, Tsang S, Coplan KA, Scanlan MJ, et al (1996) Serological analysis of Melan-A (MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. *Proc Natl Acad Sci* 93:5915-9

Clarckson KS, Sturdgess IC, Molyneux AJ (2001) The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-Tyrosinase) with S-100, HMB-45, and A103 (anti-Melan-A). *J Clin Pathol* 54:196-200

Coulie PG, Brichard V, Van Pel A, et al (1994) A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *J Exp Med* 180: 35-42

Cui R, Widkund HR, Feige E, et al (2007) Central role of p53 in the suntan response and pathologic hyperpigmentation. *Cell* 128: 853-864

Dannemann C (2007) Die Rolle der Panendoskopie für Patienten mit Plattenepithelkarzinom im Kopf-Hals-Bereich. Dissertation, Uni-Würzburg.

Diepgen T, Mahler V (2002) The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol* 146 (Suppl 61):1-6

Dixon AY, Lee SH, MZGregor DH (1989) Factors predictive of recurrence of basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 11: 222-232

Fitzpatrick TB, Breathnach AS (1963) Das epidermale Melanin-Einheit. System. Der. Wschr. 147: 481-489

Florell SR, Zone JJ, Gerwels JW (2001) Basal cell carcinomas are populated by melanocytes and Langerhans cells. Am J Dermatopathol 23: 24-28

García-Solano J, García-Rojo B, Sánchez-Sánchez C, Montalbán Romero MS, Pérez-Guillermo M (1998) Basal cell carcinoma: cytologic and immunocytochemical findings in fine-needle aspirates. Diagn Cytopathol 18: 403-408

Gilchrest BS, Blog FB, Szabo G (1979) Effects of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin. J Invest Dermatol 73: 141-143

Gordon PR, Mansur CP, Gilchrest BA (1989) Regulation of human melanocyte growth dendricity and melanisation by keratinocyte derived factors. J Invest Dermatol 92: 565-72

Gown AM, Vogel AM, Hoak D, Gough F, MZNutt MA (1986) Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulations of melanocytes. Am J Pathol 123: 195-203

Hara M, Yaar M, Gilchrest BA (1995) Endothelin-1 of keratinocyte origin is a mediator of melanocyte dendricity. J Invest Dermatol 105: 744-748

Hunt G, Todd C, Thody AJ (1996) Unresponsiveness of human epidermal melanocytes to melanocyte-stimulating hormone and its association with red hair. Mol Cell Endocrinol 116: 131-136

Izikson L, Sober AJ, Mihm MZ Jr, Zembowicz A (2002) Prevalence of melanoma clinically resembling seborrheic keratosis: analysis of 9204 cases. Arch Dermatol 138:1562-6

Jung EG (1998) Dermatologie. Duahle Reihe/ Hippokrates, 220

Jungbluth AA, Busam KJ, Gerald WL, Stockert E, Coplan KA, Iversen K, et al (1998) An anti-Melan-A monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffinembedded tissues. *Am J Surg Pathol* 22:595-602

Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al (1994) Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 3515-3519

Kerl H, Garbe C, Cerroni L, Wolff HH (2003) *Histopathologie der Haut*. Springer, 18; 570

Kippenberger S, Bernd A, Bereiter-Hahn J, Ramirez-Bosca A, Kaufmann R, Holzmann H (1996) Transcription of melanogenesis enzymes in melanocytes: Dependence upon culture conditions and co-cultivation with keratinocytes. *Pig Cell Res* 9: 179-184

Kirkham N (2005) Tumor and cysts of the epidermis. In : *Lever's histopathology of the skin* (Elder D, ed), 9th edn, Vol 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 836-49.

Lin JY, Fischer DE (2007) Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 445: 843-850

Lommel K, Tronnier M, Wolff HH (1996) Aktivierung epidermaler Melanozyten is abhängig von epithelialer Proliferation und Vaskularisierung. *Hautarzt* 47: 616-623

Malone JP, Fedok FG, BelZhis DA, Maloney ME (2000) Basal cell carcinoma metastatic to the parotid: report of a new case and review of literature. *Ear Nose Throat J* 79: 511-515, 518-519

MZComarck CJ, Kelly JW, Dorevitch AP (1997) Differences in age and body site distribution of histological subtypes of basal cell carcinomas. A possible indicator of different causes. *Arch Dermatol* 133: 593-6

Mehregan A, Plotnick H (1984) Pigmented keratoacanthoma. Arch Dermatol 120: 1417

Medalie DA, Tompkins RG, Morgan JR (1998) Characterization of a composite tissue model that supports clonal growth of human melanocytes in vitro and in vivo. J Invest Dermatol 111: 810-816

Mitchell RE (1963) The effect of prolonged solar radiation on melanocytes of human epidermis. J Invest Dermatol 41: 199-212

Nakazawa K, Nakazawa H, Bonnard M, Damour O, Collombel C (1995) Ca²⁺ and UVB radiation have no effect on E-Cadherin mediated melanocyte-keratinocyte adhesion. Pig Cell Res 8: 255-262

Orchard G (2002) Evaluation of melanocytic neoplasms: application of a pan-melanoma cocktail. Br J Biomed Sci 59: 196-202

Orosz Z (1999) Melan-A/Mart-1 expression in various melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. Histopathology 34: 517-25.

