

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

DISSERTATION

Non-invasive Diagnostik neoplastischer und virusassoziierter Hautveränderungen bei
Organtransplantierten mit Hilfe der Reflektanz-konfokalen Laserscanmikroskopie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lena Evelyne Rüter
aus Göttingen

Datum der Promotion: 23.06.2019

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	VII
Abbildungsverzeichnis	IX
Abkürzungsverzeichnis	XI
Zusammenfassung	1
Summary	3
1 Einleitung	5
1.1 Kutane Erkrankungen nach Organtransplantation	5
1.2 Diagnostik der Läsionen	7
1.3 Basalzellkarzinom.....	9
1.3.1 Klinische Merkmale	9
1.3.2 Histopathologie	12
1.4 Morbus Bowen.....	14
1.4.1 Klinische Merkmale	14
1.4.2 Histopathologie	15
1.5 Aktinische Keratose.....	15
1.5.1 Klinische Merkmale	15
1.5.2 Histopathologie	18
1.6 Verruca	19
1.6.1 Klinische Merkmale	19
1.6.2 Histopathologie	22
1.7 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie	24
1.7.1 Entwicklung und Historie.....	24
1.7.2 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie der gesunden Haut.....	25
1.7.3 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie des Basalzellkarzinoms	29
1.7.4 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie des Morbus Bowen.....	31
1.7.5 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie der aktinischen Keratose	33

1.7.6	Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie der Verruca.....	34
2	Fragestellungen	35
2.1	Reproduzierbarkeit der bekannten RCM-Evaluationskriterien	35
2.2	Sensitivität und Spezifität der RCM im Vergleich zur Histologie	35
2.3	Relevanz der erhobenen Daten.....	35
2.4	Verteilungshäufigkeit einzelner RCM-Merkmale	35
2.5	Konkordanz der Untersucher.....	35
3	Patienten und Methodik	37
3.1	Studienpopulation.....	37
3.2	Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie	40
3.2.1	Optisches Grundprinzip	40
3.2.2	Technischer Aufbau	42
3.2.3	Software.....	44
3.3	Studienablauf.....	44
3.4	Statistische Analyse	46
3.4.1	Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse.....	46
3.4.2	Chi-Quadrat-X ² -Test	47
3.4.3	Kappa-Analyse.....	47
4	Ergebnisse	49
4.1	Basalzellkarzinom.....	49
4.1.1	Morphologische RCM-Analyse	49
4.1.1.1	Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten ...	49
4.1.1.2	Dendritische Zellen	50
4.1.1.3	Streaming	51
4.1.1.4	Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe	52
4.1.1.5	Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma	54
4.1.1.6	Entzündungsinfiltrat	54
4.1.1.7	Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße	55

4.1.2	Statistische Auswertung.....	57
4.1.2.1	Sensitivität, Spezifität, Chi-Quadrat- X^2 -Analyse und Konkordanz der Untersucher für die Diagnose	57
4.1.2.2	Sensitivität und Spezifität der RCM-Parameter	59
4.1.2.3	Chi-Quadrat- X^2 -Test der RCM-Parameter.....	61
4.1.2.4	Häufigkeiten der RCM-Parameter	62
4.1.2.5	Konkordanz der Untersucher für die RCM-Parameter.....	63
4.2	Morbus Bowen.....	64
4.2.1	Morphologische RCM-Analyse	64
4.2.1.1	Starker Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten	64
4.2.1.2	Dyskeratotische Zellen	65
4.2.1.3	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation.....	66
4.2.2	Studienprotokolle	67
4.3	Aktinische Keratose.....	68
4.3.1	Morphologische RCM-Analyse	68
4.3.1.1	Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten	68
4.3.1.2	Parakeratose	69
4.3.1.3	Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten	70
4.3.1.4	Dendritische Zellen	71
4.3.1.5	Entzündungsinfiltrat	73
4.3.1.6	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation.....	74
4.3.1.7	Solare Elastose.....	75
4.3.2	Statistische Auswertung.....	77
4.3.2.1	Sensitivität, Spezifität, Chi-Quadrat- X^2 -Analyse und Konkordanz der Untersucher für die Diagnose	77
4.3.2.2	Sensitivität und Spezifität der RCM-Parameter	79
4.3.2.3	Chi-Quadrat- X^2 -Test der RCM-Parameter.....	81
4.3.2.4	Häufigkeiten der RCM-Parameter	82
4.3.2.5	Konkordanz der Untersucher für die RCM-Parameter.....	83
4.4	Verruca	84
4.4.1	Morphologische RCM-Analyse	84
4.4.1.1	Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten	84
4.4.1.2	Koilozytose	84

4.4.1.3	Dendritische Zellen	85
4.4.1.4	Papillomatose	86
4.4.1.5	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilata-tion	87
4.4.2	Statistische Auswertung.....	88
4.4.2.1	Sensitivität, Spezifität, Chi-Quadrat- X^2 -Analyse und Konkordanz der Untersucher für die Diagnose	88
4.4.2.2	Sensitivität und Spezifität der RCM-Parameter	90
4.4.2.3	Chi-Quadrat- X^2 -Test der RCM-Parameter.....	91
4.4.2.4	Häufigkeiten der RCM-Parameter	92
4.4.2.5	Konkordanz der Untersucher für die RCM-Parameter.....	92
5	Diskussion.....	94
5.1	Basalzellkarzinom.....	96
5.2	Morbus Bowen.....	100
5.3	Aktinische Keratose.....	102
5.4	Verruca	108
5.5	Konklusion	110
	Literaturverzeichnis	XIII
	Eidesstattliche Versicherung.....	XXVI
	Lebenslauf	XXVII
	Danksagung	XXIX

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Histologische Klassifizierung der AK nach Röwert-Huber.....	18
Tabelle 2: Tiefe der Hautschicht mit dem mittleren Durchmesser eines Keratinozyten	25
Tabelle 3: RCM-Evaluationskriterien für das Basalzellkarzinom.....	30
Tabelle 4: RCM-Evaluationskriterien für den Morbus Bowen	32
Tabelle 5: RCM-Evaluationskriterien für die aktinische Keratose	33
Tabelle 6: RCM-Evaluationskriterien für die Verruca	34
Tabelle 7: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines BCC	38
Tabelle 8: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines MB.....	38
Tabelle 9: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer AK.....	39
Tabelle 10: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca	40
Tabelle 11: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Basalzellkarzinoms.....	58
Tabelle 12: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Basalzellkarzinoms.....	59
Tabelle 13: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher I für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms	61
Tabelle 14: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher II für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms	61
Tabelle 15: Ergebnisse des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- X^2 beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms.....	62
Tabelle 16: Häufigkeitsanalyse beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms	63
Tabelle 17: Konkordanzwerte beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Basalzellkarzinom-Kohorte	64
Tabelle 18: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Morbus Bowen.....	67
Tabelle 19: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Morbus Bowen.....	68
Tabelle 20: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer aktinischen Keratose.....	78

Tabelle 21: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer aktinischen Keratose.....	79
Tabelle 22: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher I für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose	80
Tabelle 23: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher II für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose	81
Tabelle 24: Ergebnisse des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- X^2 beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose.....	82
Tabelle 25: Häufigkeitsanalyse beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose.....	83
Tabelle 26: Konkordanzwerte beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose-Kohorte.....	83
Tabelle 27: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca.....	89
Tabelle 28: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca.....	89
Tabelle 29: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher I für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca	90
Tabelle 30: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher II für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca	91
Tabelle 31: Ergebnisse des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- X^2 beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca.....	91
Tabelle 32: Häufigkeitsanalyse beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca	92
Tabelle 33: Konkordanzwerte beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca-Kohorte.....	93

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Dermatoskopisches Bild eines nodulären Basalzellkarzinoms	11
Abbildung 2: Dermatoskopisches Bild einer aktinischen Keratose	17
Abbildung 3: Auflichtmikroskopisches Bild einer Verruca vulgaris.....	22
Abbildung 4: Stratum corneum der gesunden Haut.....	26
Abbildung 5: Stratum granulosum der gesunden Haut	26
Abbildung 6: Stratum spinosum der gesunden Haut	27
Abbildung 7: Stratum basale der gesunden Haut	28
Abbildung 8: Prinzip der Bilderfassung mit Hilfe des VivaScope® 1500	41
Abbildung 9: VivaScope® 1500 der Firma MAVIG GmbH (München).....	42
Abbildung 10: Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten beim Basalzellkarzinom	49
Abbildungen 11 A und B: Dendritische Zellen beim Basalzellkarzinom	50
Abbildungen 12 A und B: Dendritische Zellen beim Basalzellkarzinom	51
Abbildung 13: Streaming beim Basalzellkarzinom.....	52
Abbildung 14: Tumorzellinseln beim Basalzellkarzinom	53
Abbildung 15: Tumorzellinseln beim Basalzellkarzinom	53
Abbildung 16: Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma beim Basalzellkarzinom	54
Abbildung 17: Entzündungsinfiltrat beim Basalzellkarzinom.....	55
Abbildung 18: Dilatation der Blutgefäße beim Basalzellkarzinom.....	56
Abbildung 19: Vermehrung der Blutgefäße beim Basalzellkarzinom.....	56
Abbildung 20: Starke Windung der Blutgefäße beim Basalzellkarzinom	57
Abbildung 21: Starker Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten beim Morbus Bowen	65
Abbildung 22: Dyskeratotische Zellen beim Morbus Bowen.....	66
Abbildung 23: Erhöhte Vaskularisierung beim Morbus Bowen	67
Abbildungen 24 A und B: Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten bei der aktinischen Keratose.....	69
Abbildung 25: Parakeratose bei der aktinischen Keratose	70
Abbildung 26: Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten bei der aktinischen Keratose.....	71
Abbildungen 27 A und B: Dendritische Zellen bei der aktinischen Keratose.....	72

Abbildungen 28 A und B: Dendritische Zellen bei der aktinischen Keratose	72
Abbildung 29: Entzündungsinfiltrat bei der aktinischen Keratose	73
Abbildung 30: Entzündungsinfiltrat bei der aktinischen Keratose	74
Abbildungen 31 A und B: Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilata-tion bei der aktinischen Keratose.....	75
Abbildung 32: Mäßige solare Elastose bei der aktinischen Keratose	76
Abbildung 33: Starke solare Elastose bei der aktinischen Keratose.....	76
Abbildung 34: Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten bei der Verruca.....	84
Abbildung 35: Koilozytose bei der Verruca	85
Abbildung 36: Dendritische Zellen bei der Verruca.....	86
Abbildung 37: Papillomatose bei der Verruca.....	87
Abbildung 38: Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilata-tion bei der Verruca	88

Abkürzungsverzeichnis

AK	Aktinische Keratose
BCC	Basalzellkarzinom
D	Dermis
DEJ	Dermoepidermale Junktionszone
DK	Dyskeratotische Keratinozyten
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DZ	Dendritische Zellen
E	Entzündungsinfiltrat
EA	Ethikantrag
G	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion
Geb.	Geburtsdatum
Geschl.	Geschlecht
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HK	Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten
HPV	Humane Papillomaviren
INV	Investigator
K	Koilozytose
LP	Lichen planus
MB	Morbus Bowen, Bowen's disease
M	Männlich
MAL	Methyl-5-amino-4-oxopentanoat
MK	Mehrkernige Keratinozyten
mTOR	Mechanistic Target of Rapamycin
NZN	Nävuszellnävus
PDT	Photodynamische Therapie
PEC	Plattenepithelkarzinom
PK	Parakeratose
PM	Papillomatose
RCM	Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie
SB	Stratum basale
SC	Stratum corneum
SE	Solare Elastose

SG	Stratum granulosum
SK	Seborrhoische Keratose
SP	Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma
SS	Stratum spinosum
ST	Streaming
TH	Talgdrüsenhyperplasie
TZ	Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe
UNT	Untersucher
UV	Ultraviolettstrahlung
UVA	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 315 bis 380 nm
UVB	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 280 bis 315 nm
V	Verruca
VH	Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten
VP	Verruca plana
VV	Verruca vulgaris
W	Weiblich

Zusammenfassung

Einleitung: Eine medikamentös induzierte Immunsuppression kann die Abstoßung eines fremden Organs bei transplantierten Patienten verhindern, jedoch werden darunter häufig neoplastische und virusassoziierte Hauterkrankungen beobachtet. Die Reflektanzkonfokale Laserscanmikroskopie (RCM) hat sich kürzlich als aussichtsreiches Instrument zur frühzeitigen Erkennung dieser Hautläsionen erwiesen, um aufwändige zeit- und kostenintensive Biopsien zu vermeiden. Nach unserem besten Wissen ist dies die erste Studie, die eine systematische Evaluierung fraglicher Hautveränderungen bei Organtransplantierten mittels RCM vornimmt.

Ziel: Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Genauigkeit der konfokalen Mikroskopie für die Diagnose von Hautveränderungen bei Organtransplantierten durch die Anwendung ausgewählter RCM-Evaluationskriterien im klinischen Alltag zu prüfen.

Patienten und Methoden: Eine Gesamtzahl von 61 Hautveränderungen wurde evaluiert. Eine erste klinische Untersuchung ergab 20 Basalzellkarzinome, sechs Bowen-Karzinome, 23 aktinische Keratosen und zwölf Verrucae. Alle Läsionen wurden konfokalmikroskopisch untersucht, anschließend wurde eine konventionelle Histologie als Goldstandard angefertigt. Die morphologische Auswertung des RCM-Bildmaterials erfolgte durch zwei unabhängige Dermatologen.

Ergebnisse: Für die Diagnose des Basalzellkarzinoms wurde eine Sensitivität von 100% durch beide Untersucher (UNT I + II) sowie eine Spezifität von 100% (UNT I) bzw. 80% (UNT II) bei sehr guter Konkordanz zwischen den Gutachtern erreicht. Die Sensitivitätsdurchschnittsrate der RCM-Merkmale beider Untersucher lag zwischen 60% und 100%, während die Spezifität 55% bis 90% betrug. Bis auf das Entzündungsinfiltrat zeigten alle Parameter eine gute bis mittlere Interobserver-Konkordanz.

In den Morbus Bowen-Läsionen konnten, bis auf die mehrkernigen Keratinozyten, alle bisher in der Literatur beschriebenen RCM-Evaluationsparameter aufgefunden werden.

Für die Diagnose der aktinischen Keratose konnte eine übereinstimmende Sensitivität von 94,4% und eine Spezifität von 80% (UNT I) bzw. 60% (UNT II) bei mittlerer Konkordanz zwischen den Beobachtern gezeigt werden. Die Sensitivitätsdurchschnittsrate der RCM-Merkmale lag zwischen 72,3% und 97,2%, während die Spezifität 20% bis 90% betrug. Die Übereinstimmung zwischen den Gutachtern variierte zwischen 0,151 und 0,769.

Bezüglich der Verrucae bestätigte die RCM die histologische Diagnose mit einer Sensitivität von 85,7% (UNT I) bzw. 100% (UNT II), während die Spezifität 100% (UNT I) bzw. 80% (UNT II) bei guter Beobachter-Konkordanz betrug. Die Sensitivitätsdurchschnittsrate der konfokalen Parameter zeigte eine Genauigkeit von 50% bis 100%, während die Spezifität 40% bis 90% betrug. Für alle Kriterien konnte eine gute bis mittlere Konkordanz berechnet werden.

Schlussfolgerung: Es konnte gezeigt werden, dass die Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie ein vielversprechendes Werkzeug zur non-invasiven Diagnostik neoplastischer und virusassoziierter Hautveränderungen bei Organtransplantierten darstellt. Angesichts der Häufigkeit und diagnostischen Komplexität der nach Transplantation auftretenden hyperkeratotischen Läsionen sind größere Patientenkollektive erforderlich, die diese interessanten Erkenntnisse untermauern.

Summary

Background: Drug-induced immunosuppression is used to prevent rejection of the foreign organ in transplanted patients, but neoplastic and virus-associated skin diseases are frequent complications. Reflectance confocal microscopy (RCM) recently emerged as a promising tool for the early identification of these lesions, avoiding invasive time- and cost-consuming biopsies. To the best of our knowledge, this is the first study that evaluates systematically questionable skin changes in organ transplanted patients using RCM.

Aim: This work aims to investigate the accuracy of RCM for the diagnosis of the skin alterations occurring in organ transplant recipients by adopting specific RCM parameters.

Patients and methods: 61 skin lesions were analyzed. A first clinical examination identified 20 basal cell carcinomas, 6 Bowen's diseases, 23 actinic keratoses and 12 verrucas. All lesions were further examined by RCM and histological examination as gold standard was performed. Morphological evaluation of the RCM images was carried out by two independent dermatologists.

Results: For the diagnosis of basal cell carcinoma a sensitivity of 100% by both investigators (INV I + II) and a specificity of 100% by INV I and 80% by INV II were achieved. The interobserver concordance degree was very good. The sensitivity average rate for RCM features reached by both investigators ranged between 60%-100%, while the specificity between 55%-90%. All parameters showed good to moderate interobserver concordance except for the inflammatory infiltrate.

In the lesions of Bowen's disease, all RCM parameters were found, with the exception of polynuclear keratinocytes.

For the diagnosis of actinic keratosis a concordant sensitivity of 94.4% and a specificity of 80% (INV I) and 60% (INVII) were detected. A medium level of agreement between observers was demonstrated. The sensitivity average rate of specific RCM criteria ranged between 72.3%-97.2%, whereas specificity between 20%-90%. The interobserver concordance score varied between 0.151 and 0.769.

Regarding verrucas, RCM confirmed the histological diagnosis with a sensitivity of 85.7% (INV I) and 100% (INV II), while specificity was 100% (INV I) and 80% (INV II) with good interobserver concordance. The sensitivity average rate of RCM features showed an accuracy of 50%-100% while for specificity 40%-90%. A good to medium concordance was assessed.

Conclusion: RCM resulted to be a reliable tool for the non-invasive diagnosis of neoplastic and virus-associated skin changes in organ transplant recipients. Nevertheless, given the frequency and diagnostic complexity of the hyperkeratotic lesions occurring post-transplantation, larger cohorts of patients are required to confirm and consolidate these interesting findings.

1 Einleitung

1.1 Kutane Erkrankungen nach Organtransplantation

Eine Organtransplantation gilt für Patienten mit schwersten Organschäden als lebensrettende Maßnahme. Die erste erfolgreiche Transplantation eines Organs gelang Joseph Murray im Dezember 1954 in Boston. Er verpflanzte dabei eine Niere zwischen eineiigen Zwillingenbrüdern (1). Organtransplantationen zwischen genetisch verschiedenen Individuen wurden aber erst durch die Entwicklung immunsuppressiver Medikamente möglich. Durch die kontinuierliche Einnahme unterschiedlicher Immunsuppressiva kann eine Abstoßung des fremden Organs durch das eigene Immunsystem verhindert werden (2). Allein in Deutschland werden jedes Jahr 3.500 Organe transplantiert (3). Die Gesamtzahl Organtransplantierter in Deutschland und dem benachbarten Ausland wird dabei auf 70.000-100.000 geschätzt (2). Weltweit hat sich die Anzahl organtransplantierter Patienten sogar auf 1.000.000 erhöht. Durch die Entwicklung neuer und nebenwirkungsärmerer Immunsuppressiva ist auch das Langzeitüberleben nach Organtransplantation in den letzten Dekaden deutlich angestiegen (4). Die Verhinderung einer Organabstoßungsreaktion bedeutet auf der anderen Seite eine herabgesetzte Abwehr neoplastischer und virusinfizierter Zellen (5). Dabei findet sich für die nach Organverpflanzung auftretenden Erkrankungen ein typischer zeitlicher Ablauf. Zu Beginn der Posttransplantationsphase zeigt sich eine erhöhte Inzidenz für vital bedrohliche Infektionskrankheiten, im weiteren Verlauf kann es zu lebensbedrohlichen Tumorerkrankungen kommen (6). An Hautinfektionen im Allgemeinen leiden insgesamt 55%-97% der organtransplantierten Patienten (7). Diese Infektionen zeichnen sich durch ihre schwere Verlaufsform und atypische Klinik aus (8). Die beiden häufigsten Hauterkrankungen Organtransplantierter stellen Verrucae (Vs) und Hauttumoren dar (9). Mit 40%-50% machen Hauttumoren dabei auch den größten Anteil der malignen Tumoren aus. Die Inzidenz maligner Hauttumoren steigt kumulativ mit der Dauer der immunsuppressiven Therapie. In Westeuropa und den USA leiden im ersten Jahr nach Organtransplantation 5% der Patienten an malignen Hauttumoren. Nach zehn Jahren sind 10%-27% der Patienten und nach 20 Jahren 40%-60% der Patienten betroffen. In Australien steigt die Häufigkeit der Hauttumoren nach 20 Jahren sogar auf 70%-82% (10). Insbesondere das Risiko für nicht-melanozytäre Hauttumoren ist dabei erhöht. Sie haben einen Anteil von 95% am gesamten Hauttumoraufkommen Langzeittransplantierter (11). Zudem finden sich bei den nicht-melanozytären

Hauttumoren Organtransplantierte häufig multiple Läsionen im Sinne einer „Feldkanzerisierung“ (12). Nierentransplantierte in den USA zeigen ein um den Faktor 20 erhöhtes Risiko für invasive Hauttumoren im Vergleich zu Nicht-Transplantierten (13). In Kohortenstudien von norwegischen und neuseeländischen Herztransplantierten wurde sogar ein 65-fach erhöhtes Risiko für invasive nicht-melanozytäre Hauttumoren gezeigt (6). Den am häufigsten diagnostizierten Hauttumor bei Organtransplantierten stellt das invasive Plattenepithelkarzinom (PEC) dar. Es zeichnet sich durch sein multiples und multifokales Auftreten, aggressiveres Wachstum sowie sein erhöhtes Rezidivrisiko aus (14). Die Metastasierungsrate bei Immunsupprimierten beträgt um die 2%-3%. Da bei immunsupprimierten Patienten jedoch multiple Plattenepithelkarzinome auftreten, steigt die Gesamtmetastasierungsrate sogar auf 12,9% (15). Die Inzidenzen von Plattenepithelkarzinomen und deren Vorstufen zu Basalzellkarzinomen (BCCs) beträgt bei Organtransplantierten 4:1 und verhält sich damit gegensätzlich dem Verhältnis Immunkompetenter (16). Auch die Mortalitätsrate Immunsupprimierter mit malignen Hauttumoren ist erhöht und liegt bei über 5% (17).

Verrucae und Hauttumoren bei Organtransplantierten zeigen durch ihr zeitlich versetztes Auftreten in entsprechenden Hautarealen sowie vergleichbare Risikofaktoren auffällige Gemeinsamkeiten. Als wichtige Risikofaktoren für die Entstehung von Verrucae bei Organtransplantierten gelten die Art der Immunsuppression, insbesondere eine Therapie mit Azathioprin, eine lange Dauer der Immunsuppression, ein höheres Lebensalter bei Transplantation sowie Art des transplantierten Organs (Herz und Lunge) (9). Zu den etablierten Risikofaktoren für die Inzidenz von Hauttumoren bei Organtransplantierten gehören ein heller kaukasischer Hauttyp (Fitzpatrick I-II), UVB-Strahlung mit der auf die Lebenszeit bezogenen UV-Dosis (Total Sun Burden), Anzahl der Sonnenbrände, Sonnenschutzverhalten, Hauttumoren in der Vorgeschichte, familiäre Belastung mit Hauttumoren sowie HPV-induzierte Verrucae. Mehr als 90% der Hauttumoren bei Organtransplantierten treten dabei in UV-exponierten Hautarealen auf (6). Zudem spielen Art, Dosierung und Dauer der immunsuppressiven Therapie, ein höheres Patientenalter bei Transplantation, Art des transplantierten Organs und Dialyse vor Nierentransplantation eine wichtige Rolle (2,18,19). Bei Lebertransplantierten treten aufgrund der schwächeren Immunsuppression signifikant weniger infektiöse und neoplastische Hauterkrankungen als bei Herz- und Lungentransplantierten auf, da diese Patienten eine stärker dosierte immunsuppressive Therapie benötigen, um eine Transplantatabstoßung zu verhindern und zum Zeitpunkt der Transplantation

durchschnittlich älter sind (8,10). Die Inzidenz für Plattenepithelkarzinome bei Nierentransplantierten ist im Vergleich zu Herztransplantierten höher, was auf die längere Dauer der Immunsuppression zurückgeführt wird, da Nierentransplantierte zum Zeitpunkt der Transplantation meist jünger sind (20).

Die immunsuppressive Medikation setzt sich zusammen aus Glukokortikosteroiden, Calcineurin-Inhibitoren (Ciclosporin A, Tacrolimus), Antimetaboliten (Azathioprin, Mykophenolatmofetil), mTOR-Inhibitoren (Sirolimus, Everolimus), spezifischen Antikörpern und anderen (21). Durch die medikamentöse Hemmung der kontinuierlichen körpereigenen Immunabwehr kommt es dabei zu einer indirekten Tumorpromotion bzw. -progression. Einige dieser Medikamente bewirken durch ihren spezifischen Wirkmechanismus sogar auch eine direkte Induktion von Hauttumoren (22). Für Glukokortikosteroide, Azathioprin, Ciclosporin A und Tacrolimus konnte ein erhöhtes Risiko für die Entstehung nicht-melanozytärer Hauttumoren nachgewiesen werden. Sirolimus und Everolimus scheinen im Vergleich zu Ciclosporin A, Mycophenolatmofetil und Azathioprin das Risiko für nicht-melanozytäre Hauttumoren zu senken (5,23). Ciclosporin A besitzt eine direkt tumorpromovierende Wirkung (22). Untersuchungen bei Nierentransplantierten zeigten nach Halbierung der Ciclosporin A-Dosis eine Reduktion der nicht-melanozytären Hauttumoren, jedoch kam es auch zu einer höheren Abstoßungsrate der transplantierten Niere (24). Azathioprin bewirkt eine erhöhte UVA-Photosensitivität. Durch die verstärkte Produktion freier Sauerstoffradikale kommt es zu oxidativen Zellstress, welcher in den Keratinozyten DNA-Schäden verursacht. MTOR-Inhibitoren bewirken dagegen eine Hemmung der Angiogenese und haben so eine antiproliferative Wirkpotenz auf Tumorzellen (6,11).

1.2 Diagnostik der Läsionen

Neoplastische und virusassoziierte Hauterkrankungen zeigen bei Immunkompetenten insgesamt eine ausgezeichnete Prognose, sofern sie in einem frühen Stadium diagnostiziert und behandelt werden. Bei Organtransplantierten ist dagegen zu beachten, dass auch unscheinbare Hautläsionen zu rascher Progredienz und Tiefeninfiltration neigen. Zudem treten diese Hauterkrankungen bei Immunsupprimierten häufig in multipler Anzahl an ungewöhnlichen Lokalisationen auf und zeigen eine meist atypische Morphologie. Daher stellen sie, insbesondere wenn es sich um sehr kleine Läsionen

handelt, für den Kliniker, auch unter Zuhilfenahme eines Auflichtmikroskops, eine erhebliche diagnostische Herausforderung dar.

Die Diagnose eines Basalzellkarzinoms wird in der Regel anhand seines klinischen Erscheinungsbildes gestellt. Bei kleinen knotigen Basalzellkarzinomen im Gesicht, die oft mit den ebenfalls unter Immunsuppression auftretenden, multiplen, benignen Talgdrüsenhyperplasien (TH) vergesellschaftet sind, bei sklerodermiformen Basalzellkarzinomen oder bei einigen oberflächlichen Basalzellkarzinomen, bei denen dermatoskopische Merkmale fehlen, kann dies jedoch eine diagnostische Schwierigkeit darstellen (25). Die derzeitige Standarddiagnostik beinhaltet eine histologische Untersuchung nach invasiver Hautbiopsie. Bei multiplen, superfiziellen Basalzellkarzinomen oder dem Gorlin-Goltz-Syndrom kann gemäß der gültigen Leitlinie von diesem Goldstandard abgewichen werden (26).

Im Allgemeinen wird die Diagnose eines In-situ-Plattenepithelkarzinoms, das sich in die aktinische Keratose (AK) und seine Sonderform, den Morbus Bowen (MB), gliedert, klinisch gestellt. Da jedoch häufig eine Unterscheidung zwischen In-situ- oder frühinvasivem Plattenepithelkarzinom nicht möglich ist, bleibt die histologische Evaluation einer Hautbiopsie durch einen Pathologen aktuell ebenfalls der Goldstandard (27–29).

Auch die Diagnose der Verruca wird anhand ihrer typischen Klinik gestellt. Gelingt es jedoch, insbesondere bei Organtransplantierten, nicht, die meist hyperkeratotischen Läsionen differentialdiagnostisch von aktinischen Keratosen oder frühinvasiven Plattenepithelkarzinomen zu unterscheiden, sollte in diesen speziellen Fällen ebenso eine Probeexzision mit histologischer Aufarbeitung erfolgen (9).

Insgesamt lässt sich feststellen, dass bei Organtransplantierten die Notwendigkeit besteht, wiederholt multiple Hautproben zu entnehmen. Im Rahmen dessen müssen sich die Patienten mehrfach bei ihrem betreuenden Hautarzt wieder vorstellen. Bei diesem Patientenkollektiv ist außerdem zu berücksichtigen, dass meist eine gerinnungshemmende Dauermedikation eingenommen wird, was eine erhöhte Blutungsgefahr bedeuten kann. Aufgrund der chronischen Immunsuppression besteht ein höheres Risiko für Wundinfektionen im Operationsgebiet.

Im Allgemeinen werden Hautbiopsien von Patienten als unangenehm und schmerzhaft empfunden und gehen mit einer unvermeidlichen Narbenbildung einher. Auch sind sie wegen der aufwändigen Materialaufarbeitung mit einem vermehrten Zeitaufwand verbunden, was mit einer verspäteten Therapie einhergehen und in der Folge für die Patienten eine Verschlechterung ihrer Lebensqualität oder eine Verkürzung ihrer

Lebenszeit bedeuten kann. Somit ergibt sich als Alternative zur Routinehistologie eine Notwendigkeit zur Entwicklung zuverlässiger, non-invasiver und zeitsparender Untersuchungstechniken.

1.3 Basalzellkarzinom

1.3.1 Klinische Merkmale

Das Basalzellkarzinom wurde in der Literatur erstmals 1827 von dem irischen Chirurgen und Ophthalmologen Arthur Jacob beschrieben (30). Seine Benennung als „Basalzellenkrebs“ erfolgte 1903 durch den aus Ungarn stammenden Pathologen Edmund Krompecher (31). Es stellt die häufigste Neoplasie des Menschen dar und macht etwa 70% aller malignen Hauttumoren aus (32,33). Das durchschnittliche Risiko, in seinem Leben an einem Basalzellkarzinom zu erkranken, liegt bei Kaukasiern um die 30% und steigt rasant ab dem 55. Lebensjahr, wobei Männer etwas häufiger betroffen sind. Die Inzidenzrate nimmt weltweit um 3%-10% pro Jahr zu und liegt in Deutschland derzeit bei etwa 170 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner/Jahr (26,34,35). In den USA wird ein Auftreten von 300 pro 100.000 Einwohner/Jahr und in Australien sogar von 1.000 pro 100.000 Einwohner/Jahr angegeben (36). Bei Organtransplantierten ist die Inzidenz 10-fach erhöht im Vergleich zur nicht-transplantierten Vergleichsbevölkerung (37). Das BCC zeichnet sich durch sein langsames Wachstum über Monate bis Jahre mit lokal infiltrierendem und destruktivem Potential aus, eine Metastasierung wird extrem selten beobachtet (38). Es entsteht de novo ohne vorhergehende Präkanzerose (26). Initial findet sich meist eine kleine, hautfarbene Papel oder Induration. Im weiteren Verlauf können typische Merkmale wie Teleangiektasien, ein perlschnurartiger Randwall, zentrale Atrophien, Erosionen oder Ulzerationen hinzukommen. Rezidivierende, zumeist punktförmige Blutungen sind häufig. Dabei tritt es ausschließlich an behaarten Körperregionen auf (39). 85% aller BCCs zeigen eine Prädilektion im Kopf-Hals-Bereich, bevorzugt im Mittelgesicht (25). Zu den prädisponierenden Faktoren für die Entwicklung eines Basalzellkarzinoms zählen eine langfristige Immunsuppression, ein heller kaukasischer Hauttyp (Fitzpatrick I-II), eine aktinische Hautschädigung, die kumulative UVB-Belastung, karzinogene Noxen wie Arsen, Steinkohlenteer, orales Methoxsalen (Psoralen) und ionisierende Strahlen, atrophe oder mechanisch belastete Narben, chronische Ulzerationen oder Hautschädigungen wie beim Trichotillobasalzellkarzinom,

Genodermatosen wie das Gorlin-Goltz-Syndrom, Xeroderma pigmentosum oder Albinismus (25,26,40). Klinisch wird das BCC in unterschiedliche Typen unterteilt:

- Noduläres/solides BCC
- Superfiziellles BCC/Rumpfhautbasalzellkarzinom
- Sklerodermiformes (morpheaartiges oder zikatrissierendes) BCC
- Exophytisch aggressives Riesenbasalzellkarzinom
- Ulcus rodens
- Ulcus terebrans
- Rezidivbasalzellkarzinom
- Metastasierendes BCC
- Sonderformen: fibroepitheliomatöser Tumor nach Pinkus, infundibulozystisches BCC, metatypisches/basosquamöses BCC (25,41).

Das noduläre BCC stellt mit 63,8%-78,7% aller Fälle die häufigste Erscheinungsform dar und manifestiert sich meist im Gesicht.

Der zweithäufigste Typ ist das superfizielle BCC mit 14,8%-15,1% aller Fälle, welches solitär oder multipel vor allem am Stamm, seltener in den Intertrigines, der Anogenitalregion oder im Gesicht auftritt.

Das sklerodermiforme BCC kommt in 2,9%-6,2% der Fälle vor und ist damit eine seltenere, aber auch aggressivere Variante (42,43). Es stellt sich als eine im Hautniveau liegende, wachsfarbende, nur unscharf gegen die Umgebung abgrenzbare, derbe Infiltratplatte mit Teleangiectasien und narbenartigem Aspekt dar. Da es klinisch schwer zu detektieren ist und daher häufig erst spät diagnostiziert wird, kann es zu lokalen Destruktionen führen (40).

Das exophytisch aggressive Riesenbasalzellkarzinom zeichnet sich durch seine ausgedehnte Wuchsform aus.

