

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

DISSERTATION

**Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz zur Diagnostik
des malignen Melanoms**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Agata Jagoda

aus Konskie

Datum der Promotion: 07.12.2018

Zusammenfassung

Einführung: Das Melanom ist ein maligner Tumor der Haut, der aus neoplastisch veränderten Melanozyten hervorgeht. Vor zwei Jahrzehnten galt dieser Tumor als selten, heute dagegen belegt er den fünften Platz der häufigsten Krebsneuerkrankungen in Deutschland. Das Melanom lässt sich durch die visuelle klinische Früherkennung mithilfe der ABCD-Regel unter Verwendung eines Dermatoskops identifizieren. Ein Drittel der Melanome kann trotzdem klinisch nicht diagnostiziert werden. Mittlerweile gibt es eine Reihe von computergestützten Screening-Geräten, die den Dermatologen bei der Beurteilung der Dignität einer Läsion unterstützen sollen. Ein innovatives Verfahren ist die stufenweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz oder auch Dermatofluoroskopie genannt.

Methoden: In dieser klinischen Arbeit wurde die stufenweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz zur Diagnostik von 131 melanomsuspekten Läsionen an 119 Patienten angewendet. Hierbei wird das Melanin in der Hautveränderung mit einem Laser belichtet und die abgesendete Fluoreszenz ausgewertet. Die Fluoreszenz des Melanins in einem Nävus unterscheidet sich von der des Melanoms. Ein Melanom beinhaltet mehr Eumelanin und fluoresziert im roten Spektrum bei 620nm. Ein Nävus enthält mehr Pheomelanin-Moleküle und fluoresziert im grünen Spektrum. Basierend auf der Analyse dieser unterschiedlichen Fluoreszenzspektren, wird von dem Dermatofluoroskop DFC-1 ein Score berechnet, der die untersuchte Läsion als benigne oder maligne einstuft. Die Sensitivität und Spezifität des Verfahrens wurde im Vergleich zur histopathologischen Diagnose bestimmt.

In der Zeit von Januar bis Juni 2016 wurden Patienten in der Klinik für Dermatologie der Charité mit dem DFC-1 untersucht. Die Läsionen wurden anschließend exzidiert und histopathologisch verblindet evaluiert.

Ergebnisse: In 92 von 131 Fällen zeigte das DFC-1 eine Übereinstimmung mit der histologischen Diagnose. Die Sensitivität der stufenweisen Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz beträgt in dieser In-vivo-Studie 48,4%, die Spezifität 77,0%.

Die Messgenauigkeit des DFC-1 wurde auch unter Betrachtung von Subgruppen wie Geschlecht, Alter bei Diagnosestellung, Haarfarbe, Augenfarbe, Hauttyp, Bräunung, Sommersprossen während der Kindheit, Melanom in der Vorgeschichte und Anzahl vorhandener NZN analysiert. Hierbei zeigte sich das Geschlecht als statistisch signifikanter Einflussfaktor ($p = 0,037$). Es zeichnete sich eine Tendenz für eine höhere Sensitivität für Tumordicken über 2 mm ab. Der positive und negative prädiktive Wert betrug 39,5% und 82,8%.

Schlussfolgerung: Die stufenweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz ist ein innovatives Verfahren zur Diagnostik von pigmentierten Hautveränderungen. Im untersuchten Patientenkollektiv zeigte sich, dass die Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz im klinischen Alltag zur Differenzierung von pigmentierten Hautveränderungen angewendet werden kann. Um die Zuverlässigkeit dieser diagnostischen Methode im klinischen Alltag zu prüfen, bedarf es weiterer klinischer Studien und vor allem einer Anpassung des Messalgorithmus.

Summary

Background: Melanoma is a malignant tumor of the skin, which emerges from neo-plastic transformed melanocytes. Two decades ago melanoma belonged to rare tumors, nowadays it is on the fifth place among the most frequent malignancies in Germany. According to the ABCD-rule melanoma can be identified by the examination with the unaided eye and dermoscopy assessment. One-third of all melanomas are still misdiagnosed. A number of computer-based screening devices have been developed to support physicians in detecting melanomas at early stage. One of the technologies is the two-step photon excitation of melanin fluorescence also known as dermatofluoroscopy.

Methods: The two-step photon excitation of melanin fluorescence was used to diagnose a total number of 131 melanocytic lesions with suspicion of melanoma. The melanin in the lesions is scanned by a two-step photon laser to evaluate the emitted fluorescence. The fluorescence spectrum of melanin within a naevus is different to the fluorescence spectrum of melanin in a melanoma. A melanoma contains more eumelanin, which sends a fluorescence of red spectrum at 620nm. A naevus contains more pheomelanin which sends a fluorescence of green spectrum. Based on the analysis of the different fluorescence spectra the DFC-1 device calculates a score which classifies the diagnosed lesions in malign or benign.

The aim of this clinical study was to analyse the sensitivity and specificity of the method to compare it with the histopathological diagnosis.

From January to June 2016 potential study participants (119 patients) were recruited and screened before excision and histopathological diagnosis of the lesions at the Department of Dermatology of the Charité Berlin.

Results: In 92 of 131 cases the DFC-1 device showed diagnostic agreement. The observed sensitivity in this in-vivo study was 48,4% and the specificity 77%. Furthermore the measuring accuracy was analysed regarding subgroups as gender, age at diagnosis, hair color, eye color, skin type, skin tanning, freckling during childhood, patient's melanoma history and number of melanocytic naevi.

The diagnostic accuracy of the two-step photon excitation was significantly higher for male patients ($p = 0,037$) but other factors have no statistically significance. There was a trend for a higher sensitivity in thicker melanomas ($\geq 2\text{mm}$) compared to thinner melanomas. The positive and negative predictive values of the DFC-1 were 39,5% and 82,8%.

Conclusions: The two-step photon excitation of melanin fluorescence is an innovative method to diagnose pigmented lesions. To prove the reliability of the diagnostic method further studies are needed as well as an adjustment of the measurement algorithm.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	I
Summary.....	III
Inhaltsverzeichnis.....	V
Abkürzungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Abbildungsverzeichnis.....	IX
1 Einleitung.....	11
1.1 Epidemiologie des Melanoms	11
1.2 Die vier wichtigsten Melanomtypen.....	12
1.3 Pigmentierte Vorläuferläsionen	14
1.4 Diagnostik des Melanoms	14
1.4.1 Dermatoskopie	14
1.4.2 ABCD-Regel in der Dermatoskopie	15
1.5 Goldstandard der Melanomdiagnose	16
1.6 Computerassistierte Methoden der Melanomdiagnostik.....	17
1.6.1 Sequenzielle digitale Dermatoskopie.....	17
1.6.2 Multispektralanalyse	17
1.6.3 Elektrische Impedanzspektroskopie	18
1.6.4 Konfokale Laserscanmikroskopie	18
1.6.5 Multiphotonen-Tomographie.....	18
2 Zielsetzung.....	20
3 Material und Methoden	21
3.1 Verfahren der Dermatofluoroskopie	21
3.2 Materialien.....	23
3.3 Patienten.....	25
3.3.1 Ein- und Ausschlusskriterien	25
3.4 Ablauf einer Messung.....	26
3.5 Datenmanagement.....	27

3.6	Statistische Analyse	28
3.7	Bestimmung der Messgenauigkeit	28
3.8	Studienbeschreibung.....	29
4	Ergebnisse	30
4.1	Deskriptive Statistik der Messungen	30
4.1.1	Patientenkollektiv.....	31
4.1.2	Statistik der histopathologischen Befunde	33
4.2	Messgenauigkeit des DFC-1	34
4.2.1	Messgenauigkeit und Tumordicke.....	40
4.2.2	Messgenauigkeit und Art der Läsion	41
4.2.3	Messgenauigkeit und Patientencharakteristika	41
5	Diskussion	44
	Anhang.....	53
	Literaturverzeichnis	58
	Lebenslauf.....	64
	Eidesstattliche Erklärung	65

Abkürzungsverzeichnis

AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALM	akral-lentiginöses Melanom
CCD-Kamera	Charge Coupled Device, optisches Aufnahmesystem durch einen CCD-Sensor
HE	Hämatoxylin-Eosin
LK	Lymphknoten
LMM	Lentigo-maligna-Melanom
MM	malignes Melanom
n	Anzahl der Fälle
NADPH	reduzierte Form von Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NM	noduläres Melanom
NZN	Nävuszellnävus
p	Signifikanz
Pat-ID	Patientenidentifikationsnummer
SSM	superfiziell spreitendes Melanom
Tis	Tumor in situ, In-situ-Melanom

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflichtmikroskopische Unterschiede zwischen Nävus und Melanom	16
Tabelle 2: T-Klassifikation des Melanoms nach AJCC 2009 (Quelle: [12 S. 23])	16
Tabelle 3: Statistischer Überblick der Messungen.....	30
Tabelle 4: Lokalisation der Läsionen	30
Tabelle 5: Lokalisation der Läsionen abhängig vom Geschlecht.....	31
Tabelle 6: Demographische Charakteristik der 119 Patienten	32
Tabelle 7: Histologische Diagnosen der untersuchten Läsionen	33
Tabelle 8: Histologische Subtypen der gemessenen Melanome	33
Tabelle 9: Tumordicke der invasiven Melanome	34
Tabelle 10: Messgenauigkeit des DFC-1	34
Tabelle 11: Messgenauigkeit in Abhängigkeit von T-Klassifikation	40
Tabelle 12: Messgenauigkeit in Abhängigkeit von genauer histologischer Diagnose.....	41
Tabelle 13: Messgenauigkeit des DFC-1 in Abhängigkeit von demografischen Parametern	42
Tabelle 14: Vergleich diagnostischer Genauigkeit der stufenweisen Zwei- Photonen-Fluoreszenz aus verschiedenen Studien.....	47
Tabelle 15: Diagnostische Genauigkeit computerassistierter Methoden	49
Tabelle 16: Valide Messungen C-100-1 bis C-154-1	53
Tabelle 17: Valide Messungen C-155-1 bis C-190-1.....	54
Tabelle 18: Valide Messungen C-191-1 bis C-227-1	55
Tabelle 19: Valide Messungen C-228-1 bis C-238-1.....	56
Tabelle 20: Falsch negative Fälle des DFC-1.....	56
Tabelle 21: Falsch positive Fälle des DFC-1	57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle in Deutschland durch das MM nach Geschlecht (Quelle: RKI, Zugriff am: 27.11.2017).....	11
Abbildung 2: Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen in Prozent an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2012 (Quelle: RKI, Zugriff am: 27.11.2017).....	12
Abbildung 3: Melanomtypen SSM, NM, LMM, ALM, (Quelle: Garbe C. Management des Melanoms, 2006, S. 98)	13
Abbildung 4: Dermatoskop (Quelle: www.praxisdienst.de/Diagnostik/Fachspezifische+Diagnostik/Dermatoskope ; Zugriff am: 21.11. 2016).....	15
Abbildung 5: Visuelle Diagnose eines Melanoms, links ohne und rechts durch ein Auflichtmikroskop betrachtet	15
Abbildung 6: Schematische Darstellung der stufenweisen Zwei-Photonen-Absorption (Quelle: Eichhorn R, et al. [27]).....	21
Abbildung 7: Spektren der stufenweisen Zwei-Photonen-Absorption von Haut, Nävus und Melanom (Quelle: Scholz, M. LTB Lasertechnik Berlin [29])..	22
Abbildung 8: Schematische Display-Ansicht einer Analyse des DFC-1	23
Abbildung 9: Dermatofluoroskop DFC-1 (Quelle: Magnosco GmbH)	24
Abbildung 10: Scankopfaufsatz (links) und Gummiauflage (rechts)	24
Abbildung 11: Scankopf mit Aufsatz des DFC-1 und Gummiauflage am Patientenarm (Quelle: CIR_flimma_V7_0912.pdf).....	26
Abbildung 12: Übersichtsaufnahme vom Oberarm des Patienten C-206-1	35
Abbildung 13: Vergrößerung der Läsion durch das DFC-1, C-206-1.....	36
Abbildung 14: Gerastertes Läsionsareal des DFC-1 nach der Messung, C-206-1	36
Abbildung 15: Übersichtsaufnahme vom Abdomen des Patienten C-209-1	37
Abbildung 16: Vergrößerung des NZN durch das DFC-1, C-209-1	37
Abbildung 17: Gerasterte Aufnahme des DFC-1 nach der Messung, C-209-1.	37
Abbildung 18: Übersichtsaufnahme eines Oberschenkels, C-116-1	38
Abbildung 19: Dermatoskopische Nahaufnahme eines MM, C-116-1	38

-
- Abbildung 20: Gerasterte Aufnahme des DFC-1 nach der Messung, C-116-1. 39
- Abbildung 21: Übersichtsaufnahme vom Oberarm des Patienten C-135-1 39
- Abbildung 22: Gerasterte Aufnahme des DFC-1 nach der Messung, C-135-1. 40

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie des Melanoms

Die Inzidenz des malignen Melanoms (MM) in der hellhäutigen Bevölkerung ist in den letzten 50 Jahren vor allem in östlichen und südlichen Ländern Europas stetig angestiegen, wogegen sie in den USA, Australien und Neuseeland seit Jahren stabil bleibt [1]. Im Jahr 2014 erkrankten in Deutschland 21.220 Personen am malignen Melanom [2]. Für das Jahr 2018 wird die Zahl der Neuerkrankten auf 21.900 geschätzt [3].

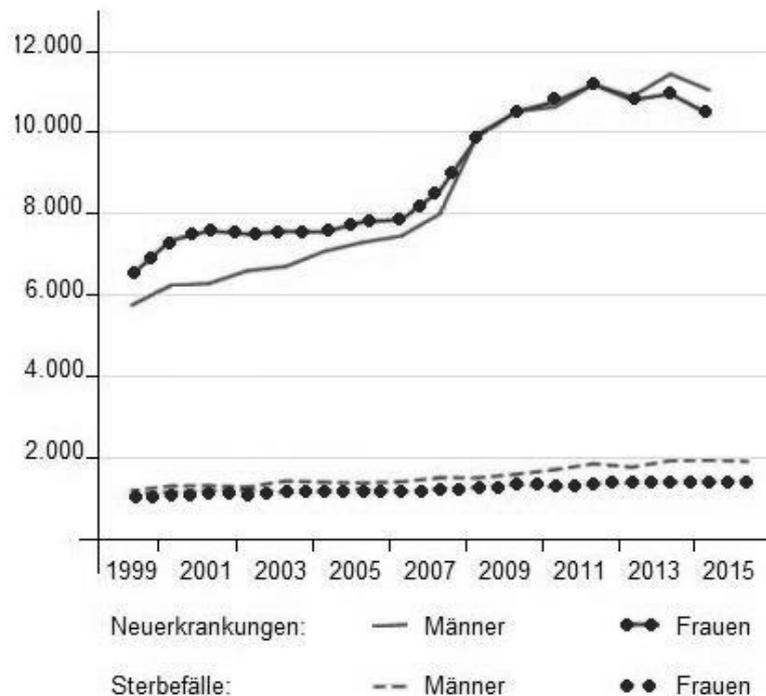


Abbildung 1: Absolute Zahl der Neuerkrankungs- und Sterbefälle in Deutschland durch das MM nach Geschlecht (Quelle: RKI, Zugriff am: 27.11.2017)

Die Einführung des ärztlichen Hautscreenings in Deutschland im Jahr 2008 hat noch im selben Jahr zu einem sprunghaften Anstieg der Erkrankungszahlen geführt (Abb. 1). Hierbei handelt es sich um einen Effekt des Screenings, bei dem mehr Erkrankungen entdeckt wurden, und weniger um einen tatsächlichen Anstieg des Krebsrisikos [2]. Die Sterberate in Deutschland hat nur bei den

Männern leicht zugenommen [3]. Die nahezu konstante Mortalität kann an der „Überdiagnose“ des Hautscreenings liegen und damit an der frühen Exzision des Melanoms, an der steigenden Anzahl der Exzisionen [3] und an der Tendenz, die dysplastischen Nävi als In-situ-Melanom zu reklassifizieren [4]. Neue epidemiologische Studien aus den USA zeigen, dass das In-situ-Melanom mit der jährlichen Inzidenz von 9,5% [5] einen disproportional hohen Anteil an der gesamten Inzidenzrate des Melanoms besitzt [6].