Rhodes AR, Harrist TJ, Momtaz TK (1983) The PUVA-induced macule: a lentiginous proliferation of age, sometimes cytologically atypical, melanocytes. J Am Acad Dermatol 9: 47-58

Rigopoulos D, Rallis E, Toumbis-Ioannou E, Christophidou E, Limas C, Katsambas A. (2002) Seborrheic keratosis or occult malignant neoplasm of the skin? J Eur Acad Dermatol Venereol 16:168-70.

Rippey JJ (1998) Why classify basal cell carcinomas? Histopathology 32: 393-398

Rodriguez J, Nonaka D, Kuhn E, Reichel M, Rosai J (2005) Combined high-grade basal cell carcinoma and malignant melanoma of the skin ("malignant

basomelanocytic tumor"). Report of two cases and review of the literature. *Am J Dermatopathol* 27: 314-318

Romero-Graillet C, Aberdam E, Clement M, Ortonne JP, Ballotti R (1997) Nitric oxide produced by ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis. *J Clin Invest* 99: 635-642

Rosdahl I (1979) The epidermal melanocyte population and its reaction to ultraviolet light. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 88:1-43

Roulet F (1948) *Methoden der pathologischen Histologie*. Wien, Springer-Verlag, pg. 246-247, 293

Salter EK (2007) Pigmented squamous cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 29: 486-489

Sanchez-Yuz E, Gonzalez-Moran A (1985) Proliferation of melanocytes in keratoacanthoma. *Arch Dermatol (Correspondence)* 121: 968-969

Schaumburg-Lever G, Metzler G, Kaiserling E (1991) Ultrastructural localization of HMB-45 binding sites. *J Cutan Pathol* 18: 432-435

Schubert B, Rudolph P (2001) Basal cell carcinoma: a natural milieu for melanocytes? *Am J Dermatopathol (Correspondence)* 23: 558-559

Scrivener Y, Grosshans E, Cribier B (2002) Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol* 147: 41-47

Sexton M, Jones DB, Maloney ME (1990) Histologic pattern analysis of 1039 consecutive neoplasms. *J Am Acad Dermatol* 23:1118-26

Skelton Hg, Smith KJ, Barrett TL, Lupton GP, Graham JH (1991) HMB-45 staining in benign and malignant melanocytic lesions. A reflection of cellular activation. *Am J Dermatopathol* 13: 543-550

Smoller BR, MZNutt NS, Hsu A (1989) HMB-45 recognizes stimulated melanocytes. *J Cutan Pathol* 16: 49-53

Smoller BR, Hsu A, Krueger J (1991) HMB-45 monoclonal antibody recognizes an inducible and reversible melanocyte cytoplasmatic protein. *J Cutan Pathol* 18:315-322

Szeimies RM, Karrer S, Bäcker H (2005) Therapieoptionen bei epithelialen Hauttumoren. *Hautarzt* 56: 430-440

Szpak CA, Shleburne J, Linder J, Klintworth GK (1988) The presence of stage II melanosomes (premelanosomes) in neoplasms other than melanomas. *Mod Pathol* 1:35

Taatjes DJ, Arendash-Durand B, Turkovich von M, Trainer TD (1993) HMB-45 antibody demonstrates melanosome specificity by immunoelectron microscopy. *Arch Pathol Lab Med* 117: 264-268

Terada T, Yamagami J, Fujimoto A, Tanaka K, Sugiura M (2003) Pigmented squamous cell carcinoma of the cheek skin probably arising from solar keratosis. *Pathol Inter* 53: 468-473

Tronnier M, Wolff HH (1995) UV-irradiated melanocytic nevi stimulating melanoma in situ. *Am J Dermatopathol* 17:1-6

Walling HW, Fosko SW, Geraminejad PA, et al (2004) Aggressiv basal cell carcinoma: Presentation, pathogenesis, and management. *Cancer Metastasis Rev* 23: 389-402

Weyers W, Bonczkowitz M, Weyers I, et al (1996) Melanoma in situ versus melanocytic hyperplasia in sun-damaged skin: assessment of the significance of histopathologic criteria for differential diagnosis. *Am J Dermatopathol* 18: 560-566

Wiltz KL, Qureshi H, Patterson JW, Mayes DC, Wick MR (2007) Immunostaining for MART-1 in the interpretation of problematic intra-epidermal pigmented lesions. *J Cutan Pathol* 34: 601-605

Yaar M, Eller MS, DiBenedetto P, Reenstra WR, Zhai S, MZQuaid T, Archambault M, GiLZhrest BA (1994) The trk family of receptors mediates nerve growth factor and neurotrophin-3 effects in melanocytes. *J Clin Invest* 94: 1550-1562

Zhang H, Ping XL, Lee PK, Wu XL et al (2001) Role of PTCH and p53 genes in early-onset basal cell carcinoma. *Am J Pathol* 158: 381-385

Zubovits J, Buzney E, Yu L, Lyn-M D (2004) HMB-45, S-100, Nk1/c3 and MART-1 in metastatic melanoma. *Hum Pathol* 35: 217-233

7. Dank

Mein ausdrücklicher Dank gilt Frau Universitäts-Professor Dr. med. E.-B. Bröcker für die Bereitstellung des Themas und für die exzellente Betreuung der Arbeit. Danke für Ihre Zeit und Vertrauung.