Als Ulcus rodens wird die mehr an der Oberfläche wuchernde Erscheinungsform mit zentraler Ulzeration bezeichnet.

Im Gegensatz dazu dringt das mutilierende Ulcus terebrans in die Gewebetiefe vor und kann Gefäße sowie unterliegende Strukturen wie Knorpel und Knochen arrodieren. Auf diese Art und Weise kann es zu einer sukzessiven Eröffnung der Orbita, einer Zerstörung des Nasengerüsts und nach meningealer Infiltration zu vital bedrohlichen Komplikationen führen.

Rezidivbasalzellkarzinome entstehen im narbigen Gewebe, wodurch ihre klinische Morphologie verändert erscheint und sie schwerer zu erkennen sind.

Metastasierende Basalzellkarzinome werden nur in Einzelfällen beschrieben. Bevorzugt lokalisiert sind diese im Kopf-Hals-Bereich.

Die Diagnose der klinischen Sonderformen ergibt sich erst nach der histologischen Gewebeaufarbeitung (25,41,44). Zusätzlich können alle Basalzellkarzinomtypen eine braun-schwarze Pigmentierung aufweisen (45).

Zwar erscheinen viele BCCs klinisch evident, dennoch beträgt die Genauigkeit von Dermatologen für die klinische Diagnose nur um die 70% (46). Zur besseren Früherkennung sollte daher zusätzlich ein Dermatoskop eingesetzt werden. Zu den klassischen auflichtmikroskopischen Merkmalen des Basalzellkarzinoms gehören geschlängelte, sich verzweigende Gefäße, die einem dicken Gefäßstamm entspringen, sowie weiß-orange, strukturlose Areale als Ausdruck einer mit Serumkrusten bedeckten Ulzeration (Abbildung 1).



Abbildung 1: Dermatoskopisches Bild eines nodulären Basalzellkarzinoms

Der relativ scharf begrenzte, hautfarbene, knotige Tumor wird von geschlängelten und teilweise auch verzweigten Teleangiektasien durchsetzt.

In pigmentierten BCCs werden zusätzlich ungleich große und unterschiedlich geformte blaue Schollen, graue oder blaue Punkte, weiße strukturlose Zonen und radiale Linien gesehen. Diese Linien können zu einem Punkt oder einer Scholle konvergieren, was als

„Speichenrad“ bezeichnet wird. Typisch ist außerdem das Fehlen eines pigmentierten Netzwerkes (39).

1.3.2 Histopathologie

Das Basalzellkarzinom entwickelt sich aus pluripotenten Vorläuferzellen der basaloiden Keratinozyten. In seinen Differenzierungsmöglichkeiten entspricht es denen des embryonalen Haarkeims. Im Zusammenspiel mit verschiedenen Stromareaktionen differenzieren diese Vorläuferzellen schließlich in unterschiedliche Richtungen. Daraus ergeben sich die histologischen Subtypen des Basalzellkarzinoms (25,47). Beim soliden BCC finden sich intensiv basophile, scharf abgrenzbare, unterschiedlich große Tumorzellnester, welche ausgehend von der Basalzellreihe eine direkte Verbindung zur Epidermis aufweisen. Die Tumornester können die Dermis (D) tief infiltrieren und sind durch einen zystischen Spalt vom fibrösen Stroma getrennt. In dem peritumoralen Spalt können Amyloid- oder Muzinablagerungen auftreten (47). Dies ist eine neuere, in-vivo konfokalmikroskopische Beobachtung, da der Spalt zuvor in der Histopathologie als Artefakt im Rahmen der Gewebeaufbereitung verstanden wurde (48). Die äußere Zellreihe der Tumorverbände zeigt eine typische palisadenförmige Stellung, während die inneren Tumorzellen und deren Kerne ungeordnet vorliegen. Das Vorhandensein einer Ulzeration wird von einem entzündlichen, vorwiegend lymphozytären Infiltrat unterschiedlicher Ausprägung begleitet. Die uniformen Zellkerne sind rund bis oval und weisen einen schmalen Zytoplasmasaum auf. In ihnen sind zahlreiche Mitosen zu erkennen (25,49). Die Kern-Zytoplasma-Relation ist zugunsten der Zellkerne verschoben (47). Häufig werden dendritische Zellen in den Schichten der Epidermis oder innerhalb der neoplastischen Aggregate gesehen (40). Eine ausgeprägte, erhöhte Vaskularisierung wird ebenso beobachtet wie eine solare Elastose (50). Manche BCCs zeigen keine bzw. nur geringe Differenzierungen, andere zeigen Tendenzen in Richtung Hautanhangsgebilde bzw. follikuläre oder keratotische Differenzierungen (47). Zu den morphologischen Varianten des soliden Basalzellkarzinoms gehören das adenoide, das keratotische, das zystische, das pigmentierte, das adamantinoide, das klarzellige, das granuläre und das matrikale BCC. Die Architektur dieser Wuchsvarianten entspricht derjenigen des soliden Basalzellkarzinoms, sie können alleinig oder gleichzeitig nebeneinander in einem Tumor vorkommen (25). Das adenoide BCC bildet bizarre Epithelstränge, welche die Bindegewebsinseln umschließen. Die Epithelstränge

anastomosieren untereinander und bilden dadurch netzartige Gebilde in der Dermis. Im keratotischen BCC finden sich Ansammlungen von großen eosinophilen Zellen mit zentralen Hornzysten. Beim zystischen BCC bilden sich in den Zentren der Tumorzellverbände zystische Hohlräume (47). Das pigmentierte BCC weist innerhalb der Tumorzellen Melanozyten bzw. im Tumorstroma Melanophagen oder Siderophagen auf (25). Adamantinoide BCCs bestehen aus einem lockeren Zellverband spindelförmiger Zellen. Durch kleine Interzellularbrücken können sie miteinander kommunizieren, die interzellulären Spalten sind mit amphophilem Material ausgefüllt. Klarzellige BCCs bestehen teilweise oder ganz aus glykogenhaltigen Klarzellen, granuläre BCCs beinhalten Zellen mit eosinophilen Granula. Beim matrikalen BCC treten innerhalb der Tumorverbände Schattenzellen auf (47).

Das superfizielle BCC zeigt multifokale, knospenartige Proliferationen basaloider Tumorzellverbände im Stratum papillare. Das umliegende Bindegewebe ist fibrös umgewandelt und beinhaltet ein spärliches, lymphoidzelliges Entzündungsinfiltrat. Das Wachstumsmuster ist horizontal, aufgrund der multifokalen Herde ist die Randbegrenzung schlecht abzuschätzen (25,41).

Das sklerodermiforme BCC wird vermehrt bei Immunsupprimierten gefunden (51). Es beinhaltet kleine, hirschgeweihartig verzweigte Formationen basaloider Tumorzellen (41). Diese sind sehr schmal, bestehen oft aus nur einer Zelllage und sind von einem intensiv fibrosierten Bindegewebestroma umgeben. Die Tumorzellverbände können die retikuläre Dermis diffus und tief infiltrieren, ihre Randbegrenzung ist ebenfalls unscharf (25).

Zu den histologischen Sonderformen des Basalzellkarzinoms zählen das infundibulozystische BCC, dessen zystische Aufweitungen wie Infundibulumzysten imponieren, das fibroepitheliale BCC, bei dem basaloide Epithelstränge in die Tiefe ziehen, sowie das basosquamöse BCC. Letzteres besteht aus basaloid wachsenden Zellkomplexen mit keratotischer, bowenoider oder squamöser Differenzierung. Es zeigt ein an ein Plattenepithelkarzinom erinnerndes aggressives Wachstum und ist metastasierungsfähig (25,41,47).

1.4 Morbus Bowen

1.4.1 Klinische Merkmale

Der Morbus Bowen wurde erstmals 1912 durch den US-amerikanischen Dermatologen John Templeton Bowen beschrieben (52). Er wird als In-situ-Plattenepithelkarzinom der Haut definiert (27). Die Inzidenzrate im Vereinigten Königreich liegt bei etwa 15 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner/Jahr (53). Betroffen sind vor allem weibliche Patienten mit einem hellen kaukasischen Hauttyp (Fitzpatrick I-II) in der sechsten Lebensdekade (54,55). Weitere Risikofaktoren sind eine chronische Arsenexposition, ionisierende Strahlen, die kumulative UV-Strahlung sowie onkogene humane Papillomaviren (HPV) vom Typ 16 und 18 (55–57). 60%-85% der Läsionen treten an den Unterschenkeln auf, gefolgt vom Gesicht, den Fingern und der genitalen und oralen Schleimhaut. Bevorzugte Schleimhautlokalisation ist die Glans penis, aber auch die Analregion, die Vulva und die Mundhöhle können betroffen sein. In diesen Lokalisationen wird der MB als Erythroplasie Queyrat bezeichnet (47,53). Bei Organtransplantierten tritt der Morbus Bowen überwiegend an Körperstellen hochgradiger UV-Exposition auf (11). Klinisch zeigt sich eine langsam zentrifugal wachsende, meist über Jahre bestehende, scharf begrenzte, zunächst flache Plaque mit fein- bis mittellamellärer Schuppung. Gelegentlich finden sich auch bizarre, teils anuläre Konfigurationen mit zentraler Regressionszone (56). Bei 10%-20% der Patienten werden multiple Läsionen beobachtet (53). Diese können konfluieren, sodass polyzyklische Herde entstehen (56). Treten diese Herde im Nagelbereich, meist von Daumen oder Großzehe, auf, kann es zu einer Onychodystrophie kommen. Das Vorhandensein einer tieferen Ulzeration oder eines Knotens spricht meist für ein Fortschreiten der Erkrankung in ein Bowen-Karzinom (54). Eine maligne Transformation in ein invasives Bowen-Karzinom wird in bis zu 50% der Fälle beschrieben (58). Der pigmentierte MB ist insgesamt selten und macht nur 1,67% der Fälle aus (59). Zu den dermatoskopischen Kriterien des Morbus Bowen gehören ein Erythem, gelegentlich weiße Schollen sowie monomorphe punktförmige Gefäße, welche in Clustern angeordnet sind. Da diese an den glomerulären Apparat der Niere erinnern, werden sie glomeruläre Gefäße genannt. Zusätzlich tritt eine schuppige Oberfläche auf. Beim pigmentierten MB werden außerdem kleine braune Globuli sowie eine homogene graue bis braune Pigmentierung gesehen (39,60).

1.4.2 Histopathologie

Histologisch fallen beim Morbus Bowen eine Akanthose sowie eine leichte Hyperparakeratose auf. Die Reteleisten sind plump verbreitert und verlängert, die Papillen werden dadurch zusammengedrückt und erscheinen verschmälert. Die architektonische Struktur der Epidermis ist weitgehend zerstört, einhergehend mit einem Verlust ihrer Polarität (47). Im Gegensatz zur aktinischen Keratose sind die Gänge der Hautanhangsgebilde in diesen Prozess mit eingebunden. Durch die in Größe und Form variierenden Zellen mit Kernpleomorphien, Kernpyknosen, atypischen Mitosen, multinukleären Riesenzellen und Einzelzelldyskeratosen erscheint das Zellbild polymorph (54,61). Atypische Keratinozyten können in allen Zelllagen der Epidermis auftreten (56). Die Basalmembran ist erhalten und die Abgrenzung zum Korium scharf (55). Sind die atypischen Zellen bis in die papilläre Dermis vorgedrungen, so liegt bereits ein invasives Bowen-Karzinom vor (47). In der Dermis findet sich ein ausgeprägtes entzündliches, perivaskuläres oder lichenoides Infiltrat, vorwiegend aus Lymphozyten und Plasmazellen (56). Beim pagetoiden MB treten die atypischen Keratinozyten in Clustern auf oder durchwandern die Epidermis als pagetoide Einzelzellen (47).

1.5 Aktinische Keratose

1.5.1 Klinische Merkmale

Die erste Erwähnung der aktinischen Keratose geht auf den französischen Dermatologen William Auguste Dubreuilh im Jahr 1896 zurück (62). Heute wird sie als In-situ-Plattenepithelkarzinom der Haut definiert und hat das Potential, in ein invasives epitheliales Karzinom überzugehen (63,64). Weltweit stellt die AK die häufigste Präkanzerose des Menschen dar (65). Die höchste Prävalenzrate bei Erwachsenen mittleren Alters (> 40 Jahre) zeigen Australier mit 40%-60%, in Europa werden Prävalenzwerte von 1,4%-6% bei Frauen und 15% bei Männern angegeben (66–68). In Deutschland beträgt die Häufigkeit der aktinischen Keratose 2,7%. Ihr Auftreten ist mit 3,9% bei Männern etwas höher im Vergleich zur weiblichen Population mit 1,5%. Die Rate steigt mit zunehmendem Alter und beträgt 11,5% bei den 60-70 Jährigen (66). Gemäß Schätzungen nimmt die Inzidenz der AK in der kaukasischen Bevölkerung um 3%-6% pro Jahr zu (69). Organtransplantierte haben ein 250-fach erhöhtes Risiko, aktinische Keratosen zu entwickeln, und ein etwa 100-fach erhöhtes Risiko für die Entstehung eines invasiven Plattenepithelkarzinoms (70). Innerhalb der ersten fünf Jahre der

Immunsuppression entwickeln 40% der Organtransplantierten aktinische Keratosen (71). Neben den klassischen Risikofaktoren wie ein heller kaukasischer Hauttyp (Fitzpatrick I-II), hohes Alter, männliches Geschlecht und chronische Immunsuppression gibt es weitere Faktoren, welche die kumulative UVB-Strahlung aus dem Sonnenlicht betreffen. Zu diesen zählen schwere Sonnenbrände in der Kindheit sowie eine vermehrte berufs- und freizeitbedingte Sonnenexposition. Des Weiteren steigt das Risiko bei genetischen Erkrankungen mit DNS-Reparatur-Defekten wie der Xeroderma pigmentosum oder dem Albinismus (28,66). Andere prädisponierende Strahlenquellen sind iatrogene UVA-Strahlen, ggf. mit kombinierten Psoralen, Röntgenstrahlen und Radioisotope. Auch chemische Noxen wie Arsen und Teer sowie physikalische Noxen wie ionisierende Strahlung und Infrarotlicht spielen eine wesentliche Rolle (70,72,73). Humane Papillomaviren werden als Co-Karzinogene mit der Entwicklung aktinischer Keratosen assoziiert (74). Bei Organtransplantierten werden HPV-Typen der β -Papillomviren-Gruppe nachgewiesen, die mit der Entstehung der Epidermodysplasia verruciformis in Verbindung gebracht werden (75).

Klinisch imponiert die AK meist als erythematöse, aber auch als weißliche bis bräunliche Macula, Papel oder Plaque mit rauer, schuppiger Oberfläche. Durch Palpation lässt sie sich häufig leichter lokalisieren als mit dem bloßen Auge (76). Ihre Größe kann zwischen wenigen Millimetern bis hin zu mehreren Zentimetern liegen. Sie kommt vor allem in Hautarealen chronischer UV-Exposition wie Glatze, Stirn, Ohrmuscheln, Nase, Wangen, Lippenrot (Cheilitis actinica) und Handrücken vor. Zwar können einzelne Läsionen bestehen, zumeist sind jedoch großflächige Areale der sonnenexponierten Haut betroffen (56,73). Für die klinische Klassifikation hat sich die Einteilung nach Olsen durchgesetzt. Die AK I. Grades entspricht einzelnen oder wenigen, ca. 0,3-5,0 cm großen, erythematösen Maculae oder sehr flachen, nicht randbetonten Plaques. Die frühen Läsionen sind weniger sicht- als tastbar. Die AK II. Grades entspricht erythematösen, weißen bis hellbraunen Papeln und Plaques mit rauer, verhornender Oberfläche. Die fortgeschrittenen Läsionen sind deutlich sicht- und tastbar. AKs III. Grades bestehen bereits über einen längeren Zeitraum und imponieren als weiße oder bräunliche bzw. durch Einblutungen als schwärzliche, verruköse Plaques, die fest mit ihrer Unterfläche verwachsen sind. Durch eine manuelle Entfernung der Hornauflagerungen können Erosionen entstehen. Die verschiedenen Stadien bzw. Schweregrade der aktinischen Keratose können auch nebeneinander bestehen, sodass es zur Ausbildung von AK-Mischtypen kommt (68,73). Neben den klassischen Läsionen koexistieren oft

subklinische Läsionen, eine Feldkanzerisierung liegt dann vor. Slaughter et al. prägten 1952 erstmals das Konzept der Feldkanzerisierung im Zusammenhang mit dem oralen Plattenepithelkarzinom, um umliegendes, histologisch abnormes Gewebe zu beschreiben. Nach Figueras Nart et al. gelten bestimmte sichtbare Anzeichen von Sonnenschäden als Indikatoren für das Vorhandensein einer Feldkanzerisierung. Zu diesen zählen Teleangiektasien, Atrophien, Pigmentstörungen sowie sandpapierartige Oberflächen (77). Das Risiko der Fortschreitung feldkanzerisierter Haut in ein invasives Plattenepithelkarzinom ist unklar, Schätzungen reichen bei Immunkompetenten von 0,1% bis zu 20%, bei Organtransplantierten bis zu 40%. Bei Immunkompetenten dauert es im Durchschnitt 24,6 Monate bis zur Transformation in ein Karzinom, bei Organtransplantierten geschieht dies während einer deutlich kürzeren Nachbeobachtungszeit (62,70). Risikoreiche AKs, die auf eine invasivere Erkrankung hinweisen, zeichnen sich durch Induration, spontane Blutung, Zunahme ihres Durchmessers, Rötung und Ulzeration aus. Weitere Nebensymptome können Schmerzen, Tastbarkeit, Hyperkeratosen, Jucken und Pigmentierung sein (78). In diesen Fällen sollte die Anfertigung einer Probebiopsie erfolgen. Zu den klassischen auflichtmikroskopischen Merkmalen der AK gehört ein rötliches Pseudonetzwerk aus großkalibrigen, zwischen den Haarfollikeln gelegenen, teleangiektatischen Gefäßen (Abbildung 2).



Abbildung 2: Dermatoskopisches Bild einer aktinischen Keratose

Der obere Bildbereich zeigt das typische Pseudonetzwerk aus teleangiektatischen Gefäßen. Zentral ist eine fest haftende, weiß-gelbe Plaque zu erkennen.

Dieses Pseudonetzwerk steht im Kontrast zu den prominenten Haarfollikelöffnungen, welche von einem weißen Halo umgeben werden. Beim hyperkeratotischen Typ werden zusätzlich gelbe keratotische Pfropfen am Eingang zu den Haarfollikeln gesehen. Diese zusammengesetzte Erscheinung wird als sogenanntes „Erdbeermuster“ bezeichnet (79).

1.5.2 Histopathologie

Die aktinische Keratose wird durch Hyperkeratosen geprägt. Typischerweise findet man im Stratum corneum (SC) fokale Herde von Parakeratose, welche abwechselnd mit orthohyperkeratotischen Zonen auftreten, dem sogenannten „Pink-and-blue-Zeichen“ (56). Die Histoarchitektur des Stratum granulosum (SG) und Stratum spinosum (SS) ist aufgehoben. Die Keratinozyten zeigen eine fehlende Reifung sowie einen Verlust der nukleären Polarität. Zusätzlich treten zelluläre und nukleäre Pleomorphismen auf. Innerhalb der vergrößerten und hyperchromatischen Zellkerne sind vereinzelt Mitosen bzw. atypische Mitosefiguren zu erkennen (29,80,81). Die atypischen Keratinozyten beginnen in der basalen Zellschicht und können die gesamte Epidermis betreffen (47). Das Ausmaß der keratinozytären Atypien lässt sich nach Röwert-Huber in drei Schweregrade einteilen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Histologische Klassifizierung der AK nach Röwert-Huber

Grad	Histologisches Merkmal
I (mild)	Proliferierende atypische Keratinozyten beschränken sich auf das untere Drittel der Epidermis.
II (moderat)	Proliferierende atypische Keratinozyten beschränken sich auf die unteren Zweidrittel der Epidermis.
III (schwer)	Proliferierende atypische Keratinozyten finden sich in mehr als zwei Dritteln der Epidermis.

Modifiziert nach Röwert-Huber (64).

Im Stratum basale (SB) kann es zu einer Vermehrung der Keratinozyten mit dicht gedrängten Zellkernen kommen, was als „Crowding-Phänomen“ bezeichnet wird. Die Dermis zeigt immer eine solare Elastose als Zeichen der chronischen UV-Schädigung, zusätzlich fallen ein diskretes entzündliches Infiltrat und eine erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation auf (29,56,80). Bei Immunsupprimierten kann die solare Elastose jedoch fehlen (28). Die Adnexstrukturen sind in diesen Prozess nicht mit eingebunden.

Histologisch werden mehrere Subtypen der AK unterschieden. Der hypertrophe Typ ist gekennzeichnet durch eine Akanthose, geringe Papillomatose und deutliche Hyperkeratose, wobei die Hyperkeratose bis hin zur Hornbildung führen kann, dem Cornu cutaneum.

Der atrophe Typ wird durch eine ausgeprägte Atrophie der Epidermis mit verstrichenen Reteleisten und geringer Hyperkeratose charakterisiert.

Beim bowenoiden Typ besteht die gesamte Epidermis aus atypischen Zellen mit Kernpleomorphien, reichlich atypischen Mitosen sowie Dyskeratosen. Das bunte Zellbild erinnert morphologisch an einen Morbus Bowen, bei dem die Adnexstrukturen jedoch mitbeteiligt wären.

Beim Nachweis einer Spaltbildung direkt oberhalb des Basalzellagers wird die Bezeichnung akantholytischer Typ bevorzugt. Derartige Akantholysen finden sich meist in der Nähe von epidermalen Adnexen.

Beim Vorhandensein eines lichenoiden lymphozytären Infiltrats spricht man vom lichenoiden Typ.

Findet sich eine hohe Melaninkonzentration in den Keratinozyten der unteren Epidermislagen, so handelt es sich um den pigmentierten Typ (28,47,56).

1.6 Verruca

1.6.1 Klinische Merkmale

Verrucae sind benigne, virusbedingte, selbst limitierende Epithelhyperplasien der Haut und Schleimhaut (47). Ihre Inzidenz liegt weltweit um die 13% bei steigender Tendenz und einem Häufigkeitsgipfel im zweiten Lebensjahrzehnt (82). In Studien aus dem Vereinigten Königreich und Australien werden bei Nierentransplantierten ein Jahr post transplantationem Prävalenzraten von 25%-50% angegeben. Nach fünf Jahren können bis zu 92% der Patienten betroffen sein (83,84). In einer deutschen Studie betrug die Prävalenz von Verrucae vulgares bei Organtransplantierten dagegen nur 9,3% im ersten Jahr nach Transplantation. Deren Häufigkeiten stiegen mit der Zeit nach Organtransplantation kumulativ an und erreichten 15,9% nach drei Jahren, 20,7% nach sechs Jahren und 25,5% nach zehn Jahren (9). Ausgelöst werden Verrucae durch mehr als 150 unterschiedliche Typen des humanen Papillomavirus, welche die Epithelzellen infizieren können. Die Zellkerne der keratinisierten Hautschichten weisen dann stark erhöhte Konzentrationen an Viruspartikeln auf. Die Inkubationszeit liegt zwischen

Wochen und Jahren (82). Bei Organtransplantierten liegt nicht nur eine erhöhte Viruslast vor, es kommen auch vermehrt seltenere Erreger vor (8). Während die HPV-Typen fünf, acht und 17 bei Immunkompetenten nur zu latenten oder subklinischen Infektionen führen, können diese bei Immunsupprimierten einen extensiven Verrucabefall bedingen (82). In der Regel treten Verrucae sporadisch auf, häufig sind die akrosphyktischen Körperpartien aufgrund ihrer schlechteren Durchblutungssituation betroffen (47,85). Im Gegensatz dazu zeichnen sich Verrucae bei Organtransplantierten dadurch aus, dass sie multipel und multifokal, hauptsächlich in den sonnenexponierten Hautarealen, aber auch an untypischen Hautarealen wie den Beinen und dem Rücken auftreten. Anders als Immunkompetente geben Organtransplantierte gelegentlich schmerzhafte Missempfindungen in den betroffenen Hautpartien an (6,9). Neben chronischer Immunsuppression können ein feuchtes Milieu, bedingt durch Hyperhidrose, eine Atopie sowie ein ständiger direkter Kontakt zu Fleisch, wie er etwa bei Schlachthauspersonal vorkommt, weitere prädisponierende Faktoren darstellen (47). Verrucae können durch direkten Hautkontakt, über Mikroverletzungen oder Mazerationen von Mensch zu Mensch, Autoinokulation oder kontaminierte Gegenstände übertragen werden (82,85). Durch eine lokale zelluläre Immunreaktion kann es zu einer entzündlichen Umwandlung der Verrucae mit nachfolgender Abstoßungsreaktion kommen. Bei 60% der Verrucae Immunkompetenter kommt es so innerhalb von zwei Jahren zu einer spontanen Regression mit narbenloser Abheilung (82). Bei Immunsupprimierten persistieren Verrucae jedoch über viele Jahre, zeichnen sich durch ihre unkontrollierbare, äußerste Therapieresistenz und Rezidivfreudigkeit aus und können sich durch zusätzliche Kanzerogene wie UV-Strahlung zu Plattenepithelkarzinomen weiterentwickeln (9,82). Derzeit werden bei Organtransplantierten mehr als zehn Verrucae als Indikator für ein nachfolgend erhöhtes Risiko für die Entstehung nicht-melanozytärer Hauttumoren interpretiert (9). Klinisch werden Verrucae anhand ihrer Lokalisation klassifiziert. Zu den Verrucae auf verhornendem Epithel zählen:

- *Verruca vulgaris* (VV)
- *Verruca palmoplantaris*
- *Verruca plana juvenilis* (VP)
- *Epidermodysplasia verruciformis*

und zu den Verrucae auf Schleimhaut:

- *Condylomata acuminata*

- Condylomata gigantea
- Fokale epitheliale Hyperplasie
- Bowenoide Papulose (47,85).

Verrucae vulgares präsentieren sich klinisch als solitäre bzw. zu Beeten konfluierende, 0,2-0,8 cm große, scharf begrenzte, kalottenförmige, derbe, hautfarbene bis graugelbe, durch äußere Verschmutzungen oder Bluteinlagerungen sogar schwärzlich imponierende Papeln, Knoten oder Plaques. Ihre Oberfläche erscheint verrukös und zerklüftet. Durch Autoinokulation können neben einer größeren Verruca multiple kleine Läsionen bestehen. In den Fingerzwischenräumen erscheinen Verrucae vulgares papillomatös, an den Augenlidern und Nasenostien filiform. Bei periungualer und subungualer Lokalisation kann es zu Onychodystrophien kommen.

Verrucae palmoplantares treten gehäuft an den Metakarpalköpfchen auf. An den Handinnenflächen und Fußsohlen können sie zudem beetartig konfluieren und Mosaikwarzen ausbilden.

Verrucae planae juveniles zeigen sich als grau-gelbe bis braune, flache, kleine Papeln und sind häufig im Gesicht lokalisiert (47,82,85–87).

Bei der Epidermodysplasia verruciformis handelt es sich um eine sehr seltene, hereditäre, HPV-induzierte Genodermatose, die auch unter Immunsuppression auftreten kann. Klinisch imponieren kongenital oder in früher Jugend gelb-braune, bis 1 cm messende, papulöse oder verruköse Papillome in den lichtexponierten Arealen im Gesicht, am Stamm und an den Extremitäten, die entweder isoliert oder beetartig aggregiert auftreten (47,88). Maligne Transformationen in einen Morbus Bowen, ein Bowen-Karzinom oder ein Plattenepithelkarzinom sind möglich (82).

Condylomata acuminata gehören zu den häufigsten sexuell übertragbaren Erkrankungen und bilden initial stecknadelkopfgroße, hautfarbene bis rötliche Knötchen im Anogenitalbereich aus, die sich papillomatös umwandeln und zu blumenkohlartigen Gebilden heranwachsen können (89).

Die Condylomata gigantea imponieren als erodierte und schmierig belegte, blumenkohlartige bzw. tumorförmige Riesenkondylome mit aggressivem Wachstum, die durch destruktives Wachstum tiefer liegende Gewebe zerstören können (82).

Die fokale epitheliale Hyperplasie zeichnet sich durch multiple, verruköse, weiße Papeln in der oralen Mukosa von Immunsupprimierten oder Indianer- und Eskimokindern aus (47).

Bei der bowenoiden Papulose finden sich im Genitalbereich multiple, flache, rotbraune Papeln (90).

Zu den dermatoskopischen Merkmalen der Verrucae vulgares gehören hautfarbene oder rosa Schollen mit einem Punktgefäß in deren Mitte (Abbildung 3).

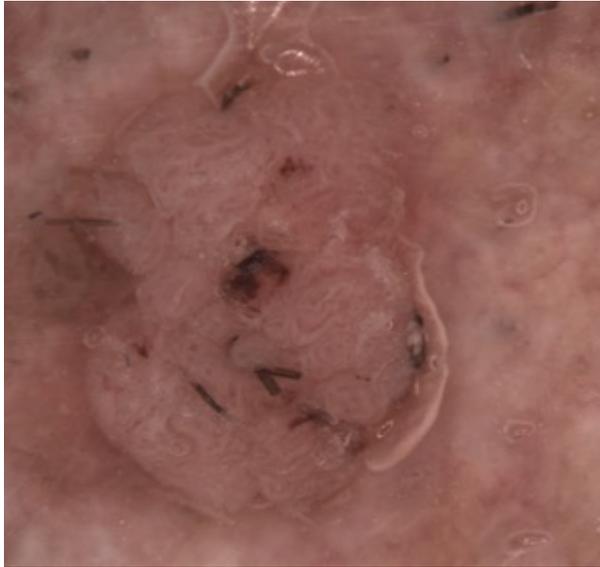


Abbildung 3: Auflichtmikroskopisches Bild einer Verruca vulgaris

Zu erkennen sind hautfarbene Schollen mit einem mittigen Punktgefäß. Zentral ist außerdem eine strukturlose Zone zu sehen, die einer Hämorrhagie entspricht.

Bei den Verrucae palmoplantares sieht man dermatoskopisch eine gelbe strukturlose Zone mit roten und schwarzen Punkten sowie kurze Linien, welche Hämorrhagien und Gefäßen entsprechen.

Verrucae planae juveniles imponieren mit Punktgefäßen auf einem hellbraunen oder gelben strukturlosen Hintergrund (39).

1.6.2 Histopathologie

In der histologischen Untersuchung zeigt sich bei der VV ein scharf begrenzter Tumor mit kräftiger Akanthose, kirchenturmspitzenartiger Papillomatose und ausgeprägter Hyperkeratose. Über den Papillenspitzen sind säulenförmige Hyperparakeratosen zu erkennen. Die Reteleisten erscheinen lang ausgezogen und sind zum Zentrum hin radiär ausgerichtet (47). Diagnostisch wegweisend sind Koilozyten, die gruppiert im Stratum granulosum und oberen Stratum spinosum auftreten. Dabei handelt es sich um große, vakuolisierte Keratinozyten mit stark basophilen Kernen, welche von einem haloartigen

hellen Zytoplasmasaum umgeben werden. Aufgrund der Amplifikation des HPV-Genoms und der verstärkten viralen Gentranskription erscheinen die Zellkerne vergrößert (82,85). Dendritische Zellen können in hoher Anzahl in allen Epidermislagen gesehen werden. Bei ihnen handelt es sich um Langerhans-Zellen bzw. entlang der Basalmembran typischerweise um Melanozyten, die ein sternförmiges Aussehen aufweisen (91). Zwischen den Papillenspitzen erkennt man eine breite Hypergranulose mit verplumpten, stark basophil gefärbten Granula (47). Auf Höhe des Stratum papillare der Dermis werden prominente, dilatierete Gefäße sichtbar, die einen Austritt von Blutbestandteilen in das Stratum corneum ermöglichen (82). Perivaskulär zeigt sich ein unterschiedlich ausgeprägtes lymphohistiozytäres Entzündungsinfiltrat (47,85).

Das histologische Bild der Verruca palmoplantaris entspricht dem der VV, jedoch fehlen die papillären Strukturen (82).

Verrucae planae juveniles sind charakterisiert durch eine geringe Hyperkeratose, uniforme Hypergranulose sowie eine mäßige Akanthose, bei fehlender Papillomatose und Parakeratose (47).

Die histologischen Veränderungen bei der Epidermodysplasia verruciformis entsprechen denen einer Verruca plana, jedoch treten vermehrt Dyskeratosen, pyknotische Zellkerne sowie eine p53-Überexpression auf (47,82).

Condylomata acuminata zeichnen sich durch eine Papillomatose, eine Akanthose mit verlängerten und verbreiterten Reteleisten, eine geringe Hyperparakeratose sowie eine Koilozytose aus. Im Gegensatz zu den Verrucae vulgares fehlt eine Akzentuierung des Stratum granulosum (89,91).

Bei den Condylomata gigantea findet man die typischen histologischen Veränderungen eines verrukösen Karzinoms. Dazu gehören eine asymmetrische, endo- bzw. exophytische Proliferation der Epidermis mit ausgeprägter Papillomatose und Akanthose, dazwischen liegende tiefe und breite, horngefüllte Krypten sowie Fisteln mit sinusartigen Öffnungen. Eine epidermale Collerette als Tumorbegrenzung fehlt und die subläsionalen Blutgefäße sind dünn und gestreckt (47,92).

Bei der fokalen epithelialen Hyperplasie fallen eine Akanthose mit verdickten, elongierten Reteleisten sowie eine ausgeprägte Keratinozytenvakuolisierung im Stratum spinosum auf (93).

Das histologische Bild der bowenoide Papulose entspricht dem des Morbus Bowen (Abschnitt 3.4.2). Die bowenoiden Papeln können sich jedoch spontan zurückbilden (47).