Das Melanom liegt auf Platz fünf der häufigsten Krebsneuerkrankungen in Deutschland [7] (Abb. 2).

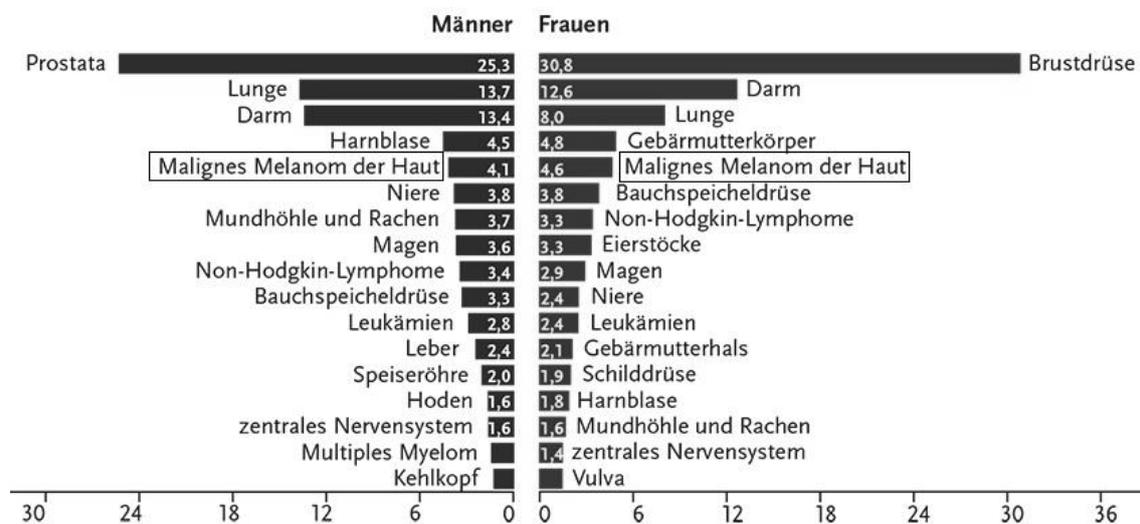


Abbildung 2: Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen in Prozent an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2012 (Quelle: RKI, Zugriff am: 27.11.2017)

Aktuell liegen für Frauen mit malignem Melanom der Haut in Deutschland die relativen Fünf-Jahres-Überlebensraten bei 94% und für Männer bei 91% [3]. Zwei Drittel aller Melanome werden in einem frühen Tumorstadium T1 entdeckt [3].

1.2 Die vier wichtigsten Melanomtypen

Das maligne Melanom ist ein bösartiger Tumor, der aus den Melanozyten hervorgeht. Melanozyten sind Melanin bildende Zellen, die durch Ausläufer das Melanin zu den Keratinozyten der Epidermis transportieren und somit die DNA der Keratinozyten vor UV-bedingten Strangbrüchen schützen [8].

Im frühen Stadium (Melanoma in situ) entsprechen klinisch viele primäre Hautmelanome einem asymmetrischen, unscharf begrenzten Fleck mit horizontaler Ausbreitung und Farbnuancierungen von Hellbraun bis Dunkelbraun oder Schwarz [9 S. 140]. Das maligne Melanom wird nach klinischen und histologischen Kriterien in vier Subtypen (Abb. 3) eingeteilt [9 S. 98].



Abbildung 3: Melanomtypen SSM, NM, LMM, ALM, (Quelle: Garbe C. Management des Melanoms, 2006, S. 98)

- 1) Das superfiziell-spreitende Melanom (SSM) stellt 70% aller Melanome dar. Es entwickelt sich über Monate bis Jahre mit horizontaler Ausbreitung und farblicher Vielfalt. Es findet sich besonders häufig am Stamm beim männlichen und an den Extremitäten beim weiblichen Geschlecht [9 S. 98].
- 2) Das noduläre Melanom (NM) ist ein knotiges Melanom und stellt 16% aller Melanome dar. Es zeigt meist einen dunkelbraun bis schwarz pigmentierten erhabenen Tumor, der vertikal in die Tiefe wächst [9 S. 98].
- 3) Das Lentigo-maligna-Melanom (LMM) macht 5% aller Melanome aus. Es tritt im höheren Lebensalter auf und findet sich in UV-exponierten Regionen der Haut. Klinisch ist der Tumor unscharf begrenzt und inhomogen gefärbt [9 S. 98].
- 4) Das akral-lentiginöse Melanom (ALM) befindet sich überwiegend palmoplantar, subungual oder periungual. Das ALM stellt 5–10% aller Melanome dar [9 S. 98].

Melanome können de novo oder auf dem Boden von Vorläuferläsionen wie Nävi entstehen [10 S. 88].

1.3 Pigmentierte Vorläuferläsionen

Fast jeder Mensch weist pigmentierte Läsionen der Haut auf. Durchschnittlich finden sich 20 klinisch unauffällige melanozytäre Nävi pro Erwachsenen [11]. Nävuszellnävi sind pigmentierte, zum Teil auch hautfarbene Läsionen. Klinisch wichtig ist die Unterscheidung zwischen im Laufe des Lebens entstandenen und angeborenen Nävuszellnävi [10 S. 74]. 20–30% der malignen Melanome entstehen im Bereich eines präexistenten Nävuszellnävus [10]. Die gewöhnlichen melanozytären Nävi weisen kaum ein Risiko für eine Melanomentwicklung auf und stellen deshalb keine Indikation für eine Exzision dar [11]. Schwieriger ist die Situation bei sogenannten atypischen melanozytären Nävi, die durch eine variierende Pigmentierung sowie durch unscharfe und unregelmäßige Begrenzung charakterisiert sind [10, 11].

1.4 Diagnostik des Melanoms

1.4.1 Dermatoskopie

Die Verdachtsdiagnose eines Melanoms der Haut wird zunächst klinisch mit bloßem Auge gestellt [12 S. 26]. Anschließend wird eine auflichtmikroskopische Untersuchung zur Absicherung der klinischen Diagnose durchgeführt [10 S. 94]. Die Dermatoskopie, auch Auflichtmikroskopie genannt, ist eine nicht-invasive Untersuchungsmethode, bei der mithilfe eines Dermatoskops Hautstrukturen bis zu der oberen Schicht der Dermis durch die darüber liegende Epidermis beurteilt werden können [9 S. 128].

Ein Dermatoskop (Abb. 4) besteht aus einer meist zehnfach vergrößernden Lupe, einer Glasplatte und einer integrierten Lichtquelle.

Die Dermatoskopie kann bei einem erfahrenen Dermatologen bis zu 90% Sensitivität erreichen [13, 14] und besitzt eine bis zu 35% höhere Sensitivität im Vergleich zur klinischen Untersuchung mit bloßem Auge [15].



Abbildung 4: Dermatoskop (Quelle: www.praxisdienst.de/Diagnostik/Fachspezifische+Diagnostik/Dermatoskope; Zugriff am: 21.11. 2016)

1.4.2 ABCD-Regel in der Dermatoskopie

Mit der einfachen ABCD-Regel können Pigmentmale klinisch visuell mit den Merkmalen Asymmetrie (A), unregelmäßige Begrenzung (B), Coloration variierend (C), Durchmesser >5 mm (D) als malignitätsverdächtig definiert werden [9 S.98-99]. Die ABCD-Regel kann auf (E) wie Erhabenheit erweitert werden [16]. Die Abb. 5 vereint beispielhaft diese Merkmale außer dem Merkmal Erhabenheit.

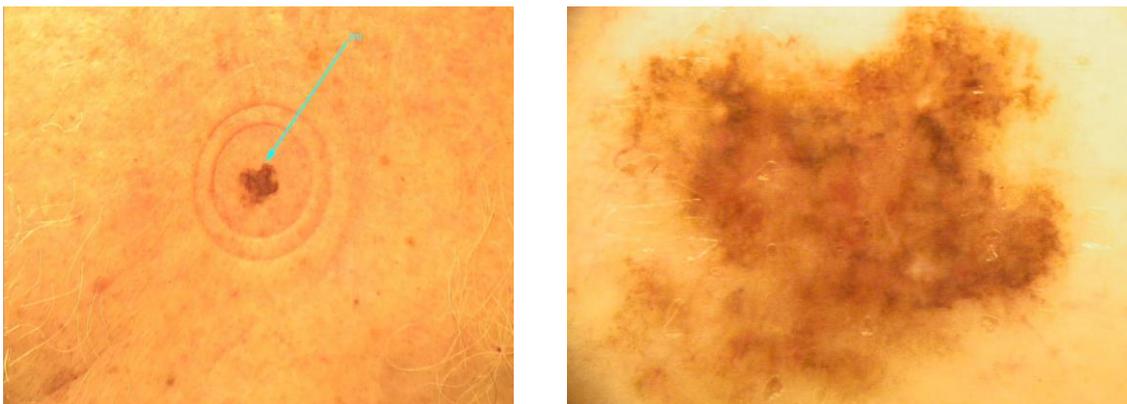


Abbildung 5: Visuelle Diagnose eines Melanoms, links ohne und rechts durch ein Auflichtmikroskop betrachtet

Die wichtigsten auflichtmikroskopischen Kriterien für die Melanomdiagnose sind in Tab.1 zusammengefasst [9 S. 136-137].

Tabelle 1: Auflichtmikroskopische Unterschiede zwischen Nävus und Melanom

Kriterium	Nävus	Melanom
Pigmentnetz	regelmäßig, diskret, engmaschig, fein	unregelmäßig, prominent, weitmaschig grob, Abbrüche des Pigmentnetzes, irreguläre Ausläufer
Braune Tupfer (Pigmentzellnester)	regelmäßig	unregelmäßig
Schwarze Pünktchen (Pigmentzellnester)	-	+
Schleier	-	+
Fibrose, Regression	-	+
Grau-blaue Areale	-	+

1.5 Goldstandard der Melanomdiagnose

Die Exzision eines Melanoms mit dem entsprechenden Sicherheitsabstand und anschließende histopathologische Beurteilung ist der Goldstandard in der Diagnosestellung [12 S. 26]. Für die histopathologische Befundung des malignen Melanoms gilt die AJCC-Klassifikation 2009 als Standard [12 S. 23]. Dabei ist die Tumordicke (Tab. 2) der wichtigste prognostische Faktor des Melanoms [12 S. 23]. Die Tumordicke nach Breslow ist die zur Hautoberfläche vertikale Distanz in Millimetern zwischen Stratum granulosum der Epidermis und den am tiefsten eingedrungenen Tumorzellen [9 S. 152].

Tabelle 2: T-Klassifikation des Melanoms nach AJCC 2009 (Quelle: [12 S. 23])

T-Klassifikation	Tumordicke
Tis	In-situ-Melanom, keine Tumordinvasion
Tx	keine Angabe, Stadium nicht bestimmbar
T1	≤ 1 mm
T2	1,01 - 2 mm
T3	2,01 - 4,0 mm
T4	> 4,0 mm

1.6 Computerassistierte Methoden der Melanomdiagnostik

Es gibt eine Reihe von nicht-invasiven computerassistierten Methoden zur Differenzierung von dysplastischen Nävi und Melanomen, die sich auf visuellen und nicht-visuellen Verfahren stützen und nach einer Vorauswahl der Läsionen durch den Dermatologen am Patienten eingesetzt werden können.

1.6.1 Sequenzielle digitale Dermatoskopie

Neuere Dermatoskope sind mittlerweile mobile digitale Systeme [17]. Die sequenzielle digitale Dermatoskopie, auch „digital dermoscopic follow-up“ genannt, kann digitale dermatoskopische Auflichtaufnahmen speichern und durch computerbasierte Algorithmen nach der ABCD-Regel der Dermatoskopie analysieren [18]. Sie erlaubt das Monitoring der Läsionen im Zeitverlauf und ermöglicht somit eine frühe Diagnose durch den Vergleich der gespeicherten Bilder. Diese Methode eignet sich für die langfristige Betreuung von Patienten mit multiplen atypischen Nävi und einem Melanom in der Vorgeschichte oder Familienanamnese [19].

1.6.2 Multispektralanalyse

Die Multispektralanalyse (MelaFind) ist ein computergestütztes Bildgebungssystem, welches den Grad der dreidimensionalen morphologischen Desorganisation der Läsion einstuft [20]. Es sendet Wellenlängen zwischen 430 und 950 nm in die Haut und analysiert die Bilder des von der Haut reflektierten Lichts [17]. Die unterschiedlichen Wellenlängen geben eine Rückmeldung über das Wachstumsmuster von Blutgefäßen, Kollagenfasern und Melanin bis zu 2,5 mm unterhalb der Hautoberfläche [17, 20]. Für die Untersuchung wird ein Scankopf auf die rasierte und desinfizierte Haut aufgesetzt [20]. Der Algorithmus für die Unterscheidung zwischen Melanom und Nävi basiert auf mehreren Tausend Untersuchungen [17].

1.6.3 Elektrische Impedanzspektroskopie

Die elektrische Impedanzspektroskopie, Nevisense (von Scibase AB), detektiert zwischen zwei Elektroden Veränderungen der elektrischen Leitfähigkeit in Hautstrukturen. Pathologische Veränderungen in der Haut verursachen eine veränderte Weiterleitung der Elektrizität, die Impedanz genannt wird [17, 21].

Die Messung wird auf mit Salzlösung befeuchteter Haut durchgeführt und bedarf einer Referenzmessung auf benachbarter gesunder Haut [22]. Die für die Untersuchung verwendete Spannung liegt im Bereich von Millivolt und die Stromstärke liegt im Bereich von Mikroampere, die vom Patienten nicht wahrgenommen wird [21]. Die Dauer der Messung liegt im Sekundenbereich [21, 22]. Das Ergebnis wird als Zahl auf einer Scala zwischen 0 und 10 angezeigt [21].