Zu großem Dank bin ich Herrn Universitäts-Professor Dr. med. E. Macedo de Souza, Universidade de Campinas (Unicamp), Sao Paulo, Brasilien, und Frau Dr. S. Pinheiro Rosa verpflichtet. Sie haben mich in der Dermatopathologie eingeführt und mir großer Motivationshilfe gegeben.

Ich bedanke mich auch beim Universitäts-Professor Dr. med. R. Meffert für die logistische Unterstützung.

Ebenso danke ich Frau Oberärztin Dr. med. C.-S.Vetter-Kauczok für vielfältige und intensive Unterstützung.

Frau Dipl.-Mathematikerin Daniela Altenhöfer danke ich für die freundliche Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten und Erstellung verschiedener Grafiken.

Dem gesamten Team des Histologisches und Autoimmunlabors der Universität Würzburg mit Petra Kosmol, Susanne Meyer, Erika Mathie, Christina Urlaub, Christa Knaus, Silvana Noll, Birgit Kerfeld, Andrea Achsnich und Claudia Siedel möchte ich für die hervorragende Geduld und Zusammenarbeit danken.

Schließlich möchte ich meinem Ehemann, Herrn Dr. med. Sönke Percy Frey, für die unglaubliche Geduld und die permanente Unterstützung danken.

Hervorheben möchte ich auch den großen Rückhalt und die liebevolle Unterstützung aus meinen brasilianischen und deutschen Familien und Freunden. Wobei ich mich ganz besonders bei Wiebke bedanke.

8. Lebenslauf

Persönlichen Daten

Name: Lídia Marília Frey, geb. Lima-e-Silva
Geburtsdatum: 28.05.1981
Geburtsort: Fortaleza, Bundesland Ceará (CE), Brasilien
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: brasilianisch
Eltern: Dr. jur. Joao-Bosco da Silva
Dr. dent. Maria de Fátima Barboza de Lima e Silva

Schulbildung

1987-1991 Grundschule Colégio 7 de Setembro, Fortaleza-CE, Brasilien
1992-1998 Gymnasium Colégio 7 de Setembro, Fortaleza-CE, Brasilien
1998 Abitur

Hochschulbildung

1999 Humanmedizinstudium an der Bundesuniversität Maranhao (Universidade Federal do Maranhao – UFMA)
2000-2005 Humanmedizinstudium an der Bundesuniversität Ceará (Universidade Federal do Ceará – UFC)
2005 Approbation als Ärztin in Brasilien
2006 Approbation als Ärztin in Australien
2007 Berufserlaubnis als Ärztin in Bayern, Deutschland

Famulatur

Oktober 2002 Allergologie, Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Westfälischen Wilhelms-Universität (WWU), Münster

Februar 2003 Autoimmunerkrankungen, Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der WWU

Oktober 2003 Intensivstation, Hospital Geral de Fortaleza, UFC

Mai 2004 Dermatologische HIV-Ambulanz, Hospital Sao José de Doencas Infecciosas, UFC

Praktisches Jahr

Juni-Dezember 2004 Allgemeine Chirurgie, Unfallchirurgie, Urologie, HNO und Dermatochirurgie, als DAAD-Stipendiatin, Campus Benjamin Franklin, Charité, Berlin

Januar-März 2005 Maternidade Escola Assis Chateaubriand, Gynäkologie und Geburtshilfe, UFC

April-Mai 2005 Kinderheilkunde-Orthopädische Station, WWU

Juni 2005 Dermatochirurgie, Campus Benjamin Franklin, Charité, Berlin

Juli-November 2005 Innere Medizin, Clemens Hospital, Lehrkrankenhaus der WWU

Beruflicher Werdegang

2000-2005 Biologie Lehrerin für Abiturienten in den Privatgymnasia Farias Brito, Ari de Sá und Colégio Antares, Fortaleza-CE, Brasilien

Januar-März 2006 Notärztin in Hinterland in Quixeramobim und Pedra Branca, CE, Brasilien

April 2006-Januar 2007 Resident Medical Officer (RMO) in den Innere Medizin, Chirurgie und Notaufnahme Abteilungen des Royal Perth Hospitals (RPH) in Perth-WA, Australien

März-August 2007 Doktorandin in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie der Universität Würzburg

Seit Oktober 2007

Assistenzärztin der Klinik und Poliklinik für
Dermatologie, Allergologie und Venerologie der
Universität Würzburg

Sprachkenntnisse

Portugiesisch, Englisch, Deutsch, Spanisch, Italienisch