1.7 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie

1.7.1 Entwicklung und Historie

In den letzten Jahrzehnten konnten sich verschiedene in-vivo Diagnostiktechniken wie die Dermatoskopie, die digitale Epilumineszenz, die hochfrequente Sonografie, die optische Kohärenztomographie und die Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie (RCM) etablieren. Zweck dieser Technologien ist es, die Evaluation dermatologischer Prozesse um optisch hochauflösende, non-invasive Diagnoseverfahren zu ergänzen. Unter all diesen Techniken ist die konfokale Lasermikroskopie jedoch die einzige Methode, die eine Visualisierung der Haut auf Zellebene ermöglicht. Damit stellt das Verfahren eine echte Alternative zur Histopathologie dar (94). Die allgemeinen Prinzipien der RCM wurden bereits 1957 von Marvin Minsky unter Verwendung von Weißlicht beschrieben (95,96). Bis sich die Technologie für die Abbildung der menschlichen Haut verbesserte, dauerte es jedoch noch einige Jahrzehnte. Dies gelang erstmalig Rajadhyaksha et al. im Jahr 1995 an der Harvard Medical School unter Zuhilfenahme eines Lasers als Lichtquelle (97–99). Die konfokale Mikroskopie ermöglicht die Anfertigung optischer in-vivo Biopsien in Echtzeit von epidermalen und oberflächennahen dermalen Strukturen bis in das obere Stratum reticulare (95,100,101).

Da Organtransplantierte häufig eine Vielzahl an Hautveränderungen mit zum Teil flächenhaften Ausdehnungen und subklinischen Läsionen aufweisen, kann mit Hilfe dieser Technologie eine besonders geeignete Entnahmestelle für eine Hautprobe ermittelt werden. Narben durch unnötige chirurgische Biopsien werden so vermieden. Intraoperativ können sogar Schnittränder festgelegt werden. Gewebe werden in-vivo konserviert und Therapieeffekte quantifiziert. Durch die Möglichkeit der Speicherung der Bilder können Hautläsionen im Laufe der Zeit reevaluiert werden. Ex-vivo eignet sich die Technologie zur mikroskopischen Schnittrandkontrolle und Schnellschnittdiagnostik (102). Ein weiterer Vorteil der konfokalen Laserscanmikroskopie gegenüber der Routinehistologie besteht darin, dass die Vielzahl an Artefakten, die durch das Entnehmen, Einlegen und Färben der Gewebsschnitte entsteht, vermieden wird. Die histologische Gewebeaufarbeitung ist zudem zeitaufwändiger, während die Ergebnisse der RCM unmittelbar nach der Untersuchung, also innerhalb weniger Minuten, vorliegen (103). In den letzten Jahren wurde die Anwendbarkeit der konfokalen Lasermikroskopie für die in-vivo Diagnostik neoplastischer und virusassoziierter Hautveränderungen bei Immunkompetenten untersucht. In allen Studien wurde das Verfahren als

vielversprechendes Hilfsmittel zur non-invasiven Diagnostik beschrieben (29,32,61,69,91,104–106).

1.7.2 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie der gesunden Haut

Um pathologische Veränderungen mit Hilfe der Reflektanz-konfokalen Laserscanmikroskopie erkennen zu können, ist es von essentieller Bedeutung, zunächst die Topographie der gesunden Haut zu kennen. Die RCM kann die verschiedenen Schichten der Haut und deren zelluläre Mikrostrukturen in horizontalen optischen Schnitten darstellen. Aufgrund der Reflexion, Streuung und Absorption des Lichtes sowie der unterschiedlichen Refraktionsindizes einzelner Zellstrukturen in der untersuchten Gewebeschicht werden durch computergestützte Darstellungen Bilder in Graustufen generiert (95,101–103). In Tabelle 2 sind die Tiefen der unterschiedlichen Hautschichten, bezogen auf die Hautoberfläche, sowie deren mittlerer Keratinozyten-/Keratinozytendurchmesser dargestellt.

Tabelle 2: Tiefe der Hautschicht mit dem mittleren Durchmesser eines Keratinozyten

Hautschicht	Tiefe	Keratinozytendurchmesser
Stratum corneum	0-15 µm	25-50 µm
Stratum granulosum	10-20 µm	25-35 µm
Stratum spinosum	20-100 µm	15-25 µm
Stratum basale	40-130 µm	7-12 µm
Stratum papillare	50-150 µm	-
Stratum reticulare	> 150 µm	-

Übernommen aus (101).

Das Stratum corneum bildet die oberste Schicht der intakten Epidermis (Abbildung 4). Diese Schicht erzeugt das erste und hellste konfokale Bild im Vergleich zu den anderen epidermalen Schichten. Die Keratinozyten sind groß, polygonal und kernlos. Die Zellgrenzen erscheinen verwaschen, zwischen ihnen ist die charakteristische Furchung, Felderung und Faltung der normalen Haut als dunkle Linie zu erkennen.

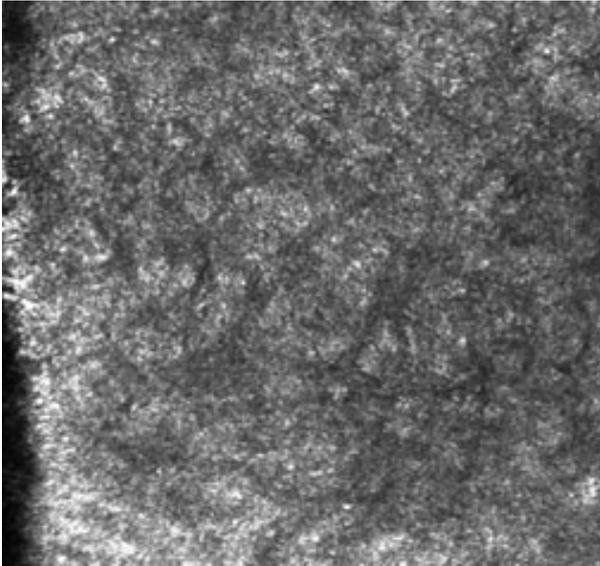


Abbildung 4: *Stratum corneum der gesunden Haut*

Auf der RCM-Aufnahme erscheinen die Kerneozyten hell, polygonal und kernlos. Diese oberste Schicht ist 0-15 μm von der Hautoberfläche entfernt.

Das Stratum granulosum besteht aus zwei bis vier Zellschichten großer, polygonaler Keratinozyten (Abbildung 5). Die Zellkerne werden als ovale bis runde, dunklere Areale im Zentrum der Zellen sichtbar. Umgeben werden sie von einem hellen und körnigen Zytoplasmaring mit schmalen Durchmesser. Die gut abgrenzbaren Umrisse der Keratinozyten bilden ein Gitter, welches einem Honigwabenmuster ähnelt.

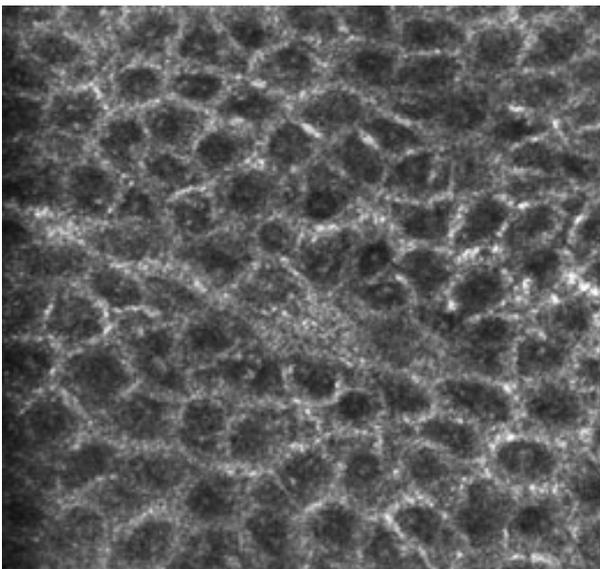


Abbildung 5: *Stratum granulosum der gesunden Haut*

RCM vom SG. Das Zytoplasma erscheint hell und granulär wie ein schmaler Ring, der die ovalen bis runden, dunklen Zellkerne umgibt.

Darunter kommt das Stratum spinosum zur Darstellung, welches das typische Honigwabenmuster aufweist (Abbildung 6). Die polygonalen, gut abgrenzbaren Keratinozyten erscheinen bei zunehmender Anzahl dichte kleiner. Die zentralen Zellkerne sind oval bis rundlich und werden von einem schmalen, hellen und granulär erscheinenden Zytoplasmasaum umgeben.

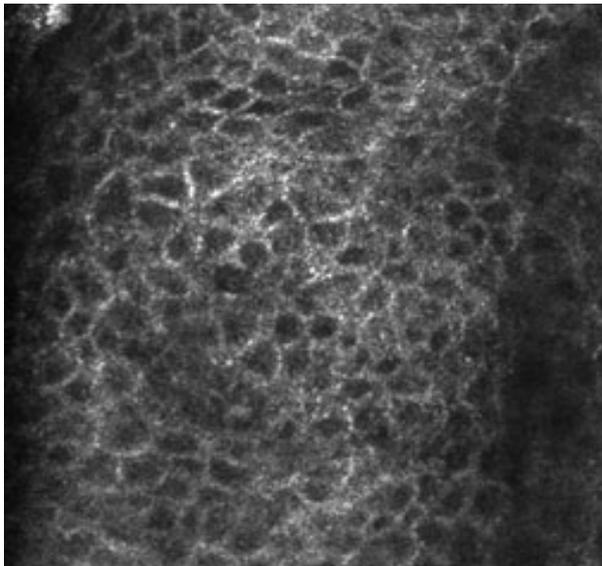


Abbildung 6: Stratum spinosum der gesunden Haut

Auf dem RCM-Bild ist das typische Honigwabenmuster des SS zu erkennen. Die Keratinozyten haben einen Durchmesser von 15-25 μm .

Das Stratum basale besteht aus einer einzelnen Zellschicht aus Keratinozyten sowie vereinzelt runden bis sternförmigen Melanozyten (Abbildung 7). Die Basalzellen sind klein und in Form und Größe einheitlich. Der Melaningehalt der Zellen variiert individuell und ist abhängig vom entsprechenden Hauttyp nach Fitzpatrick. Beim Hauttyp I können die gering pigmentierten Basalzellen nur schlecht von der Umgebung abgegrenzt werden. Bei den Hauttypen II-VI bilden stärker pigmentierte Basalzellen über den Papillenspitzen ein pflastersteinartiges Muster.

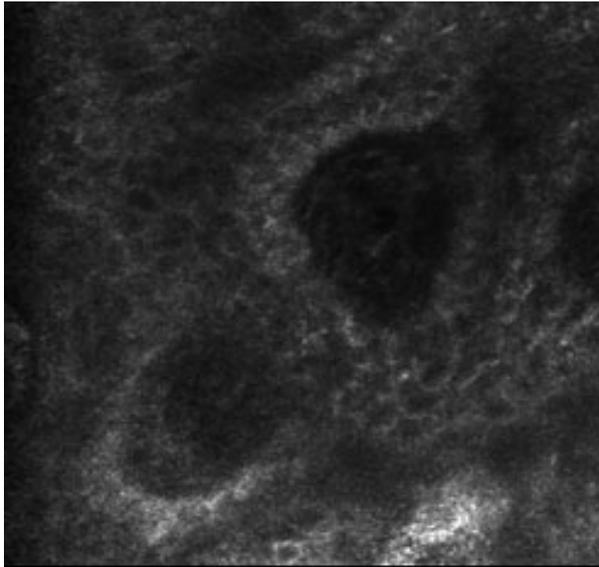


Abbildung 7: *Stratum basale der gesunden Haut*

RCM einer tiefen Abbildung durch das SB. Die hellen Keratinozyten und Melanozyten bilden runde bis ovale Ringe, welche die dunklen dermalen Papillen umgeben.

An der dermoepidermalen Junctionszone (DEJ) bilden die Zellen helle Ringe um die dunkleren Papillen der Dermis, innerhalb deren Zentren sich schleifenförmig verlaufende Blutgefäße befinden. Das Lumen der Gefäße erscheint dunkel. Mit Hilfe der Videofunktion des konfokalen Laserscanmikroskops können darin dynamische Vorgänge wie zirkulierende Erythrozyten oder auswandernde Leukozyten dokumentiert werden. Bei Hellhäutigen können die basalen Ringe um die dermalen Papillen fehlen, bei Dunkelhäutigen sind diese sehr auffällig und gut abgrenzbar.

Innerhalb der Dermis kommen bei einer Tiefe von 50-150 μm unterhalb der Hautoberfläche das Stratum papillare bzw. bei Tiefen $> 150 \mu\text{m}$ das Stratum reticulare zur Darstellung. Beide Schichten erscheinen besonders hell, was sich auf die lichtreflektierenden Eigenschaften des Kollagens zurückführen lässt. Die Kollagenbündel bilden retikuläre Muster unterschiedlicher Größe und Anordnung aus, je nach anatomischer Lokalisation und Patientenalter (101,107–109).

1.7.3 Reflektanz-konfokale Laserscannmikroskopie des Basalzellkarzinoms

In zahlreichen Studien wurden die konfokalmikroskopischen Evaluationskriterien des Basalzellkarzinoms bereits beschrieben (32,50,110–117). Eine große Multicenterstudie zeigte für ausgewählte RCM-Parameter hohe Sensitivitäts- und Spezifitätswerte, die gut mit der konventionellen Histologie als Goldstandard korrelierten (32).

Einige RCM-Kriterien können ausschließlich mit Hilfe des konfokalen Lasermikroskops dargestellt werden. Dazu zählt das Streaming, welches mit keinem der bekannten histopathologischen Kriterien übereinstimmt (117). Auch eine Visualisierung des dynamischen Prozesses der „rollenden Leukozyten“ gelingt allein mit Hilfe des Video-Capture-Moduls des RCM (50).

Die verschiedenen Subtypen des BCC präsentieren sich in der konfokalmikroskopischen Untersuchung unterschiedlich; ein Phänomen, das auch in der Histopathologie beobachtet wird. Dennoch teilen diese Subtypen gemeinsame Merkmale. Dadurch kann die Diagnose des Basalzellkarzinoms leicht erfolgen (117,118). Die meisten RCM-Evaluationskriterien des BCC werden auf Höhe der oberflächlichen Dermis bzw. dermoepidermalen Junktionszone sichtbar (40). Tabelle 3 beinhaltet typische RCM-Parameter, die häufig vorkommen und welche bei der Beurteilung der BCC-Läsionen in der vorliegenden Studie verwendet wurden.

Tabelle 3: RCM-Evaluationskriterien für das Basalzellkarzinom

Hautschicht	RCM-Parameter mit Definition
SG/SS	Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten (VH) – architektonische Unordnung unterschiedlichen Schweregrades durch große Variabilität der Größe und Form der Zellen und Zellkerne sowie irreguläre Zellgrenzen
	Dendritische Zellen (DZ) – helle, spindelförmige Zellkörper sowie zarte, feingliedrig verzweigte Zellfortsätze; entsprechen Langerhans-Zellen in nicht-pigmentierten BCCs bzw. Melanozyten in pigmentierten BCCs
DEJ	Streaming (ST) – elongierte, monomorphe Keratinozyten und Zellkerne, Polarisierung der Kerne entlang einer Achse mit einer aufliegenden, pleomorph erscheinenden Epidermis
DEJ/D	Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe (TZ) – dunkle Tumorsilhouetten, umgeben von hellen Kollagenbündeln in nicht-pigmentierten BCCs bzw. helle Tumorzellnester in Form ovaler, polyzyklischer oder elongierter, schnurartiger Strukturen in pigmentierten BCCs
	Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma (SP) – dunkler Spalt trennt Tumorzellen vom umgebenden fibrösen Stroma
	Entzündungsinfiltrat (E) – kleine, runde, stark reflektierende Zellen, die Lymphozyten entsprechen
	Dendritische Zellen (DZ) – in pigmentierten BCCs: innerhalb der Tumorzellinseln; entsprechen Melanozyten bzw. im tumoralen Stroma; entsprechen Melanophagen
	Erhöhte Vaskularisierung in Form einer Vermehrung, starken Windung und Dilatation der Blutgefäße (G) – runde bis ovale, dunkle Räume, gefüllt mit mäßig refraktilen, zirkulierenden, kleinen Zellen; entsprechen Erythrozyten und Leukozyten

Modifiziert nach (32,40,45,50,102,110–117).

1.7.4 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie des Morbus Bowen

Bis dato gibt es nur wenige Studien, die den Morbus Bowen mit Hilfe der konfokalen Laserscanmikroskopie evaluierten (61,118–121). Untersuchungen von Ulrich et al. zeigten, dass die RCM-Parameter des MB denen der aktinischen Keratose ähneln (Tabelle 5). Zu ihren gemeinsamen Merkmalen gehören die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten, die Parakeratose, die dendritischen Zellen, das Entzündungsinfiltrat sowie die solare Elastose. Der Verlust der normalen Honigwabenstruktur ist beim Morbus Bowen vergleichsweise schwerwiegender und kann die gesamte Epidermis betreffen. Typischerweise werden beim MB zusätzlich dyskeratotische und mehrkernige Keratinozyten im Stratum granulosum und Stratum spinosum gesehen. Die Blutgefäße zeigen innerhalb der oberflächlichen papillären Dermis ein rundes bis ovales Aussehen, auf Höhe der unteren papillären Dermis weisen sie dann eine charakteristische S-Form auf (61,118). Die RCM-Kriterien des Morbus Bowen werden in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: RCM-Evaluationskriterien für den Morbus Bowen

Hautschicht	RCM-Parameter mit Definition
SC	Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten (HK) – helle polygonale Zellen
	Parakeratose (PK) – scharf abgrenzbare, kernhaltige Zellen mit dunklen Zentren
SG/SS	Starker Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten, der die gesamte Epidermis betreffen kann (VH) – architektonische Unordnung unterschiedlichen Schweregrades durch große Variabilität der Größe und Form der Zellen und Zellkerne sowie irreguläre Zellgrenzen
	Dendritische Zellen (DZ) – helle spindelförmige Zellkörper sowie zarte, feingliedrig verzweigte Zellfortsätze
	Entzündungsinfiltrat (E) – kleine, runde, stark reflektierende Zellen
	Dyskeratotische Keratinozyten (DK) – große runde „Schießscheibenzellen“ mit hellen Zentren und dunklen Halos; entsprechen retrahierten Keratinozyten bzw. große, runde „Schießscheibenzellen“ mit dunklen Zentren, hellen Rändern und dunklen Halos; entsprechen Keratinozyten mit pyknotischen Zellkernen
	Mehrkernige Keratinozyten (MK) – gruppierte, runde, helle Strukturen, umgeben von einem dunklen Halo; entsprechen aggregierten Kernen
DEJ/D	Dendritische Zellen (DZ) – (s. o.)
	Entzündungsinfiltrat (E) – (s. o.)
	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation (G) – runde bis ovale, dunkle Räume auf Höhe der oberflächlichen papillären Dermis bzw. S-förmige Räume auf Höhe der unteren papillären Dermis, gefüllt mit mäßig refraktilen, zirkulierenden, kleinen Zellen; entsprechen Erythrozyten und Leukozyten
	Mäßige solare Elastose (SE) – unorganisiertes, hyporefraktiler Kollagen, dessen Einzelfasern nicht erkennbar sind Starke solare Elastose (SE) – hoch refraktile, gekräuselte Fasern

Modifiziert nach (61,118–122).

1.7.5 Reflektanz-konfokale Laserscannmikroskopie der aktinischen Keratose

In vielen Studien wurde die aktinische Keratose bereits mit Hilfe der konfokalen Lasermikroskopie untersucht (29,65,69,80,123–128). Aus ihnen leiten sich charakteristische RCM-Evaluationskriterien ab, welche in Tabelle 5 dargestellt sind. Ulrich et al. und Horn et al. konnten in zwei unabhängigen Studien hohe Sensitivitäts- und Spezifitätswerte für die RCM-Merkmale der AK erreichen. Zudem wurde gezeigt, dass diese Parameter gut mit den etablierten histologischen Kriterien übereinstimmen (29,69).

Tabelle 5: RCM-Evaluationskriterien für die aktinische Keratose

Hautschicht	RCM-Parameter mit Definition
SC	Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten (HK) – helle polygonale Zellen
	Parakeratose (PK) – scharf abgrenzbare, kernhaltige Zellen mit dunklen Zentren
SG/SS	Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten (VH) – architektonische Unordnung unterschiedlichen Schweregrades durch große Variabilität der Größe und Form der Zellen und Zellkerne sowie irreguläre Zellgrenzen
	Dendritische Zellen (DZ) – helle spindelförmige Zellkörper sowie zarte, feingliedrig verzweigte Zellfortsätze
	Entzündungsinfiltrat (E) – kleine, runde, stark reflektierende Zellen
DEJ/D	Dendritische Zellen (DZ) – (s.o.)
	Entzündungsinfiltrat (E) – (s. o.)
	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation (G) – runde bis ovale, dunkle Räume in den Zentren der Papillen, gefüllt mit mäßig refraktilen, zirkulierenden, kleinen Zellen; entsprechen Erythrozyten und Leukozyten
	Mäßige solare Elastose (SE) – unorganisiertes, hyporefraktiler Kollagen, dessen Einzelfasern nicht erkennbar sind Starke solare Elastose (SE) – hoch refraktile, gekräuselte Fasern

Modifiziert nach (29,65,69,80,102,118,122–129).

1.7.6 Reflektanz-konfokale Laserscannmikroskopie der Verruca

Nur wenige Autoren setzten die konfokale Lasermikroskopie zur Evaluierung von Verrucae ein. Bis zum heutigen Tag wurden ausschließlich Untersuchungen zu Verrucae plantares, Verrucae planae und Condylomata acuminata publiziert (91,104–106). Somit ist die Studienlage zu den RCM-Merkmalen der Verrucae insgesamt äußerst limitiert. Tabelle 6 zeigt die bisher in der Literatur beschriebenen RCM-Parameter der Verruca.

Tabelle 6: RCM-Evaluationskriterien für die Verruca

Hautschicht	RCM-Parameter mit Definition
SC	Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten (HK) – helle polygonale Zellen
SG/SS	Koilozytose (K) – hellere Honigwabenstruktur aufgrund größerer und hyperreflektierender Zellaggregate bzw. Einzelzellen; entsprechen ballonierten, HPV-beladenen Keratinozyten
	Dendritische Zellen (DZ) – helle spindelförmige Zellkörper sowie zarte, feingliedrig verzweigte Zellfortsätze
DEJ/D	Papillomatose (PM) – dermale Papillen im Durchmesser erweitert, in Anzahl und Dichte erhöht
	Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation (G) – runde bis ovale, dunkle Räume in den Zentren der Papillen, gefüllt mit mäßig refraktilen, zirkulierenden, kleinen Zellen; entsprechen Erythrozyten und Leukozyten

Modifiziert nach (91,104–106,122).

2 Fragestellungen

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Genauigkeit der Reflektanz-konfokalen Mikroskopie für die Diagnose neoplastischer und virusassoziierter Hautveränderungen bei Organtransplantierten durch die Anwendung ausgewählter RCM-Merkmale im klinischen Alltag zu prüfen. Den Goldstandard stellte die konventionelle Histologie dar. Die gewonnenen Daten wurden hierfür morphologisch und statistisch ausgewertet und anschließend mit den Ergebnissen bisheriger Studien mit Immunkompetenten verglichen. Im Einzelnen wurden dabei die folgenden Zielsetzungen verfolgt:

2.1 Reproduzierbarkeit der bekannten RCM-Evaluationskriterien

Zuerst wurde versucht, die bisher in der Literatur beschriebenen RCM-Merkmale der jeweiligen neoplastischen bzw. virusassozierten Hautveränderung in den evaluierten Hautveränderungen der organtransplantierten Studienteilnehmer aufzufinden.

2.2 Sensitivität und Spezifität der RCM im Vergleich zur Histologie

Um die Genauigkeit der konfokalen Lasermikroskopie im Vergleich zur Routinehistologie beurteilen zu können, erfolgte eine Ermittlung von deren Sensitivität und Spezifität. Dies erfolgte sowohl für die Diagnose als auch für die einzelnen RCM-Parameter der jeweiligen neoplastischen bzw. virusassozierten Hauterkrankung.

2.3 Relevanz der erhobenen Daten

Anschließend wurde die Relevanz der in dieser Studie erhobenen Daten überprüft. So sollte festgestellt werden, ob die mit Hilfe des konfokalen Lasermikroskops gewonnenen Ergebnisse bedeutsam sind oder ob sie als nur zufällig beobachtet gelten.

2.4 Verteilungshäufigkeit einzelner RCM-Merkmale

Von speziellem Interesse war außerdem die Frage, wie häufig die einzelnen RCM-Evaluationskriterien in der jeweiligen Hauterkrankung vertreten sind.

2.5 Konkordanz der Untersucher

Zuletzt wurde geprüft, ob die Beobachter sowohl in Bezug auf die Entdeckung einzelner RCM-Parameter als auch im Hinblick auf die Diagnose insgesamt zu übereinstimmenden

Ergebnissen kamen. Es wird angenommen, dass die Methodik eine hohe Zuverlässigkeit hat, sofern die beschriebenen RCM-Kriterien durch unabhängige Untersucher (UNT) gleichermaßen aufgefunden werden bzw. die Beobachter übereinstimmend gleiche Diagnosen stellen.

3 Patienten und Methodik

3.1 Studienpopulation

Nach Zustimmung der zuständigen Ethikkommission der Charité (Votum EA/020/09) erfolgte die Rekrutierung der Studienteilnehmer in der spezialisierten dermatologischen Sprechstunde für Organtransplantierte am Hauttumorzentrum der Charité, Universitätsmedizin Berlin. Die Patienten stellten sich dort im Rahmen ihrer risikoprofiladaptierten dermatologischen Vorsorge- bzw. Nachsorgeuntersuchung vor. Eine Gesamtzahl von 35 Patienten, davon neun weibliche und 26 männliche, mit den Hauttypen I-III nach Fitzpatrick im Alter zwischen 46 und 83 Jahren (Durchschnittsalter 64,5 Jahre) wurde in unsere klinische Studie eingeschlossen (Tabellen 7-10). Von diesen Patienten wurden 31 nierentransplantiert, drei herztransplantiert und ein Patient simultan nieren- und herztransplantiert. Die klinischen Untersuchungen erfolgten unter Einhaltung der Rechtsvorschriften der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki (Fassung von 2008). Als Einschlusskriterien galten das Vorliegen mindestens einer neoplastischen bzw. virusassoziierten Hautveränderung bei Zustand nach Organtransplantation und chronischer, medikamentös induzierter Immunsuppression, ein Mindestalter von 18 Jahren sowie die Freiwilligkeit und Einwilligungsfähigkeit in die Studienbedingungen. Zum Studienausschluss führten schwere internistische Begleiterkrankungen. Insgesamt 61 Hautveränderungen wurden klinisch, dermatoskopisch, konfokalmikroskopisch und histologisch evaluiert. Die klinische Verdachtsdiagnose wurde dabei immer von derselben erfahrenen Dermatologin gestellt. Die Patienten wiesen entweder eine oder mehrere Hautläsionen auf. Bei 20 Hautveränderungen bestand der Verdacht auf das Vorliegen eines Basalzellkarzinoms, bei sechs Läsionen der Verdacht auf einen Morbus Bowen. Die klinische Diagnose aktinischer Keratosen wurde 23 Mal geäußert und zwölf Hautveränderungen imponierten wie Verrucae. Alle gängigen, in Deutschland zugelassenen Immunsuppressiva waren in unserer Transplantatkohorte vertreten. Sie wurden als Mono- oder Kombinationstherapie, häufig gemeinsam mit einem niedrig dosierten Steroid, appliziert.

Tabelle 7: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines BCC

Läsion	Geb./Geschl.	Transplantat	Lokalisation	Histologie
1	1950/m	Niere 1997	Wange links	BCC
2	1956/m	Niere 1993	Stirn links	BCC
3	1943/m	Niere 2001	Wange rechts	BCC
4	1928/m	Niere 1999	Wange links	BCC
5	1937/m	Niere 2004	Stirn links	BCC
6	1937/m	Niere 2004	Schläfe links	Narbe
7	1937/m	Niere 2004	Stirn links	BCC
8	1937/m	Niere 2005	Schläfe rechts	BCC
9	1932/m	Niere 2003	Augenwinkel rechts	BCC
10	1944/m	Niere 2007	Augenbraue rechts	PEC
11	1944/m	Niere 2007	Oberarm rechts	Ekzem
12	1937/m	Niere 2003	Ohr rechts	AK
13	1931/w	Niere 2006	Nasenflügel links	BCC
14	1937/m	Herz 1997	Nasenrücken	Zyste
15	1946/m	Niere 1992	Schläfe rechts	TH
16	1949/m	Niere 2002	Unterschenkel rechts	BCC
17	1956/m	Niere 1993	Augenwinkel links	Dermaler NZN
18	1941/m	Niere 2005	Nasenrücken	Zyste
19	1940/w	Niere 2006	Wange links	Angiom
20	1965/w	Niere 2000	Wange links	Dermaler NZN

Tabelle 8: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines MB

Läsion	Geb./Geschl.	Transplantat	Lokalisation	Histologie
1	1941/w	Niere 2004	Nacken rechts	MB
2	1944/m	Niere 2007	Oberschenkel links	Ekzem
3	1944/m	Niere 2005	Hals rechts	MB
4	1939/m	Niere 1997	Brust rechts	Tinea
5	1965/m	Niere 1994 + 2004	2. Finger rechts	MB
6	1965/m	Niere 1994 + 2004	Unterschenkel links	MB

Tabelle 9: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer AK

Läsion	Geb./Geschl.	Transplantat	Lokalisation	Histologie
1	1943/m	Herz 2003	Brust links	AK
2	1953/m	Niere 1993	Wange rechts	AK
3	1937/m	Niere 2005	Schläfe links	AK
4	1956/w	Niere 2001	Unterlippe links	AK
5	1944/m	Niere 2005	Rücken rechts	AK
6	1947/m	Niere 1999	Unterarm rechts	AK
7	1937/m	Niere 2003	Hals rechts	AK
8	1944/m	Niere 2005	Stirnmitte	AK
9	1944/m	Niere 2007	Schläfe rechts	AK
10	1949/m	Niere 1986	Nasentrücken	AK
11	1948/m	Niere 2006	Brust rechts	AK
12	1948/m	Niere 2006	Unterschenkel rechts	AK
13	1956/m	Herz 1990 Niere 1999	Ohrmuschel links	AK
14	1958/m	Niere 2004	Handrücken rechts	SE
15	1946/m	Niere 2000	Schläfe rechts	AK
16	1949/m	Niere 2002	5. Finger rechts	VV
17	1949/m	Niere 2002	3. Finger rechts	LP
18	1956/w	Niere 2001	Oberlippe links	VV
19	1953/m	Niere 1985	Rücken rechts	AK
20	1944/m	Niere 2007	Brust links	AK
21	1932/m	Niere 2006	Oberarm rechts	AK
22	1944/m	Niere 2007	Brust rechts	AK
23	1937/m	Herz 1997	Rücken links	Exkoration

Tabelle 10: Studienkohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca

Läsion	Geb./Geschl.	Transplantat	Lokalisation	Histologie
1	1953/m	Niere 1985	Handrücken links	VV
2	1953/m	Niere 1985	Unterarm links	VV
3	1944/m	Niere 2007	Stirn rechts	SK
4	1949/m	Niere 1986	Unterschenkel rechts	VV
5	1949/m	Niere 1986	Unterschenkel links	VV
6	1931/w	Niere 2006	Stirn rechts	VV
7	1948/m	Niere 2007	Schläfe rechts	TH
8	1937/m	Herz 1997	Hals links	VV
9	1937/m	Herz 1997	Unterschenkel links	VV
10	1956/m	Niere 1993	Rückenmitte	Fibrom
11	1931/w	Niere 1995	Nasenrücken	SK
12	1949/m	Niere 2002	Stirn rechts	SK

3.2 Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie

3.2.1 Optisches Grundprinzip

Das konfokale Laserscanmikroskop besteht aus einer Lichtquelle, einer Fokussierungs- und einer Objektivlinse sowie einem Detektor (95). Ein Dioden-Laserstrahl stellt dabei die Quelle für monochromatisches und kohärentes Licht dar, welches durch einen Strahlteiler und die Objektivlinse in die Haut eindringt und einen kleinen Punkt innerhalb des Gewebes fokussiert (94). Im Gegensatz zur konventionellen Histologie, bei der sich eine vertikale Schnittführung etabliert hat, erfolgt die Laserabtastung bei der RCM in horizontaler Richtung. Die Bildinterpretation beruht damit auf virtuellen, horizontalen Schnitten des Gewebes (Abbildung 8).

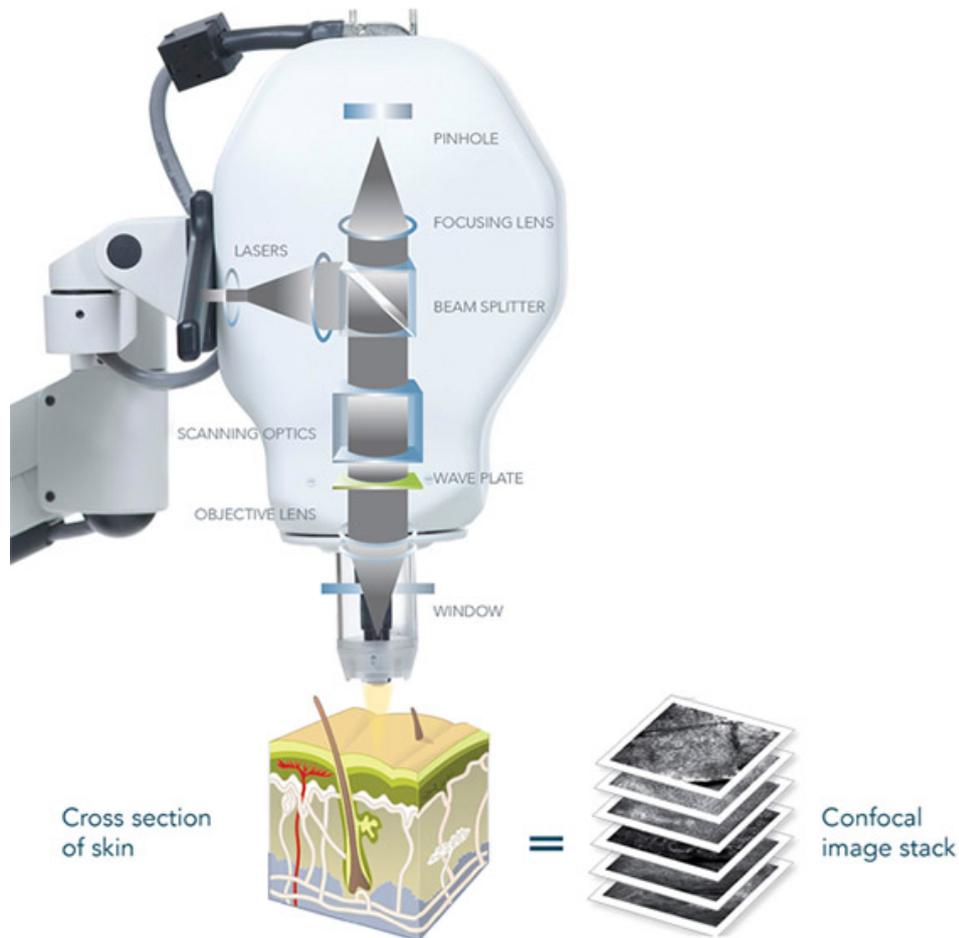


Abbildung 8: Prinzip der Bilderfassung mit Hilfe des VivaScope® 1500

Quelle: [<http://www.caliberid.com/vivascope1500-Overview.html>].