1.6.4 Konfokale Laserscanmikroskopie

Die konfokale Laserscanmikroskopie, im Englischen als „reflectance confocal microscopy“ bekannt, erzeugt Bilder der Epidermis und der oberen Dermis durch reflektiertes Laserlicht [17]. Das technische Instrument, Vivascope, verwendet eine Laserdiode mit einer Wellenlänge von 830 nm und einen Resonanzscanner [23]. Melanosomen senden das stärkste Signal und werden hell und kontrastreich abgebildet, aber auch Keratinozyten und Blutgefäße lassen sich so darstellen [17]. Dadurch entsteht eine morphologische Abbildung der Läsion entlang einer vertikalen Achse, die eine optische Biopsie darstellt. Auch dieses Verfahren basiert auf Algorithmen, die für die Differenzierung maligner Melanome von benignen Nävi gewisse Kriterien erfüllen müssen. Algorithmen werden durch die Analyse bestimmter Charakteristika in Bildmustern entwickelt [24].

1.6.5 Multiphotonen-Tomographie

Die Multiphotonen-Tomographie ist eine weitere neue Alternative, tiefer liegende Gewebszellen in Läsionen darzustellen. Im Rahmen eines Forschungsverbundes wurde ein 5D-Intravitaltomograph (5D-IVT) entwickelt [23]. Er ermöglicht eine Multiphotonen-Anregung von Molekülen, wie NAD(P)H, Flavin,

Porphyrin, Elastin und Melanin [17, 23]. Das Gerät verwendet einen Femtosekundenlaser im Wellenlängenbereich zwischen 710 und 920 nm [23]. Für die Visualisierung wird ein Videoadapter mit einer CCD-Kamera benutzt [23]. Anhand des Verhältnisses der verschiedenen Fluoreszenzabklingzeiten lässt sich der Energiezustand erkrankter Zellen und des gesunden Gewebes ermitteln. Die diagnostischen Kriterien für die Algorithmen der ersten Geräte basierten auf Charakteristika wie mangelhafter Abgrenzung der Keratinozyten, aszendierenden Melanozyten und der Präsenz von dendritischen Zellen [25].

2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war die klinische Untersuchung von Patienten mit Verdacht auf ein malignes Melanom mittels Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz mit einem Dermatofluoroskop DFC-1. Die Bestimmung der diagnostischen Genauigkeit des neuen Verfahrens wurde im Vergleich zum histopathologischen Befund der exziierten Läsion beurteilt, der als Goldstandard bei der Melanomdiagnostik gilt.

Folgende Fragen standen im Hauptfokus der Arbeit:

Wie genau ist die Dermatofluoroskopie bei der Unterscheidung zwischen benignen und malignen Läsionen?

Welche Faktoren beeinflussen die Ergebnisse während der Messung?

Spielen Patientencharakteristika wie das Geschlecht, das Alter, der Hauttyp eine Rolle bei der Messgenauigkeit?

Bisher gibt es nur Ergebnisse von Ex-vivo-Messungen von bereits exziierten Läsionen als Paraffinblock. Die Messung am Patienten als diagnostisches Verfahren im klinischen Alltag wurde noch nicht implementiert. Dazu wird in dieser klinischen Teilstudie die Sensitivität und Spezifität berechnet.

3 Material und Methoden

3.1 Verfahren der Dermatofluoroskopie

Die Dermatofluoroskopie ist ein nicht-invasives Verfahren zur Diagnostik des Melanoms, welches auf der Bestrahlung von Melanin mit sichtbarem Licht beruht. Ein Dermatofluoroskop sendet Photonen im Abstand von Nanosekunden aus und detektiert die Fluoreszenz des Melanins [13, 26]. Die Fluoreszenz kann als blau-grünes Licht (benignes Melanin) oder als rotes Licht (maligne verändertes Melanin) abgegeben werden [26]. Umfassend gesehen, besteht das DFC-1 aus einem Feststofflaser der einen Farbstofflaser pumpt, einem Spektrometer, einem Photomultiplier als Detektionssystem, einer Kamera, einem PC und einem Touchscreen [13, 26].

Alle abgegebenen Photonen vom Laser des DFC-1 haben eine konstante Wellenlänge von 800 nm. Nur Melanin kann nach der ersten Absorption des ersten Photons innerhalb von Pikosekunden ein zweites Photon absorbieren, bevor es Energie abgibt [26]. Dieses Verfahren heißt stufenweise oder schrittweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz [26, 27] (Abb. 6).

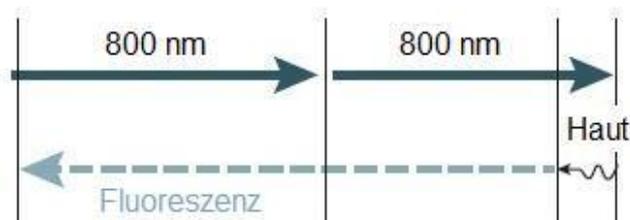


Abbildung 6: Schematische Darstellung der stufenweisen Zwei-Photonen-Absorption (Quelle: Eichhorn R, et al. [27])

Würde der Laser nur ein Photon mit 800 nm auf das Melanin senden, so würden andere Moleküle in der Haut wie das NADPH und Flavin fluoreszieren [27]. Somit wäre keine eindeutige Zuordnung über die Herkunft der zurückgesandten Strahlung möglich. [27]. Die stufenweise Zwei-Photonen-Absorption mittels 800-nm-Nanosekunden-Laserimpulsen ermöglicht die selektive Anregung des Melanins [26, 27].

Es gibt zwei Arten von Melanin. Das braun-schwarze, UV-protective Eumelanin und das gelb-rote, photolabile Phäomelanin [8].

Ein Melanom beinhaltet mehr Eumelanin-Moleküle und fluoresziert im roten Spektrum mit 620 nm [26, 28]. Ein Nävus hat mehr Phäomelanin-Moleküle und fluoresziert im grünen Spektrum [26, 29]. Auf diese Weise kann maligne entartetes vom benignen Melanin in einer Läsion unterschieden werden (Abb. 7).

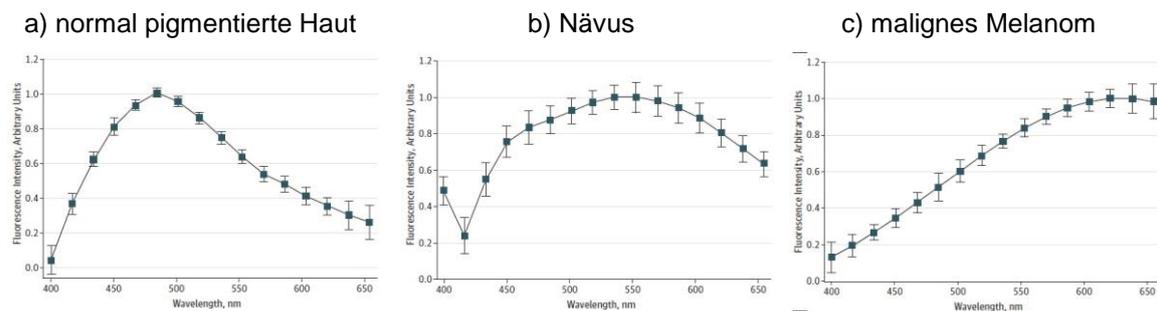


Abbildung 7: Spektren der stufenweisen Zwei-Photonen-Absorption von Haut, Nävus und Melanom (Quelle: Scholz, M. LTB Lasertechnik Berlin [29])

Die zu untersuchende Fläche einer Läsion wird vom DFC-1 in ein dichtes Rasternetz von Messpunkten im Abstand von 0,2 mm unterteilt (Abb. 8). Die Fluoreszenz wird aus einem Areal von etwa 50 μm Durchmesser detektiert und kann aus einer Tiefe von 500 μm kommen [13]. Die Dauer einer Messung des 50- μm -Areals beträgt 10 Sekunden. In der Zeit erfolgt vom DFC-1 eine automatische Spektrumauswertung, die eine Scoreberechnung mit Diagnose zur Folge hat [13, 26]. Für ein Spektrum werden 1200 Laserimpulse gesammelt. Fluoreszenzspektren des malignen Melanins werden als rote Kreuze im Bildausschnitt des Touchscreens angezeigt. Der Score wird durch einen Algorithmus aus dem prozentualen Anteil der roten Kreuze berechnet (Abb. 8) und auf dem Display als grün-roter Balken angezeigt [13, 26]. Ein abgeschlossener Scan einer pigmentierten Hautveränderung kann nur eines der folgenden Ergebnisse anzeigen [30]:

- Melanom bei einem Score >30 im roten Bereich des Balkens
- kein Melanom bei einem Score ≤ 30 im grünen Bereich des Balkens
- kein Ergebnis

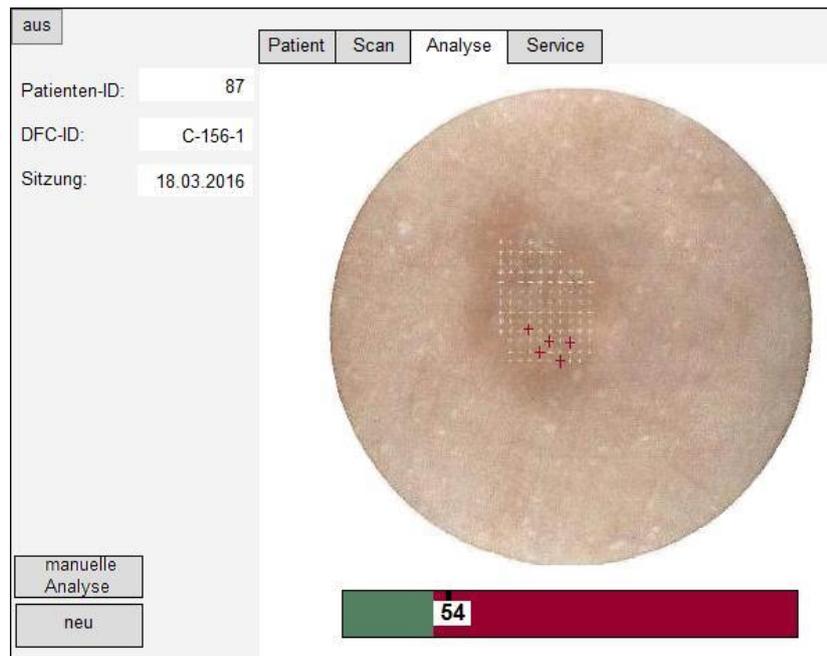


Abbildung 8: Schematische Display-Ansicht einer Analyse des DFC-1

Ulzerationen und dicke Krusten schwächen die Lichtimpulse des Lasers ab. Wenn die Laserenergie unzureichend ist, so erscheint die Meldung „unzureichende Pigmentierung“ [31]. Die Bilder der Läsionen mit dem erfolgten Ergebnis der Messung werden in der Datenbank des DFC-1 gespeichert und können als Datei über eine USB-Schnittstelle heruntergeladen werden.

3.2 Materialien

Folgende Utensilien sind für eine Messung erforderlich:

- Dermatofluoroskop DFC-1 von Magnosco GmbH Berlin bestehend aus einem Farbstofflaser, einem schwenkbaren Arm mit Kamera, der die Kabel zum Laser beinhaltet, einem PC mit Touchscreen zur Bedienung des DFC-1 (Abb. 9)
- runde schwarze Gummiauflage zum Schutz vor Streulicht aus der Umgebung, die während der Messung auf der Haut des Patienten aufgeklebt bleibt (Abb. 10)
- doppelseitige Klebestreifen für die Fixierung der Gummiauflage auf der Haut des Patienten

- doppelseitige Elektroden-Klebestreifen für die Fixierung des Scankopfes des DFC-1 auf der Haut des Patienten (Abb. 10)
- Desinfektionsmittel und Einmalrasierer



Abbildung 9: Dermatofluoroskop DFC-1 (Quelle: Magnosco GmbH)

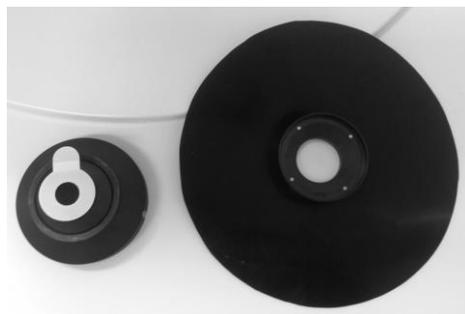


Abbildung 10: Scankopfaufsatz (links) und Gummiauflage (rechts)

3.3 Patienten

Die Patientenrekrutierung erfolgte in der regulären chirurgischen Sprechstunde und der wöchentlichen Operationsliste der Klinik für Dermatologie der Charité. Nur Patienten mit Hautveränderungen wie dysplastischen Nävi oder potenziellen Melanomen wurden mit dem Dermatofluoroskop diagnostiziert. Die Messung fand entweder nach der chirurgischen Sprechstunde oder vor der Exzision statt. Die Bereitschaft zur Teilnahme betrug 100 Prozent, nachdem das Verfahren erläutert wurde.

3.3.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Zur Teilnahme waren volljährige Frauen und Männer berechtigt, die eine schriftliche Einwilligung nach der Aufklärung über die Untersuchungsmethode unterschrieben hatten. Bei der Auswahl der Kriterien der pigmentierten Hauterscheinung wurden folgende Punkte berücksichtigt [31]:

- ausreichende Pigmentierung der Läsion
- Mindestgröße der Läsion beträgt 2 mm
- bei inhomogen pigmentierten Läsionen wurde der am stärksten pigmentierte Bereich gemessen

Ausschlusskriterien waren:

- Patienten mit Albinismus, Hauttyp V oder VI
- Patienten mit Tremor, Tic-Störung oder Zwangshandlungen
- Patienten, die die Aufklärung nicht verstehen und keine Einwilligung leisten können
- tiefe dermale Läsionen
- offensichtlich nicht pigmentierte Läsionen
- peri- und subunguale, mukosale Läsionen
- tätowierte Läsionen
- Läsionen mit Trauma, Erosion, Exkoration, Ulzeration, Hyperkeratose
- schwangere oder stillende Frauen
- Läsionen mit Regression, die mehr als 50% der Fläche beträgt

3.4 Ablauf einer Messung

Nach dem Anschalten des Dermatofluoroskops beginnt ein sechs-minütiger Selbsttest mit einer Blindprobe, welche auf den Messkopf des DFC-1 aufgesteckt ist (Abb. 9). Nach der Vorbereitung der Hautstelle beginnt die eigentliche Messung am Patienten mit dem Scankopfaufsatz (Abb. 11). Zur Vorbereitung gehören die Rasur der Hautstelle, die Entfernung der Haare und eine anschließende Desinfektion, die die Hautoberfläche entfettet. Anschließend wird die Unterseite der runden Gummiauflage mit doppelseitig klebenden Streifen versehen und auf die Haut des Probanden aufgedrückt, sodass sich die Läsion genau in der Mitte der Öffnung der Gummiauflage befindet. Auf dem gereinigten Scankopf des Lasers wird ein ringförmiger doppelseitiger Aufkleber angebracht, damit der Scankopf auf der Haut des Patienten fixiert bleibt. Der Patient muss während der Messung ruhig liegen oder sitzen und auf Bewegungen der gemessenen Körperregion verzichten. Durch den aufgeklebten Messkopf ist die Messung bei minimalen Bewegungen des Patienten wie Ein- und Ausatmen möglich. Der Scankopf wird in die Öffnung (Führungsring) der Gummiauflage eingeführt (Abb. 11) und klebt nun wie auch die Gummiauflage selbst auf der Haut des Patienten. Dies ermöglicht einen ständigen Hautkontakt während der gesamten Messung.