Dies erfordert ein Umdenken bei der Bildevaluierung, vor allem für den an Tiefschnitten erprobten Dermatohistopathologen (102). Durch verschiedene Brechungsindizes an Grenzflächen, Zellorganellen und zellulären Mikrostrukturen wird das Licht reflektiert, gestreut oder absorbiert (103). Die Lichtsignale, die von der Haut reflektiert werden, gelangen zurück zum Detektor, vor dem sich eine sehr kleine Lochblende befindet. So wird gewährleistet, dass ausschließlich Licht aus der fokussierten Ebene verarbeitet wird und reflektiertes Licht außerhalb dieser Ebene herausgefiltert (94). Auf diese Art und Weise ergibt sich die hohe Resolution des konfokalen Lasermikroskops. Anschließend werden die Lichtsignale von dem Detektor auf einen Computer übertragen, der mit Hilfe einer integrierten Software aus den differenzierten Reflexionsmustern zweidimensionale Schnittbilder in verschiedenen Graustufen erzeugt (130). Der Kontrast der RCM-Bilder beruht dabei auf den unterschiedlichen Brechungsindizes der „endogenen Kontrastmittel“

(103). Strukturen mit einem hohen Brechungsindex ergeben ein helles konfokales Bild (94). Stärkster Kontrastgeber mit einem Brechungsindex von $n = 1,72$ ist Melanin (97). Weitere natürliche Kontrastmittelquellen sind Keratin ($n = 1,51$) und hydriertes Kollagen ($n = 1,43$) (95,102). Sie werden von Strukturen mit einem geringeren Brechungsindex, wie der Epidermis ($n = 1,34$) und Dermis ($n = 1,41$), umgeben (131). Die Lichtquelle, der fokussierte Punkt auf der Haut und die Blendenöffnung des Detektors stehen in einer konjugierten fokalen Ebene zueinander. Daher leitet sich der Name des konfokalen Laserscanmikroskops ab (130).

3.2.2 Technischer Aufbau

In dieser Studie wurde ein handelsübliches, für den In-vivo-Einsatz geeignetes, konfokales Laserscanmikroskop (VivaScope® 1500 Lucid-Tech Inc., MAVIG GmbH, München, Deutschland) verwendet. Es besteht aus einem Gerätewagen mit Computer, inklusive Monitor und Tastatur, einer Dermatoskopiekamera (VivaCam®) sowie einem flexiblen Schwenkarm, an dem ein 830 nm Diodenlaser mit einem 30x-Wasserimmersions-Objektiv und einer numerischen Apertur von 0,9 befestigt ist (Abbildung 9).



Abbildung 9: VivaScope® 1500 der Firma MAVIG GmbH (München)

Quelle: [<http://www.vivascope.de/produkte.html>].

Die Laserenergie auf Gewebesebene beträgt weniger als 30 mW, welche keine Gewebe- oder Augenschäden nach sich zieht und durch den Untersucher auf eine beliebige Ebene innerhalb der Haut fokussiert werden kann (Laserklasse Ia) (102). Lichtreflexionen außerhalb der fokalen Ebene werden durch eine vor dem Detektor befindliche Lochblende mit kleiner Apertur herausgefiltert, daher resultiert die hohe Auflösung der RCM (95). Das laterale Auflösungsvermögen beträgt 0,5-1,0 μm und befindet sich damit im zellulären Bereich. Die axiale Auflösung liegt bei 3-5 μm und entspricht damit in etwa der Schichtdicke der konventionellen Histologie (98,99). Hautstrukturen der Epidermis bis hin zur oberen retikulären Dermis können mit einer Gesamteindringtiefe von 250-350 μm dargestellt werden (99,103). Für die Untersuchung des gewünschten Hautareals wird ein transparentes Klebeplastikfenster auf einem Gewebering aus Edelstahl befestigt. Die Hautpartie des Patienten wird mit Isopropylalkohol gereinigt und ein Tropfen Crodamol-Öl auf das Kunststoffplättchen gegeben. Das Öl bildet einen dünnen Film zwischen Haut und Fenster und gewährleistet dadurch eine höhere Bildqualität. Da sich die Refraktionsindizes von Öl ($n = 1,50$), Stratum corneum ($n = 1,55$) und Klebeplastikfenster ($n = 1,52$) ähneln, wird eine frühzeitige Lichtbrechung und -reflexion verhindert, sodass auch tiefere Strukturen in hoher Auflösung dargestellt werden können (95,97). Anschließend kann durch Positionierung der VivaCam® auf dem Edelstahlring ein Digitalbild in dermatoskopischer Qualität erstellt werden. Die Makrokamera erzeugt dabei Einzelbilder mit einer Größe von 5 Megapixeln auf einer Bildfläche von 10 x 10 mm und gewährleistet eine Korrelation der makroskopischen Aufnahme mit den durch das VivaScope® erzeugten konfokalen Bildern. So wird dem Untersucher eine Navigation des Lasers innerhalb der Läsion erleichtert (132). Die Wasserimmersionslinse erfordert die Verwendung von Wasser ($n = 1,33$) oder Gelen auf Wasserbasis wie Ultraschallgel ($n = 1,35$) zwischen Fenster und Objektivlinse, da diese einen Brechungsindex nahe dem der Epidermis ($n = 1,34$) haben (95). Das Gel wird mittig auf das Klebefenster aufgetragen. Anschließend werden der Tubus des Objektivs und der Gewebering magnetisch konnektiert. So können stabile Aufnahmen angefertigt und bewegungsbedingte Bildartefakte auf ein Minimum reduziert werden. Die RCM-Aufnahmen werden anschließend auf dem Monitor angezeigt. Durch x-, y- und z-Achsenverschiebung des Lasers können Aufnahmen in drei Ebenen erfolgen. Einzelbilder haben eine Bildgröße von 500 x 500 μm . Mittels x-y-Achsenbewegung des Lasers kann eine Ebene bzw. eine Hautschicht mit maximaler Ausdehnung von 8 x 8 mm gescannt werden. Dabei wird eine Karte aus 16 x 16 Einzelaufnahmen erstellt, was einem VivaBlock® entspricht.

VivaBlocks® haben eine Auflösung von 2 Pixeln/µm. Die Funktion VivaStack® erstellt Aufnahmen in der z-Ebene und ermöglicht damit eine optische Stanzbiopsie. VivaCube® ist eine Kombination aus VivaBlock® und VivaStack®. Diese Menüfunktion erlaubt es, ein Hautareal vollständig in Ausdehnung und Tiefe (x-y-z-Ebene) durchzuscanen (102,132).

3.2.3 Software

Das VivaScope® 1500 ist mit der Version 7 der auf Windows XP Professional basierenden, bildgebenden Anwendungssoftware VivaScan® ausgestattet. Über eine Patienten-Record-Übersicht können Datensätze und -bilder erstellt, beurteilt und gespeichert werden (100). Mit Hilfe des Video-Capture-Moduls (VS-AVI) können kurze Videosequenzen mit 15-25 Einzelbildern/Sekunde aufgenommen und dynamische Prozesse wie Blutfluss oder die Migration von Leukozyten aufgezeichnet werden (94,97). Durch das Feature Automatic-Image-Control (VS-AIC) wird die Laserkraft automatisch angepasst, sodass die beste Bildqualität erreicht wird. Der Elektronische-Zoom (VS-EZ) ermöglicht eine bis zu 1,7-fache Bildvergrößerung (100).

3.3 Studienablauf

Die im Rahmen des Ganzkörperscreenings aufgefundenen Hautveränderungen wurden nach einem standardisierten Bilderprotokoll digital aufgenommen. Dieses Vorgehen beinhaltete eine Übersichtsaufnahme mit einer Digitalkamera (Nikon Coolpix 950, Nikon Corp., Tokio, Japan), ein dermatoskopisches Bild (VivaCam®) sowie ein Scannen der Läsion mittels Reflektanz-konfokaler Lasermikroskopie (VivaScope®). Dabei wurden die dermatoskopischen Aufnahmen und die RCM-Bilder so übereinander ausgerichtet, dass eine Übereinstimmung zwischen den Bildern hergestellt werden konnte. Mit Hilfe der VivaBlock®-Funktion wurden auf Höhe des Stratum spinosum und der oberflächlichen Dermis horizontale Mappen aufgenommen. Zusätzlich wurde in 5 µm großen Abständen jeweils ein VivaStack® bis zu einer maximalen Tiefe von 250 µm erstellt, d. h., beginnend im Stratum corneum, weiter durch die gesamte Epidermis bis auf Höhe der oberen papillären Dermis. In Bereichen von besonderem Interesse wurden während der Bilderstellung zusätzliche Einzelaufnahmen angefertigt und gespeichert. Mit dem Video-Capture-Modul wurden auf Höhe der DEJ/D dort, wo Gefäße beobachtet wurden, kurze Videos angefertigt, um den Blutfluss zu visualisieren. Zur Bestätigung der klinischen

Verdachtsdiagnose und Korrelation der RCM-Befunde mit den Kriterien der konventionellen Histologie wurde anschließend eine Probenbiopsie entnommen. Hierfür erfolgte zunächst eine Desinfektion der betroffenen Hautpartie und eine lokale Anästhesie mit Lidocain. Der Durchmesser der Stanzbiopsie betrug im Schnitt 4-6 mm. Anschließend wurde das Präparat in der Abteilung für Dermatohistologie der Charité, Universitätsmedizin Berlin aufgearbeitet und ausgewertet. Dafür wurde das Probengut zunächst in einer Formalinlösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Anschließend erfolgte ein Zuschnitt in 3 µm dicke Scheiben und eine Färbung mittels Hämatoxylin-Eosin. Die lichtmikroskopische Beurteilung der Präparate erfolgte durch einen erfahrenen Dermatohistologen. Die gewonnenen Patientendaten und digitalen Aufnahmen wurden unter Beachtung aller Erfordernisse des Datenschutzgesetzes in einem numerischen System verschlüsselt gespeichert und pseudonymisiert. Alle Untersuchungen, einschließlich der Fotografie, der Dermatoskopie, der konfokalen Lasermikroskopie und der Entnahme einer Hautprobe dauerten pro Termin ca. 30 Minuten. In der klinisch vermuteten BCC-Kohorte konnte die Histologie die Diagnose zehn Mal bestätigen, bei zehn weiteren Läsionen ergab die histologische Aufarbeitung andere Diagnosen (Tabelle 7). In der MB-Gruppe wurde bei vier von sechs Läsionen die klinische Verdachtsdiagnose mittels Histologie bestätigt (Tabelle 8). In der Kohorte mit den klinisch vermuteten AKs konnte bei 18 von 23 Läsionen die Diagnose mittels Histologie bestätigt werden (Tabelle 9). Die V-Gruppe beinhaltete insgesamt zwölf Läsionen, davon sieben histologisch gesicherte Verrucae-Läsionen und fünf Non-Verrucae-Läsionen (Tabelle 10). Nachdem die Untersuchungen abgeschlossen waren, wurden die konfokalmikroskopischen Bilder retrospektiv einer morphologisch-deskriptiven Analyse durch zwei unabhängige Dermatologen (Untersucher I und Untersucher II) unterzogen. Einer der Untersucher verfügte bereits über weitreichende Erfahrungen mit der RCM, die Kenntnisse des zweiten Untersuchers wurden als mäßig eingestuft. Damit konnten Studienbedingungen geschaffen werden, welche die allgemeine dermatologische Gemeinschaft widerspiegeln, in der Beobachter über unterschiedliche Erfahrungen mit der RCM verfügen. Aufgrund schlechter Bildqualität konnten einzelne Aufnahmen in der retrospektiven Analyse nicht berücksichtigt werden. Die Evaluierung der Bilder erfolgte dabei verblindet in Bezug auf Namen, Alter und Geschlecht des Patienten, Art des transplantierten Organs sowie die histologische Diagnose. Jedoch waren den Untersuchern die klinischen Verdachtsdiagnosen bekannt, sodass die Auswertung anhand der Studienprotokolle erfolgen konnte (Tabellen 11-12, 18-21, 27-28). Basierend

auf bisher veröffentlichten Arbeiten, welche die RCM-Merkmale der jeweiligen neoplastischen bzw. virusassoziierten Hauterkrankungen bei Immunkompetenten untersuchten, wurden für die vorliegende Studie die konfokalen Bildgebungskriterien ausgewählt, von denen angenommen wird, dass sie leicht auch von Nicht-Pathologen und unerfahrenen Beobachtern erkannt werden. Systematisch wurden die Läsionen hinsichtlich des Vorhandenseins bzw. Fehlens dieser RCM-Merkmale evaluiert und dabei jedem einzelnen Parameter Bewertungen von 0-3 Punkten zugewiesen. Anschließend wurden die klinischen Verdachtsdiagnosen überprüft. Konnten $\geq 50\%$ der RCM-Kriterien der jeweiligen Erkrankung in einer Läsion aufgefunden werden, wurde die klinische Diagnose mittels konfokaler Lasermikroskopie bestätigt. Wurden dagegen von den Untersuchern nur $< 50\%$ der RCM-Parameter in einer Läsion aufgefunden, musste die klinische Verdachtsdiagnose verworfen werden.

3.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der gewonnenen Daten erfolgte mit Hilfe der Statistikprogramme GraphPad Prism 7 und GraphPad QuickCalcs (online). Im Folgenden werden die angewendeten statistischen Methoden, bezogen auf die vorliegende Studie, näher erläutert.

3.4.1 Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse

Damit die konfokale Laserscanmikroskopie eine valide Screeningmethode für die Diagnose neoplastischer und virusassoziiertes Hautveränderungen, insbesondere bei Organtransplantierten, darstellen kann, muss sie hohe Sensitivitäts- und Spezifitätswerte aufweisen. Mit Hilfe der Sensitivität und Spezifität kann die Genauigkeit eines diagnostischen Verfahrens beurteilt werden in Beziehung zu dem Wissen, ob eine bestimmte Erkrankung tatsächlich vorliegt oder nicht. Ein Test, der dies richtig nachweisen kann, wird als Goldstandard bezeichnet. Die Sensitivität oder Empfindlichkeit eines Verfahrens wird als der Anteil der Patienten mit der Erkrankung definiert, bei dem der Test für die Erkrankung positiv ist. Ist die Sensitivität eines Verfahrens hoch, so wird das Verfahren kaum Personen mit der Erkrankung übersehen. Die Sensitivität wird anhand der folgenden Formel berechnet: $\text{Sensitivität} = \text{Anzahl Richtig-Positiver} / (\text{Anzahl Richtig-Positiver} + \text{Anzahl Falsch-Negativer})$. Die Spezifität ist der Anteil von Patienten ohne die Erkrankung, bei dem der Test negativ ausfällt. Ist die Spezifität eines Verfahrens

hoch, so wird dieses kaum Menschen als erkrankt fehlklassifizieren, wenn sie die Erkrankung nicht haben. Die Ermittlung der Spezifität gelingt mit Hilfe der Formel: Anzahl Richtig-Negativer / (Anzahl Falsch-Positiver + Anzahl Richtig-Negativer) (133,134). In dieser Untersuchung erfolgte die Ermittlung der Sensitivität und Spezifität sowohl für die einzelnen RCM-Parameter als auch für die Diagnose. Goldstandard stellte die konventionelle Routinehistologie dar.

3.4.2 Chi-Quadrat- X^2 -Test

Der Chi-Quadrat- X^2 -Test ist ein spezielles Verfahren für den Vergleich von Häufigkeitsunterschieden zweier Merkmale. Dargestellt wird dies mit Hilfe von Kontingenztabellen. Die für diese Studie formulierte Nullhypothese (H_0) geht davon aus, dass durch die Anwendung der konfokalen Lasermikroskopie bzw. die Anfertigung einer konventionellen Histologie unterschiedliche Diagnosen gestellt werden. Die Alternativhypothese (H_1) lautet dementsprechend, dass durch die konfokale Mikroskopie und die Histologie übereinstimmende Diagnosen gestellt werden. Auch für die einzelnen RCM-Evaluationskriterien erfolgte eine Chi-Quadrat- X^2 -Analyse. Dabei wurden das Vorhandensein bzw. die Abwesenheit eines Merkmals in histologisch positiver Erkrankung in Beziehung zur histologisch negativen Erkrankung gesetzt. Die für die RCM-Parameter formulierte Nullhypothese (H_0) geht davon aus, dass die Häufigkeit der Beobachtungen in histologisch positiver und histologisch negativer Erkrankung zu gleichen Anteilen vorhanden ist. Die Alternativhypothese (H_1) behauptet dementsprechend, dass die Häufigkeit der Beobachtungen in histologisch positiver und histologisch negativer Erkrankung unterschiedlich oft ist. Bei einem p -Wert $\leq 0,05$ (Irrtumswahrscheinlichkeit 5%) wurde das Ergebnis als statistisch signifikant gewertet und die Nullhypothese (H_0) verworfen. Bei einem p -Wert $\leq 0,01$ wurde das Ergebnis als sehr signifikant und bei einem p -Wert $\leq 0,001$ als höchst signifikant gewertet (133,134).

3.4.3 Kappa-Analyse

Zuletzt wurde geprüft, ob beide Untersucher übereinstimmende Diagnosen stellten bzw. gleiche RCM-Parameter auffanden. Hierfür wurde eine Vierfelder-Kappa-Analyse durchgeführt. Die Stärke der Übereinstimmung wurde mittels Cohens-Kappa-Koeffizient (k) angegeben. Dieser entspricht einem Wert zwischen 0 (keine Konkordanz) und 1 (sehr gute Konkordanz). Die Reliabilität wurde wie folgt angesehen: Bei einem Cohens-Kappa-

Koeffizient von 1,00-0,81 bestand eine sehr gute, bei 0,80-0,61 eine gute, bei 0,60-0,41 eine mittlere, bei 0,40-0,21 eine leichte und bei $< 0,20$ eine schwache Interobserver-Übereinstimmung nach Altman (135).

4 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der vorliegenden Studie dargestellt. Zuerst werden repräsentative RCM-Bilder zu den Einzelparametern der jeweiligen neoplastischen bzw. virusassoziierten Hauterkrankung gezeigt und näher erläutert. Da die Bilderakquirierung von epidermal nach dermal erfolgte, werden auch die RCM-Evaluationskriterien in dieser Reihenfolge abgehandelt. Diejenigen Merkmale, die sich bei den verschiedenen Erkrankungen wiederholen, werden nur einmalig besprochen. Anschließend werden die statistischen Ergebnisse ausführlich beschrieben.

4.1 Basalzellkarzinom

4.1.1 Morphologische RCM-Analyse

4.1.1.1 Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten

Auf Höhe des SG/SS besteht ein ungeordnetes Keratinozytenmuster (Abbildung 10). Die Zellen und deren Kerne variieren in Form und Größe. Der Verlust der Honigwabenstruktur ist das Ergebnis einer chronischen aktinischen Schädigung der Haut.

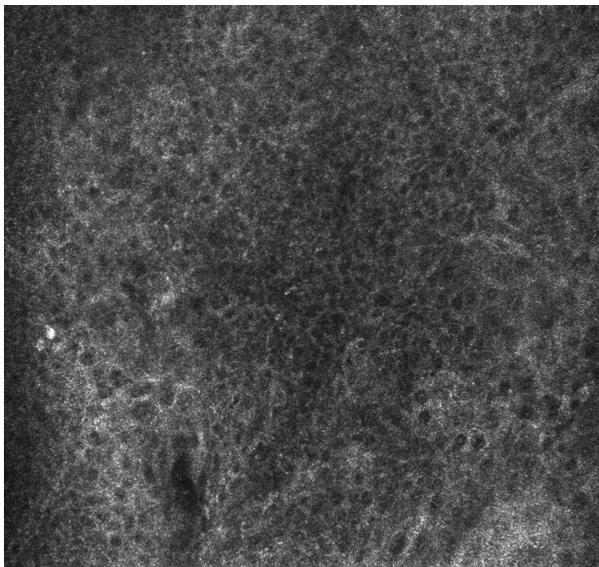
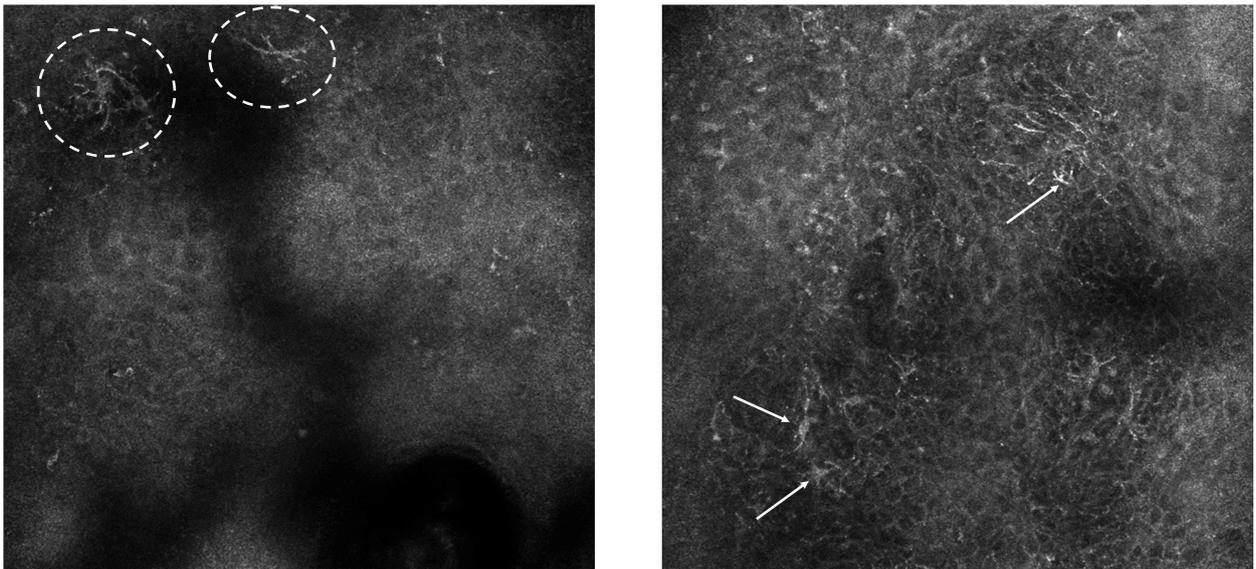


Abbildung 10: Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten beim Basalzellkarzinom

RCM vom SG/SS. Zu erkennen ist ein Verlust der normalen Honigwabenstruktur.

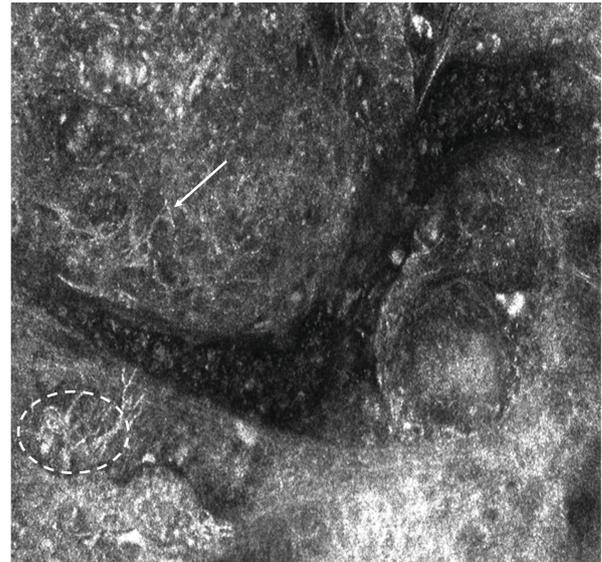
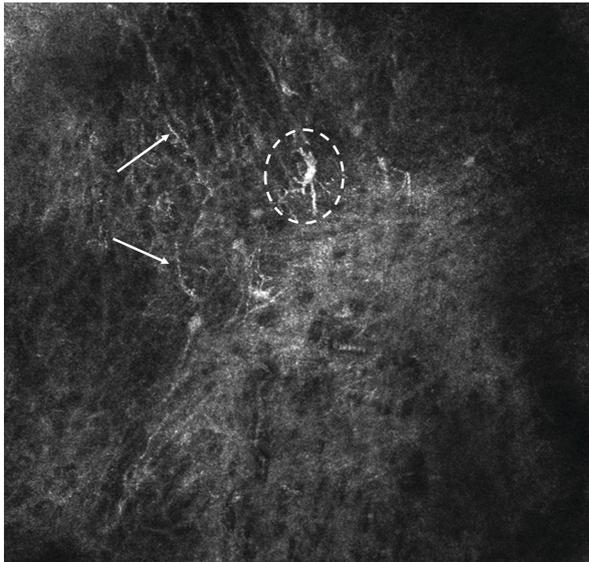
4.1.1.2 Dendritische Zellen

Innerhalb der Tumorzellnester bzw. in der über ihnen liegenden Epidermis, im Bereich des SG/SS, kommen dendritische Zellen zur Darstellung (Abbildungen 11 A und B - 12 A und B). Sie erscheinen hell und besitzen typischerweise einen sternförmigen Zellkörper. Die an diesem befindlichen, langen Zellfortsätze besitzen ein feingliedriges Aussehen und können sich stark verzweigen. Dendritische Zellen kommen vereinzelt oder gruppiert vor und werden häufig von einem entzündlichen Infiltrat begleitet.



Abbildungen 11 A und B: Dendritische Zellen beim Basalzellkarzinom

RCM des SG/SS. Auf Abbildung 11 A (links) sind zwei sternförmige dendritische Zellen dargestellt (weiße gestrichelte Kreise). Auf Abbildung 11 B (rechts) erkennt man mehrere dendritische Zellen (weiße Pfeile) mit deren stark verzweigten Ausläufern.



Abbildungen 12 A und B: Dendritische Zellen beim Basalzellkarzinom

RCM-Aufnahmen der oberen Dermis. Auf Abbildung 12 A (links) sind ein dendritischer Zellkörper (weißer gestrichelter Kreis) und helle Zellfortsätze (weiße Pfeile) zu erkennen. Auf Abbildung 12 B (rechts) sind ebenfalls eine dendritische Zelle (weißer gestrichelter Kreis) sowie deren verzweigte Ausläufer (weißer Pfeil) im Bereich eines Tumorzellnestes zu sehen. Zusätzlich erkennt man ein dilatiertes Blutgefäß und ein massives entzündliches Infiltrat in Form heller, kleiner Zellen.

4.1.1.3 Streaming

Im Bereich der DEJ kann eine uniforme Population von Tumorzellen mit länglichen Zellkernen gesehen werden (Abbildung 13). Diese Kerne ordnen sich entlang einer gemeinsamen Achse an - ein Phänomen, das Kernpolarisierung oder Streaming genannt wird. Die aufliegende Epidermis erscheint pleomorph.

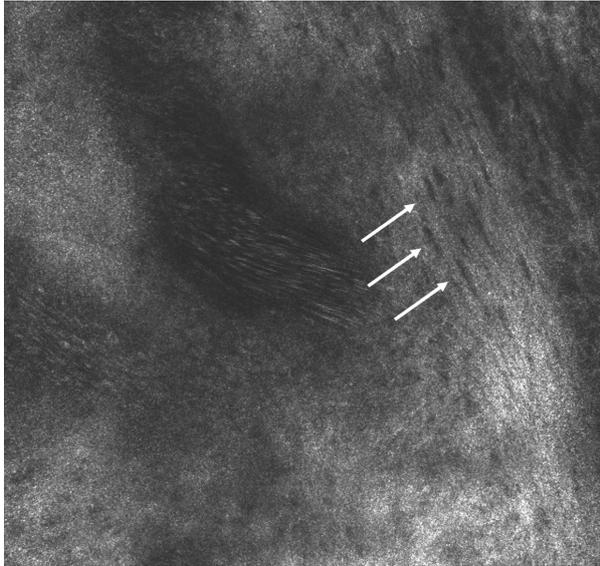


Abbildung 13: Streaming beim Basalzellkarzinom

RCM-Bild auf Höhe der DEJ. Zu sehen sind dunkle, längliche Zellkerne, die sich entlang einer Achse polarisieren (weiße Pfeile).

4.1.1.4 Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe

Auf Höhe der DEJ oder oberflächlichen Dermis werden hyporeflektive, dunkle Tumorsilhouetten sichtbar, die von hellen Kollagenbündeln umgeben sind (Abbildung 14). In pigmentierten Basalzellkarzinomen werden dagegen helle Tumorzellnester als ovale, polyzyklische oder elongierte, schnurartige Strukturen gesehen, die sich durch einen spaltähnlichen, dunklen Raum scharf vom umgebenden Stroma abgrenzen lassen. Zellen an der Peripherie der Tumorzellinseln zeigen längliche Zellkerne mit peripherer Palisadenstellung (Abbildung 15).

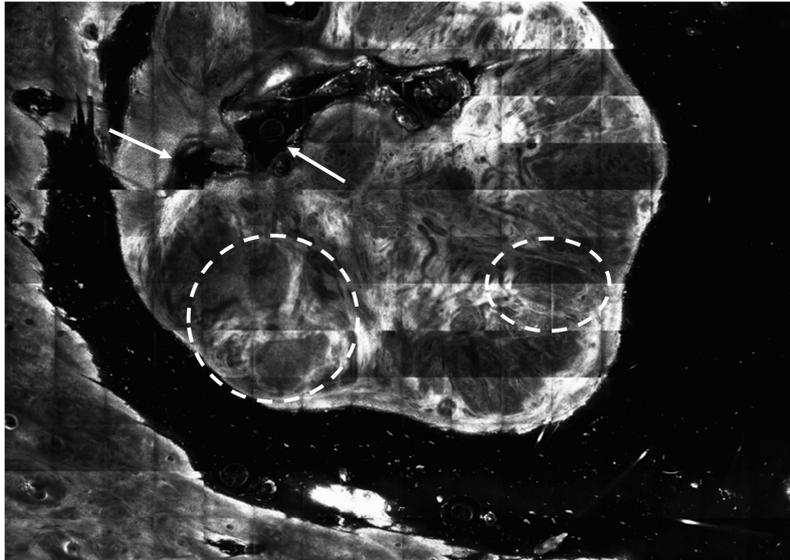


Abbildung 14: Tumorzellinseln beim Basalzellkarzinom

RCM-Übersichtsaufnahme (4 x 4 mm) eines nodulären BCC im Bereich der Dermis. Im oberen Bildbereich ist eine Ulzeration zu erkennen (weiße Pfeile). Die Tumorzellinseln kommen als hyporeflektive Silhouetten unterschiedlicher Größe und Form (weiße gestrichelte Kreise), umgeben von hellen Kollagenbündeln, zur Darstellung. Zusätzlich erkennt man kanalikuläre Gefäße, die sich zwischen den Tumorzellen verzweigen.

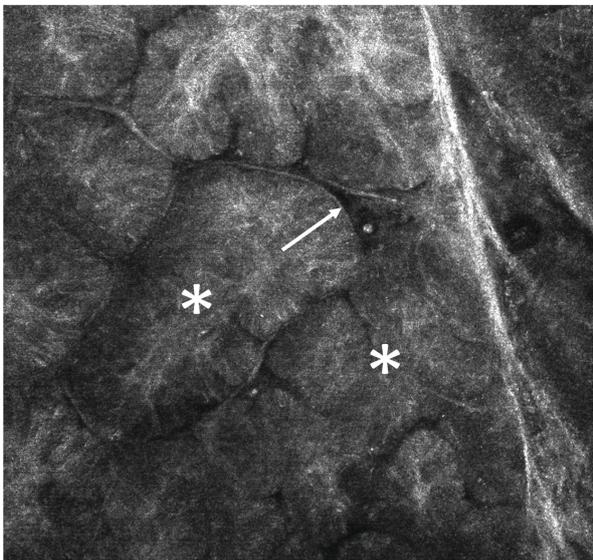


Abbildung 15: Tumorzellinseln beim Basalzellkarzinom

RCM-Aufnahme der Dermis. Zu sehen sind gelappte, hyperreflektive, ovale Tumorzellnester (weiße Sterne), welche durch einen dunklen, peritumoralen Spalt scharf vom umgebenden Stroma abgegrenzt sind (weißer Pfeil).

4.1.1.5 Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma

Auf Höhe der Dermis trennt ein spaltähnlicher, dunkler Raum die neoplastischen Zellaggregate vom umgebenden, fibrösen Stroma (Abbildung 16). Innerhalb des peritumoralen Spaltes befinden sich Amyloid- und Muzinablagerungen (50,117).

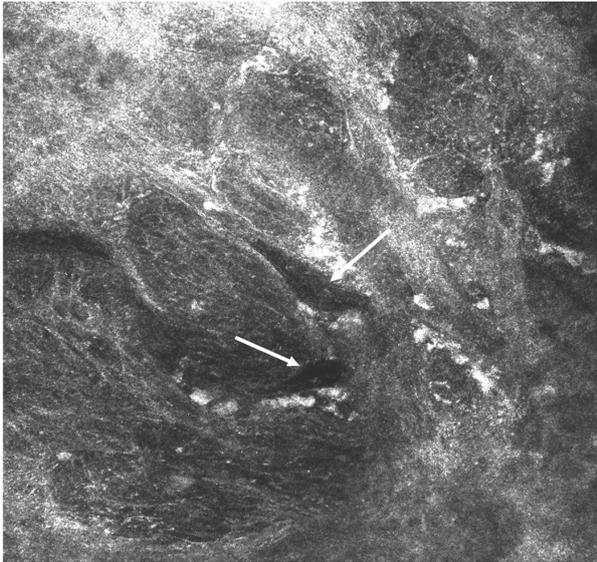


Abbildung 16: Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma beim Basalzellkarzinom RCM-Abbildung der oberflächlichen Dermis. Die Tumorzellen werden von dunklen, spaltähnlichen Räumen begrenzt, welche muzinöse Ödeme ausbilden können (weiße Pfeile).

4.1.1.6 Entzündungsinfiltrat

Beim entzündlichen Infiltrat handelt es sich um kleine, helle, kernlose, scharf abgrenzbare Zellen auf Höhe der Dermis (Abbildung 17). Entzündungszellen kommen häufig, ähnlich wie dendritische Zellen, gruppiert vor.

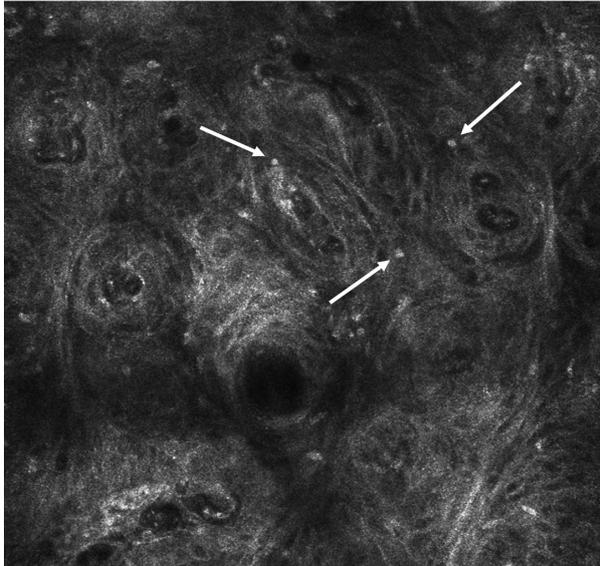


Abbildung 17: Entzündungsinfiltrat beim Basalzellkarzinom

Die RCM-Aufnahme der DEJ/D zeigt ein ausgeprägtes entzündliches Infiltrat in Form zahlreicher runder, heller, kernloser Zellen (weiße Pfeile).

4.1.1.7 Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße

Die Wände der Blutgefäße imponieren nur schwach refraktil, das enthaltene Serum ist schwarz. Daher erscheinen Gefäße als dunkle, röhrenförmige oder kanalikuläre Strukturen innerhalb der Papillenspitzen der Dermis bzw. innerhalb der Tumorzellnester. Die Anzahl und der Durchmesser der Blutgefäße sind im Vergleich zur normalen Haut erhöht. Zudem sind sie stärker gewunden (Abbildungen 18-20). Häufig verflechten sie sich zwischen den Tumorzellnestern (Abbildung 20). Ursache hierfür ist wahrscheinlich eine neoplastische Angiogenese (118). Sie entsprechen den sich in der Dermatoskopie baumartig verzweigenden Teleangiektasien. Während der In-vivo-Untersuchung können kleine, runde Zellen beobachtet werden, welche die Gefäßwände entlang rollen. Dieses Phänomen wird „Leukozytenrolling“ genannt (48).

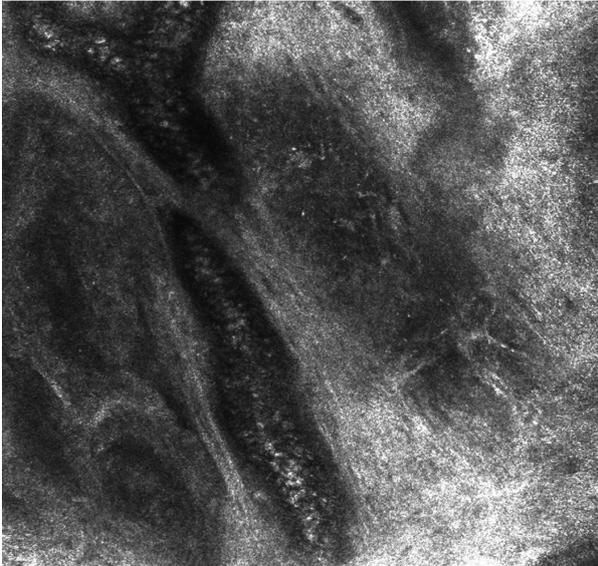


Abbildung 18: Dilatation der Blutgefäße beim Basalzellkarzinom

RCM auf Höhe der Dermis. Eindrücklich zu erkennen ist der erhöhte Durchmesser eines Blutgefäßes.

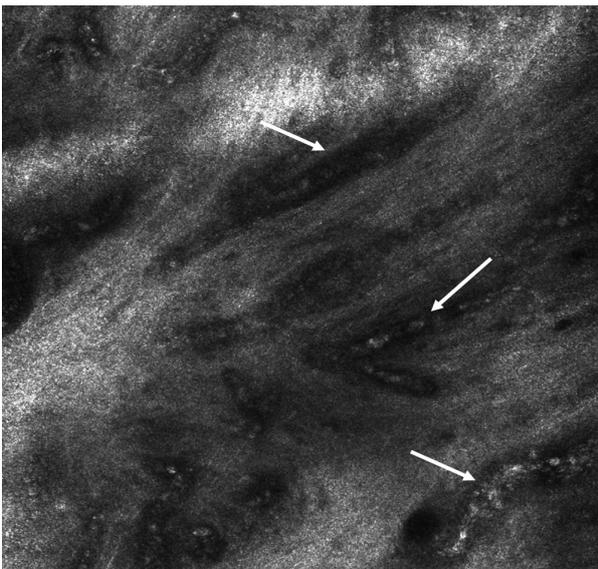


Abbildung 19: Vermehrung der Blutgefäße beim Basalzellkarzinom

Auf der RCM-Aufnahme der Dermis sind die erhöhte Anzahl und vermehrte Windung der Gefäße deutlich zu sehen (weiße Pfeile).

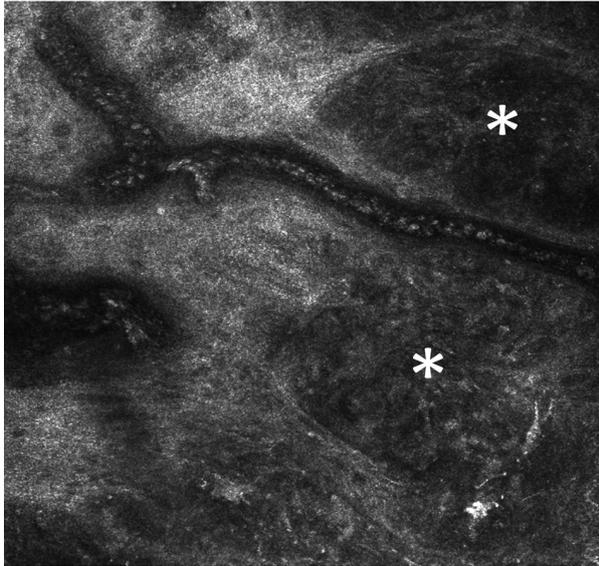


Abbildung 20: Starke Windung der Blutgefäße beim Basalzellkarzinom

RCM-Bild auf Höhe der oberen Dermis. Zwischen den Tumorzellnestern (weiße Sterne) verzweigen und verflechten sich die Blutgefäße stark.

4.1.2 Statistische Auswertung

4.1.2.1 Sensitivität, Spezifität, Chi-Quadrat- χ^2 -Analyse und Konkordanz der Untersucher für die Diagnose

Die erste Kohorte beinhaltete 20 Läsionen mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Basalzellkarzinoms. Für das Auffinden der RCM-Parameter innerhalb der untersuchten Läsionen konnten von beiden Gutachtern jeweils 0-3 Punkte vergeben werden (Parameter fehlend/nicht vorhanden = 0 Punkte, Parameter mild vorhanden = 1 Punkt, Parameter mäßig vorhanden = 2 Punkte, Parameter stark vorhanden = 3 Punkte). Die verteilten Punktwerte beider Untersucher können in den Studienprotokollen eingesehen werden (Tabellen 11-12). Konnten $\geq 50\%$ der RCM-Merkmale aufgefunden werden, wurde die klinische Diagnose mittels konfokaler Mikroskopie bestätigt. Alle histologisch gesicherten BCCs (10/10) wurden von beiden Untersuchern richtig mittels RCM diagnostiziert. Untersucher I erkannte auch bei allen Non-Basalzellkarzinom-Läsionen (10/10), dass kein BCC vorlag. Von Untersucher II wurden dagegen zwei Läsionen (2/10) fälschlicherweise als BCC eingestuft. Bei diesen Läsionen handelte es sich tatsächlich um ein Plattenepithelkarzinom und um einen dermalen NZN. Damit bestätigte die konfokale Laserscanmikroskopie sehr gut die histologische Diagnose mit einer Sensitivität und Spezifität von 100% bei UNT I. Die Chi-Quadrat- χ^2 -Analyse ergab ein höchst signifikantes Ergebnis ($p < 0,0001$). UNT II erreichte ebenfalls eine sehr gute

Sensitivität von 100% bzw. eine gute Spezifität von 80%. Der Chi-Quadrat- χ^2 -Test ergab gleichermaßen ein höchst signifikantes Ergebnis ($p = 0,0003$). Mit Hilfe der Kappa-Analyse konnte für beide Beobachter ein Cohens-Kappa-Koeffizient von $k = 0,800$ berechnet und so eine sehr gute Übereinstimmung nach Altman gezeigt werden.

Table 11: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Basalzellkarzinoms

Läsion	VH	DZ	ST	TZ	SP	E	G	RCM	Histologie
1	2	3	3	3	2	3	3	BCC	BCC
2	3	2	2	2	3	3	2	BCC	BCC
3	2	2	2	1	0	2	2	BCC	BCC
4	3	1	3	3	2	0	1	BCC	BCC
5	3	1	2	3	1	1	2	BCC	BCC
6	0	0	1	0	0	0	0	Non-BCC	Narbe
7	1	1	1	2	0	1	3	BCC	BCC
8	3	3	1	1	2	1	0	BCC	BCC
9	2	1	1	2	1	0	3	BCC	BCC
10	0	2	0	0	0	2	0	Non-BCC	PEC
11	0	3	0	0	0	1	0	Non-BCC	Ekzem
12	2	3	0	0	0	2	0	Non-BCC	AK
13	2	0	1	3	1	0	2	BCC	BCC
14	0	0	0	0	2	0	0	Non-BCC	Zyste
15	0	0	1	0	0	0	1	Non-BCC	TH
16	3	2	1	2	1	1	3	BCC	BCC
17	0	0	0	0	0	0	0	Non-BCC	Dermaler NZN
18	0	2	1	0	0	0	0	Non-BCC	Zyste
19	0	0	0	0	0	0	1	Non-BCC	Angiom
20	0	0	0	0	0	3	0	Non-BCC	Dermaler NZN

Tabelle 12: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Basalzellkarzinoms

Läsion	VH	DZ	ST	TZ	SP	E	G	RCM	Histologie
1	3	2	2	3	2	2	3	BCC	BCC
2	2	2	2	3	2	2	3	BCC	BCC
3	2	2	2	1	1	0	2	BCC	BCC
4	3	0	3	2	2	0	1	BCC	BCC
5	2	0	2	1	2	1	2	BCC	BCC
6	0	0	0	0	0	0	0	Non-BCC	Narbe
7	1	0	1	2	0	0	2	BCC	BCC
8	2	2	1	0	2	1	1	BCC	BCC
9	3	2	2	3	1	0	3	BCC	BCC
10	0	1	1	1	1	0	0	BCC	PEC
11	0	3	0	0	0	2	0	Non-BCC	Ekzem
12	1	2	0	0	0	2	0	Non-BCC	AK
13	2	0	0	2	1	0	3	BCC	BCC
14	0	0	0	0	2	0	2	Non-BCC	Zyste
15	0	0	0	2	0	0	2	Non-BCC	TH
16	3	0	1	3	2	2	3	BCC	BCC
17	1	1	0	1	3	1	3	BCC	Dermaler NZN
18	0	1	1	0	0	0	0	Non-BCC	Zyste
19	0	0	0	0	0	0	1	Non-BCC	Angiom
20	0	0	0	2	2	0	2	Non-BCC	Dermaler NZN

4.1.2.2 Sensitivität und Spezifität der RCM-Parameter

Mit Hilfe einer Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse kann man die Wertigkeit der einzelnen RCM-Evaluationskriterien für das jeweilige Erkrankungsbild zeigen. Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse von Untersucher I beschrieben, gefolgt von den Ergebnissen von Untersucher II im 2. Abschnitt.

In den Analysen von UNT I wurden für die Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe eine Sensitivität und Spezifität von 100% erreicht (Tabelle 13). Beim Auffinden dieses Merkmals kann die Diagnose eines Basalzellkarzinoms also mit größter Wahrscheinlichkeit gestellt werden. Ebenfalls höchste Sensitivität zeigte sich in den Untersuchungen von Beobachter I für den Verlust

der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten bei zusätzlich hoher Spezifität von 90%. Höchste Sensitivität ergab die Erhebung auch für das Streaming bei jedoch nur einer mäßigen Spezifität von 70%. Gute Sensitivitäts- und Spezifitätswerte wurden für das RCM-Kriterium Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße mit 90% bzw. 80% berechnet. Als weniger spezifisch, jedoch sehr sensitiv erwiesen sich die dendritischen Zellen. Für dieses Merkmal wurde eine Spezifität von 60% und eine Sensitivität von 90% erreicht. Für das Evaluationskriterium Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma wurde mit 80% die zweitniedrigste Sensitivität gezeigt, bei andererseits guter Spezifität von 90%. Eine untergeordnete Rolle in der konfokalmikroskopischen Diagnostik des BCC spielt hingegen das Entzündungsinfiltrat mit nur mäßigen Werten sowohl für die Spezifität (60%) als auch die Sensitivität (70%). In den Analysen von UNT II erwies sich der Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten ebenfalls als höchst sensitiv bzw. hoch spezifisch, mit Werten von 100% bzw. 80% (Tabelle 14). Das Auffinden dieses Kriteriums stellt damit in diesen Untersuchungen den zuverlässigsten RCM-Parameter für die Diagnose des BCC dar. Für das Merkmal Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße wurde mit 100% höchste Sensitivität, bei nur schlechter Spezifität von 50% erreicht. Das Streaming ergab mit 90% bzw. 80% sowohl hohe Sensitivitäts- als auch Spezifitätswerte. Die RCM-Evaluationskriterien Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe und Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma waren mit jeweils 60% kaum spezifisch, dafür konnte für beide Merkmale eine hohe Sensitivität von 90% gezeigt werden. Ähnlich wie bei Gutachter I konnte Gutachter II für das Entzündungsinfiltrat nur mäßige Werte erreichen, mit einer Sensitivität von 50% und einer Spezifität von 70%. Für die dendritischen Zellen wurden mit jeweils 50% sogar die schlechtesten Sensitivitäts- und Spezifitätswerte berechnet.

Tabelle 13: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher I für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms

RCM-Parameter	Sensitivität	Spezifität
VH	100%	90%
DZ	90%	60%
ST	100%	70%
TZ	100%	100%
SP	80%	90%
E	70%	60%
G	90%	80%

Tabelle 14: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher II für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms

RCM-Parameter	Sensitivität	Spezifität
VH	100%	80%
DZ	50%	50%
ST	90%	80%
TZ	90%	60%
SP	90%	60%
E	50%	70%
G	100%	50%

4.1.2.3 Chi-Quadrat- χ^2 -Test der RCM-Parameter

Mit der Chi-Quadrat- χ^2 -Analyse werden die Verteilungseigenschaften der einzelnen RCM-Merkmale erfasst. UNT I erreichte in seinen Untersuchungen für alle RCM-Evaluationskriterien, mit Ausnahme für das Entzündungsinfiltrat ($p = 0,1775$), Signifikanzniveau, was bedeutet, dass ihre Verteilung in histologisch-positivem BCC und histologisch-negativem BCC ungleich ist (Tabelle 15). Als höchst signifikant erwiesen sich bei Beobachter I der Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten ($p < 0,0001$), die Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe ($p < 0,0001$) sowie das Streaming ($p = 0,0010$). Für die Parameter Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma ($p = 0,0017$) sowie Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße ($p = 0,0017$) konnten durch die Anwendung des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- χ^2 sehr signifikante Ergebnisse gezeigt werden.

Auch in den Analysen von UNT II wurde für den Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten der höchste p -Wert mit 0,0003 erreicht, gefolgt vom Streaming und der Vermehrung, starken Windung und Dilatation der Blutgefäße mit sehr signifikanten p -Werten von 0,0017 bzw. 0,0098. Mit Ausnahmen für das Entzündungsinfiltrat ($p = 0,3613$) und die dendritischen Zellen ($p = 1$) konnte Gutachter II für die restlichen RCM-Evaluationskriterien mindestens Signifikanzniveau zeigen.

Tabelle 15: Ergebnisse des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- X^2 beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms

RCM-Parameter	Untersucher I	Untersucher II
VH	$p < 0,0001$	$p = 0,0003$
DZ	$p = 0,0191$	$p = 1$
ST	$p = 0,0010$	$p = 0,0017$
TZ	$p < 0,0001$	$p = 0,0191$
SP	$p = 0,0017$	$p = 0,0191$
E	$p = 0,1775$	$p = 0,3613$
G	$p = 0,0017$	$p = 0,0098$

4.1.2.4 Häufigkeiten der RCM-Parameter

Analysiert wurden auch die Häufigkeiten, mit denen die RCM-Merkmale in der jeweiligen neoplastischen bzw. virusassoziierten Hauterkrankung vertreten waren. Zuerst werden wieder die Beobachtungen von Untersucher I dargestellt. Bei den histologisch gesicherten BCCs konnte Gutachter I in allen evaluierten Läsionen stets einen Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten sowie Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe feststellen (Tabelle 16). In 90% der Basalzellkarzinome waren eine Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße sowie dendritische Zellen auffindbar, gefolgt vom Streaming und der Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma mit jeweils 80%. In sieben von zehn Läsionen wurde ein Entzündungsinfiltrat beobachtet.

Auch UNT II konnte übereinstimmend in allen BCCs einen Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten feststellen. Zudem fand er in zehn von zehn Läsionen eine Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße, gefolgt von den Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe, der Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma sowie

dem Streaming mit einer Häufigkeit von jeweils 90%. In nur jedem zweiten Basalzellkarzinom wurden dagegen von Beobachter II dendritische und entzündliche Zellen beschrieben.

Tabelle 16: Häufigkeitsanalyse beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter des Basalzellkarzinoms

RCM-Parameter	Untersucher I	Untersucher II
VH	100%	100%
DZ	90%	50%
ST	80%	90%
TZ	100%	90%
SP	80%	90%
E	70%	50%
G	90%	100%

4.1.2.5 Konkordanz der Untersucher für die RCM-Parameter

Durch eine Kappa-Analyse wird ermittelt, ob beide Gutachter zu übereinstimmenden Ergebnissen gekommen sind und ob deren Beobachtungen reproduzierbar sind. Insgesamt konnten in der Kohorte mit den klinischen Basalzellkarzinomen für alle RCM-Evaluationskriterien, mit Ausnahme für das Entzündungsinfiltrat, gute bis mittlere Konkordanzen zwischen den Beobachtern gezeigt werden (Tabelle 17). Eine gute Übereinstimmung nach Altman lag für die Parameter Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten und Streaming vor. Bei den RCM-Kriterien Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße, dendritische Zellen, Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma sowie Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe wurde dagegen eine mittlere Interobserver-Reproduzierbarkeit errechnet. Für das Entzündungsinfiltrat konnten die Untersucher lediglich eine leichte Übereinstimmung erreichen.

Tabelle 17: Konkordanzwerte beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Basalzellkarzinom-Kohorte

RCM-Parameter	Cohens-Kappa-Koeffizient	Stärke der Übereinstimmung
VH	$k = 0,739$	Gut nach Altman
DZ	$k = 0,528$	Mittel nach Altman
ST	$k = 0,700$	Gut nach Altman
TZ	$k = 0,466$	Mittel nach Altman
SP	$k = 0,494$	Mittel nach Altman
E	$k = 0,346$	Leicht nach Altman
G	$k = 0,564$	Mittel nach Altman

4.2 Morbus Bowen

Wie bereits erwähnt, ähneln die RCM-Evaluationskriterien des Morbus Bowen denen der aktinischen Keratose (Abschnitt 4.3). Im Folgenden werden daher nur die Merkmale des Morbus Bowen gezeigt und erläutert, die sich von denen der AK unterscheiden, da diese im Anschluss besprochen werden. Die in der Literatur beschriebenen mehrkernigen Keratinozyten konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht aufgefunden werden.

4.2.1 Morphologische RCM-Analyse

4.2.1.1 Starker Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten

Im Vergleich zur aktinischen Keratose ist der Verlust der normalen Honigwabenstruktur beim MB ausgeprägter (Abbildung 21). Die Keratinozyten und deren Zellkerne variieren stärker in Größe und Form, dadurch erscheinen sie deutlich atypischer und pleomorpher. Außerdem können die zellulären Veränderungen die gesamte Epidermis betreffen.

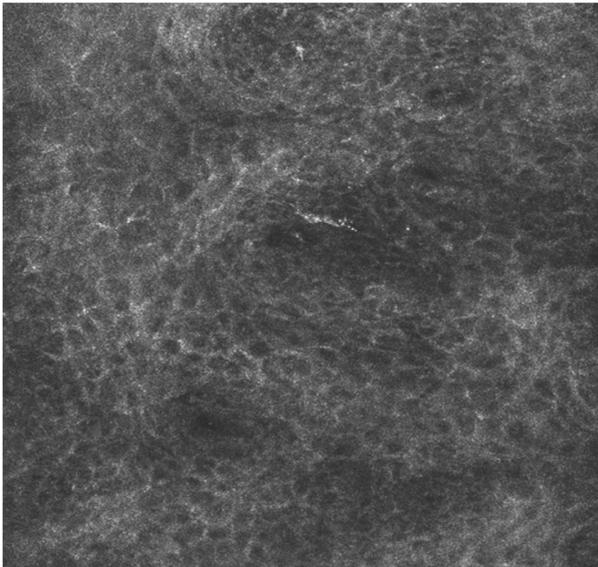


Abbildung 21: *Starker Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten beim Morbus Bowen*

RCM des SG/SS zeigt einen starken Verlust der normalen Honigwabenstruktur mit ausgeprägter architektonischer Unordnung.

4.2.1.2 Dyskeratotische Zellen

Innerhalb des atypischen Honigwabenmusters können zwei Arten von dyskeratotischen Zellen beobachtet werden. Der erste Typ entspricht einer großen Zelle mit hellem Zentrum und dunklem, peripheren Halo. Der zweite Typ entspricht ebenfalls einer großen Zelle, jedoch mit dunklem Zentrum und hellem Rand, welcher nochmals von einem dunklen Halo umgeben wird (Abbildung 22). In dieser Untersuchung konnte ausschließlich der zweite Zelltyp aufgefunden werden. In der Histologie entsprechen diese Zellen den dyskeratotischen Keratinozyten mit pyknotischem Zellkern.

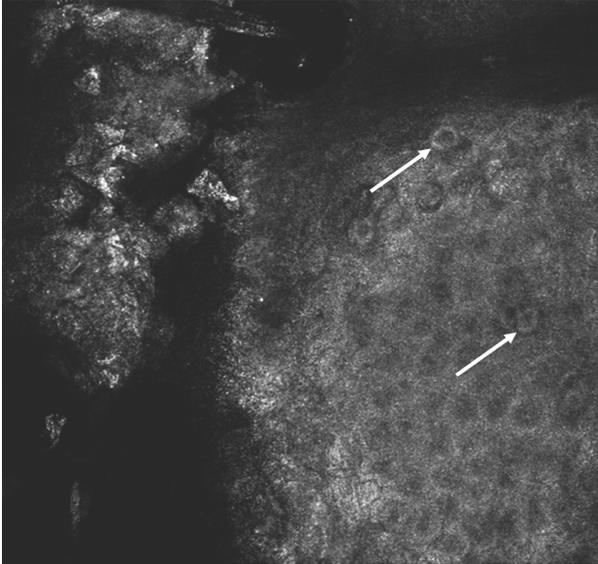


Abbildung 22: *Dyskeratotische Zellen beim Morbus Bowen*

Die RCM-Aufnahme zeigt runde Zellen mit einem dunklen Zentrum, einem umgebenden hellen Rand sowie einem dunklen Halo (weiße Pfeile). Diese entsprechen möglicherweise dyskeratotischen Zellen.

4.2.1.3 Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion

Auf Höhe der oberflächlichen papillären Dermis kommen die Blutgefäße als runde bis ovale, dilatierte, dunkle Räume zur Darstellung, die mit mäßig refraktilen, kleinen Zellen gefüllt sind. Ihre Dichte ist im Vergleich zur normalen Haut erhöht. Auf Höhe der unteren papillären Dermis stellen sie sich typischerweise als S-förmige Strukturen dar (Abbildung 23).

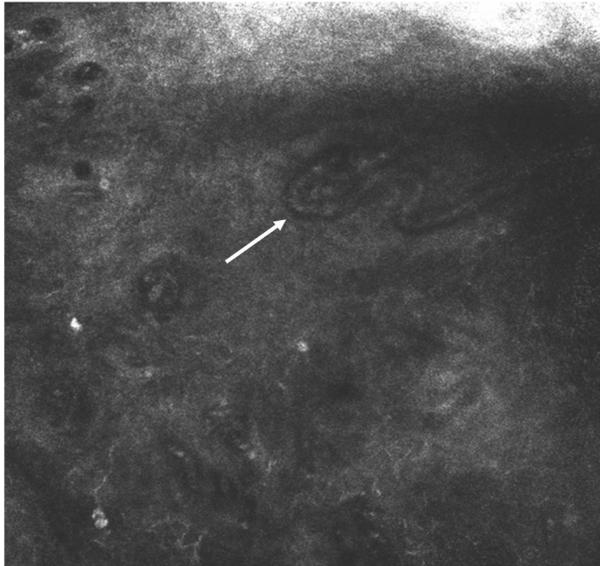


Abbildung 23: Erhöhte Vaskularisierung beim Morbus Bowen

RCM-Aufnahme auf Höhe der unteren papillären Dermis. Im oberen Bildbereich ist ein S-förmiges Blutgefäß zu erkennen (weißer Pfeil).

4.2.2 Studienprotokolle

Die zweite Kohorte beinhaltete insgesamt sechs Hautveränderungen mit der klinischen Diagnose eines Morbus Bowen. Die Studienprotokolle beider Gutachter sind in den Tabellen 18 und 19 einsehbar. Beide Beobachter ordneten in Unkenntnis der histologischen Diagnose alle Läsionen richtig als MB ein (4/4) bzw. erkannten bei zwei Läsionen, dass kein MB vorlag (2/2). Da bei diesem Erkrankungsbild jedoch nur eine sehr kleine Anzahl an Hautveränderungen evaluiert werden konnte, entfällt an dieser Stelle eine sinnvolle statistische Analyse.

Tabelle 18: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Morbus Bowen

Läsion	HK	PK	VH	DZ	E	DK	MK	G	SE	RCM	Histologie
1	1	2	3	2	2	1	0	3	0	MB	MB
2	1	0	0	2	3	0	0	2	0	Non-MB	Ekzem
3	2	2	3	1	0	1	0	1	0	MB	MB
4	2	0	0	1	1	0	0	1	0	Non-MB	Tinea
5	3	2	2	2	2	0	0	1	0	MB	MB
6	2	3	2	0	0	0	0	3	2	MB	MB

Tabelle 19: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose eines Morbus Bowen

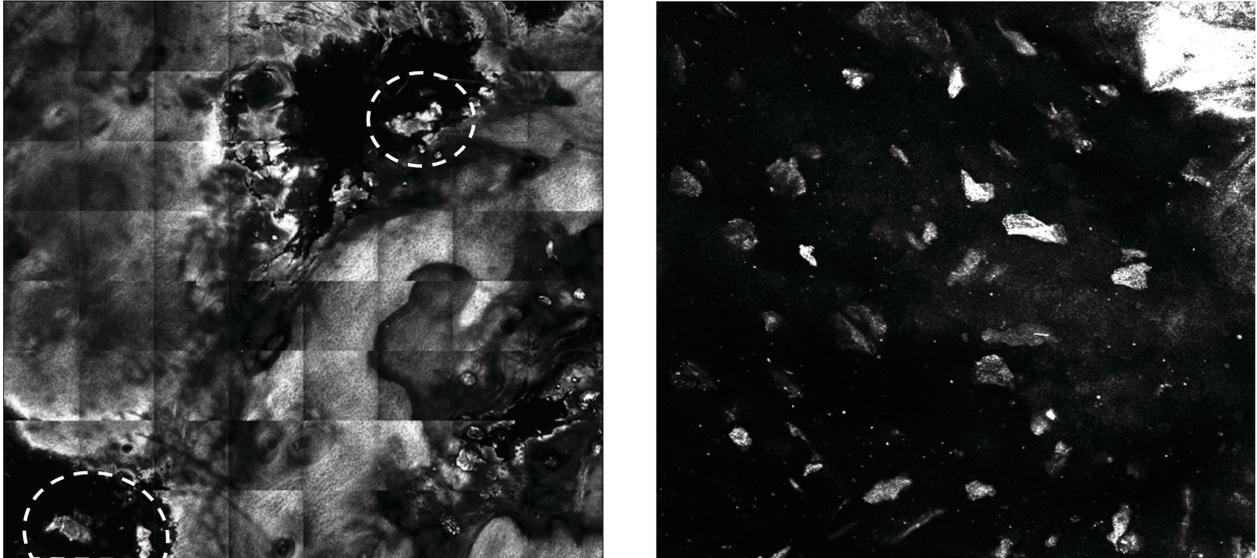
Läsion	HK	PK	VH	DZ	E	DK	MK	G	SE	RCM	Histologie
1	2	2	3	2	1	0	0	3	0	MB	MB
2	1	0	0	2	3	0	0	3	0	Non-MB	Ekzem
3	3	1	3	1	0	1	0	1	0	MB	MB
4	2	0	0	2	2	0	0	1	0	Non-MB	Tinea
5	3	2	2	1	1	0	0	1	0	MB	MB
6	2	2	3	0	0	0	0	2	2	MB	MB

4.3 Aktinische Keratose

4.3.1 Morphologische RCM-Analyse

4.3.1.1 Einzelne vom Zellverband losgelöste Kerneozyten

Durch eine Ablösung der Kerneozyten kommt es zu einem gestörten Zellverband auf Höhe des SC. Die vereinzelt auftretenden Zellen erscheinen hell und polygonal mit hoher Reflexion (Abbildungen 24 A und B). Das histologische Korrelat hierzu entspricht der Hyperkeratose.



Abbildungen 24 A und B: Einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten bei der aktinischen Keratose

Abbildung 24 A (links) zeigt eine RCM-Übersichtsaufnahme (4 x 4 mm), auf der eine Unterbrechung des Zellverbandes mit einzelnen, losgelösten Korneozyten (weiße gestrichelte Kreise) erkennbar ist. Abbildung 24 B (rechts) zeigt ein RCM-Bild auf Höhe des SC. Die abgelösten Korneozyten zeigen ein hohes Reflexionsmuster und erscheinen daher hell.

4.3.1.2 Parakeratose

Die Parakeratose ist gekennzeichnet durch eine Verhornungsstörung, bei der Zellkernreste bzw. ganze Zellkerne innerhalb der Korneozyten des SC verbleiben. Die kernhaltigen Zellen haben jeweils ein dunkles Zentrum und sind von den stärker reflektierenden Zellen des SC gut abgrenzbar (Abbildung 25).

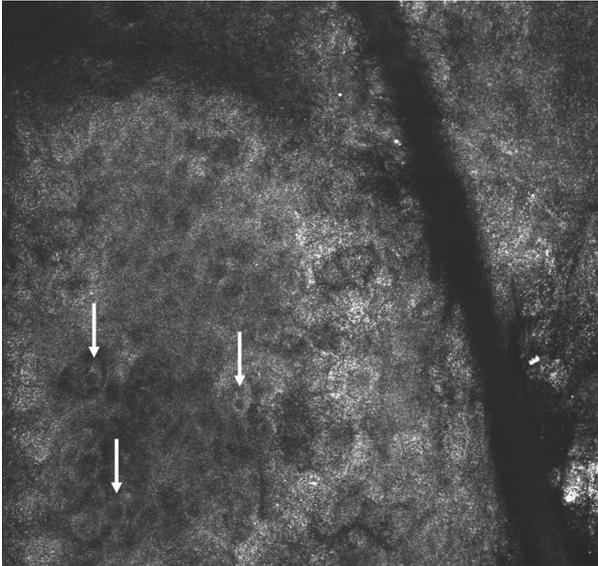


Abbildung 25: Parakeratose bei der aktinischen Keratose

Die RCM-Aufnahme zeigt multiple Parakeratosen in Form polygonaler, kernhaltiger Zellen mit dunklen Zentren und scharfer Abgrenzung zum SC (weiße Pfeile).

4.3.1.3 Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten

Im SG/SS variieren die Keratinozyten und deren Zellkerne stark in Größe und Form. Dadurch erscheinen sie atypisch und pleomorph. Aus den unregelmäßigen Zellgrenzen resultiert eine architektonische Unordnung mit einem Verlust der normalen Honigwabenstruktur (Abbildung 26).