Abbildung 11: Scankopf mit Aufsatz des DFC-1 und Gummiauflage am Patientenarm (Quelle: CIR_flimma_V7_0912.pdf)

Die Läsion erscheint im Messfeld auf dem Bildschirm des DFC-1 vergrößert. Der zu untersuchende Bereich wird auf dem Touchscreen mit einem Stift um-

fahren und somit eingegrenzt. Die markierte Fläche wird vom DFC-1 gerastert. Das Gerät zeigt die geplante Untersuchungszeit des markierten Areals. Nach Abschluss der Messung wird das Ergebnis angezeigt und dokumentiert. Die Messungen dauerten zwischen 10 und 20 Minuten. Die Messung des vollständigen Fensters würde um die 60 Minuten betragen. Jede Läsion wurde einmal gemessen. Bei Läsionen, die größer als das Messfeld waren, wurde der am stärksten pigmentierte Bereich gemessen. Mögliche Resultate der Analyse sind:

- 1) Melanom
- 2) kein Melanom
- 3) kein Ergebnis wegen ungenügenden Hautkontakts des Scankopfes

Die Dokumentation aller validen Messungen findet sich in tabellarischer Form im Anhang dieser Arbeit (Tab. 16-19).

3.5 Datenmanagement

Jeder Patient bekam fortlaufend eine neue Patienten-ID. Für jede Messung wurde zusätzlich fortlaufend eine Identifikationsnummer vom DFC-1 vergeben. Für jeden Patienten wurde eine Patientendokumentation ausgefüllt. Die Dokumentation einer einzelnen Messung enthielt:

- eine unterschriebene dreiseitige Patienteneinwilligung
- Zuordnung von Gerät- und Patienten-ID
- Patientencharakteristika
- einen späteren histologischen Befund der exzidierten Läsion
- Rohdaten der Messung als CSV-Datei
- drei Fotos der Läsion mit Übersichtsaufnahme, Nahaufnahme und Auflichtmikroskopie
- Befundreport des DFC-1

3.6 Statistische Analyse

In der Datenbank wurden folgende Patientencharakteristika erfasst: Ein- und Ausschlusskriterien, demografische Angaben wie Alter und Geschlecht, Haar- und Augenfarbe, Hauttyp, Präsenz einer Bräune, Melanome in der Vorgeschichte oder Familienanamnese, Sommersprossen während der Kindheit, ungefähre Anzahl aller Nävi und atypischer Nävi.

Unmittelbar nach der Messung wurden die Diagnosen des DFC-1 und einige Wochen danach die histopathologischen Diagnosen in eine Excel-Tabelle eingetragen.

Die Klinik für Dermatologie der Universität Tübingen hat die Patientencharakteristika in das SPSS-Statistikprogramm übertragen und die SPSS-Tabellen für diese Dissertation zur Verfügung gestellt.

Für die Analyse der deskriptiven Statistik wurden Mittelwert, Median, Minimum und Maximum im SPSS verwendet. Der Pearson-Chi-Quadrat-Test wurde genutzt, um die Diagnosen mit den deskriptiven demografischen Fakten zu vergleichen.

3.7 Bestimmung der Messgenauigkeit

Die Ergebnisse der Messungen können: a = richtig positiv (Melanom), d = richtig negativ (kein Melanom), c = falsch positiv oder b = falsch negativ sein. Die folgenden Werte lassen sich aus den Formeln errechnen.

3.7.1 Sensitivität und Spezifität

Die Sensitivität eines diagnostischen Testverfahrens gibt an, bei welchem Prozentsatz erkrankter Patienten die jeweilige Krankheit durch die Anwendung des Tests tatsächlich erkannt wird, d.h., ein positives Testresultat auftritt [32, 33]. Sie wird definiert als der Quotient aus richtig positiven Testergebnissen und der Summe aus richtig positiven und falsch negativen Testergebnissen $a/(a+b)$. Je höher die Sensitivität eines Tests ist, desto sicherer erfasst er die Erkrankung [32].

Die Spezifität eines diagnostischen Testverfahrens gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass tatsächlich Gesunde, die nicht an der betreffenden Erkrankung leiden, im Test auch als gesund erkannt werden [32, 33]. Sie wird definiert als der Quotient aus richtig negativen Testergebnissen und der Summe aus falsch positiven und richtig negativen Testergebnissen $d/(c+d)$. Im Nenner stehen alle Testergebnisse, denen tatsächlich keine Erkrankung zugrunde liegt [32].

3.7.2 Positiver und negativer prädiktiver Wert

In der Praxis möchte man wissen, wie groß bei gegebener Sensitivität und Spezifität die Wahrscheinlichkeit ist, dass ein im Test positiver Patient tatsächlich krank ist, bzw. ein im Test negativer Patient nicht krank ist [32]. Der positive prädiktive Wert ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit mit der ein positives Testergebnis eine Erkrankung bestätigt. Er berechnet sich nach der Formel $= a/(a+c)$ [32].

Der negative prädiktive Wert schätzt die Aussagekraft von medizinischen Testverfahren ab. Er ist das direkte Maß für die Wahrscheinlichkeit, mit der ein negatives Testergebnis eine Erkrankung ausschließt. Er gibt an, wie viele Personen, bei denen eine bestimmte Krankheit mittels eines Testverfahrens nicht festgestellt wurde, auch tatsächlich gesund sind [32, 33]. Der Wert berechnet sich nach der Formel $d/(b+d)$ [32].

3.8 Studienbeschreibung

Die durchgeführten 131 Messungen von pigmentierten Läsionen dieser Dissertation fanden im Rahmen einer prospektiven, nicht kontrollierten, multizentrischen klinischen Studie statt, die von der Universität Tübingen geleitet wurde und die Daten der Messungen aus drei dermatologischen Instituten in Berlin, Heidelberg und Tübingen gesammelt hat. Die Studie ist unter [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02425475) als NCT02425475 registriert. Vor der Initiierung wurden das Studienprotokoll und die Patienteninformation von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Eberhard-Karl-Universität und des Universitätsklinikums Tübingen verifiziert. Die Auswertung der Messungen fand in anonymisierter Form statt. Die Histopathologen der jeweiligen Klinik für Dermatologie wurden nicht über die Diagnosen der Dermatofluoroskopie informiert.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik der Messungen

Es wurden 139 potenzielle pigmentierte Läsionen an 127 Patienten zwischen Januar und Juni 2016 untersucht. Davon wurden 8 Messungen aufgrund von unzureichendem Hautkontakt auf Knochenvorsprüngen, unzureichender Pigmentierung, vergessenen Aufklebern auf dem Scankopf oder technischen Fehlern ausgeschlossen (Tab. 3).

Tabelle 3: Statistischer Überblick der Messungen

Ergebnisse	Anzahl
untersuchte Patienten an der Charité	127
Anzahl pigmentierter Läsionen	139
Drop-out	8
Gesamtanzahl valider Messungen	131
Patienten nach Drop-out	119

Bei 90% der Patienten wurde nur eine Messung sowie eine Exzision durchgeführt.

Tabelle 4: Lokalisation der Läsionen

Lokalisation der Läsion	Häufigkeit (n=131)	
Kopf/Gesicht/Nacken	22	(16,8%)
Thorax	11	(8,4%)
Rücken	37	(28,2%)
Abdomen	19	(14,5%)
obere Extremität	15	(11,5%)
untere Extremität	26	(19,8%)
keine Angabe	1	(0,8%)

Bei 10 von 119 Patienten wurden zwei, bei einem Patienten drei Läsionen gemessen und entfernt. Die meisten zu entfernenden pigmentierten Hauterscheinungen (Tab. 4) waren am Rücken lokalisiert, gefolgt von unterer Extremität und Gesicht.

Die Tabelle 5 zeigt die Lokalisation der untersuchten Läsionen nach Geschlechtern unterteilt. Männer wiesen doppelt so viele pigmentierte Male im Kopf- und Gesichtsbereich als Frauen auf. Beide Geschlechter hatten ungefähr gleich viele Läsionen am Oberkörper lokalisiert.

Tabelle 5: Lokalisation der Läsionen abhängig vom Geschlecht

Lokalisation der Läsion	Häufigkeit bei Männern	Häufigkeit bei Frauen	Gesamt
Kopf/Gesicht/Nacken	14 (66,7%)	7 (33,3%)	21
Oberkörper	30 (44,8%)	37 (55,2%)	67
Obere/untere Extremität	25 (61,0%)	16 (39,0%)	41

4.1.1 Patientenkollektiv

Die demographischen Charakteristika der untersuchten Patienten finden sich in Tabelle 6. Das mittlere Alter der 119 Patienten betrug 53 Jahre. Der jüngste Patient war 20 Jahre und der älteste Patient 92 Jahre alt. Die Verteilung der Geschlechter war nahezu gleichmäßig mit 47,1% weiblichen und 52,9% männlichen Patienten. 74 Patienten waren unter 60 Jahre alt. Bei den Patienten über 60 Jahre waren 69% männlich und nur 31% weiblich. Es kamen doppelt so viele über 60-jährige Männer als Frauen zur Messung und Exzision. Die meisten Patienten waren vom kaukasischen Typ mit dem Hauttyp II-III, nicht gebräunt, hatten kein Melanom in der Vorgeschichte und weniger als 20 Nävi am ganzen Körper.

Tabelle 6: Demographische Charakteristik der 119 Patienten

Parameter	(n=119) Häufigkeit	
Geschlecht		
männlich	63	(52,9%)
weiblich	56	(47,1%)
Alter bei Diagnosestellung		
< 60 Jahre	74	(62,2%)
≥ 60 Jahre	45	(37,8%)
Haarfarbe		
Rot	6	(5,0%)
Blond	53	(44,5%)
Braun	49	(41,2%)
Schwarz	10	(8,4%)
keine Angabe	1	(0,8%)
Augenfarbe		
Blau	37	(31,1%)
Grau	23	(19,3%)
Grün	26	(21,8%)
Braun	30	(25,2%)
keine Angabe	3	(2,5%)
Hauttyp		
Typ I	7	(5,9%)
Typ II	67	(56,3%)
Typ III	35	(29,4%)
Typ IV	6	(5,0%)
keine Angabe	4	(3,4%)
Bräunung		
Ja	23	(19,3%)
Nein	95	(79,8%)
keine Angabe	1	(0,8%)
Sommersprossen in der Kindheit		
Ja	34	(28,6%)
Nein	70	(58,8%)
keine Angabe	15	(12,6%)
MM in der Anamnese		
Ja	33	(27,7%)
Nein	82	(68,9%)
keine Angabe	4	(3,4%)
Anzahl von NZN		
< 20	94	(79,0%)
≥ 20	25	(21,0%)

4.1.2 Statistik der histopathologischen Befunde

Die histopathologischen Befunde der 131 Messungen ergaben 83 NZN, 31 Melanome und 18 andere Hauterscheinungen, die genauer in Tabelle 7 aufgelistet sind.

Tabelle 7: Histologische Diagnosen der untersuchten Läsionen

Ergebnisse	Anzahl	Häufigkeit
Melanom	31	23,7%
NZN	83	62,4%
seborrhische Keratose	7	5,3%
Basalzellkarzinom	4	3,1%
Plattenepithelkarzinom	2	1,5%
Fibrolipom	1	0,8%
chronische Entzündung	2	1,5%
aktinische Keratose	1	0,8%

Die 31 Melanome lassen sich weiterhin in 28 invasive und 3 In-situ-Melanome unterteilen (Tab. 8). Das superfiziell spreitende Melanom ist der häufigste Subtyp. In 16 Fällen gibt es keine genaue Unterteilung in Subtypen.

Tabelle 8: Histologische Subtypen der gemessenen Melanome

Histologische Subtypen der Melanome	Anzahl	Häufigkeit
SSM	8	25,8%
NM	4	12,9%
LMM	3	9,7%
keine genaue Typisierung	16	51,6%
Melanome gesamt	31	100%
davon In-situ-Melanome	3	9,7%

Bei den invasiven Melanomen war mit 14 Fällen am häufigsten das T1-Stadium mit einer Tumordicke < 1mm vertreten (Tab. 9). Die minimale Tumordicke aller Melanome betrug 0,25 mm, die maximale 3,80 mm.

Tabelle 9: Tumordicke der invasiven Melanome

T-Klassifikation	Tumordicke	Anzahl	Häufigkeit
T1	≤ 1 mm	14	50,0%
T2	1,01 - 2 mm	7	25,0%
T3	2,01 - 4,0 mm	5	17,9%
T4	> 4,0 mm	0	0,0%
keine Angabe		2	7,1%

4.2 Messgenauigkeit des DFC-1

Die 131 Fluoreszenzmessungen zeigten eine histologische Übereinstimmung der Diagnosen in 92 Fällen (richtig positive und richtig negative Messungen). Aus 31 histologisch diagnostizierten Melanomen identifizierte das DFC-1 15 richtig positive und 16 falsch negative Fälle (Tab. 10). 77 pigmentierte Hauterscheinungen wurden richtig als kein Melanom erkannt.

Tabelle 10: Messgenauigkeit des DFC-1

Testergebnis	Anzahl n=131
a richtig positiv = Melanom	15
d richtig negativ = kein Melanom	77
c falsch positiv	23
b falsch negativ	16

Die **Sensitivität** des DFC-1 beträgt **48,4%** (siehe Werte der Tab. 10: $15/(15 + 16) = 0,4838$).

Die **Spezifität** des DFC-1 beträgt **77,0%** ($77/(23 + 77) = 0,77$).

Der **positive und negative prädiktive Wert** der Dermatofluoroskopie liegt bei **39,5%** bzw. **82,8%**.

Die folgenden vier Messungen zeigen beispielhaft die vier möglichen Ergebnisse bei der Berechnung der Messgenauigkeit des DFC-1.

Beispiel 1: Ein Patient mit einer pigmentierten Läsion (Abb. 12-14) hat die Patientennummer C-206-1 zugeteilt bekommen. Das DFC-1 hat dieser Messung automatisch eine zusätzliche fortlaufende Nummer 144 zugeteilt. Das Ergebnis der Fluorezenzmessung betrug 477, was der Diagnose eines Melanoms entspricht. Die Läsion wurde nach der Messung exzidiert und nach einigen Tagen durch den Histopathologen als SSM mit der Tumordicke von 2,05 mm beschrieben. Somit ist die Diagnose des DFC-1 als richtig positives Ergebnis in die Berechnung der Messgenauigkeit eingeflossen.