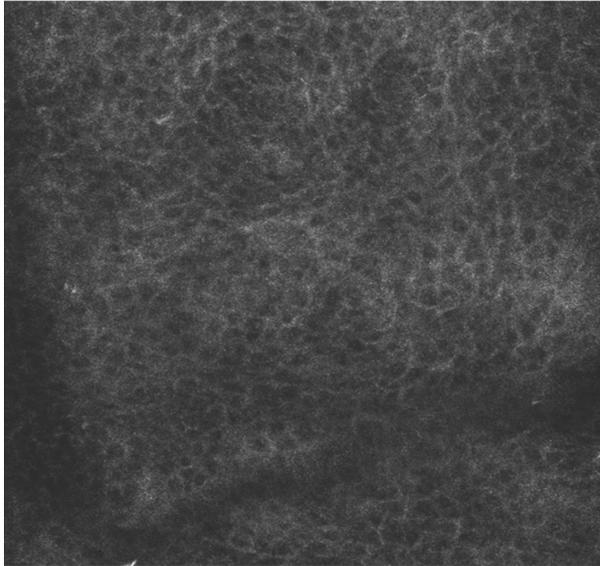
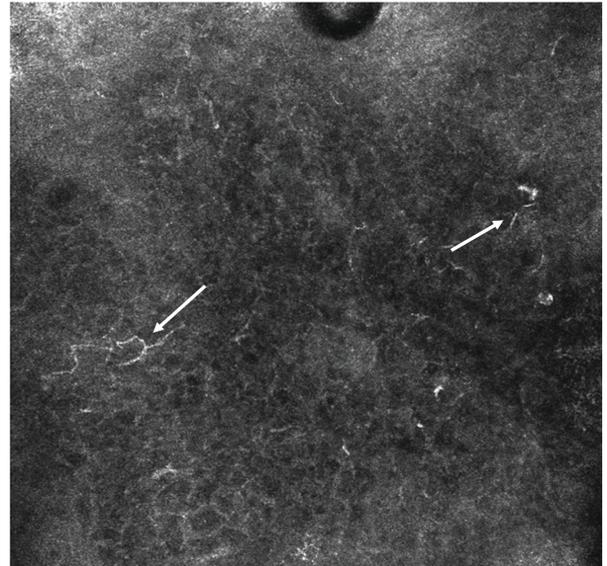
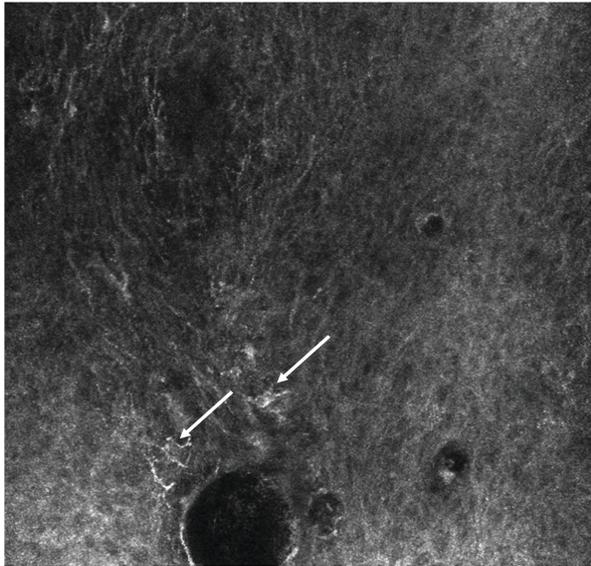


Abbildung 26: Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten bei der aktinischen Keratose

RCM des SG/SS zeigt einen Verlust der normalen Honigwabenstruktur mit architektonischer Unordnung durch breite und verschwommene Zellgrenzen sowie Atypien und Pleomorphismen der Keratinozyten.

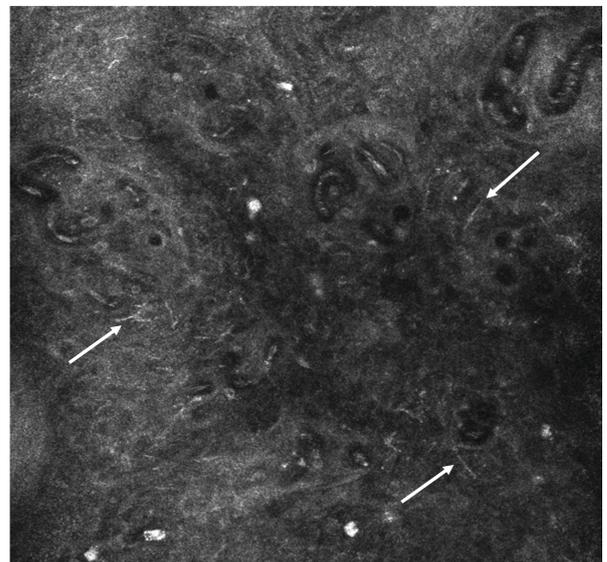
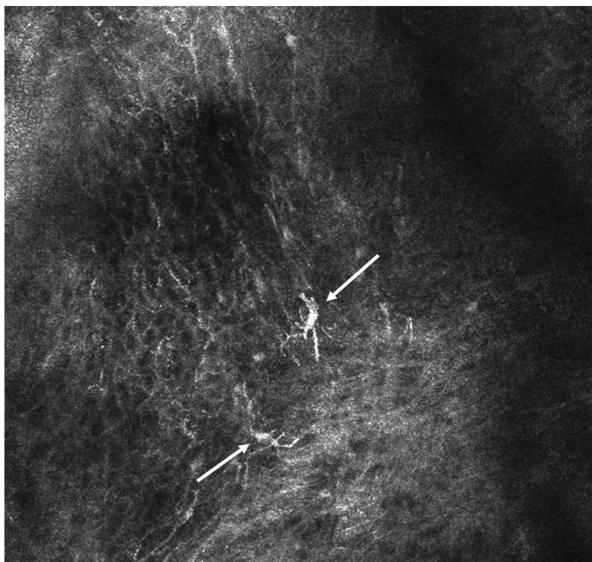
4.3.1.4 Dendritische Zellen

Auf Höhe des SG/SS sowie im Bereich der DEJ/D können dendritische Zellkörper sowie deren zarte, helle Zellfortsätze gesehen werden (Abbildungen 27 A und B - 28 A und B). Die Morphologie dieser Zellreihe wurde bereits unter 4.1.1.2 erläutert.



Abbildungen 27 A und B: Dendritische Zellen bei der aktinischen Keratose

Abbildung 27 A (links) zeigt ein RCM-Bild auf Ebene des SG/SS mit stark reflektierenden dendritischen Zellen (weiße Pfeile). Auf Abbildung 27 B (rechts) kommen zahlreiche verzweigte dendritische Fortsätze (weiße Pfeile) zur Darstellung. Ein Verlust der normalen Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten fällt zusätzlich auf beiden Bildern auf.



Abbildungen 28 A und B: Dendritische Zellen bei der aktinischen Keratose

Auf Abbildung 28 A (links) sind zwei prominente, sternförmige dendritische Zellkörper (weiße Pfeile) dargestellt. Abbildung 28 B (rechts) zeigt multiple helle dendritische Zellfortsätze (weiße Pfeile). Beide RCM-Aufnahmen sind in der DEJ/D entstanden.

4.3.1.5 Entzündungsinfiltrat

Beim entzündlichen Infiltrat handelt es sich um kleine, hoch refraktile Zellen im SG/SS und im Bereich der DEJ/D (Abbildungen 29-30). Gelegentlich können zahlreiche, aus den Gefäßen auswandernde Entzündungszellen beobachtet werden, besonders eindrücklich auf Höhe der Dermis. Das Entzündungsinfiltrat wurde bereits unter 4.1.1.6 beschrieben.

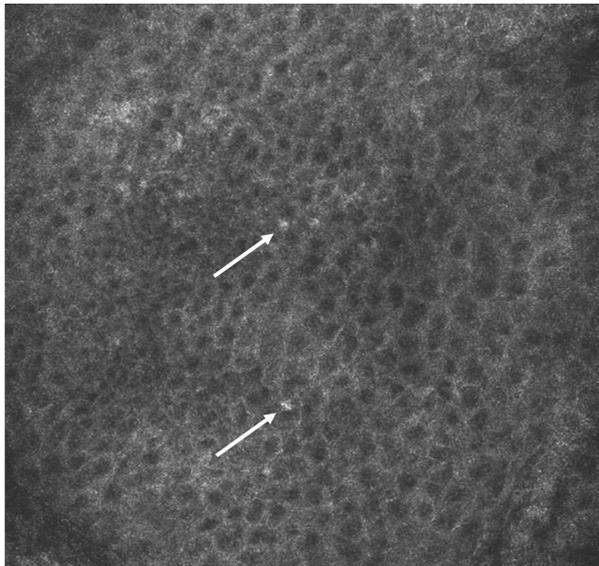


Abbildung 29: Entzündungsinfiltrat bei der aktinischen Keratose

Das RCM-Bild zeigt ein sehr diskretes, entzündliches Infiltrat im SG/SS in Form vereinzelter, kleiner, heller, runder Zellen (weiße Pfeile).

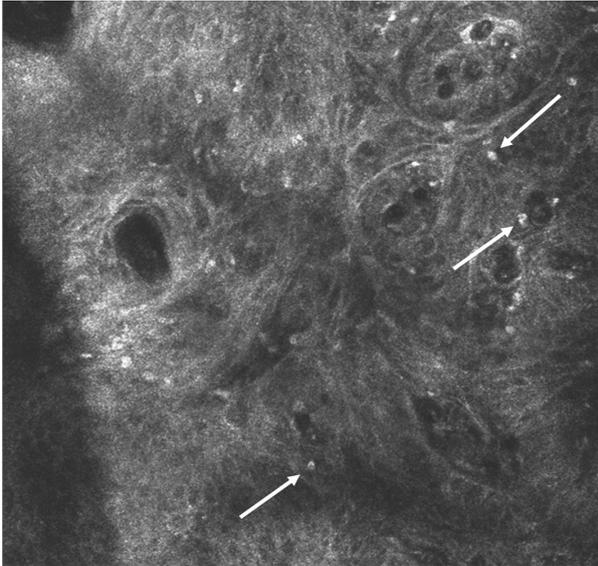
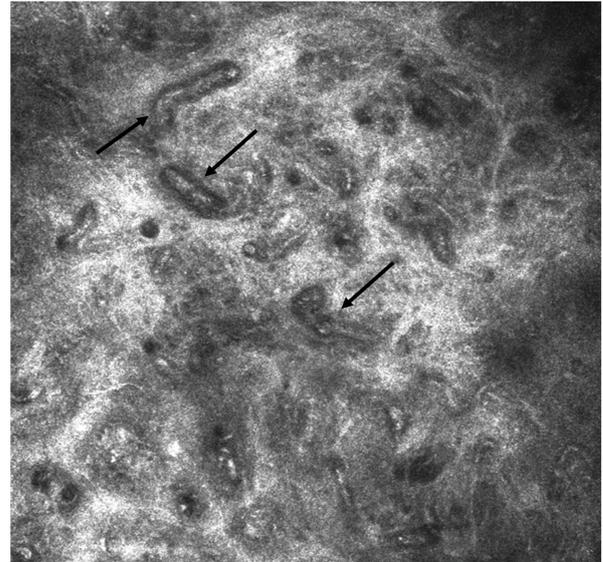
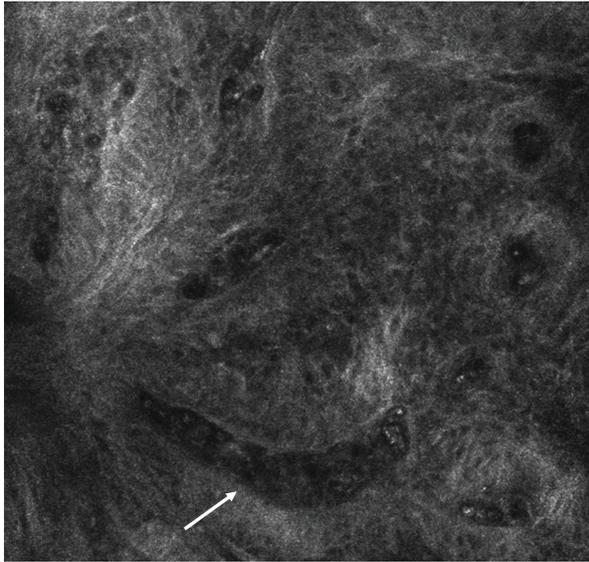


Abbildung 30: Entzündungsinfiltrat bei der aktinischen Keratose

RCM-Aufnahme im Bereich der DEJ/D demonstriert ein ausgeprägtes perivaskuläres Entzündungsinfiltrat. Zu erkennen sind zahlreiche hoch refraktile, runde Zellen (weiße Pfeile).

4.3.1.6 Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion

Im Vergleich zur gesunden Haut ist das Lumen der dermalen Gefäße erweitert, zudem ist deren Anzahl erhöht (Abbildungen 31 A und B). Während der Echtzeit-Bildgebung können die Blutgefäße leicht durch die sich im Gefäßlumen bewegenden, mäßig refraktilen, runden Blutzellen identifiziert werden. Diese dynamischen Vorgänge lassen sich mit Hilfe des Video-Capture-Moduls zusätzlich in Form kurzer Videosequenzen dokumentieren. Typischerweise fließen Erythrozyten mit hoher Geschwindigkeit im zentralen Blutfluss, während Leukozyten langsam an den Gefäßwänden entlangrollen. Auch das Auswandern von Leukozyten aus dem Gefäßsystem in entzündetes Gewebe kann beobachtet werden.



Abbildungen 31 A und B: Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation bei der aktinischen Keratose

RCM-Aufnahmen im Bereich der Dermis. Auf Abbildung 31 A (links) sind mehrere dilatierte Blutgefäße zu erkennen, besonders eindrucksvoll im unteren Bildbereich (weißer Pfeil). Auf Abbildung 31 B (rechts) wird durch mehrere Längs- und Queranschnitte durch die Gefäße deren erhöhte Anzahl deutlich (schwarze Pfeile). Die Blutzellen innerhalb der Gefäßlumina kommen mäßig refraktil zur Darstellung.

4.3.1.7 Solare Elastose

Auf Höhe der oberen retikulären Dermis lässt sich eine Degeneration von Kollagenfasern feststellen. Bei mäßiger solarer Elastose findet man ein unorganisiertes, hyporefraktiler Kollagen, dessen Einzelfasern nicht erkennbar sind (Abbildung 32). Bei stärkerer solarer Schädigung treten hoch refraktile, gekräuselte Fasern auf (Abbildung 33).



Abbildung 32: Mäßige solare Elastose bei der aktinischen Keratose
RCM auf Höhe der DEJ/D. Demonstriert wird ein unorganisiertes, hyporefraktiler Kollagen, dessen einzelne Fasern nicht sichtbar sind (weiße Pfeile).

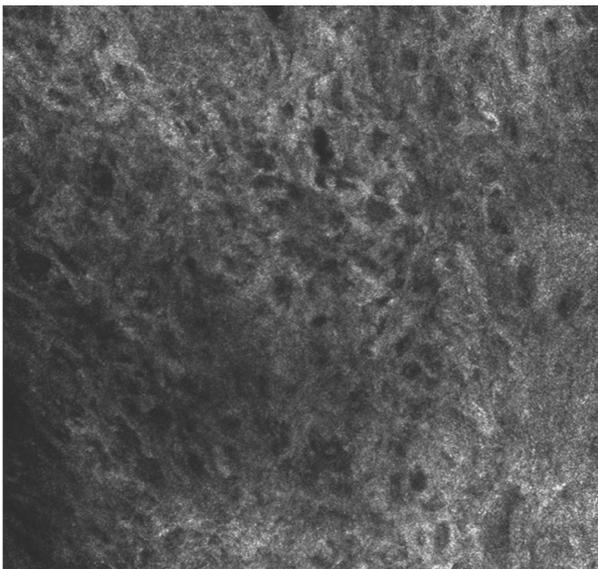


Abbildung 33: Starke solare Elastose bei der aktinischen Keratose
RCM-Aufnahme auf Höhe der oberen Dermis zeigt hoch refraktile, gekräuselte Fasern, welche bei stärkerer UV-Schädigung auftreten.

4.3.2 Statistische Auswertung

4.3.2.1 Sensitivität, Spezifität, Chi-Quadrat- X^2 -Analyse und Konkordanz der Untersucher für die Diagnose

Die dritte Kohorte beinhaltete 23 Läsionen mit der klinischen Diagnose einer aktinischen Keratose. Die Studienprotokolle beider Untersucher können wieder in den Tabellen 20-21 eingesehen werden. 17 von 18 histologisch gesicherten AKs wurden von beiden Untersuchern richtig mittels RCM diagnostiziert. UNT I wertete bei vier von fünf non-AK-Läsionen richtig, dass keine aktinische Keratose vorlag. Eine Exkoration ordnete er dabei fälschlicherweise als AK ein. UNT II erkannte bei drei von fünf Non-AK-Läsionen, dass keine aktinische Keratose vorlag. Bei den beiden irrtümlich von ihm als AK eingeordneten Hautveränderungen handelte es sich um einen Lichen planus (LP) sowie um eine Verruca vulgaris. Damit konnte für die konfokale Lasermikroskopie, mit der Histologie als Goldstandard, eine sehr gute Sensitivität von 94,4% bei beiden Untersuchern gezeigt werden. UNT I erreichte auch eine gute Spezifität von 80%, während die Spezifität bei UNT II mit 60% nur mäßig ausfiel. Im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- X^2 erwies sich die Diagnose von Beobachter I als höchst signifikant ($p = 0,0004$), während von Beobachter II ein sehr signifikantes Ergebnis ($p = 0,0045$) ermittelt werden konnte. In der Kappa-Analyse wurde ein Cohens-Kappa-Koeffizient von $k = 0,587$ berechnet, der einer mittleren Übereinstimmung nach Altman zwischen den Untersuchern entspricht.

Tabelle 20: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer aktinischen Keratose

Läsion	HK	PK	VH	DZ	E	G	SE	RCM	Histologie
1	2	2	2	1	2	2	1	AK	AK
2	2	1	2	0	0	3	1	AK	AK
3	1	2	2	1	2	0	2	AK	AK
4	1	0	1	2	2	3	1	AK	AK
5	2	3	1	1	1	2	2	AK	AK
6	1	1	0	0	0	0	0	Non-AK	AK
7	1	2	2	1	1	3	2	AK	AK
8	2	1	2	3	3	2	1	AK	AK
9	2	2	3	3	1	0	2	AK	AK
10	1	1	2	0	1	2	0	AK	AK
11	2	0	2	3	1	2	2	AK	AK
12	2	1	2	1	1	0	1	AK	AK
13	2	0	3	2	2	3	0	AK	AK
14	0	2	0	0	0	2	3	Non-AK	SE
15	3	0	1	3	0	1	1	AK	AK
16	0	1	0	0	0	2	0	Non-AK	VV
17	0	0	0	0	1	1	0	Non-AK	LP
18	1	0	0	0	0	3	0	Non-AK	VV
19	1	1	2	2	2	2	2	AK	AK
20	1	3	3	3	3	3	2	AK	AK
21	1	1	2	0	1	2	1	AK	AK
22	2	2	2	3	0	3	3	AK	AK
23	1	1	3	0	1	0	0	AK	Exkoration

Tabelle 21: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer aktinischen Keratose

Läsion	HK	PK	VH	DZ	E	G	SE	RCM	Histologie
1	1	3	2	2	1	1	1	AK	AK
2	1	1	1	0	0	2	0	AK	AK
3	1	1	2	1	1	0	1	AK	AK
4	1	0	3	1	1	3	1	AK	AK
5	0	2	2	1	1	2	1	AK	AK
6	1	1	0	0	0	0	0	Non-AK	AK
7	0	2	3	2	1	2	1	AK	AK
8	3	2	3	3	2	3	1	AK	AK
9	3	1	3	3	1	1	0	AK	AK
10	1	1	3	0	1	1	0	AK	AK
11	2	0	3	3	1	3	3	AK	AK
12	2	2	3	2	1	0	0	AK	AK
13	1	0	2	2	1	1	0	AK	AK
14	0	0	0	0	0	1	1	Non-AK	SE
15	1	0	3	3	1	1	2	AK	AK
16	0	0	2	0	0	2	0	Non-AK	VV
17	0	0	3	1	0	1	1	AK	LP
18	2	0	0	1	2	3	0	AK	VV
19	0	1	3	2	2	2	3	AK	AK
20	1	1	1	3	1	2	1	AK	AK
21	1	2	3	0	1	2	1	AK	AK
22	1	1	2	2	1	3	3	AK	AK
23	1	1	0	0	0	0	0	Non-AK	Exkoration

4.3.2.2 Sensitivität und Spezifität der RCM-Parameter

In den Analysen von Gutachter I zeigte sich, dass bei der aktinischen Keratose die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten mit 100% die höchste Sensitivität aufweisen, gefolgt vom Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten mit 94,4% (Tabelle 22). Für diese Merkmale konnte mit 60% eine mäßige bzw. mit 80% sogar eine gute Spezifität errechnet werden. Als höchst spezifisch erwiesen sich die dendritischen Zellen, bei einer ebenfalls hohen Sensitivität von 77,8%. Für die solare

Elastose konnte Beobachter I mit 83,3% und 80% sowohl gute Sensitivitäts- als auch Spezifitätswerte erzielen. Das Entzündungsinfiltrat ergab ebenfalls ein gutes Ergebnis für die Sensitivität (77,8%), während die Spezifität (60%) nur mäßig ausfiel. Eine untergeordnete Rolle für die konfokalmikroskopische Diagnose der AK spielen hingegen die Evaluationskriterien Parakeratose und erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilata-tion. Für beide Merkmale konnte UNT I mit 40% bzw. 20% nur schlechte Spezifität erzielen, dennoch fiel die Sensitivität mit 77,8% hoch aus.

Gutachter II konnte in seinen Untersuchungen, ähnlich wie Gutachter I, hohe Sensitivitätswerte für den Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten (94,4%) und die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten (83,3%) zeigen (Tabelle 23). Für diese Merkmale wurde auf der anderen Seite aber nur eine mäßige Spezifität (60%) errechnet. Als hoch spezifisch erwiesen sich bei UNT II mit jeweils 80% das Entzündungsinfiltrat und die Parakeratose. Für diese RCM-Parameter konnten zudem hohe Sensitivitätswerte von 88,9% und 77,8% gezeigt werden. Auch für die dendritischen Zellen wurde mit 77,8% eine hohe Sensitivität berechnet, während der Spezifitätswert mit 60% nur mäßig ausfiel. Für die solare Elastose erzielte Beobachter II nur mäßige Werte für die Sensitivität (66,7%) und Spezifität (60%). Der schlechteste Spezifitätswert von 20% wurde für die erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilata-tion errechnet, bei trotzdem hoher Sensitivität (83,3%).

Tabelle 22: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher I für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose

RCM-Parameter	Sensitivität	Spezifität
HK	100%	60%
PK	77,8%	40%
VH	94,4%	80%
DZ	77,8%	100%
E	77,8%	60%
G	77,8%	20%
SE	83,3%	80%

Tabelle 23: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher II für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose

RCM-Parameter	Sensitivität	Spezifität
HK	83,3%	60%
PK	77,8%	80%
VH	94,4%	60%
DZ	77,8%	60%
E	88,9%	80%
G	83,3%	20%
SE	66,7%	60%

4.3.2.3 Chi-Quadrat- χ^2 -Test der RCM-Parameter

Untersucher I konnte mit p -Werten von 0,0004 für den Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten und die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- χ^2 ein jeweils höchst signifikantes Ergebnis erzielen (Tabelle 24). Die dendritischen Zellen und die solare Elastose erwiesen sich mit p -Werten von 0,0016 bzw. 0,0065 als sehr signifikant. Für die restlichen RCM-Evaluationskriterien konnte in den Analysen von Gutachter I kein Signifikanzniveau erreicht werden.

Beobachter II zeigte für das Entzündungsinfiltrat und den Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten p -Werte von 0,0019 und 0,0045, die als sehr signifikant gelten. In seinen Untersuchungen wurden für die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten ($p = 0,05$) und die Parakeratose ($p = 0,0164$) mindestens Signifikanzniveau erzielt. Für die RCM-Merkmale erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation ($p = 0,8619$), solare Elastose ($p = 0,2798$) und dendritische Zellen ($p = 0,1044$) konnte in den Beobachtungen von UNT II die Nullhypothese nicht verworfen werden, d. h., ihre Verteilung in histologisch positiven und histologisch negativen AKs ist gleich.

Tabelle 24: Ergebnisse des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- X^2 beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose

RCM-Parameter	Untersucher I	Untersucher II
HK	$p = 0,0004$	$p = 0,05$
PK	$p = 0,4232$	$p = 0,0164$
VH	$p = 0,0004$	$p = 0,0045$
DZ	$p = 0,0016$	$p = 0,1044$
E	$p = 0,1044$	$p = 0,0019$
G	$p = 0,9151$	$p = 0,8619$
SE	$p = 0,0065$	$p = 0,2798$

4.3.2.4 Häufigkeiten der RCM-Parameter

In allen evaluierten Läsionen der aktinischen Keratose konnte Gutachter I die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten beobachten, gefolgt vom Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten (94,4%) und der solaren Elastose (83,3%) (Tabelle 25). Die übrigen RCM-Kriterien, d. h. Parakeratose, dendritische Zellen, Entzündungsinfiltrat und erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion wurden in 77,8% der AKs aufgefunden.

UNT II beschrieb, in Übereinstimmung mit UNT I, in 94,4% der aktinischen Keratosen einen Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten. Das zweithäufigste Merkmal in seinen Beobachtungen war das Entzündungsinfiltrat (88,9%), gefolgt von den einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten und der erhöhten Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion mit jeweils 83,3%. In 77,8% der untersuchten Läsionen konnte Beobachter II eine Parakeratose sowie dendritische Zellen beschreiben. Am seltensten wurde von ihm die solare Elastose (66,7%) aufgefunden.

Tabelle 25: Häufigkeitsanalyse beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose

RCM-Parameter	Untersucher I	Untersucher II
HK	100%	83,3%
PK	77,8%	77,8%
VH	94,4%	94,4%
DZ	77,8%	77,8%
E	77,8%	88,9%
G	77,8%	83,3%
SE	83,3%	66,7%

4.3.2.5 Konkordanz der Untersucher für die RCM-Parameter

In der Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer aktinischen Keratose konnte für den RCM-Parameter dendritische Zellen eine gute Übereinstimmung zwischen den Untersuchern gezeigt werden (Tabelle 26). Eine mittlere Konkordanz der Gutachter wurde für die Evaluationskriterien erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation, solare Elastose sowie Parakeratose berechnet. Für die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten und das Entzündungsinfiltrat konnte dagegen jeweils eine leichte Interobserver-Reproduzierbarkeit ermittelt werden. Eine nur schwache Übereinstimmung zeigten die Beobachter für den Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten.

Tabelle 26: Konkordanzwerte beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der aktinischen Keratose-Kohorte

RCM-Parameter	Cohens-Kappa-Koeffizient	Stärke der Übereinstimmung
HK	$k = 0,378$	Leicht nach Altman
PK	$k = 0,422$	Mittel nach Altman
VH	$k = 0,151$	Schwach nach Altman
DZ	$k = 0,769$	Gut nach Altman
E	$k = 0,334$	Leicht nach Altman
G	$k = 0,6$	Mittel nach Altman
SE	$k = 0,437$	Mittel nach Altman

4.4 Verruca

4.4.1 Morphologische RCM-Analyse

4.4.1.1 Einzelne vom Zellverband losgelöste Kerneozyten

Die Hornzellen des SC haben sich teilweise vom restlichen Zellverband abgelöst (Abbildung 34). Diese RCM-Beobachtung wurde bereits unter Abschnitt 4.3.1.1 genauer erläutert.

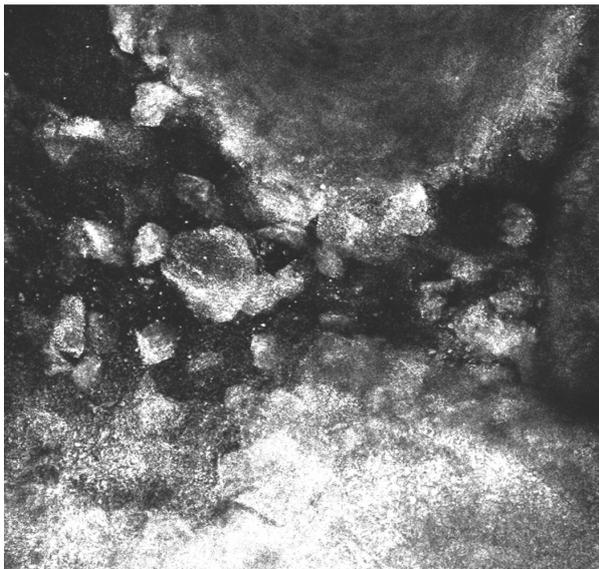


Abbildung 34: Einzelne vom Zellverband losgelöste Kerneozyten bei der Verruca RCM des SC. Die vom einheitlichen Verband abgetrennten, hornbildenden Zellen kommen hell zur Darstellung.

4.4.1.2 Koilozytose

Innerhalb des Honigwabenmusters des SG und des oberen SS stechen vereinzelte oder gruppierte, große, ballonierete Keratinozyten hervor (Abbildung 35). Diese Zellen werden Koilozyten genannt und treten im Rahmen von HPV-Infektionen auf. In der konventionellen Histologie entsprechen sie vakuolisierten Zellen mit basophilen Kerneinschlüssen.

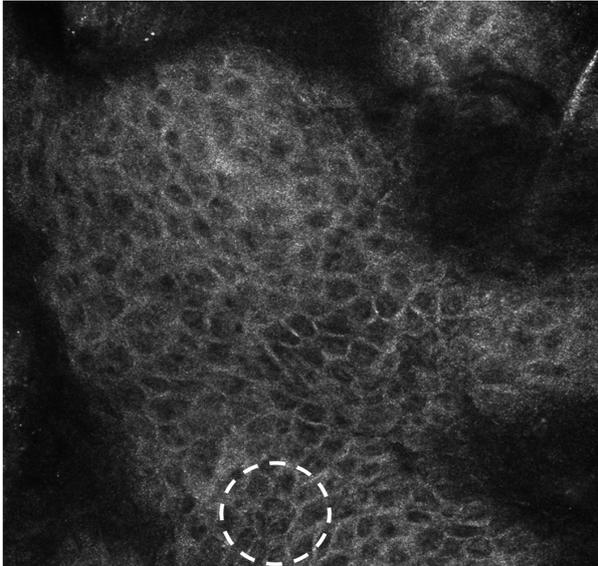


Abbildung 35: Koilozytose bei der Verruca

Auf dem RCM-Bild des SS ist im unteren Bereich ein großer, ballonierter Keratinozyt (weißer gestrichelter Kreis) zu erkennen.

4.4.1.3 Dendritische Zellen

Im SS werden dendritische Zellkörper sowie deren zelluläre Ausläufer beobachtet. Sie können in entzündlichen Verrucae in großer Dichte vorkommen und repräsentieren eine Immunantwort des Körpers auf eine HPV-Infektion (Abbildung 36). Unter Abschnitt 4.1.1.2 wurden sie detailliert beschrieben.



Abbildung 36: Dendritische Zellen bei der Verruca

Die RCM-Aufnahme zeigt eine massive Infiltration des SS durch dendritische Zellen. Ihre Zelleiber erscheinen hell (weißer gestrichelter Kreis), ihre Zellfortsätze verzweigen sich stark. Begleitet werden sie von kleinen, hellen Entzündungszellen (weißer Pfeil).

4.4.1.4 Papillomatose

Auf Höhe der dermoepidermalen Junctionszone werden monomorphe, helle, runde Zellen sichtbar, die sich um die dunkler erscheinenden, dermalen Papillen arrangieren. In der Mitte der Formationen werden Blutgefäße sichtbar (Abbildung 37). Die dermalen Papillarkörper erscheinen im Vergleich zur gesunden Haut in ihrem Durchmesser verbreitert. Zusätzlich ist ihre Anzahl und Dichte erhöht. Das histopathologische Korrelat hierzu ist die kirchenturmspitzenartige Papillomatose (47).

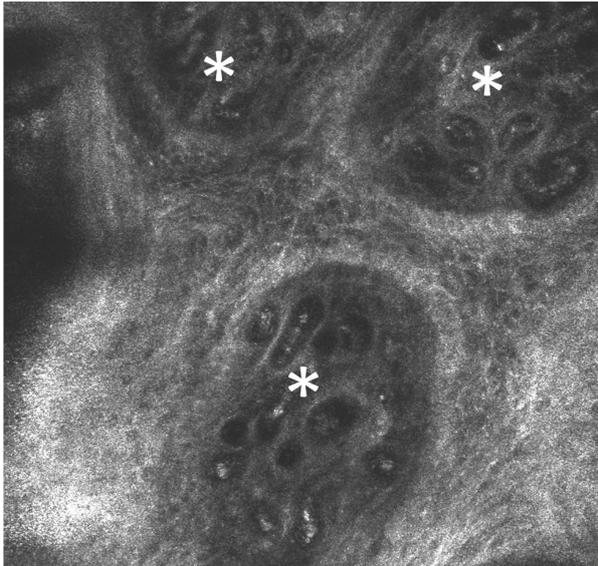


Abbildung 37: Papillomatose bei der Verruca

RCM auf Höhe der DEJ. Die erweiterten dermalen Papillen (weiße Sterne) erscheinen dunkel, umgeben werden sie von monomorphen, hellen, runden Zellen. Innerhalb der Papillen sind zahlreiche Gefäßanschnitte zu erkennen.

4.4.1.5 Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation

Die Anzahl und der Durchmesser der Blutgefäße sind im Vergleich zur normalen Haut erhöht (Abbildung 38). Durch die Gefäße hindurch kann es zu einem vermehrten Austritt von Blutbestandteilen in das SC kommen. Dadurch erscheinen Verrucae klinisch oft schwärzlich. Die Morphologie der Gefäße wurde bereits unter Abschnitt 4.1.1.7 beschrieben.

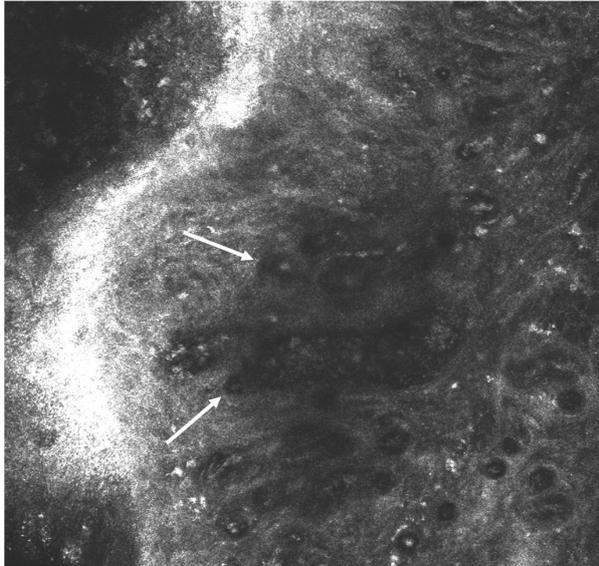


Abbildung 38: Erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation bei der Verruca

RCM auf Höhe der DEJ/D. Im mittleren Bildbereich ist ein prominentes, stark dilatiertes Blutgefäß zu erkennen. Durch die weiteren Gefäße (weiße Pfeile) wird deren erhöhte Anzahl verdeutlicht.