Abbildung 12: Übersichtsaufnahme vom Oberarm des Patienten C-206-1

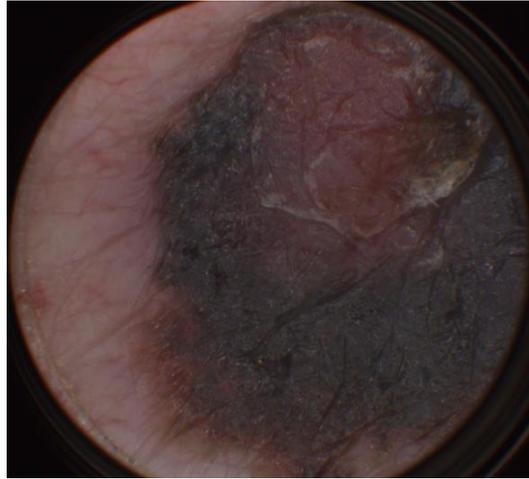


Abbildung 13: Vergrößerung der Läsion durch das DFC-1, C-206-1

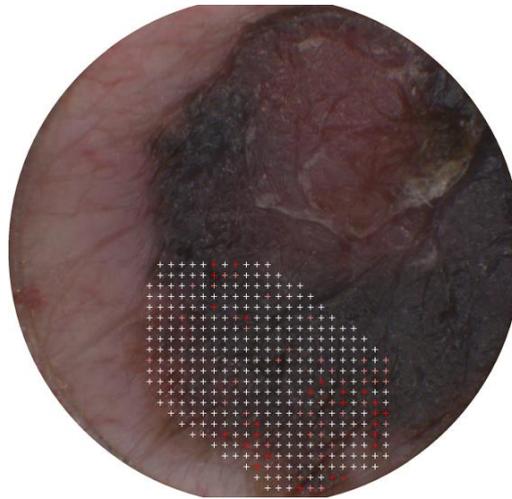


Abbildung 14: Gerastertes Läsionsareal des DFC-1 nach der Messung, C-206-1

Beispiel 2: Die Messung einer Läsion am Abdomen des Patienten C-209-1 (Abb. 15-17) hat 11 betragen, was der Diagnose „kein Melanom“ entspricht. Der histopathologische Befund beschreibt die Biopsie als lentiginösen Nävuszell-nävus mit Dysplasie. Die Diagnose des Dermatofluoroskops wird als richtig negativ bewertet.



Abbildung 15: Übersichtsaufnahme vom Abdomen des Patienten C-209-1

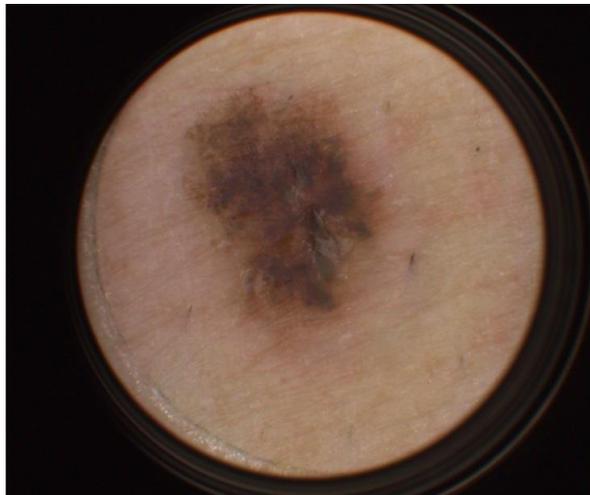


Abbildung 16: Vergrößerung des NZN durch das DFC-1, C-209-1

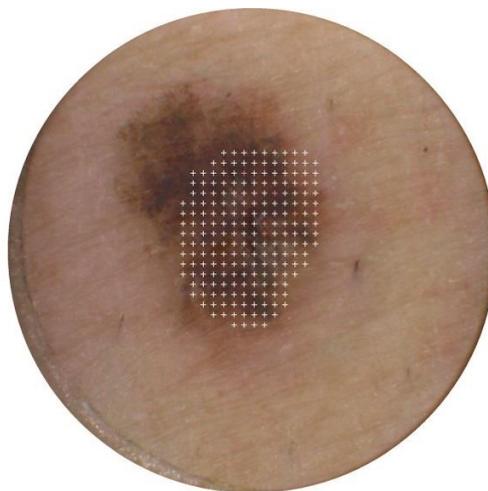


Abbildung 17: Gerasterte Aufnahme des DFC-1 nach der Messung, C-209-1

Beispiel 3: Bei Patient C-116-1 erreichte das DFC-1 einen Score von 12, was der Diagnose „kein Melanom“ entspricht. Der histopathologische Befund beschreibt die Läsion vom Oberschenkel (Abb. 18-20) als malignes Melanom im Stadium pT1a mit 0,5 mm Tumordicke. Die Diagnose des Dermatofluoroskops wird somit als falsch negativ bewertet.

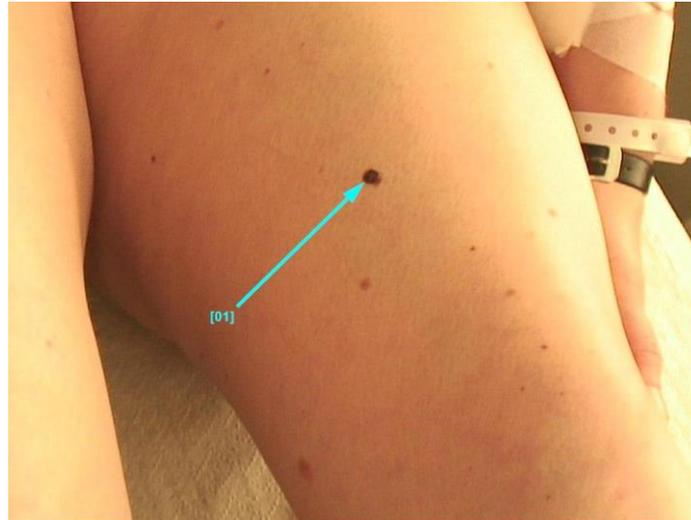


Abbildung 18: Übersichtsaufnahme eines Oberschenkels, C-116-1

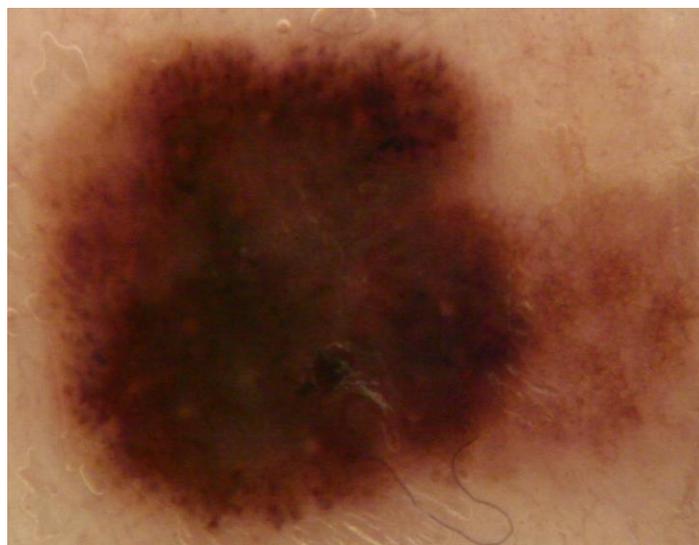


Abbildung 19: Dermatoskopische Nahaufnahme eines MM, C-116-1

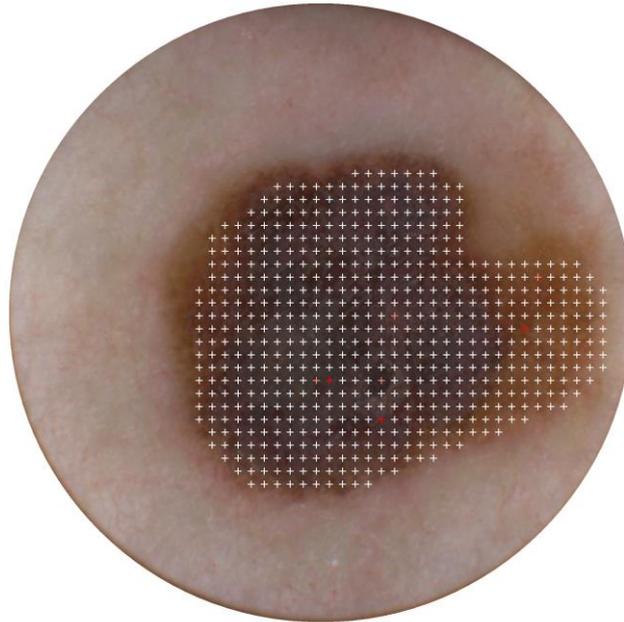


Abbildung 20: Gerasterte Aufnahme des DFC-1 nach der Messung, C-116-1

Beispiel 4: Der Scan einer Läsion am linken Oberarm eines Patienten betrug 42, was der Diagnose „Melanom“ entspricht und an der Anzahl der roten Kreuze im Raster zu erkennen ist (Abb. 21-22). Der histopathologische Befund beschreibt die Biopsie als dysplastischen NZN vom Junktionstyp. Die Diagnose des Dermatofluoroskops wird als falsch positiv bewertet.



Abbildung 21: Übersichtsaufnahme vom Oberarm des Patienten C-135-1

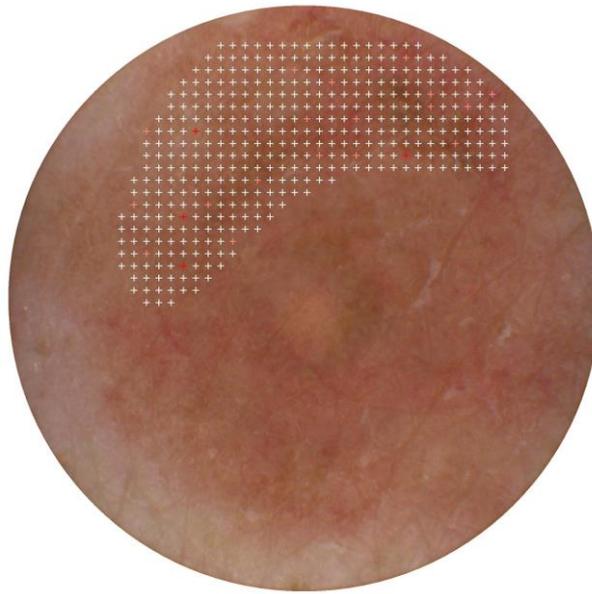


Abbildung 22: Gerasterte Aufnahme des DFC-1 nach der Messung, C-135-1

4.2.1 Messgenauigkeit und Tumordicke

Die Tabelle 11 zeigt die Übereinstimmung des Dermatofluoroskops und der histologisch bestimmten Tumordicke des Melanoms. Allgemein lässt sich erkennen, dass die Messgenauigkeit des DFC-1 für Tumore ab Stadium T3 besser ist als im Stadium T1 und T2. Für eine Aussage der Messgenauigkeit des DFC-1 in Abhängigkeit zur Tumordicke sind zu wenige Gesamtfälle vorhanden. Es lässt sich kein signifikanter Zusammenhang bei einem p-Wert von 0,214 erkennen. Aus 31 Melanomen wurde bei 26 Melanomen eine Tumordicke in der histopathologischen Diagnose angegeben, in 2 Fällen fehlt diese Beschreibung.

Tabelle 11: Messgenauigkeit in Abhängigkeit von T-Klassifikation

T-Klassifikation	Tumordicke	n=26	Übereinstimmung von DFC-1 und T-Klassifikation	
			Ja	Nein
T1	≤ 1 mm	14	5 (35,7%)	9 (64,3%)
T2	1,01 - 2 mm	7	4 (57,1%)	3 (42,9%)
T3	2,01 - 4,0 mm	5	4 (80%)	1 (20%)
T4	> 4,0 mm mm	0		

4.2.2 Messgenauigkeit und Art der Läsion

Die Unterscheidung des DFC-1 zwischen benignen und malignen Hauterscheinungen ist mit $p=0,001$ hoch signifikant. Es wurden 68 von 83 NZN als benigne, aber nur 15 von 31 Melanomen als solche erkannt (Tab. 12). Von 16 falsch negativen Fällen unter den Melanomen waren 10 im Stadium T1, 2 in T2, 1 in T3. Des Weiteren wurden zwei In-situ-Melanome und eine Nachexzision nicht als Melanom diagnostiziert (Anhang Tab. 19).

Tabelle 12: Messgenauigkeit in Abhängigkeit von genauer histologischer Diagnose

Diagnose	n=131	Übereinstimmung von DFC-1 und histopathologischer Diagnose	
		Ja	Nein
Melanom	31	15 (48,4%)	16 (51,6%)
Nävi	83	68 (81,9%)	15 (18,1%)
Seborrhoische und aktinische Keratose	8	6 (75%)	2 (25%)
Basalzellkarzinom	4	1 (25%)	3 (75%)
andere	5	2 (40%)	3 (60%)

4.2.3 Messgenauigkeit und Patientencharakteristika

Die Übereinstimmung der Diagnose des DFC-1 und der histopathologischen Diagnose wurde auch unter Betrachtung von Subgruppen wie Geschlecht, Alter bei Diagnosestellung, Haarfarbe, Augenfarbe, Hauttyp, Bräunung, Sommersprossen während der Kindheit, Melanom in der Vorgeschichte und Anzahl vorhandener NZN analysiert (Tab. 13). Die diagnostische Genauigkeit des DFC-1 weist einen Unterschied bei Geschlechtern auf und ist signifikant besser bei pigmentierten Läsionen männlicher Patienten ($p = 0,037$). In 56 Fällen aus 72 Läsionen männlicher Patienten wurde eine Übereinstimmung erreicht. Im Vergleich dazu wurde in nur 36 Fällen aus 59 Hautveränderungen weiblicher Patienten eine Übereinstimmung der Diagnosen erreicht.

Tabelle 13: Messgenauigkeit des DFC-1 in Abhängigkeit von demografischen Parametern

Parameter	Übereinstimmung von DFC-1 und Histologie					p-Wert
	n=131	Ja (n=92)		Nein (n=39)		
Geschlecht						0,037
Männlich	72	56	77,8%	16	22,2%	
Weiblich	59	36	61%	23	39%	
Alter bei Diagnosestellung						0,431
< 60 Jahre	80	58	72,5%	22	27,5%	
≥ 60 Jahre	50	33	66,0%	17	34,0%	
keine Angabe	1					
Haarfarbe						0,349
Rot	8	7	87,5%	1	12,5%	
Blond	56	39	69,6%	17	30,4%	
Braun	55	37	67,3%	18	32,7%	
Schwarz	11	9	81,8%	2	18,2%	
keine Angabe	1					
Augenfarbe						0,686
Blau	39	27	69,2%	12	30,8%	
Grau	28	17	60,7%	11	39,3%	
Grün	29	21	72,4%	8	27,6%	
Braun	32	25	78,1%	7	21,9%	
keine Angabe	3					
Hauttyp						0,089
Typ I	9	9	100,0%	0	0,0%	
Typ II	73	50	68,5%	23	31,5%	
Typ III	39	27	69,2%	12	30,8%	
Typ IV	6	4	66,7%	2	33,3%	
keine Angabe	4					
Bräune						0,493
Ja	27	21	77,8%	6	22,2%	
Nein	103	70	68,0%	33	32,0%	
keine Angabe	1					
Sommersprossen						0,312
Ja	41	30	73,2%	11	26,8%	
Nein	75	54	72,0%	21	28,0%	
keine Angabe	15					
Melanom in der Anamnese						0,602
Ja	38	28	73,7%	10	26,3%	
Nein	89	62	69,7%	27	30,3%	
keine Angabe	4					
Anzahl von NZN						0,546
<20	105	75	71,4%	30	28,6%	
≥20	26	17	65,4%	9	34,6%	

Das Alter der Patienten bei Diagnosestellung ($p = 0,431$), Haarfarbe ($p = 0,349$), Augenfarbe ($p = 0,686$), Hauttyp ($p = 0,089$), Vorhandensein einer Bräunung bei Diagnosestellung ($p = 0,493$), Sommersprossen während der Kindheit ($p = 0,312$), Melanom in der Vorgeschichte ($p = 0,602$) und Anzahl vorhandener NZN ($p = 0,546$) spielten keine Rolle bei der Genauigkeit der Methode.