4.4.2 Statistische Auswertung

4.4.2.1 Sensitivität, Spezifität, Chi-Quadrat- X^2 -Analyse und Konkordanz der Untersucher für die Diagnose

Die letzte Kohorte beinhaltete insgesamt zwölf Läsionen mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca. Die Studienprotokolle beider Beobachter sind in den Tabellen 27-28 einzusehen. UNT I konnte eine Verruca (6/7) nicht als solche einordnen. Von UNT II wurden dagegen alle histologisch gesicherten Verrucae (7/7) richtig mittels konfokaler Mikroskopie diagnostiziert. Beobachter I erkannte bei allen Non-Verrucaeläsionen (5/5), dass keine Verruca vorlag. Lediglich eine Läsion (4/5) wurde von Beobachter II fälschlicherweise als Verruca eingestuft, bei der es sich jedoch um ein Fibrom handelte. Damit konnte für die konfokale Lasermikroskopie, mit der Histologie als Goldstandard, eine sehr gute Spezifität von 100% und eine gute Sensitivität von 85,7% bei Gutachter I gezeigt werden. Im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- X^2 erwies sich die Diagnose von Beobachter I mit einem p -Wert von 0,0034 als sehr signifikant. UNT II konnte dagegen eine sehr gute Sensitivität von 100% bzw. eine gute Spezifität von 80% erreichen. Auch dieses Ergebnis stellte sich im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- X^2 als sehr signifikant ($p = 0,0038$) heraus. In der Kappa-Analyse wurde ein Cohens-Kappa-Koeffizient von $k = 0,667$ berechnet, der einer guten Übereinstimmung nach Altman zwischen den Observern entspricht.

Tabelle 27: Studienprotokoll Untersucher I: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca

Läsion	HK	K	DZ	PM	G	RCM	Histologie
1	3	3	1	0	0	VV	VV
2	3	3	2	3	3	VV	VV
3	2	0	0	0	0	Non-VV	SK
4	3	2	1	0	0	VV	VV
5	3	3	2	3	0	VV	VV
6	2	2	0	2	0	VV	VV
7	0	0	0	0	0	Non-VV	TH
8	3	0	0	0	3	Non-VV	VV
9	1	2	2	3	3	VV	VV
10	0	0	0	1	3	Non-VV	Fibrom
11	1	0	0	0	0	Non-VV	SK
12	0	0	0	0	1	Non-VV	SK

Tabelle 28: Studienprotokoll Untersucher II: Kohorte mit der klinischen Verdachtsdiagnose einer Verruca

Läsion	HK	K	DZ	PM	G	RCM	Histologie
1	3	1	1	0	0	VV	VV
2	2	3	2	2	3	VV	VV
3	0	0	0	1	0	Non-VV	SK
4	1	2	1	0	0	VV	VV
5	3	2	2	2	0	VV	VV
6	1	1	0	1	0	VV	VV
7	2	0	0	1	0	Non-VV	TH
8	2	1	1	0	1	VV	VV
9	1	2	1	2	1	VV	VV
10	0	2	2	2	2	VV	Fibrom
11	1	0	0	0	0	Non-VV	SK
12	0	0	0	1	0	Non-VV	SK

4.4.2.2 Sensitivität und Spezifität der RCM-Parameter

In den Beobachtungen von Untersucher I erwiesen sich bei der Verruca die Koilozytose mit Werten von 100% und 85,7% sowie die dendritischen Zellen mit Werten von 100% und 71,4% als höchst spezifisch und hoch sensitiv (Tabelle 29). Damit stellen diese RCM-Evaluationskriterien in den Analysen von Gutachter I die zuverlässigsten Parameter für die Diagnose der Verruca dar. Höchste Sensitivität konnte dagegen für die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten gezeigt werden, während die Spezifität mit 60% nur mäßig ausfiel. Eine untergeordnete Rolle für die konfokalmikroskopische Diagnose der Verruca spielt hingegen die Papillomatose mit einem mäßigen Ergebnis für die Spezifität (60%) bzw. einem schlechten Ergebnis für die Sensitivität (50%). Für die erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion erzielte Beobachter I eine noch schlechtere Sensitivität von 42,9%, dennoch fiel die Spezifität mit 80% hoch aus.

Gutachter II konnte in seinen Untersuchungen dagegen höchste Sensitivität für die Koilozytose zeigen, bei zusätzlich guter Spezifität von 80% (Tabelle 30). Ebenso wurde für die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten höchste Sensitivität ermittelt, während die Spezifität mit 60% nur mäßig ausfiel. Für das konfokalmikroskopische Merkmal der dendritischen Zellen wurden sowohl gute Sensitivitäts- (85,7%) als auch Spezifitätswerte (80%) errechnet. Nur schlechte Spezifität von 40% stellte UNT II für die erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion fest, bei trotzdem hoher Sensitivität von 71,4%. Die Papillomatose erwies sich in den Berechnungen von Untersucher II weder als besonders sensitiv (57,1%) noch als besonders spezifisch (20%).

Tabelle 29: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher I für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca

RCM-Parameter	Sensitivität	Spezifität
HK	100%	60%
K	85,7%	100%
DZ	71,4%	100%
PM	50%	60%
G	42,9%	80%

Tabelle 30: Sensitivitäts- und Spezifitätsanalyse von Untersucher II für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca

RCM-Parameter	Sensitivität	Spezifität
HK	100%	60%
K	100%	80%
DZ	85,7%	80%
PM	57,1%	20%
G	71,4%	40%

4.4.2.3 Chi-Quadrat- X^2 -Test der RCM-Parameter

Für die Koilozytose konnten sowohl Untersucher I ($p = 0,0034$) als auch Untersucher II ($p = 0,0038$) im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- X^2 sehr signifikante Ergebnisse erzielen (Tabelle 31). Die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten erreichten mit einem p -Wert von 0,018 bei beiden Beobachtern und die dendritischen Zellen mit einem p -Wert von 0,0133 bei UNT I bzw. einem p -Wert von 0,0228 bei UNT II mindestens Signifikanzniveau. Die Verteilung dieser RCM-Merkmale ist somit in einer histologisch positiven und einer histologisch negativen Verruca ungleich. Auf der anderen Seite konnten weder für die Papillomatose noch die erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion mit p -Werten von 0,7249 und 0,4076 bei UNT I bzw. p -Werten von 0,4076 und 0,6788 bei UNT II statistische Signifikanzen erzielt werden.

Tabelle 31: Ergebnisse des Kontingenztests nach Chi-Quadrat- X^2 beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca

RCM-Parameter	Untersucher I	Untersucher II
HK	$p = 0,018$	$p = 0,018$
K	$p = 0,0034$	$p = 0,0038$
DZ	$p = 0,0133$	$p = 0,0228$
PM	$p = 0,7249$	$p = 0,4076$
G	$p = 0,4076$	$p = 0,6788$

4.4.2.4 Häufigkeiten der RCM-Parameter

In den histologisch gesicherten Verrucae konnte Untersucher I in allen Läsionen einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten auffinden (Tabelle 32). In 85,7% der Verrucae beobachtete er eine Koilozytose, gefolgt von dendritischen Zellen in 71,4% der Läsionen. In nur etwa jeder zweiten Verruca beschrieb UNT I eine Papillomatose (57,1%) sowie eine erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion (42,9%).

Auch Untersucher II konnte übereinstimmend in allen Verrucae einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten beobachten. Zudem beschrieb er in allen Läsionen eine Koilozytose. In 85,7% der Verrucae wurden von Gutachter II dendritische Zellen gesehen, gefolgt von einer erhöhten Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion in 71,4% der evaluierten Läsionen. Das am seltensten vertretene RCM-Evaluationskriterium in diesen Untersuchungen war ebenfalls die Papillomatose (57,1%).

Tabelle 32: Häufigkeitsanalyse beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca

RCM-Parameter	Untersucher I	Untersucher II
HK	100%	100%
K	85,7%	100%
DZ	71,4%	85,7%
PM	57,1%	57,1%
G	42,9%	71,4%

4.4.2.5 Konkordanz der Untersucher für die RCM-Parameter

Insgesamt konnten in der Kohorte mit den klinischen Verrucae für alle RCM-Merkmale gute bis mittlere Konkordanzen zwischen den Beobachtern gezeigt werden (Tabelle 33). Eine gute Übereinstimmung nach Altman lag für die Parameter dendritische Zellen und erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion vor. Bei den RCM-Kriterien einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten, Koilozytose und Papillomatose wurde eine mittlere Interobserver-Reporduzierbarkeit errechnet.

Tabelle 33: Konkordanzwerte beider Untersucher für die einzelnen RCM-Parameter der Verruca-Kohorte

RCM-Parameter	Cohens-Kappa-Koeffizient	Stärke der Übereinstimmung
HK	$k = 0,437$	Mittel nach Altman
K	$k = 0,548$	Mittel nach Altman
DZ	$k = 0,625$	Gut nach Altman
PM	$k = 0,512$	Mittel nach Altman
G	$k = 0,640$	Gut nach Altman

5 Diskussion

Die konfokale Laserscanmikroskopie ist ein vielversprechendes non-invasives Bildgebungswerkzeug zur In-vivo-Darstellung zellulärer und subzellulärer Strukturen der Epidermis und oberflächlichen Dermis mit nahezu histologischer Auflösung. Die Methode kann helfen, die Lücke zwischen Auflichtmikroskopie und Histologie zu schließen. Für die Diagnose unterschiedlicher neoplastischer und entzündlicher Hauterkrankungen hat sie sich als nützliches Verfahren bereits etabliert (136,137). Publierte Daten, die sich mit der Evaluierung neoplastischer und virusassoziierter Hauterkrankungen ausschließlich bei Organtransplantierten beschäftigen, gibt es bislang nicht. Jedoch gibt es teilweise eine Vielzahl an klinischen Studien, welche die RCM-Evaluationskriterien dieser Hauterkrankungen bei Immunkompetenten untersuchten (29,32,61,69,91,104–106).

Bei Organtransplantierten treten aufgrund der medikamentös induzierten Immunsuppression zu Beginn der Posttransplantationsphase multifokal virusassoziierte bzw. zu einem späteren Zeitpunkt neoplastische Hautveränderungen auf, die aufgrund ihres atypischen Aussehens und ihrer ungewöhnlichen Lokalisation oft kaum zu unterscheiden sind. Da diese Hautläsionen somit weder klar die typischen klinischen Kriterien der jeweiligen Erkrankung erfüllen noch die charakteristischen dermatoskopischen Merkmale aufweisen, könnte die RCM an dieser Stelle helfen, frühzeitig multiple Läsionen ohne aufwändige zeit- und kostenintensive Hautbiopsie zu evaluieren. Denn für die Auswahl der geeignetsten Behandlung ist eine korrekte Beurteilung bzw. Differenzierung dieser Hauterkrankungen notwendig. Während eine chirurgische Exzision die Behandlung der ersten Wahl für die meisten Subtypen des BCCs und den MB darstellt, werden bei superfiziellen BCCs, AKs und Verrucae in der Regel non-invasive Lokaltherapien bevorzugt. Somit ergibt sich auch die Notwendigkeit zur Entwicklung non-invasiver Untersuchungstechniken. Mit Hilfe der RCM können bereits während der körperlichen Untersuchung Diagnosen mit nahezu histologischer Zuverlässigkeit gestellt werden. Dies könnte ohne weitere Verzögerung zu einer direkten Therapie führen und das erhöhte Metastasierungsrisiko bzw. die erhöhte Mortalitätsrate bei diesem gefährdeten Patientenkollektiv senken. Im Gegensatz zur Probebiopsie besteht mit der RCM zusätzlich die Möglichkeit, eine Läsion in ihrer gesamten Ausdehnung zu evaluieren, was verhindern kann, dass der aggressivere Anteil eines Tumors übersehen wird. Besonders geeignete Biopsieentnahmestellen können festgelegt und potenziell nicht notwendige bzw. wiederholte Probeexzisionen vermieden werden. Untersuchungen können wiederholt werden, sodass auch dynamische Prozesse

innerhalb derselben Läsion während eines Krankheits- oder Therapieverlaufs wie eine optische Biopsie reevaluiert werden können. Ahlgrimm-Siess et al. nutzten die RCM zur non-invasiven Überwachung superfizieller BCCs nach erfolgter Kryotherapie (111). Ulrich et al. gelang es mit Hilfe der Technik frühzeitig, Non-Responder einer immunmodulatorischen Therapie mit Imiquimod zu identifizieren (127).

Durch die mögliche Eingrenzung der Krankheitsausdehnung besteht bei klinisch undefinierten Läsionen präoperativ die Option, chirurgische Schnittränder festzulegen. Scope et al. zeigten in ihrer Studie, dass die konfokale Lasermikroskopie auch in der Lage ist, Tumorreste nach erfolgter Shavebiopsie innerhalb einer Operationswunde nachzuweisen (138).

Zusammenfassend ermöglicht die Technik eine Früherkennung neoplastischer und virusassoziierter Hauterkrankungen und damit eine schnelle Diagnosestellung vor Therapiebeginn, eine Überprüfung der Wirksamkeit bestimmter Behandlungsmethoden, eine Überwachung der Haut im Rahmen der Nachsorge bzw. die Erkennung von Krankheitsprogressen oder Rezidiven. Durch diese Ansätze kann wiederum die Anzahl an Komplikationen, im Vergleich zur alleinigen klinischen Überwachung der Haut, verringert werden.

Das Ziel der vorliegenden Studie bestand darin, die Genauigkeit der konfokalen Laserscanmikroskopie sowohl für die Diagnose als auch die einzelnen RCM-Bildgebungskriterien bestimmter neoplastischer und virusassoziierter Hauterkrankungen bei Organtransplantierten zu überprüfen und die Ergebnisse mit denen der konventionellen Histologie, die noch immer den Goldstandard darstellt, zu vergleichen. Dafür wurden zunächst beschreibende Untersuchungen angestellt und anschließend statistische Analysen durchgeführt.

Die Daten von 35 Patienten mit einer Gesamtzahl von 61 Hautläsionen wurden ausgewertet. Um die konfokalmikroskopischen Parameter der jeweiligen Erkrankung mit bereits veröffentlichten Daten vergleichen zu können, wurde eine retrospektive, deskriptive Auswertung der RCM-Bilder durch zwei unabhängige Dermatologen durchgeführt. Dem folgten Berechnungen der Sensitivität, Spezifität und Relevanz, eine Häufigkeitsanalyse sowie eine Ermittlung der Interobserver-Konkordanzen für die Diagnosen und die einzelnen RCM-Kriterien.

5.1 Basalzellkarzinom

Die 20 klinisch vermuteten BCC-Läsionen repräsentierten unterschiedliche benigne und maligne Hauterkrankungen (Tabelle 7). Basierend auf früheren Studien, welche die wichtigsten RCM-Merkmale für die Diagnose des Basalzellkarzinoms untersuchten, wurden sieben konfokale Bildgebungskriterien ausgewählt (Abschnitt 1.7.3). Alle vor der Bilderauswertung selektierten RCM-Parameter konnten im Rahmen dieser Untersuchungen aufgefunden werden. Beim Vergleich mit der Literatur fielen in der deskriptiven Analyse keine erheblichen Unterschiede auf. Ausschließlich die erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion wurde teilweise anders beschrieben. Peppelman et al. schilderten vergrößerte, horizontal orientierte Gefäße (117). Im Einklang mit den Beobachtungen von Ulrich et al. wurde in dieser Studie vielmehr eine Vermehrung, starke Windung und Dilatation der Blutgefäße festgestellt (118).

Eine größere Zahl an klinischen Studien beschäftigte sich bereits mit der Sensitivität und Spezifität der RCM für die Diagnose und die Evaluationskriterien des BCC bei Immunkompetenten sowie mit den Häufigkeiten der RCM-Parameter und den Interobserver-Konkordanzen (32,40,49,112,115,117,139,140).

In der Literatur werden für die Diagnose des BCC mittels konfokaler Lasermikroskopie Sensitivitätswerte von 48,8% bis 100% bzw. Spezifitätswerte von 53,6% bis 100% angegeben (32,112,139). Nori et al. ermittelten in einer großen Multicenterstudie für das Vorhandensein von zwei oder mehr RCM-Kriterien innerhalb einer Läsion eine Sensitivität von 100%, jedoch nur eine Spezifität von 53,6%. Waren indes mehr als vier RCM-Parameter präsent, betrug die Spezifität 95,7% und die Sensitivität 82,9%. Für das Auffinden von fünf RCM-Kriterien wurde sogar eine Spezifität von 100% erreicht, während die Sensitivität auf 48,8% abnahm. Die Anwesenheit von mindestens vier RCM-Evaluationskriterien zeigte in der Publikation von Nori et al. also die beste Kombination für hohe Sensitivitäts- und Spezifitätswerte der RCM für die Diagnose des BCC. Dieses Ergebnis wies über die Studienorte hinweg auch nur geringe Unterschiede auf (32). Zudem korreliert es gut mit den Ergebnissen dieser Arbeit. Für das Auffinden von vier oder mehr RCM-Evaluationsparametern wurden für das BCC eine Sensitivität von 100% bei beiden Untersuchern und eine Spezifität von 100% (UNT I) bzw. 80% (UNT II) ermittelt. Venturini et al. untersuchten Sensitivität und Spezifität der RCM für die Diagnose früher subklinischer BCC-Rezidive nach MAL-PDT, die weder in der klinischen Untersuchung noch mittels Dermatoskopie auffielen und erreichten interessanterweise

Werte von jeweils 100%. Gemäß den Autoren der Publikation reichte bereits der Nachweis von Tumorzellnestern für die Diagnosestellung aus (140). Guitera et al. hingegen evaluierten insgesamt 710 Hautveränderungen und definierten für das BCC einen Algorithmus aus acht RCM-Merkmalen. Traf dieser in den untersuchten Läsionen zu, konnte für die Diagnose des Basalzellkarzinoms eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 88,5% bestimmt werden (139). In der veröffentlichten Arbeit von Curchin et al. wurde die RCM-Bilderanalyse ausschließlich von einem unerfahrenen Untersucher durchgeführt. Dieser konnte für seine BCC-Diagnosestellung lediglich eine mäßige Sensitivität (66,7%) erreichen, bei dennoch höchster Spezifität (100%) (112).

In unserer Studie stellte sich der Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten als bester RCM-Parameter für die Diagnose des BCC heraus, mit einer Sensitivität von 100% bei beiden Untersuchern bzw. einer Spezifität von 90% bzw. 80% und höchster Signifikanz im Chi-Quadrat- X^2 -Test. In der Kappa-Analyse konnte zusätzlich eine gute Übereinstimmung zwischen den Beobachtern gezeigt werden, was die Bedeutung dieses Parameters zusätzlich stützt. Nori et al. veröffentlichten dagegen für dieses Merkmal eine schlechtere Sensitivität von 63,4% und Spezifität von 63,8% (32). Ein atypisches Honigwabenmuster trat ferner in allen von uns evaluierten BCC-Läsionen auf. Das Ergebnis stimmt mit der Häufigkeit von Peppelman et al. überein, welche für dieses Kriterium ebenfalls 100% betrug (117). An dieser Stelle ist noch anzumerken, dass dieses Muster am besten bei starker Vergrößerung, also auf den einzelnen RCM-Bildern, zu erkennen ist.

Für die Tumorzellinseln mit peripherer Palisadenstellung der äußeren Zellkernreihe wurde in der vorliegenden Arbeit eine hohe Sensitivität von 100% bzw. 90% erreicht. Übereinstimmend geben Webber et al. bei der Auswertung oberflächlicher BCCs eine Sensitivität von 91,6% für dieses RCM-Evaluationskriterium an. Der von beiden Beobachtern ermittelte Häufigkeitswert für diesen Parameter betrug 100% bzw. 90%, ähnlich den Erkenntnissen von Rishpon et al. (100%), Webber et al. (100%) und Peppelman et al. (97,6%) (40,49,117). Es ist jedoch wichtig zu berücksichtigen, dass die Tumorzellnester in sklerodermiformen BCCs dazu neigen, klein und dünn zu sein und sich dann nur unzureichend von der Dermis abgrenzen lassen. In pigmentierten BCCs können sie dagegen hell erscheinen und heben sich dann nicht ausreichend vom umgebenden Kollagen ab. Daher würde man erwarten, dass ihre Erkennung möglicherweise eine bessere Erfahrung mit der RCM erfordert. Trotzdem zeigten beide Untersucher dieser Arbeit eine mittlere Interobserver-Konkordanz. Eine andere Limitation

der RCM für dieses Merkmal ist, dass Tumorzellinseln in einer Tiefe > 350 µm mit ihr nicht sichtbar gemacht werden können, was gelegentlich bei nodulären und mikronodulären BCCs der Fall sein kann (117).

Für das Kriterium Streaming erreichten beide Untersucher, ebenso wie Nori et al., hohe Sensitivitätswerte mit 100% bzw. 90%, die Spezifität fiel im Gegensatz dazu mit 70% bzw. 80% etwas niedriger aus (32). Aufgefunden wurde dieses Merkmal in 80% bzw. 90% der untersuchten Läsionen und damit etwa doppelt so häufig wie von Peppelman et al. (41,5%) bzw. Longo et al. in oberflächlichen BCCs (50%). Gegensätzlich zu Longo et al. konnte in unseren Analysen eine gute Interobserver-Übereinstimmung gezeigt werden (115,117). Eine Einschränkung dieses Parameters ergibt sich bei der Beurteilbarkeit von BCC-Rezidiven, da sich seine Erkennung durch möglicherweise vorhandene Narbenstränge als schwierig gestalten kann.

In Übereinstimmung mit Nori et al. erzielten beide Untersucher dieser Arbeit bei der Vermehrung, starken Windung und Dilatation der Blutgefäße eine hohe Sensitivität von 90% bzw. 100%. Diese Beobachtung wird jedoch auch in anderen Hauterkrankungen gemacht, wodurch die Spezifität dieses Kriteriums auf 80% bzw. 50% sank. Auch diese Werte korrelieren sehr gut mit Nori et al., die eine Spezifität von 53,6% publizierten (32). Die gefundenen Häufigkeiten für dieses RCM-Merkmal (90% bzw. 100%) stimmen mit denen von Peppelman et al. (92,7%) und Rishpon et al. (89%) in etwa überein (40,117). Eine etwas niedrigere Häufigkeit ermittelten Longo et al. in nodulären und infiltrierenden BCCs mit 81,8% (115). Die Konkordanzanalyse für diese pathologische Gefäßmorphologie ergab außerdem eine mittlere Übereinstimmung, während Webber et al. sogar kaum Interobserver-Konkordanz erreichten (49). Überraschenderweise wurde in der Publikation von Longo et al. hinsichtlich dieses Merkmals eine gute Konkordanz angegeben (115).

Bezüglich der Spaltbildung zwischen Tumorzellen und Tumorstroma stellten Peppelman et al. in den von ihnen ausgewerteten Läsionen eine Häufigkeit von 80,5% fest (117). Ebenso wurden in der vorliegenden Studie für den peritumoralen Spalt hohe Häufigkeiten von 80% bzw. 90% in den evaluierten Läsionen angetroffen. Gegensätzlich hierzu sind die Analysen von Rishpon et al., in denen diese Veränderung ausschließlich in jeder zweiten BCC-Läsion vorgefunden wurde (40). Aufschlussreich sind indessen die beschriebenen Häufigkeitswerte von Longo et al. mit 77,3% in nodulären bzw. 13,6% in infiltrierenden Basalzellkarzinomen. Die durch unsere Untersuchungen erhobene mittlere

Interobserver-Konkordanz nach Altman scheint in etwa mit der guten Übereinstimmung für dieses Merkmal gemäß Longo et al. konform zu gehen (115).

Für das Entzündungsinfiltrat erreichten beide Beobachter nur mäßige Werte für die Spezifität (60% bzw. 70%) und Sensitivität (70% bzw. 50%). Darüber hinaus konnte in der Chi-Quadrat- X^2 -Analyse für den Nachweis dieser Zellen kein Signifikanzniveau gezeigt werden. Diese Ergebnisse stimmen nur teilweise mit denen von Nori et al. überein, die in ihrer Arbeit eine Spezifität von 55% und Sensitivität von 83% berechneten (32). In den bisherigen Veröffentlichungen werden für den Nachweis von Entzündungszellen weit gestreute Häufigkeitswerte von 36,4% bis 82,9% angegeben, unsere Werte bilden mit 70% bzw. 50% in etwa den dazu passenden Mittelwert (49,115,117). Die nur leichte Observer-Übereinstimmung zwischen UNT I und II hebt hervor, dass dieser Parameter sorgfältig erwogen werden muss, sollte er die Diagnose des BCC stützen. Auf der anderen Seite steht diese Beobachtung im Kontrast zu der Analyse von Longo et. al, die eine gute Interobserver-Konkordanz zeigt. Der mögliche Grund hierfür könnte sein, dass die Bilderauswertung bei Longo et. al von zwei ausgewiesenen RCM-Experten vorgenommen wurde, während die Beobachter der vorliegenden Studie über unterschiedliche Erfahrung mit der konfokalen Lasermikroskopie verfügen (115).

Die von beiden Untersuchern dieser Arbeit beobachteten Häufigkeiten für die dendritischen Zellen klaffen mit 90% bzw. 50% stark auseinander. Darüber hinaus gelang es UNT II im Kontingenztest nicht, für dieses RCM-Kriterium Signifikanzniveau zu erreichen. Dennoch stimmt der Häufigkeitswert von Untersucher II mit dem von Rishpon et al. etwa überein, die in einer Serie von 50 histologisch gesicherten BCCs diesen Zelltyp in insgesamt 20 Läsionen auffanden (40). Die Schwierigkeit in der Identifizierung der dendritischen Zellen im Bereich der Dermis ist vermutlich direkt korreliert mit der Erfahrung des Untersuchers. Die dortige Anwesenheit von Kollagenfasern könnte die Erkennung dieser Zellen und ihrer Zellfortsätze erschweren.

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie eine sensitive und spezifische Methode für die non-invasive Diagnose klinisch suspekter BCC-Läsionen bei Organtransplantierten darstellt. Die RCM ist in der Lage, typische BCC-Merkmale zu detektieren, die außerdem eine gute Korrelation mit der Histopathologie zeigen. Die aus unserer Sicht wichtigsten Evaluationskriterien für die Diagnose des Basalzellkarzinoms sind der Verlust der Honigwabenstruktur mit leicht atypischen Keratinozyten, die Tumorzellinseln mit

peripherer Palisadenstellung der länglichen Zellkerne und das Streaming. Wir konnten zeigen, dass die Anwesenheit dieser Merkmale innerhalb einer Läsion das Vorliegen eines Basalzellkarzinoms äußerst wahrscheinlich macht. Außerdem wurde demonstriert, dass die konfokale Lasermikroskopie eine Probebiopsie bei den meisten Hautveränderungen überflüssig macht, bei denen in der klinischen Untersuchung der Verdacht auf ein Basalzellkarzinom (falsch positive Fälle) besteht, wodurch unnötige Narbenbildung vermieden werden kann.

5.2 Morbus Bowen

Ausschließlich sechs Hautveränderungen imponierten in der klinischen Untersuchung als Morbus Bowen (Tabelle 8). Damit spiegelt unsere kleine Serie an klinischen MB-Fällen die insgesamt niedrigere Prävalenz dieser Hauterkrankung in der Gesamtbevölkerung wider. Dementsprechend existiert auch nur eine limitierte Anzahl an klinischen Studien, welche den MB bei Immunkompetenten mittels konfokaler Mikroskopie untersuchten (61,118–121).

In zwei Artikeln von Ulrich et al. wurden die morphologischen RCM-Merkmale des Morbus Bowen detailliert beschrieben und mit der konventionellen Histologie korreliert (61,118). Karaarslan et al. stellten erst kürzlich anhand eines Fallbeispiels die RCM-Evaluationskriterien des pigmentierten MB dar (119). In einem anderen Fallbericht von Braga et al. wurde bei einer fraglichen Hautveränderung durch die Auflichtmikroskopie die Diagnose eines pigmentierten Morbus Bowen gestellt. Mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie konnte dagegen ein amelanotisches Melanom diagnostiziert werden, welches durch die Routinehistologie bestätigt wurde (121). Debarbieux et al. beschreiben in ihrer Publikation drei diagnostisch herausfordernde Fälle von pigmentierten Bowen-Karzinomen, bei denen aufgrund der hohen Dichte an dendritischen Zellen innerhalb der Läsionen mittels RCM fälschlicherweise Melanome diagnostiziert wurden (120).

Nach der Auswertung dieser Arbeiten wurden für die vorliegende Untersuchung neun RCM-Kriterien selektioniert, die in den Hautveränderungen aufgefunden werden sollten (Abschnitt 1.7.4). Bis auf die mehrkernigen Keratinozyten konnten alle zuvor beschriebenen RCM-Parameter auffindig gemacht werden und entsprachen den in dieser Studie erhobenen Befunden.

Statistische Auswertungen wurden sowohl in den bisherigen Veröffentlichungen als auch in der vorliegenden Arbeit aufgrund der geringen Anzahl der analysierten Läsionen nicht vorgenommen.

Eine Untersuchung von Ulrich et al., in die zehn MB-Fälle eingeschlossen wurden, beschäftigt sich zusätzlich mit den Häufigkeiten der RCM-Evaluationskriterien des Morbus Bowen. So konnten die Autoren in allen bewerteten Läsionen stets einen starken Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten feststellen (10/10) (61). Übereinstimmend beschrieben beide Beobachter der vorliegenden Arbeit dieses Muster in allen histologisch gesicherten MB-Läsionen (4/4).

Auch die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten sowie die Parakeratose beobachteten UNT I und UNT II übereinstimmend in allen evaluierten Läsionen. Ähnlich konnten Ulrich et al. im SC kernhaltige Zellen in neun von zehn Fällen auffinden (61).

Ulrich et al. beobachteten außerdem auf Höhe der oberflächlichen papillären Dermis runde bis ovale Blutgefäße mit erhöhter Tortuosität in zehn von zehn Fällen, während in der unteren papillären Dermis in sieben von zehn Fällen S-förmige Blutgefäße beschrieben wurden (61). In der vorliegenden Untersuchung wurde zwischen diesen beiden Gefäßmorphologien allerdings nicht unterschieden. Dennoch konnte von beiden Gutachtern in allen Läsionen eine erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation aufgefunden werden. Ähnlich setzten Zalaudek et al. das Dermatoskop als diagnostisches Werkzeug für die Diagnose pigmentierter und nicht-pigmentierter Bowen-Karzinome ein und beobachteten glomeruläre Gefäße sowie eine schuppige Oberfläche in 100% bzw. 90% der evaluierten Hautveränderungen (60).

Das RCM-Kriterium der dyskeratotischen Zellen konnte von Ulrich et al. in fünf von zehn Läsionen dargestellt werden (61). Übereinstimmend erkannte UNT I diese Zellen in jeder zweiten MB-Läsion, während UNT II diese Beobachtung in sogar nur einer von insgesamt vier Läsionen machte. Diese Erkenntnisse wecken Zweifel in der Reproduzierbarkeit dieses RCM-Merkmals für die Diagnose des Morbus Bowen.

In Übereinstimmung mit Ulrich et al. fanden beide Beobachter der vorliegenden Arbeit auch ein Entzündungsinfiltrat in lediglich jeder zweiten Hautveränderung auf (61). Die dendritischen Zellen präsentierten sich ähnlich oft in zwei (UNT I) bzw. drei (UNT II) von vier MB-Läsionen. Dagegen beobachteten Debarbieux et al. diesen Zelltyp sogar in allen untersuchten Läsionen (3/3). Die größere Häufigkeit der dendritischen Zellen könnte in deren Veröffentlichung der Tatsache geschuldet sein, dass es sich bei den evaluierten Läsionen um eine spezielle Untergruppe des MB handelt, welche klinisch durch ihre

Pigmentierung charakterisiert ist (120). An dieser Stelle wären zusätzliche immunhistochemische Färbungen hilfreich, da sie eine genauere Zuordnung dieser Zellpopulation ermöglichen.

Trotz der Analyse nur weniger Läsionen zeigt die vorliegende Arbeit die Nützlichkeit der konfokalen Mikroskopie für die Diagnose des Morbus Bowen bei Immunsupprimierten und liefert wichtige Informationen für weitere Studien mit größeren Patientenkollektiven. Zudem müssen künftige Untersuchungen zeigen, wie sensitiv und spezifisch die Methode bei der Abgrenzung des Morbus Bowen von anderen neoplastischen bzw. virusassoziierten Hauterkrankungen bei organtransplantierten Patienten ist.

5.3 Aktinische Keratose

Bei einer Gesamtzahl von 23 Hautveränderungen wurde die klinische Diagnose einer aktinischen Keratose gestellt (Tabelle 9). Nach der Auswertung einer Vielzahl an Publikationen, welche die konfokalen Evaluationskriterien der AK untersuchten, wurden sieben RCM-Merkmale ausgewählt (Abschnitt 1.7.5). All diese Parameter konnten im Rahmen unserer deskriptiven Analyse aufgefunden werden. Es fielen keine gewichtigen Unterschiede hinsichtlich ihrer Beschreibung beim Vergleich mit der Literatur auf. Lediglich die Parakeratose wurde verschiedenartig charakterisiert. Astner et al. beschrieben hoch refraktile Korneozyten mit zentralen dunklen Nuklei (129). In Übereinstimmung mit Ulrich et al. wurden in dieser Studie Korneozyten mit irregulären, hoch refraktilen Nuklei beobachtet (29).

In einigen Veröffentlichungen wurden bereits Sensitivitäts- und Spezifitätsanalysen der konfokalen Mikroskopie für die Diagnose und die RCM-Parameter der AK bei Immunkompetenten vorgenommen, außerdem wurden deren Häufigkeiten und Interobserver-Konkordanzen beschrieben (29,69,125,127,141).