5 Diskussion

Der wichtigste prognostische Faktor des malignen Melanoms ist die Tumordicke, die durch die histologische Untersuchung des vollständig exzidierten Melanoms bestimmt wird [34]. Aktuell liegen die Zehn-Jahres-Überlebensraten im Stadium T1 bei maximal 88% und im Stadium T4 ohne lokoregionäre Metastasen und ohne Ulzeration bei 54% [35]. Entscheidend ist es somit für die Patienten, Melanome in einem frühen Stadium zu erkennen, so dass die Prognose für die Patienten gut ist. Die Anforderung an alternative diagnostische Methoden ist eine hohe Sensitivität, da ein nicht erkanntes oder spät erkanntes Melanom erhebliche Auswirkungen auf die Überlebenschancen des Patienten hat [22].

Die Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz basiert auf der Detektion der Spektren. Ein Melanom beinhaltet mehr Eumelanin-Moleküle und fluoresziert im roten Spektrum mit 620 nm [26, 28]. Ein Nävus hat mehr Phäomelanin-Moleküle und fluoresziert im grünen Spektrum [26, 29]. Wie erwartet, ist die Unterscheidung des DFC-1 zwischen benignen und malignen Hauterscheinungen mit $p=0,001$ hoch signifikant (Tab. 12). Die Sensitivität und Spezifität des DFC-1 betrug in diesem Patientenkollektiv 48,4% bzw. 77%. In der Studie liegen fünf Melanome im T3-Stadium vor, in dem das DFC-1 die höchste Übereinstimmung (80%) mit der histologischen Diagnose zeigt (Tab. 11). Das T1-Stadium ist mit 14 Fällen und einer Übereinstimmung von 35,7% vertreten. Dieses Stadium ist ausschlaggebend für die hier untersuchte Sensitivität des Instruments. Betrachtet man die 16 falsch negativen Fälle des DFC-1, so waren davon zehn im Stadium T1, zwei in T2, einer in T3. Des Weiteren wurden zwei In-situ-Melanome und eine Nachexzision nicht als Melanom diagnostiziert (Anhang Tab. 19). Für eine Analyse der histologischen Subtypen und Tumordicken, die eine differenzierte Aussage ermöglicht, sind die Untergruppen zu klein. Es lässt sich aber eine Tendenz des DFC-1 für eine höhere Sensitivität in höheren T-Stadien erkennen (Tab. 11). Würde die Kohorte also aus Melanomen höherer Tumordicke bestehen, würde die Sensitivität wahrscheinlich besser ausfallen. Das Ziel ist aber, ein Melanom im T1-Stadium zu diagnostizieren.

Der positive und negative prädiktive Wert des DFC-1 liegen bei 39,5% bzw. 83,8%.

Aus der Analyse der Patientencharakteristika wie Geschlecht, Alter bei Diagnosestellung, Haarfarbe, Augenfarbe, Hauttyp, Bräunung, Sommersprossen während der Kindheit, Melanom in der Vorgeschichte und Anzahl vorhandener NZN war nur das Geschlecht signifikant. Die diagnostische Genauigkeit des DFC-1 weist einen Unterschied bei pigmentierten Läsionen männlicher Patienten ($p = 0,037$) auf. In 56 aus 72 Läsionen wurde eine Übereinstimmung der Diagnose festgestellt. Im Vergleich dazu wurde in nur 36 aus 59 Hautveränderungen weiblicher Patienten eine Übereinstimmung der Diagnosen erreicht.

Es gibt das braun-schwarze, UV-protektive Eumelanin und das gelb-rote, photolabile Phäomelanin [36]. Im Patientenkollektiv war der Hauttyp-1, der mehr Phäomelanin als Eumelanin enthält, mit neun Fällen vertreten und hat eine 100-prozentige Übereinstimmung mit der histologischen Diagnose ergeben (Tab. 13). Der p-Wert von 0,089 ist aber nicht signifikant, um die Hypothese aufstellen zu können, dass die Messgenauigkeit des DFC-1 vom Hauttyp des Patienten abhängig ist. Anscheinend können die Spektren von Eumelanin in untersuchten Läsionen eindeutiger ausgewertet werden, wenn wenig flächendeckendes Eumelanin der Hautpigmentierung vorliegt, wie es bei Hauttyp 1 der Fall ist.

Die Dermatoskopie sowie auch die Histopathologie sind morphologische Untersuchungsmethoden, die einen subjektiven Spielraum in der Beurteilung und Interpretation der Kriterien haben [37 S. 78]. Die Dermatoskopie beurteilt die Gesamtläsion, beschränkt sich aber nur auf pigmentierte Strukturen. Die Sensitivität der klinischen Diagnose von Melanomen mithilfe des Dermatoskops schwankt je nach Erfahrungsgrad des Untersuchers. Bei atypischen melanozytären Nävi kann die Sensitivität der Dermatoskopie bis zu 93% und die Spezifität bis zu 42% [38] betragen. Es gibt aber auch Studien, die eine geringere Sensitivität aufweisen. So sinkt bei der Diagnostik des Melanoms die Sensitivität der Dermatoskopie zwar auf 83% und die Spezifität erhöht sich auf 69% [39]. Allerdings sind solche Werte nur mit erfahrenen Dermatologen zu erreichen [40]. Eine neuere Untersuchung aus dem Jahr 2018 von Cinotti vergleicht die Messgenauigkeit der Dermatoskopie mit der konfokalen Mikroskopie. Hier erreicht die klassische Diagnostik eine Sensitivität von 61% und eine Spezifität von 92% [41].

Sensitivität und Spezifität sind relative Werte, die unter anderem von den untersuchten Läsionstypen in der klinischen Studie abhängig sind [38]. In diesem Patientenkollektiv wird eine schlechtere Sensitivität erreicht als die recherchierte Sensitivität der Dermatoskopie. Aber die untersuchte Spezifität von 77% ist ein guter Wert, um die Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz zum Ausschluss von Melanomen einzusetzen.

Im histopathologischen Schnitt wird die Verteilung und Anordnung von Melanin und Melanozyten in zufällig gewählter, vertikaler Schnittebene beurteilt [37 S. 78]. Die Histologie als Goldstandard der Diagnose des Melanoms wird hypothetisch auf eine 100-prozentige Genauigkeit gesetzt [22]. In Realität liegt dieser Wert unter 100% [42, 43]. Ein retrospektives Review von histopathologischen Schnitten aus einem Zeitraum von sechs Jahren ergab nur zu 54,5% eine Übereinstimmung der Diagnosen unter den Histopathologen. Eine Nichtübereinstimmung war in 25% aller Fälle gegeben [44]. Auch hier gilt: Die Zuverlässigkeit eines diagnostischen Tests hängt von der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ab. Würden die 16 falsch negativen Messungen des DFC-1 von mehreren Histopathologen re-evaluiert werden, könnten bei fehlender Übereinstimmung über die histologische Diagnose die falsch negativen Messungen aus der Berechnung ausgeschlossen werden. Dies würde die untersuchte Sensitivität des DFC-1 deutlich erhöhen.

Es kann sein, dass die vom DFC-1 gemessene Läsionsfläche nicht den gleichen Ausschnitt des Exzidats untersucht hat, den der Pathologe beurteilt hat. Für genaue Messungen müsste die gesamte Läsion gescannt werden, welches im klinischen Alltag keinen Vorteil gegenüber der schnellen Diagnose mit einem Dermatoskop darstellt. Aber auch bei der routinierten Untersuchung mit dem Dermatoskop kann dieses Phänomen auftreten, da klassischerweise in der Histologie nicht eine ganze Läsion aufgearbeitet wird.

Die dermatoskopische Untersuchungen der Läsionen für diese Dissertation wurden in der chirurgischen Sprechstunde durchgeführt, aber nicht unmittelbar vor der Messung mit dem DFC-1. So konnte die Auswahl des Bildausschnitts nicht immer optimal getroffen werden.

Es gibt nur eine limitierte Anzahl von Studien über die stufenweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz, davon nur eine In-vivo und zwei Ex-vivo Untersuchungen (Tab. 14).

Die 131 Messungen (mit 31 Melanomen) dieser Arbeit stellen einen Teil der prospektiven, multizentrischen, klinischen Studie FLIMMA dar, die an drei dermatologischen Kliniken der Universitäten Tübingen, Heidelberg und der Charité durchgeführt wurde. Insgesamt wurden 560 pigmentierte Läsionen, davon 80 Melanome zum ersten Mal mit einem DFC-1 in vivo gemessen und mit dem histopathologischen Goldstandard verglichen [13].

Die Sensitivität der Melaninfluoreszenz in der FLIMMA-Gesamtstudie lag bei 90% und die Spezifität bei 35% [13]. Im Vergleich zu diesem Kollektiv konnte in der Gesamtstudie eine deutlich höhere Sensitivität erreicht werden. Jedoch war die Spezifität deutlich geringer. Falsch negative Werte aus Tübingen und Heidelberg wurden ein zweites Mal von einem zusätzlichen unabhängigen Pathologen beurteilt [13].

Tabelle 14: Vergleich diagnostischer Genauigkeit der stufenweisen Zwei-Photonen-Fluoreszenz aus verschiedenen Studien

Studie	Jahr	Studie	Messungen	Sensitivität in %	Spezifität in %
Diese Dissertation	2016	in vivo	131	48,4	77
Fink et al. FLIMMA-Gesamtstudie [13]	2016	in vivo	560	90	35
Freudenberger, S. [45] Dissertation	2014	Biopsie	125	82,5	72,5
Leupold et al. [26]	2011	Biopsie	167	93,5	80

Im Vergleich ergeben sich teilweise erhebliche Unterschiede. So betragen die Sensitivität und Spezifität am Standort Berlin 48,4% bzw. 77%. Ein Grund für die Diskordanz der Ergebnisse kann die Änderung des Algorithmus für die Klassifizierung der Grenzübergänge der Spektren an den anderen Untersuchungsstandorten gewesen sein. Die Konsequenz einer Absenkung des Scores von 30 auf beispielweise 28 wären weniger falsch negative Diagnosen

in der Gesamtstudie und eine höhere Sensitivität als in der vorliegenden Arbeit. Zusätzlich ist zu erwähnen, dass die drei verwendete DFC-1-Geräte Prototypen darstellen, die in der Justierung des Lasers, Photomultiplier oder der Software voneinander abweichen können.

In einer Studie aus dem Jahr 2011 von D. Leupold [26] wurden 167 frische Biopsien, davon 136 Nävi und 31 Melanome, mittels der stufenweisen Zwei-Photonen-Fluoreszenz vor der histopathologischen Diagnose untersucht [26]. Die Übereinstimmung bei benignen Läsionen betrug 109 von 136 Fällen und bei Melanomen 29 von 31 Proben. Bei den zwei Fällen von Nichtübereinstimmung handelte es sich um schwach pigmentierte Läsionen, bei denen die gemessene Fluoreszenz nicht ursprünglich vom Melanin, sondern von anderen Molekülen der Haut stammte [26]. Es konnte eine Sensitivität von 93,5% und eine Spezifität von 80% erreicht werden [26]. Für die falsch positive Rate wurde hier die Abhängigkeit von der Dauer der abgegebenen Laserpulse genannt [26].

In einer Dissertation von S. Freudenberger wurde die Melaninfloureszenz an 125 Messungen an Biopsien in Paraffin gemessen. In 60 Fällen handelte es sich um Melanome und in 65 Fällen um Nävi. Die Sensitivität und Spezifität betrug 82,5% und 72,5% [13, 45].

Einige Kritikpunkte der Zwei-Photonen-Melaninfloureszenz sind in dieser ersten In-vivo-Studie deutlich geworden: Bei flächigen Hautveränderungen ist nur ein Teil der Läsion auf dem Bildschirm zu sehen, und nur ein Ausschnitt davon kann schließlich gescannt werden. So stellt sich in einigen Messungen die tatsächlich gemessene Fläche als sehr klein dar. In einem kleinen Ausschnitt eines Melanoms könnte sich eventuell kein entartetes Melanin befinden, welches schließlich zu einem falsch negativen Ergebnis geführt haben kann. Die untersuchte Fläche musste teilweise minimiert werden, um die Untersuchungsdauer zu verkürzen. Je länger eine Messung dauert, desto anfälliger ist sie für einen Abbruch der Messung durch Bewegung (tiefes Einatmen, Niesen, Husten) des Patienten. Durch den Verzicht auf eine Rasur eines erhabenen Nävi kann die Messung falsch positiv ausfallen. Das Melanin in den Haaren verfälscht das Ergebnis, allerdings würde die Verletzung der erhabenen Epidermis bei der Rasur diese Messung sofort ausschließen.

Es wird immer wieder versucht die diagnostische Sensitivität und Spezifität mittels technischer Geräte zu steigern. Aber auch eine niedrige Spezifität führt zu häufigen kostenintensiven Operationen, die medizinisch nicht indiziert gewesen wären. Einen Überblick der diagnostischen Genauigkeiten aller in Kapitel 1.6 vorgestellten computerassistierten Methoden finden sich in Tabelle 15.

Tabelle 15: Diagnostische Genauigkeit computerassistierter Methoden

Studie	Jahr	Messungen	Anzahl Melanome	Sensitivität in %	Spezifität in %
Diese Dissertation	2016	131	31	48,4	77
Sequenzielle digitale Dermatoskopie					
Wollina et al. [46]	2007	3541	52	90-95	79,6-93,3
Rajpara et al. [47] Meta-analyse	2008	2420	x	91	79
Multispektralanalyse					
Monheit et al. [48] (Me-laFind)	2011	1632	127	98,4	9,9
Wells et al. [49] (Me-laFind)	2012	47	23	96	8
Fink et al. [50]	2017	113	3	100	5,5
Elektrische Impedanzspektroskopie					
Aberg et al. [51]	2011	210	62	95	49
Malvey et al. [21] Nevisense	2014	1943	265	96,6	34,4
Konfokale Lasermikroskopie					
Xiong et al. [52] Meta-analyse	2016	3602	x	92,7	78,3
Mandel et al. [53]	2017	55	21	95,2	82,4
Borsari et al. [54]	2018	333	120	92,5	61
Multiphotonen-Tomographie					
Dimitrov et al. [25] in vivo	2009	42	26	75	80
Dimitrov et al. [25] ex vivo	2009	42	26	93	74
Seidenari et al. [55], ex vivo	2013	125	25	100	98

Eine Studie von Wollina et al. [46] untersuchte die diagnostische Genauigkeit der digitalen Dermatoskopie (DB-MIPS-System) an 3541 nicht vorselektierten Läsionen. Davon wurden 466 suspekta Läsionen chirurgisch entfernt und histopathologisch klassifiziert (52 Melanome, davon 5 In-situ). Die Sensitivität variierte an den drei europäischen Zentren zwischen 90% und 95%, die Spezifität zwischen 79,6% und 93,3% [46].

Ein systematisches Review von Rajpara et al. [47] vergleicht die Sensitivität von digitaler Dermatoskopie mit 91% als nur gering besser zu konventioneller Dermatoskopie mit 88%. Bei der Spezifität war die konventionelle mit 86% besser als die digitale Dermatoskopie mit 79%. Fazit der Metaanalyse war, dass beide Methoden gleichwertig sind [47].

Eine multizentrische Studie, die die diagnostische Genauigkeit des Melanoms mittels Multispektralanalyse (MelaFind) und Dermatoskopie im Vergleich zum histopathologischen Goldstandard untersuchte, beschreibt Monheit et al. [48]. Bei einer Anzahl von 1632 Läsionen mit 127 Melanomen, davon 57 In-situ, betrug die Sensitivität und Spezifität von MelaFind 98,4% bzw. 9,9% [48]. Die mediane Tumordicke der Studie betrug 0,9 mm. Histopathologische Bilder wurden von zwei Pathologen bewertet, und bei Diskordanz wurde ein dritter hinzugezogen [48]. Weitere Ergebnisse der Multispektralanalyse wie zum Bsp. von Wells et al. [49] und eine retrospektive Analyse von Fink et al. [50] finden sich in Tabelle 15.

Eine multizentrische Studie aus dem Jahr 2014 von Malvey et al. untersucht die diagnostische Genauigkeit beim Melanom mittels elektrischer Impedanzspektroskopie (Nevisense von Scibase AB) [21]. Die Diagnose von Nevisense wurde ebenfalls wie in dieser Dissertation im Vergleich zur histopathologischen Diagnose untersucht. Bei einer Anzahl von 1943 Läsionen mit 265 Melanomen, davon 112 In-situ, betrug Sensitivität und Spezifität 96,6 % bzw. 34,4%. Der positive und negative prädiktive Wert von Nevisense lagen bei 21,1% bzw. 98,2% [21]. Bei Uneinigkeit der histopathologischen Befundung von zwei Histologen wurden die Läsionen anders als in dieser Dissertation von der Berechnung ausgeschlossen [21]. Unter den 9 falsch negativen Fällen von Nevisense waren 7 In-situ-Melanome [21]. Unter den 14 falsch negativen Fällen des Dermatofluoroskops DFC-1 waren 10 Melanome im T1-Stadium. Eine kleinere Stu-

die von Aberg et al. [51] liefert ähnliche Resultate wie die multizentrische Studie von Malvey et al. [21].

Eine Metastudie zur konfokalen Lasermikroskopie von Xiong et al. [52] zeigte eine Sensitivität von 92,7% und eine Spezifität von 78,3% für die Detektion von Melanomen. Weitere ähnliche Ergebnisse bei der Sensitivität der Methode finden sich bei Mandel et al. [53] und Borsari et al. [54]. Die Spezifität der konfokalen Lasermikroskopie zeigt heterogene Ergebnisse.

Die Multiphotonen-Tomographie scannt bis zu 200 μm tief liegende Gewebszellen in Läsionen [25]. Die Studie von Dimitrov et al. enthielt 26 Melanome mit einer durchschnittlichen Tumordicke von 1,79 mm. Die Messgenauigkeit des verwendeten Lasersystems Dermalinspect wurde mit In-vivo- und Ex-vivo-Messungen verglichen (Tab. 15). In Ex-vivo-Messungen wurde durch bessere Bilddarstellung eine höhere Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu In-vivo-Messungen erreicht [25]. In einer neueren Ex-vivo-Studie von Seidenari et al. [55] wurde sogar eine Sensitivität von 100% erreicht.

Ein Review von Fink C. et al. vergleicht zehn unterschiedliche Verfahren der nicht-invasiven Melanomdiagnostik, darunter auch die hier aufgeführten, und kommt zu dem Ergebnis, dass keine der Untersuchungsmethode eine endgültige, sichere Diagnose liefert [17]. Bei allen dargestellten Methoden muss eine Vorselektion der suspekten Läsion durch den Dermatologen erfolgen, der sich binnen Sekunden mit bloßem Auge und Dermatoskop ein Urteil bilden kann [17]. Auch wenn der Goldstandard selbst als Vergleich nur eine hypothetische 100%-Richtigkeit der Diagnose des Melanoms darstellt, dient letztendlich die Exzision einer melanomsuspekten Läsion in Lokalanästhesie nicht nur der Diagnostik, sondern auch der Therapie des Melanoms im frühen Stadium [59].

Die stufenweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz hat mit dieser klinischen Studie den ersten Schritt von einer experimentellen Methode zu einer klinisch angewandten Methode getan. Auch wenn die stufenweise Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz eine innovative Methode ist, gibt es zum momentanen Zeitpunkt der Entwicklung einige Einschränkungen. Die Untersuchungszeiten sind zwischen 10-20 Minuten ohne Vorbereitungszeit und Selbsttest im klinischen

Alltag aufwendig. Eine kurze Messung ist nur durch eine Verkleinerung des Scanbereichs zu erreichen, aber je kleiner der Scanbereich gewählt wird, desto weniger Spektren können ausgewertet werden. Der relativ große Scankopf des DFC-1 erlaubte keine Messungen an Knochenvorsprüngen, Ohren, Fingern oder Zehen. Um die Zuverlässigkeit dieser diagnostischen Methode zu prüfen, bedarf es weiterer klinischer Studien mit ausreichender Fallzahl.

Anhang

Tabelle 16: Valide Messungen C-100-1 bis C-154-1

Pat.-ID	DFC-ID	DFC-Score	DFC-Diagnose	Histologische	
				Diagnose	Übereinstimmung
C-100-1	17	16	kein MM	MM	Nein
C-106-1	24	51	MM	MM	Ja
C-108-1	26	134	MM	MM	Ja
C-109-1	29	12	kein MM	NZN	Ja
C-110-1	32	19	kein MM	MM	Nein
C-114-1	36	49	MM	MM	Ja
C-116-1	38	12	kein MM	MM	Nein
C-117-1	39	4	kein MM	MM	Nein
C-120-1	42	8	kein MM	MM	Nein
C-122-1	45	43	MM	MM	Ja
C-124-1	50	0	kein MM	NZN	Ja
C-125-1	51	8	kein MM	NZN	Ja
C-127-1	53	5	kein MM	NZN	Ja
C-128-1	55	22	kein MM	MM	Nein
C-129-1	56	12	kein MM	NZN	Ja
C-130-1	57	21	kein MM	NZN	Ja
C-131-1	58	19	kein MM	NZN	Ja
C-132-1	59	19	kein MM	NZN	Ja
C-133-1	60	32	MM	Andere	Nein
C-134-1	61	15	kein MM	MM	Nein
C-135-1	62	42	MM	NZN	Nein
C-136-1	66	16	kein MM	NZN	Ja
C-137-1	65	36	MM	MM	Ja
C-138-1	67	249	MM	MM	Ja
C-139-1	68	9	kein MM	NZN	Ja
C-140-1	69	24	kein MM	Andere	Ja
C-141-1	70	702	MM	MM	Ja
C-142-1	71	51	MM	NZN	Nein
C-145-1	74	12	kein MM	NZN	Ja
C-146-1	76	13	kein MM	NZN	Ja
C-147-1	77	3	kein MM	MM	Nein
C-148-1	78	8	kein MM	Andere	Ja
C-149-1	79	43	MM	MM	Ja
C-150-1	80	39	MM	NZN	Nein
C-151-1	81	0	kein MM	NZN	Ja
C-152-1	82	0	kein MM	MM	Nein
C-152-2	83	7	kein MM	NZN	Ja
C-153-1	84	11	kein MM	NZN	Ja
C-154-1	85	43	MM	NZN	Nein

Tabelle 17: Valide Messungen C-155-1 bis C-190-1

Pat.-ID	DFC-ID	DFC-Score	DFC-Diagnose	Histologische	
				Diagnose	Übereinstimmung
C-155-1	86	11	kein MM	MM	Nein
C-156-1	87	54	MM	MM	Ja
C-157-1	88	219	MM	MM	Ja
C-158-1	89	40	MM	NZN	Nein
C-159-1	90	14	kein MM	NZN	Ja
C-160-1	91	0	kein MM	NZN	Ja
C-161-1	92	21	kein MM	Andere	Ja
C-162-1	93	12	kein MM	NZN	Ja
C-163-1	94	34	MM	NZN	Nein
C-164-1	95	11	kein MM	NZN	Ja
C-165-1	96	16	kein MM	NZN	Ja
C-166-1	97	35	MM	NZN	Nein
C-167-1	98	39	MM	NZN	Nein
C-167-2	99	26	kein MM	NZN	Ja
C-168-1	100	1	kein MM	Andere	Ja
C-169-1	101	89	MM	MM	Ja
C-170-1	104	34	MM	Andere	Nein
C-171-1	106	131	MM	Andere	Nein
C-172-1	107	13	kein MM	NZN	Ja
C-173-1	108	14	kein MM	NZN	Ja
C-174-1	109	12	kein MM	NZN	Ja
C-175-1	110	11	kein MM	Andere	Ja
C-176-1	111	40	MM	NZN	Nein
C-177-1	112	59	MM	MM	Ja
C-177-2	113	459	MM	Andere	Nein
C-178-1	114	0	kein MM	NZN	Ja
C-178-2	115	40	MM	Andere	Nein
C-179-1	116	2	kein MM	NZN	Ja
C-180-1	117	0	kein MM	MM	Nein
C-181-1	118	21	kein MM	Andere	Ja
C-182-1	119	23	kein MM	NZN	Ja
C-183-1	120	24	kein MM	MM	Nein
C-184-1	121	8	kein MM	Andere	Ja
C-185-1	122	6	kein MM	Andere	Ja
C-186-1	123	22	kein MM	NZN	Ja
C-187-1	124	3	kein MM	NZN	Ja
C-188-1	125	13	kein MM	Andere	Ja
C-189-1	126	14	kein MM	Andere	Ja
C-190-1	127	27	kein MM	NZN	Ja

Tabelle 18: Valide Messungen C-191-1 bis C-227-1

Pat.-ID	DFC-ID	DFC-Score	DFC-Diagnose	Histologische Diagnose	Übereinstimmung
C-191-1	129	15	kein MM	NZN	Ja
C-192-1	130	30	kein MM	NZN	Ja
C-193-1	131	151	MM	Andere	Nein
C-194-1	132	37	MM	NZN	Nein
C-195-1	133	501	MM	MM	Ja
C-196-1	134	2	kein MM	MM	Nein
C-197-1	135	44	MM	NZN	Nein
C-198-1	136	259	MM	NZN	Nein
C-199-1	137	5	kein MM	Andere	Ja
C-200-1	138	30	kein MM	NZN	Ja
C-203-1	141	39	MM	MM	Ja
C-204-1	142	21	kein MM	MM	Nein
C-205-1	143	11	kein MM	Andere	Ja
C-206-1	144	477	MM	MM	Ja
C-207-1	145	141	MM	Andere	Nein
C-208-1	147	0	kein MM	NZN	Ja
C-208-2	148	0	kein MM	NZN	Ja
C-209-1	149	11	kein MM	NZN	Ja
C-209-2	150	11	kein MM	Andere	Ja
C-210-1	151	487	MM	NZN	Nein
C-211-1	152	17	kein MM	MM	Nein
C-212-1	153	19	kein MM	NZN	Ja
C-212-2	154	10	kein MM	NZN	Ja
C-213-1	155	16	kein MM	NZN	Ja
C-214-1	156	0	kein MM	MM	Nein
C-215-1	157	3	kein MM	NZN	Ja
C-215-2	158	14	kein MM	NZN	Ja
C-216-1	159	14	kein MM	NZN	Ja
C-217-1	160	3	kein MM	NZN	Ja
C-217-2	161	23	kein MM	NZN	Ja
C-218-1	162	21	kein MM	NZN	Ja
C-219-1	163	7	kein MM	NZN	Ja
C-220-1	164	7	kein MM	NZN	Ja
C-221-1	165	0	kein MM	NZN	Ja
C-222-1	166	3	kein MM	NZN	Ja
C-223-1	167	0	kein MM	NZN	Ja
C-225-1	169	9	kein MM	NZN	Ja
C-226-1	170	12	kein MM	Andere	Ja
C-227-1	171	101	MM	NZN	Nein

Tabelle 19: Valide Messungen C-228-1 bis C-238-1

Pat.-ID	DFC-ID	DFC-Score	DFC-Diagnose	Histologische	
				Diagnose	Übereinstimmung
C-228-1	172	8	kein MM	Andere	Ja
C-229-1	173	276	MM	NZN	Nein
C-230-1	174	8	kein MM	NZN	Ja
C-230-2	175	11	kein MM	NZN	Ja
C-231-1	176	4	kein MM	NZN	Ja
C-232-1	177	19	kein MM	NZN	Ja
C-233-1	178	25	kein MM	NZN	Ja
C-234-1	179	46	MM	Andere	Nein
C-235-1	181	24	kein MM	NZN	Ja
C-236-1	182	7	kein MM	NZN	Ja
C-237-1	183	18	kein MM	NZN	Ja
C-237-2	184	5	kein MM	Andere	Ja
C-237-3	185	27	kein MM	Andere	Ja
C-238-1	186	15	kein MM	NZN	Ja

Tabelle 20: Falsch negative Fälle des DFC-1

Pat.-ID	DFC-ID	DFC-Score	DFC-Diagnose	Histologische Diagnose	Tumordicke	T-Stadium
C-100-1	17	16	kein MM	SSM	0,25	pT1
C-110-1	32	19	kein MM	MM	0,9	pT1
C-116-1	38	12	kein MM	MM	0,5	pT1
C-117-1	39	4	kein MM	MM	1,2	pT2
C-120-1	42	8	kein MM	SSM	0,45	pT1
C-128-1	55	22	kein MM	NM	1,5	pT2
C-134-1	61	15	kein MM	In-situ-Melanom		
C-147-1	77	3	kein MM	MM	0,45	pT1
C-152-1	82	0	kein MM	In-situ-Melanom		
C-155-1	86	11	kein MM	MM	0,45	pT1
C-180-1	117	0	kein MM	NM	3,1	pT3
C-183-1	120	24	kein MM	MM	0,35	pT1
C-196-1	134	2	kein MM	MM	0,25	pT1
C-204-1	142	21	kein MM	Tumorfremie Nachexzision		
C-211-1	152	17	kein MM	MM	0,8	pT1
C-214-1	156	0	kein MM	SSM	1,15	pT1

Tabelle 21: Falsch positive Fälle des DFC-1

Pat.-ID	DFC-ID	DFC-Score	DFC-Diagnose	Genauere histologische Diagnose
C-133-1	60	32	MM	Basalzellkarzinom
C-135-1	62	42	MM	dysplastischer NZN, Junktionstyp
C-142-1	71	51	MM	dysplastischer NZN, lentiginöser Typ
C-150-1	80	39	MM	kongenitaler NZN
C-154-1	85	43	MM	Halo-Nävus
C-158-1	89	40	MM	dermaler NZN
C-163-1	94	34	MM	kongenitaler NZN
C-166-1	97	35	MM	lentiginöser NZN mit Dysplasie
C-167-1	98	39	MM	kongenitaler NZN
C-170-1	104	34	MM	Fibrolipom
C-171-1	106	131	MM	fibrosierende Entzündungsreaktion
C-176-1	111	40	MM	kongenitaler NZN, papillomatös
C-177-2	113	459	MM	Basalzellkarzinom
C-178-2	115	40	MM	chron. fibrosierende Entzündungsreaktion
C-193-1	131	151	MM	Basalzellkarzinom
C-194-1	132	37	MM	kongenitaler NZN
C-197-1	135	44	MM	dysplastischer NZN
C-198-1	136	259	MM	kongenitaler NZN
C-207-1	145	141	MM	Verruca seborrhica, pigmentiert
C-210-1	151	487	MM	atypischer NZN
C-227-1	171	101	MM	NZN koral
C-229-1	173	276	MM	dysplastischer NZN
C-234-1	179	46	MM	Verruca seborrhica

Literaturverzeichnis

- 1 Erdmann F, Lortet-Tieulent J, Schüz J, Zeeb H, Greinert R, Breitbart EW, Bray F. (2013), International trends in the incidence of malignant melanoma 1953–2008—are recent generations at higher or lower risk? *Int.J. Cancer*, 2013 Jan 15; 132(2): 385-400
- 2 Robert Koch Institut, Malignes Melanom der Haut
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Melanom/melanom_node.html (Zugriff am: 27.11.2017)
- 3 Robert Koch Institut, Zentrum für Krebsregisterdaten
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2017/kid_2017_c43_melanom.pdf?__blob=publicationFile (Zugriff am: 27.11.2017)
- 4 Welch HG, Woloshin S, Schwartz LM. Skin biopsy rates and incidence of melanoma: population based ecological study. *BMJ*. 2005; 331: 481.
- 5 National Cancer Institute. SEER Stats Fact Sheets: Melanoma of the skin.
<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>. (Zugriff am: 13.07.2016)
- 6 Higgins HW 2nd, Lee KC, Galan A, Leffell DJ. Melanoma in situ: part I. Epidemiology, screening, and clinical features. *J Am Acad Dermatol*. 2015 Aug; 73(2): 181-90.
- 7 Robert Koch Institut, Krebsarten
http://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/krebsarten_node.html (Zugriff am: 27.11.2017)
- 8 Modul 9, WS 2012/13, Seminar des Instituts für Biochemie der Charite: Molekularer Aufbau der Haut und Pigmentsynthese
- 9 Garbe C. Management des Melanoms, Springer Medizin Verlag Heidelberg 2006
- 10 Plötz S. Häufige Tumore in der Praxis, ISBN-13 978-3-642-24701-9 Springer-Verlag, 2012, S. 74-89
- 11 Dummer R, Hess Schmid M, Burg G, Hafner J. Melanozytäre Nävi und kutanes Melanom. *Praxis. Schweiz Med Forum* Nr. 10 6 März 2002: 224 – 231
- 12 Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche

- Krebshilfe, AWMF): Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Melanoms, Kurzversion 2.0, 2016, AWMF Registernummer: 032/024OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Melanom.65.0.html>, (Zugriff am: 29.01.2018)
- 13 Fink C, Hofmann M, Jagoda A, Spaenkuch I, Forschner A, Tampouri I, Lomberg D, Leupold D, Garbe C, Haenssle HA. Study protocol for a prospective, non-controlled, multicentre clinical study to evaluate the diagnostic accuracy of a stepwise two-photon excited melanin fluorescence in pigmented lesions suspicious for melanoma (FLIMMA study). *BMJ Open* 2016;6: e012730. doi:10.1136/bmjopen-2016-012730
 - 14 Gachon J, Beaulieu P, Sei JF, Gouvernet J, Claudel JP, Lemaitre M, Richard MA, Grob JJ. First prospective study of the recognition process of melanoma in dermatological practice. *Arch Dermatol.* 2005 Apr;141(4): 434-8.
 - 15 Argenziano G, Soyer HP, Chimenti S, Talamini R, Corona R, Sera F, Binder M, Cerroni L, De Rosa G, Ferrara G, Hofmann-Wellenhof R, Landthaler M, Menzies SW, Pehamberger H, Piccolo D, Rabinovitz HS, Schiffner R, Staibano S, Stolz W, Bartenjev I, Blum A, Braun R, Cabo H, Carli P, De Giorgi V, Fleming MG, Grichnik JM, Grin CM, Halpern AC, Johr R, Katz B, Kenet RO, Kittler H, Kreusch J, Malvey J, Mazzocchetti G, Oliviero M, Ozdemir F, Peris K, Perotti R, Perusquia A, Pizzichetta MA, Puig S, Rao B, Rubegni P, Saida T, Scalvenzi M, Seidenari S, Stanganelli I, Tanaka M, Westerhoff K, Wolf IH, Braun-Falco O, Kerl H, Nishikawa T, Wolff K, Kopf AW. Dermoscopy of pigmented skin lesions: Results of a consensus meeting via the Internet. *J Am Acad Dermatol* 48: 679–693.
 - 16 Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW: Early detection of malignant melanoma: the role of physician examination and self-examination of the skin. *CA Cancer J Clin* 35: 130-151.
 - 17 Fink C, Haenssle HA. Non-invasive tools for the diagnosis of cutaneous melanoma. *Skin Res Technol.* 2016; 261–271.
 - 18 Blum A, Luedtke H, Ellwanger U, Schwabe R, Rassner G, Garbe C. Digital Image analysis for diagnosis of cutaneous melanoma. Development of a highly effective computer algorithm based on analysis of 837 melanocytic lesions. *Br J Dermatol.* 2004 Nov; 151(5): 1029-38.

- 19 Haenssle HA, Korpas B, Hansen-Hagge C, Buhl T, Kaune KM, Johnsen S, Rosenberger A, SchonMP, Emmert S. Selection of patients for long-term surveillance with digital dermoscopy by assessment of melanoma risk factors. *Arch Dermatol* 2010; 146: 257–264.
- 20 <http://www.derma-bonn.de/leistungen/hautkrebsvorsorge/mela-find/> (Zugriff am: 31.01.2018).
- 21 Malveyh J, Hauschild A, Curiel-Lewandrowski C, Mohr P, Hofmann-Wellenhof R, Motley R, Berking C, Grossman D, Paoli J, Loquai C, Olah J, Reinhold U, Wenger H, Dirschka T, Davis S, Henderson C, Rabinovitz H, Welzel J, Schadendorf D, Birgersson U. Clinical performance of the Nevi sense system in cutaneous melanoma detection: an international, multi centre, prospective and blinded clinical trial on efficacy and safety *Br J Dermatol*. 2014 Nov; 171(5): 1099-107.
- 22 Mohr P, Birgersson U, Berking C, Henderson C, Trefzer U, Kemeny L, Sunderkötter C, Dirschka T, Motley R, Frohm-Nilsson M, Reinhold U, Loquai C, Braun R, Nyberg F, Paoli J. Electrical impedance spectroscopy as a potential adjunct diagnostic tool for cutaneous melanoma. *Skin Res Technol*. 2013 May; 19(2): 75-83.
- 23 <http://medizin-und-technik.industrie.de/technik/forschung/zugang-zur-fuenften-dimension/> (Zugriff am: 31.01.2018).
- 24 Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malveyh J. Development of a two-step method for the diagnosis of melanoma by reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2009; Aug; 61(2): 216-29.
- 25 Dimitrow E, Ziemer M, Koehler MJ, Norgauer J, König K, Elsner P, Kaatz M. (2009) Sensitivity and specificity of multiphoton laser tomography for in vivo and ex vivo diagnosis of malignant melanoma. *J Invest Dermatol* 2009 Jul; 129: 1752–1758.
- 26 Leupold D, Scholz M, Stankovic G, Reda J, Buder S, Eichhorn R, Wessler G, Stücker M, Hoffmann K, Bauer J, Garbe C. The stepwise two-photon excited melanin fluorescence is a unique diagnostic tool for the detection of malignant transformation in melanocytes. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011 Jun; 24(3): 438-45.
- 27 Eichhorn R, Wessler G, Scholz M, Leupold D, Stankovic G, Buder S, Stücker M, Hoffmann K. Early diagnosis of melanotic melanoma based on

- laser-induced melanin fluorescence. *J Biomed Opt.* 2009 May-Jun;14(3): 034033.
- 28 Ito S, Jimbow K. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in hair and melanomas. *J Invest Dermatol.* 1983 Apr;80(4):268-72.
- 29 Scholz M. LTB Lasertechnik Berlin
- 30 Anwendertraining_Flimma_Phase II.pdf, S.18
- 31 CIR_Flimma_V7_0912.pdf
- 32 <https://www.aerzteblatt.de/pdf.asp?id=65024> (Zugriff am: 30.01.2018)
- 33 http://www.ebm-netzwerk.de/was-wir-tun/publikationen/kvh/kvh-1611.pdf-n/at_download/file (Zugriff am: 30.01.2018)
- 34 <https://www.aerzteblatt.de/archiv/6219/Neue-Erkenntnisse-zum-malignen-Melanom> (Zugriff am: 01.02.2018).
- 35 <http://www.onkodin.de/e2/e55749/e56330/e56488/> (Zugriff am 04.02.2018)
- 36 Zanetti R, Prota G, Napolitano A, Martinez C, Sancho-Garnier H, Osterlind A, Sacerdote C, Rosso S: Development of an integrated method of skin phenotype measurement using the melanins. *Melanoma Res* 2001;11:551-557.
- 37 Cerroni L, Garbe C, Metze D, Kutzner H, Kerl H. (Hrsg.) *Histopathologie der Haut*, 2. Auflage, 2016 Springer-Verlag Berlin Heidelberg, eBook ISBN 978-3-662-45133-5
- 38 Antonio JR, Soubhia RM, D'Avila SC, Caldas AC, Trídico LA, Alves FT. Correlation between dermoscopic and histopathological diagnoses of atypical nevi in a dermatology outpatient clinic of the Medical School of São José do Rio Preto, SP, Brazil. *Anais Brasileiros de Dermatologia.* 2013; 88(2): 199-203.
- 39 Blum A, Hofmann-Wellenhof R, Luedtke H, Ellwanger U, Steins A, Roehm S, Garbe C, Soyer HP. Value of the clinical history for different users of dermoscopy compared with results of digital image analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2004; 18: 665–9.
- 40 Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Diagnostic accuracy of dermoscopy. *Lancet Oncol.* 2002 Mar; 3(3): 159-65.
- 41 Cinotti E, Labeille B, Debarbieux S, Carrera C, Lacarrubba F, Witkowski AM, Moscarella E, Arzberger E, Kittler H, Bahadoran P, Gonzalez S, Gui

- tera P, Agozzino M, Farnetani F, Hofmann-Wellenhof R, Ardigò M, Rubegni P, Tognetti L, Łudzik J, Zalaudek I, Argenziano G, Longo C, Ribero S, Malvehy J, Pellacani G, Cambazard F, Perrot JL. Dermoscopy versus reflectance confocal microscopy for the diagnosis of lentigo maligna. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018 Jan 17. doi: 10.1111/jdv.14791.
- 42 Soyer HP, Massone C, Ferrara G, Argenziano G. Limitations of histopathologic analysis in the recognition of melanoma: a plea for a combined diagnostic approach of histopathologic and dermoscopic evaluation. *Arch Dermatol*. 2005 Feb; 141(2): 209-11.
- 43 Farmer ER, Gonin R, Hanna MP. Discordance in the histopathologic diagnosis of melanoma and melanocytic nevi between expert pathologists. *Hum Pathol*. 1996 Jun;27(6): 528-31.
- 44 Lodha S, Saggar S, Celebi JT, Silvers DN. Discordance in the histopathologic diagnosis of difficult melanocytic neoplasms in the clinical setting. *J Cutan Pathol*. 2008 Apr; 35(4): 349-52.
- 45 Freudenberger S. Informationsgehalt der Melanin-dominierten Fluoreszenz pigmentierter kutaner Läsionen in Paraffin [Dissertation]. Universitätsklinik Tübingen, 2014.
- 46 Wollina U, Burrioni M, Torricelli R, Gilardi S, Dell'Eva G, Helm C, Bardey W. Digital dermoscopy in clinical practise: a three-centre analysis. *Skin Res Technol*. 2007 May; 13(2): 133-42
- 47 Rajpara S.M, Botello A.P, Townend J, Ormerod A.D. Systematic review of dermoscopy and digital dermoscopy/artificial intelligence for the diagnosis of melanoma. *British Journal of Dermatology* 2009 161: 591–604
- 48 Monheit G, Cagnetta AB, Ferris L, Rabinovitz H, Gross K, Martini M, Grichnik JM, Mihm M, Prieto VG, Googe P, King R, Toledano A, Kabelev N, Wojton M, Gutkowitz-Krusin D. The performance of MelaFind: a prospective multicenter study. *Archives of dermatology*. 147: 188–194.
- 49 Wells R, Gutkowitz-Krusin D, Veledar E, Toledano A, Chen SC. Comparison of Diagnostic and Management Sensitivity to Melanoma Between Dermatologists and MelaFind: A Pilot Study. *Arch Dermatol*. 2012;148(9): 1083–1084.
- 50 Fink C, Jaeger C, Jaeger K, Haenssle, H. A. (2017), Diagnostic performance of the MelaFind device in a real-life clinical setting. *JDDG*:

-
- Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 15: 414–419.
- 51 Aberg P, Birgersson U, Elsner P, Mohr P, Ollmar S. Electrical impedance spectroscopy and the diagnostic accuracy for malignant melanoma. *Exp Dermatol*. 2011 Aug; 20(8): 648-52.
 - 52 Xiong YD, Ma S, Li X, Zhong X, Duan C, Chen Q. A meta-analysis of reflectance confocal microscopy for the diagnosis of malignant skin tumours. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016 Aug;30(8): 1295-302.
 - 53 Mandel VD, Bombonato C, Pampena R, Kyrgidis A, Borsari S, Benati E, Mirra M, Piana S, Pellacani G, Longo C. Integration of dermoscopy and reflectance confocal microscopy for distinguishing melanomas from nevi of the breast area. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017 Nov 10.
 - 54 Borsari S, Pampena R, Benati E, Bombonato C, Athanassios K, Moscarella E, Lallas A, Argenziano G, Pellacani G, Longo C. In vivo dermoscopic and confocal microscopy multi-step algorithm to detect in situ melanomas. *Br J Dermatol*. 2018 Jan 21.
 - 55 Seidenari S, Arginelli F, Dunsby C, French PM, König K, Magnoni C, Talbot C, Ponti G. Multiphoton laser tomography and fluorescence lifetime imaging of melanoma: morphologic features and quantitative data for sensitive and specific non-invasive diagnostics. *PLoS One*. 2013 Jul 26; 8(7): e70682
 - 56 Megahed M, Schön M, Selimovic D, Schön MP. Reliability of diagnosis of Melanoma in situ. *Lancet*. 2002;359(9321):1921-1922

Lebenslauf

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Agata Jagoda, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

Zwei-Photonen-Melaninfluoreszenz zur Diagnostik des malignen Melanoms selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

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

Datum

Unterschrift