Horn et al. untersuchten in ihrer Publikation insgesamt 30 flache aktinische Keratosen und 30 gesunde Hautareale, welche als Kontrollgruppe dienten. Die Auswertung der angefertigten RCM-Bilder erfolgte anschließend durch vier Untersucher, zwei Dermatologen und zwei Dermatopathologen, die alle bereits über ausreichend Erfahrung mit der konfokalen Mikroskopie verfügten. Die besten Ergebnisse für die Diagnose der AK mittels RCM erzielten überraschenderweise die zwei klinischen Dermatologen mit Sensitivitätswerten von 96,67% bzw. 90% und Spezifitätswerten von 86,67% bzw. 90%. Die beiden Dermatopathologen, die für ihre Diagnosestellung alle RCM-Parameter

berücksichtigten, erreichten eine ähnliche Sensitivität von 100% bzw. 76,67%, jedoch eine schlechtere Spezifität von 66,67%. Insgesamt erzielten die Beobachter eine Sensitivität von 90,84% und eine Spezifität von 77,50% (69). In der vorliegenden Studie fielen die Sensitivität bei beiden Beobachtern mit 94,4% und die Spezifität mit 80% (UNT I) bzw. 60% (UNT II) ähnlich aus. Für die Diagnose der AK mussten dabei in dieser Arbeit vier der sieben beschriebenen RCM-Parameter in den untersuchten Läsionen aufgefunden werden. Ähnlich stellten Ulrich et al. in ihrer Untersuchung fest, in die 46 AK-Läsionen eingeschlossen wurden, dass das Vorhandensein von vier bis fünf RCM-Merkmalen für die Diagnose der aktinischen Keratose ausreichend sein kann (29). Beruhte in der Publikation von Horn et al. die Diagnosestellung ausschließlich auf dem Auffinden nur eines Merkmals, nämlich den irregulären Zellgrenzen der Keratinozyten, wurden 86,67% der AK-Läsionen und 85% der normalen Hautareale korrekt eingeordnet. Unter Berücksichtigung von vier RCM-Evaluationskriterien wurde eine etwas höhere Spezifität von 90% ermittelt (69).

In der vorliegenden Untersuchung stellte sich der Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten als bester RCM-Parameter für die Diagnose der AK heraus mit einer Sensitivität von 94,4% bei beiden Untersuchern und einer Spezifität von 80% bzw. 60%. Ulrich et al. evaluierten diesen Parameter separat für das Stratum granulosum und das Stratum spinosum. Die für das SG berechnete Sensitivität betrug 74,4%, während für die Spezifität ein Wert von 100% errechnet wurde. Für das SS stieg die Sensitivität sogar auf 91,2% an, was mit unseren Ergebnissen konform geht, während die Spezifität bei Ulrich et al. auf 95,2% absank (29). In einer anderen Publikation von Ulrich et al., die sich mit der Überwachung klinischer und subklinischer aktinischer Keratosen mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie beschäftigt, war das Auffinden eines atypischen Honigwabenmusters für die Diagnose zwingend erforderlich und wurde dementsprechend in allen AK-Läsionen beschrieben (11/11) (127). Ähnlich konnten beide Gutachter dieser Arbeit in 94,4% der untersuchten Hautveränderungen dieses RCM-Kriterium auffinden. Moscarella et al. analysierten im Rahmen einer Multicenterstudie die Morphologie von 17 histologisch gesicherten pigmentierten AKs. In deren Publikation wurde der Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten in zwei Submerkmale unterteilt. Tatsächlich beobachteten die Autoren atypische Keratinozyten in 100% der Läsionen, während ein ungeordnetes epidermales Muster in ausschließlich 29,4% der aktinischen Keratosen beschrieben wurde (141). Rishpon et al. werteten in einer Untersuchung 25 In-situ-PECs, drei invasive PECs, drei

Keratoakanthome und sieben AKs aus. Wie erwartet, konnte in allen evaluierten Läsionen ein Verlust der Honigwabenstruktur festgestellt werden, in den AKs jedoch vergleichsweise milder ausgeprägt. Atypische Keratinozyten wurden jedoch in nur 14% der AKs vorgefunden (125). Erstaunlicherweise teilten Horn et al. dieses RCM-Kriterium sogar in fünf Einzelparameter auf und fanden im Vergleich zu dieser Untersuchung jeweils niedrigere Häufigkeitswerte. Beobachtet wurde ein Verlust der Keratinozyten-Honigwabenstruktur in 80% der Läsionen, ein Verlust der regelmäßigen Schichtung der Epidermis in 86,67% der Läsionen, eine große Variabilität von Größe und Form der Keratinozytenkerne in 76,67% der Läsionen, irreguläre Zellgrenzen der Keratinozyten in 86,67% der Läsionen und irreguläre Interzellulargrenzen der Keratinozyten in 63,34% der Läsionen. Die Cohens-Kappa-Koeffizienten für diese Parameter lagen zwischen 0,4 bis 0,6 und scheinen mit unserem Wert von 0,151 in etwa übereinzustimmen (69). Im Gegensatz zu diesen Zahlen konnten Ulrich et al. mit Konkordanzwerten von 0,49 für das SG und 0,63 für das SS deutlich bessere Interobserver-Übereinstimmungen für den Verlust der Honigwabenstruktur erreichen (29). An dieser Stelle wäre noch anzumerken, dass diesem Parameter weder ein klinisches noch ein dermatoskopisches Korrelat zugeordnet werden kann und er somit einzigartig für die RCM-Beurteilung ist.

Als zweitbestes Merkmal für die Diagnose der AK stellten sich in unserer Arbeit die einzelnen vom Zellverband losgelösten Korneozyten heraus. In den statistischen Analysen konnte eine hohe Sensitivität von 100% bzw. 83,3% berechnet werden, während die Spezifität bei beiden Untersuchern mit 60% mäßig ausfiel. Leider zeigte sich in der Konkordanzanalyse nur eine leichte Übereinstimmung nach Altman zwischen den Observern. Ulrich et al. beobachteten für dieses RCM-Evaluationskriterium eine ähnliche Sensitivität (98%) sowie eine vergleichsweise höhere Spezifität (71,4%) und konnten sogar eine mittlere Interobserver-Konkordanz erreichen (29). UNT I dieser Studie beobachtete die abgelösten Hornzellen, im Einklang mit Ulrich et al., mit einer Häufigkeit von 100%, während UNT II diesen Parameter in nur 83,3% der untersuchten AK-Läsionen auffand (127). Ebenso bemerkten Horn et al. diese Zellen in 86,67% der evaluierten Hautveränderungen (69). Im Gegensatz hierzu konnten Moscarella et al. diese Beobachtung in weniger als jeder zweiten Läsion machen (141). Möglicherweise ist das Vorhandensein dieses RCM-Parameters für sich genommen von begrenztem diagnostischem Wert, da er auch in vielen gutartigen Läsionen wie Verrucae und entzündlichen Dermatosen wie Ekzemen oder Psoriasis vorkommen kann. Auf der anderen Seite erwies er sich in der Konstellation mit anderen RCM-Kriterien der

aktinischen Keratose als hilfreich für die Diagnosestellung. Eine Einschränkung des Verfahrens ergibt sich jedoch bei sehr starker Hyperkeratose, da tiefere epidermale bzw. dermale Strukturen nicht dargestellt werden können. Ursache hierfür ist der hohe Brechungsindex des Keratins der oberflächlichen Schuppen mit der daraus resultierenden Rückstreuung von Licht, durch welche die optische Eindringtiefe der RCM begrenzt wird. Aus diesem Grund konnten in der vorliegenden Arbeit gelegentlich nur Penetrationstiefen bis in das Stratum spinosum erreicht werden, was uns in Einzelfällen zwang, eine Entfernung der Schuppen mittels Kürettage vorzunehmen. Auch Ulrich et al. erkannten diese Problematik und schlugen für künftige Studien eine Schuppenentfernung mittels topischer Keratolytika vor (122).

Für das Entzündungsinfiltrat und die dendritischen Zellen wurde jeweils von einem der Untersucher dieser Studie kein Signifikanzniveau erreicht. Trotzdem ergaben die statistischen Auswertungen für die entzündlichen Zellen eine hohe Sensitivität von 77,8% bzw. 88,9% mit unterschiedlichen Spezifitätswerten von 60% bzw. 80%. Ulrich et al. werteten diesen Parameter ausschließlich in der Dermis aus und fanden dort höchste Spezifität von 100% bei vergleichsweise schlechterer Sensitivität von 41,8% (29). Die dendritischen Zellen konnten von beiden Beobachtern dieser Arbeit mit einer Häufigkeit von 77,8% im Bereich des SG/SS und der DEJ/D beobachtet werden. Moscarella et al. suchten lediglich im Bereich der Epidermis nach dieser Zellpopulation und fanden diese ähnlich oft in 70,6% der ausgewerteten Läsionen auf (141). Ein möglicher Grund für die nur leichte Interobserver-Konkordanz zwischen UNT I und II für das Entzündungsinfiltrat könnte sein, dass sich die runden Entzündungszellen nur schlecht von den in der Basalzellschicht vorkommenden Pigmentzellen abgrenzen lassen und sie daher schnell missdeutet werden. Wider Erwarten konnte für die dendritischen Zellen in der Konkordanzanalyse eine gute Übereinstimmung zwischen unseren Untersuchern gezeigt werden. Denn wie bereits erwähnt, kann eine Unterscheidung zwischen den dendritischen Zellfortsätzen und den Kollagenfasern der Dermis anspruchsvoll erscheinen. Möglicherweise konnten in den AK-Läsionen zufällig oft die Zellkörper der dendritischen Zellen angeschnitten werden, sodass ihre Anwesenheit durch beide Untersucher einfacher bemerkt werden konnte.

Für die Parakeratose erreichten die Beobachter dieser Arbeit einen gleichermaßen guten Sensitivitätswert von 77,8%, während nur das Ergebnis von Untersucher II auch eine hohe Spezifität von 80% ergab. Gleiche Sensitivität konnten auch Ulrich et al. in ihrer Veröffentlichung zeigen, darüber hinaus eine höhere Spezifität von 95,2% und einen

Cohens-Kappa-Koeffizienten von 0,72. Im Gegensatz dazu konnte in unserer Studie für die kernhaltigen Zellen lediglich ein k -Wert von 0,422 berechnet werden. Da die Bilderauswertung bei Ulrich et al. durch zwei ausgewiesene Experten auf dem Gebiet der konfokalen Mikroskopie vorgenommen wurde, könnte dies die vergleichsweise höhere Übereinstimmung der Beobachter erklären (29). Die in dieser Arbeit gefundene Häufigkeit der Parakeratose unterscheidet sich stark von den Angaben in der Literatur. UNT I und II fanden dieses Kriterium in 77,8% der evaluierten AKs auf, während Moscarella et al. diese Beobachtung in lediglich 23,5% der Läsionen machten und Rishpon et al. in sogar nur 14% der aktinischen Keratosen (125,141).

Für das RCM-Evaluationsmerkmal solare Elastose wurden in dieser Untersuchung Sensitivitätswerte von 83,3% bzw. 66,7% und Spezifitätswerte von 80% bzw. 60% berechnet, wobei wieder nur ein Untersucher statistische Signifikanz erreichen konnte. Einvernehmlich mit UNT I und II publizierten Ulrich et al. ebenfalls eine gute Sensitivität (78,0%), wobei die Spezifität (28,6%) deutlich konträr zu unseren Ergebnissen ausfiel. Übereinstimmung konnte auch beim Vergleich der Konkordanzen gezeigt werden. Sowohl zwischen den Beobachtern dieser Studie als auch denen bei Ulrich et al. konnte für diesen Parameter eine mittlere Interobserver-Konkordanz nachgewiesen werden (29). In einer anderen Arbeit beschäftigten sich Ulrich et al. mit der Häufigkeit der solaren Elastose in aktinischen Keratosen und konnten diese morphologische Veränderung in allen AK-Läsionen feststellen (11/11) (127). Etwas seltener wurde dieses RCM-Kriterium in der vorliegenden Studie aufgefunden (16/23 bzw. 14/23). Moscarella et al. machten diese Beobachtung sogar noch seltener, denn eine mäßige solare Elastose wurde in lediglich 23,5% der Läsionen bzw. eine starke solare Elastose in nur 5,9% der AKs gesehen (141).

Beide Untersucher dieser Arbeit erlangten im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- X^2 für die erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilataion kein Signifikanzniveau. Das Auffinden erweiterter Gefäße scheint somit kein empfindlicher Marker für die Diagnose der AK zu sein. Dies wird auch durch die niedrige Spezifität für diesen Parameter von 20% in den Analysen von UNT I und II bestätigt. Interessanterweise wurden aber hohe Sensitivitätswerte von 77,8% bzw. 83,3% berechnet. Erstaunlicherweise publizierten Ulrich et al. für diese Gefäßmorphologie eine hohe Spezifität (95,2%) bei vergleichsweise niedrigerer Sensitivität (64,8%). Insgesamt würde man für dieses Kriterium sowohl niedrige Sensitivitäts- als auch Spezifitätswerte erwarten, wenn man bedenkt, dass weitgestellte Blutgefäße auch in anderen benignen und malignen Hautveränderungen

beobachtet werden und sogar in gesunder Haut vorkommen können. Zudem kann es sich bei der Beurteilung, ob ein Gefäß dilatiert erscheint, um eine sehr subjektive Einschätzung handeln. Auch ist bei diesem RCM-Evaluationsmerkmal im Hinblick auf die retrospektive Auswertung zu beachten, dass es sich bei einer Gefäßerweiterung um einen dynamischen Prozess handelt, der während der Echtzeituntersuchung einfacher beurteilt werden kann. Der errechnete Interobserver-Konkordanzwert von 0,6 für diesen Parameter ist analog dem publizierten Ergebnis von Ulrich et al. (29). Ebenso stimmen die veröffentlichten Häufigkeitswerte für dieses RCM-Kriterium in etwa mit unseren Ergebnissen von 77,8% bzw. 83,3% überein. Rishpon et al. sahen in 72% der AK-Läsionen erweiterte Blutgefäße, Ulrich et al. beobachteten diese in acht von elf Läsionen (125,127). Im Kontrast hierzu stehen die Angaben von Moscarella et al., denn Gefäße, welche die Hautpapillen durchqueren, konnten in keiner der evaluierten Hautläsionen aufgefunden werden, während lineare Gefäße in 17,6% der aktinischen Keratosen beschrieben wurden (141). Trotz der genannten Schwierigkeiten, die eine Beurteilung der Blutgefäße mittels konfokaler Mikroskopie mit sich bringt, wird die Methode als der Dermatoskopie überlegen eingeschätzt. Denn Gefäße können durch zu starke Kompression mit dem Auflichtmikroskop weggedrückt und dann nicht mehr beurteilt werden. Zwar geht von dem RCM-Gewebsring ebenso ein gewisser Kompressionseffekt aus, trotzdem können Gefäße problemlos detektiert werden, da die RCM-Bildgebung auf mikroskopischer Ebene stattfindet.

Unsere Studie legt, im Einklang mit Ulrich et al., nahe dass der Verlust der Honigwabenstruktur mit atypischen Keratinozyten ein Schlüsselmerkmal für die Diagnose der AK darstellen könnte (29). Gemäß unseren Sensitivitäts- und Spezifitätsanalysen erscheint aber auch das Kriterium einzelne vom Zellverband losgelöste Korneozyten ein guter Prädiktor für AKs darzustellen. Auf der anderen Seite scheint es so, als seien die RCM-Parameter der aktinischen Keratose, im Vergleich zu den RCM-Evaluationskriterien des Basalzellkarzinoms, schwieriger zu erlernen und zu erkennen, was sich in den teilweise großen Konkordanzunterschieden zwischen den Untersuchern für einzelne Merkmale, ähnlich zu der Publikation von Horn et al., zeigt (69). Zwar konnten beide Untersucher insgesamt eine gute diagnostische Leistung erzielen, dennoch würde eine umfassendere Trainingsphase die Genauigkeit der Methode vermutlich erhöhen. Künftige Studien mit größeren Patientenkohorten und weiteren Untersuchern könnten darüber hinaus helfen, besonders geeignete Kombinationen von RCM-Parametern zu

identifizieren, durch welche die Diagnose der AK bei Organtransplantierten mit noch größerer Zuverlässigkeit gestellt werden kann.

5.4 Verruca

Die letzte Kohorte beinhaltete zwölf Hautläsionen, die klinisch als Verrucae imponierten (Tabelle 12). Es existieren nur vier Veröffentlichungen, in denen die RCM-Evaluationskriterien von Verrucae plantares, Condylomata acuminata sowie Verrucae planae bei Immunkompetenten beschrieben werden (91, 104–106). Nach der Auswertung dieser Arbeiten wurden fünf RCM-Parameter ausgewählt, die alle im Rahmen unserer Bilderbeurteilung detektiert werden konnten (Abschnitt 1.7.6).

Erdoğan et al. nutzten die konfokale Mikroskopie für die In-vivo-Überwachung einer Verruca plantaris auf ihr Ansprechen auf eine Therapie mit einem Farbstoff-Laser. Während diese Verruca zuvor nach ablativen, kryochirurgischen und keratolytischen Therapieverfahren der klinischen Einschätzung nach als abgeheilt diagnostiziert worden war, kam es mehrfach zu Rezidiven. Mit Hilfe der konfokalen Lasermikroskopie und der Dermatoskopie gelang es den Autoren dagegen, typische morphologische Merkmale von Verrucae abzubilden und diese mit den histopathologischen Analysen zu korrelieren. So konnten die Untersucher feststellen, ob sich die Läsion zurückgebildet hatte oder fortgeschritten war, und vermieden einen abermalig verfrühten Therapieabbruch (104). Veasey et al. untersuchten die morphologischen RCM-Kriterien von Condylomata acuminata. Die Interpretation der erhobenen konfokalen Befunde wurde den Autoren durch die Anwendung der Auflichtmikroskopie und die histologische Aufarbeitung der Läsionen erleichtert (91). Liu et al. beschäftigten sich in ihrer Arbeit mit der Differentialdiagnose von Verrucae planae und seborrhoischen Keratosen (SK) und ermittelten zusätzlich die Sensitivität und Spezifität der RCM für die Diagnose dieser Hautveränderungen. Den Goldstandard stellte die konventionelle Histologie dar. Die Diagnosestellung erfolgte dabei durch zwei Dermatologen, die über keinerlei Erfahrung mit der konfokalen Mikroskopie verfügten. Trotzdem gelang es beiden Beobachtern übereinstimmend, eine Sensitivität und Spezifität von jeweils 100% zu erreichen (18/18 VP und 40/40 SK) (106). Ähnlich konnten in der vorliegenden Untersuchung für die Diagnose der Verruca mittels RCM sehr signifikante Sensitivitätswerte von 85,7% bzw. 100% und Spezifitätswerte von 100% bzw. 80% bei gleichzeitig guter Interobserver-Konkordanz erzielt werden.

In der erst kürzlich veröffentlichten Arbeit von Hui et al. wurden 55 Patienten mit klinischen Verrucae planae rekrutiert. Alle Läsionen wurden mittels konfokaler Mikroskopie und Dermatoskopie beurteilt, zusätzlich wurden sie histologisch aufgearbeitet. Neben den morphologischen RCM-Kriterien der Verrucae planae wurden auch deren Häufigkeiten innerhalb der Läsionen beschrieben. In allen ausgewerteten Verrucae beobachteten Hui et al. helle papilläre Ringe auf Höhe der DEJ (50/50) (105). Da in der vorliegenden Studie vielmehr ein erweiterter Durchmesser und eine erhöhte Anzahl und Dichte der dermalen Papillen bewertet wurde, erscheint ein direkter Vergleich an dieser Stelle problematisch.

Zudem beschrieben Hui et al. in allen VP-Läsionen punktförmige oder globuläre Gefäße in den Zentren der dermalen Papillen (50/50) (105). Dagegen konnte in dieser Untersuchung in nur etwas mehr als jeder zweiten Läsion eine erhöhte Vaskularisierung/Blutgefäßdilatation gesehen werden. Diese konträren Ergebnisse bestätigen unsere Vermutung, dass dieser RCM-Parameter nicht klar definiert zu sein scheint. Zusätzlich muss beachtet werden, dass sich die Beschaffenheit der Blutgefäße während der verschiedenen Stadien einer Erkrankung ändern kann.

In 27 von 55 Läsionen (49,1%) beschrieben Hui et al. blütenblattartige Strukturen im SG/SS, welche am ehesten unserem RCM-Parameter der Koilozytose entsprechen (105). Die Untersucher der vorliegenden Arbeit konnten diese Beobachtung in den evaluierten Läsionen etwa doppelt so häufig machen. Im Kontingenztest nach Chi-Quadrat- X^2 wurde für den Nachweis dieser Zellmorphologie eine statistische Signifikanz nachgewiesen. Damit stehen unsere Ergebnisse vielmehr im Einklang mit denen von Liu et al., die dieses Kriterium als das Hauptmerkmal für Verrucae erklären (106).

Normalerweise können typische Verrucae leicht mit dem bloßen Auge diagnostiziert werden. Bei Organtransplantierten besteht aber aus den genannten Gründen gelegentlich die Notwendigkeit, eine Histologie anzufertigen. An dieser Stelle kann die konfokale Mikroskopie als schmerz- und narbenfreie optische Methode helfen, klinische Diagnosen zu überprüfen oder Therapieverläufe zu überwachen. Dennoch sollte die RCM aus unserer Sicht bei der Fragestellung möglicher Verrucae Ausnahmefällen vorbehalten sein, bei denen die klinische und dermatoskopische Untersuchung nicht sicher zwischen benignen und malignen hyperkeratotischen Hautläsionen bei Immunsupprimierten unterscheiden kann. Jedoch sind auch diesbezüglich weitere Untersuchungen mit größeren Patientenkollektiven erforderlich, um unsere Ergebnisse

zu untermauern und mögliche Muster zu ermitteln, die bei der Diagnose dieser Läsionen helfen können.

5.5 Konklusion

In dieser Studie, die als erste eine Analyse neoplastischer und virusassoziierter Hautveränderungen bei Organtransplantierten mittels konfokaler Mikroskopie leistet, stellte sich heraus, dass die Methode für die Diagnose von Basalzellkarzinomen und aktinischen Keratosen, was an größeren Patientenkohorten untersucht werden konnte, gut reproduzierbar und zuverlässig ist. RCM-Parameter, die für diese Hauterkrankungen eine spezifische Diagnose erlauben, konnten bereits sehr gut definiert werden. In dieser Richtung zeigt sich überhaupt ein großes zukünftiges Potential der RCM als echte Alternative zur histologischen Diagnose mittels invasiver Hautbiopsie.

Bezüglich des Morbus Bowen ist es aufgrund der geringen Größe unserer Patientenkohorte schwierig, eine Schlussfolgerung zu ziehen. Andererseits ist zu berücksichtigen, dass es sich bei dieser Krankheit um eine seltenere handelt und unsere Patientenzahl in etwa die Prävalenz in der Gesamtbevölkerung widerspiegelt.

Obwohl Verrucae relativ häufige und einfach zu detektierende Hautveränderungen darstellen, ist im Fall von Organtransplantierten zu beachten, dass diese Patienten häufig multiple hyperkeratotische Läsionen aufweisen, zu deren Differentialdiagnose auch maligne Erkrankungen wie In-situ- bzw. invasive Plattenepithelkarzinome zählen. In diesem Zusammenhang stellt die konfokale Lasermikroskopie ein hilfreiches Werkzeug dar, welches im Vergleich zur klinischen oder auflichtmikroskopischen Untersuchung dem Anwender wichtige Zusatzinformationen anbieten kann.

Zweifellos lässt sich feststellen, dass die Reflektanz-konfokale Laserscanmikroskopie eine zentrale Rolle in der Diagnose neoplastischer und virusassoziierter Hautveränderungen bei Organtransplantierten spielt und spielen wird.

Literaturverzeichnis

1. Barry JM, Murray JE. The first human renal transplants. *J Urol.* 2006 Sep;176(3):888–90.
2. Ulrich C, Christophers E, Sterry W, Meyer T, Stockfleth E. [Skin diseases in organ transplant patients]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2002 Aug;53(8):524–33.
3. Stockfleth E, Ulrich C, Meyer T, Christophers E. Epithelial malignancies in organ transplant patients: clinical presentation and new methods of treatment. *Recent Results Cancer Res Fortschritte Krebsforsch Progres Dans Rech Sur Cancer.* 2002;160:251–8.
4. Ulrich C, Schäkel K, Stockfleth E. [Skin diseases following organ transplantation]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 Mar;61(3):193–4.
5. Hofbauer G. [Immunosuppressive therapy after transplantation. Dermatologic relevance and pathomechanisms]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 Mar;61(3):214–9.
6. Ulrich C, Stockfleth E. Empfehlungen für die Diagnostik und Therapie weiterer Tumoren: Hauttumoren bei Immunsuppression - Dermatologie bei Organtransplantierten. In: Szeimies RM, Hauschild A, Garbe C, Kaufmann R, Landthaler M. *Tumoren der Haut: Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie.* 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme; 2010. p. 647–52.
7. Wisgerhof HC, Edelbroek JR, de Fijter JW, Feltkamp MC, Willemze R, Bouwes Bavinck JN. Trends of skin diseases in organ-transplant recipients transplanted between 1966 and 2006: a cohort study with follow-up between 1994 and 2006. *Br J Dermatol.* 2010 Feb 1;162(2):390–6.
8. Wolf IH. [Skin infections after transplantation]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 Mar;61(3):230–3.
9. Krüger-Corcoran D, Stockfleth E, Jürgensen JS, Maltusch A, Nindl I, Sterry W, Lange-Asschenfeldt B, Ulrich C. [Human papillomavirus-associated warts in organ transplant recipients. Incidence, risk factors, management]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 Mar;61(3):220–9.
10. Leiter U, Garbe C. [Skin cancer in organ transplant patients. Epidemiology and management]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 Mar;61(3):207–13.

11. Lonsdorf AS, Becker MR, Stockfleth E, Schäkel K, Ulrich C. [Primary and secondary prevention of skin cancer in organ transplant recipients]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 Mar;61(3):195–206.
12. Ulrich C, Kanitakis J, Stockfleth E, Euvrard S. Skin cancer in organ transplant recipients--where do we stand today? *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2008 Nov;8(11):2192–8.
13. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2004 Jun;4(6):905–13.
14. Penn I, Brunson ME. Cancers after cyclosporine therapy. *Transplant Proc.* 1988 Jun;20(3 Suppl 3):885–92.
15. Rowe DE, Carroll RJ, Day CL. Prognostic factors for local recurrence, metastasis, and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear, and lip. Implications for treatment modality selection. *J Am Acad Dermatol.* 1992 Jun;26(6):976–90.
16. Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med.* 2003 Apr 24;348(17):1681–91.
17. Penn I. Occurrence of cancers in immunosuppressed organ transplant recipients. *Clin Transpl.* 1998;147–58.
18. Hogewoning AA, Goettsch W, van Loveren H, de Fijter JW, Vermeer BJ, Bouwes Bavinck JN. Skin infections in renal transplant recipients. *Clin Transplant.* 2001 Feb;15(1):32–8.
19. Hiesse C, Rieu P, Kriaa F, Larue JR, Goupy C, Neyrat N, Charpentier B. Malignancy after renal transplantation: analysis of incidence and risk factors in 1700 patients followed during a 25-year period. *Transplant Proc.* 1997 Mar;29(1–2):831–3.
20. Euvrard S, Kanitakis J, Decullier E, Butnaru AC, Lefrançois N, Boissonnat P, Sebbag L, Garnier JL, Pouteil-Noble C, Cahen R, Morelon E, Touraine JL, Claudy A, Chapuis F. Subsequent skin cancers in kidney and heart transplant recipients after the first squamous cell carcinoma. *Transplantation.* 2006 Apr 27;81(8):1093–100.
21. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, Leichtman AB. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2006;6(5 Pt 2):1111–31.
22. Berg D, Otley CC. Skin cancer in organ transplant recipients: Epidemiology, pathogenesis, and management. *J Am Acad Dermatol.* 2002 Jul;47(1):1–17; quiz 18–20.

- 23.** Tessari G, Girolomoni G. Nonmelanoma skin cancer in solid organ transplant recipients: update on epidemiology, risk factors, and management. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al.* 2012 Oct;38(10):1622–30.
- 24.** Dantal J, Hourmant M, Cantarovich D, Giral M, Blancho G, Dreno B, Souillou JP. Effect of long-term immunosuppression in kidney-graft recipients on cancer incidence: randomised comparison of two cyclosporin regimens. *Lancet Lond Engl.* 1998 Feb 28;351(9103):623–8.
- 25.** Kaufmann R, Linhart C, Wolter M. Empfehlungen für die Diagnostik und Therapie des Basalzellkarzinoms: Diagnostik. In: Szeimies RM, Hauschild A, Garbe C, Kaufmann R, Landthaler M. *Tumoren der Haut: Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie.* 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme; 2010. p. 483–91.
- 26.** Hauschild A, Breuninger H, Kaufmann R, Kortmann RD, Klein M, Werner J, Reifenberger J, Dirschka T, Tischendorf L, Becker JC, Löser C, Vordermann D, Bootz F, Pistner H, Grabbe S, Garbe C. S2k-Leitlinie 032/021: Basalzellkarzinom der Haut [Internet]. AWMF online: Das Portal der wissenschaftlichen Medizin. 2013 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/032-021.html>.
- 27.** Breuninger H, Eigentler T, Bootz F, Hauschild A, Kortmann R-D, Wolff K, Stockfleth E, Szeimies RM, Rempel R, Tischendorf L, Becker JC, Löser C, Vordermark D, Pistner H, Garbe C, Grabbe S. S2k-Leitlinie 032/022: Plattenepithelkarzinom der Haut [Internet]. AWMF online: Das Portal der wissenschaftlichen Medizin. 2013 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/032-022.html>.
- 28.** Stockfleth E, Terhorst D, Hauschild A, Zouboulis CC, Schlaeger M, Oster-Schmidt C, Diepgen T, Garbe C, Gollnick H, Korting C, Merk H, Sterry W, Kerl H, Berking C. [Actinic keratoses]. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG.* 2012 Dec;10 Suppl 7:S1-23.
- 29.** Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz F, Röwert-Huber J, González S, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al.* 2008 May;34(5):610–9.
- 30.** Powell FC. Sir Arthur, Sir James, Sir Percivall, soot, and skin cancer. *Lancet Lond Engl.* 2004 Oct 2;364(9441):1218.
- 31.** Grimmer H. [Histological picture report no.201. Basalioma of the vulva (basal cell carcinoma Krompecher 1900)]. *Z Haut Geschlechtskr.* 1967 Mar 1;43(5):25–40.

32. Nori S, Rius-Díaz F, Cuevas J, Goldgeier M, Jaen P, Torres A, González S. Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J Am Acad Dermatol*. 2004 Dec;51(6):923–30.
33. Goldgeier M, Fox CA, Zavislan JM, Harris D, Gonzalez S. Noninvasive imaging, treatment, and microscopic confirmation of clearance of basal cell carcinoma. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. 2003 Mar;29(3):205–10.
34. Dahl E, Aberg M, Rausing A, Rausing EL. Basal cell carcinoma. An epidemiologic study in a defined population. *Cancer*. 1992 Jul 1;70(1):104–8.
35. Christenson LJ, Borrowman TA, Vachon CM, Tollefson MM, Otley CC, Weaver AL, Roenigk RK. Incidence of basal cell and squamous cell carcinomas in a population younger than 40 years. *JAMA*. 2005 Aug 10;294(6):681–90.
36. Dissemond J, Grabbe S. [Basal cell carcinoma -- An overview]. *Dtsch Med Wochenschr* 1946. 2004 Oct 15;129(42):2255–60.
37. Hartevelt MM, Bavinck JN, Kootte AM, Vermeer BJ, Vandenbroucke JP. Incidence of skin cancer after renal transplantation in The Netherlands. *Transplantation*. 1990 Mar;49(3):506–9.
38. Telfer NR, Colver GB, Morton CA, British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2008 Jul;159(1):35–48.
39. Kittler, H. *Dermatoskopie: Fast 1.200 exzellente Farbabbildungen für eine schnelle und sichere Diagnose. Sonderausgabe*. Martinsried: Rothacker; 2013.
40. Hashemi P, Rabinovitz HS, Marghoob AA, Scope A. Basal Cell Carcinoma. In: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvey J, Soyer HP. *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases*. Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 271–84.
41. Reifenberger J. Basalzellkarzinom. In: Plewig G, Landthaler M, Burgdorf W, Hertl M, Ruzicka T. *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie*. 6. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 1633–44.
42. Scrivener Y, Grosshans E, Cribier B. Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol*. 2002 Jul;147(1):41–7.
43. McCormack CJ, Kelly JW, Dorevitch AP. Differences in age and body site distribution of the histological subtypes of basal cell carcinoma. A possible indicator of differing causes. *Arch Dermatol*. 1997 May;133(5):593–6.

44. Altmeyer P. Basalzellkarzinom (Übersicht) [Internet]. Altmeyers Enzyklopädie. 2018 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/basalzellkarzinom-ubersicht-622>.
45. Agero AL, Cuevas J, Jaen P, Marghoob AA, Gill M, González S. Basal cell carcinoma. In: González S, Gill M, Halpern AC. Reflectance Confocal Microscopy of Cutaneous Tumors: An Atlas with Clinical, Dermoscopic and Histological Correlations. 1. Edition. London: Informa Healthcare; 2008. p. 60–75.
46. Presser SE, Taylor JR. Clinical diagnostic accuracy of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 1987 May;16(5 Pt 1):988–90.
47. Stadler R, Hartig C. Epidermale Tumoren. In: Kerl H, Garbe C, Cerroni L, Wolff HH. *Histopathologie der Haut*. 1. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer; 2003. p. 543–85.
48. Ulrich M, Roewert-Huber J, González S, Rius-Diaz F, Stockfleth E, Kanitakis J. Peritumoral clefting in basal cell carcinoma: correlation of in vivo reflectance confocal microscopy and routine histology. *J Cutan Pathol*. 2011 Feb;38(2):190–5.
49. Webber SA, Wurm EM, Douglas NC, Lambie D, Longo C, Pellacani G, Soyer HP. Effectiveness and limitations of reflectance confocal microscopy in detecting persistence of basal cell carcinomas: a preliminary study. *Australas J Dermatol*. 2011 Aug;52(3):179–85.
50. González S, Tannous Z. Real-time, in vivo confocal reflectance microscopy of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2002 Dec;47(6):869–74.
51. Oram Y, Orengo I, Griego RD, Rosen T, Thornby J. Histologic patterns of basal cell carcinoma based upon patient immunostatus. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. 1995 Jul;21(7):611–4.
52. Arora H, Arora S, Shah V, Nouri K. John Templeton Bowen. *JAMA Dermatol*. 2015 Dec 1;151(12):1329.
53. Cox NH, Eedy DJ, Morton CA, Therapy Guidelines and Audit Subcommittee, British Association of Dermatologists. Guidelines for management of Bowen's disease: 2006 update. *Br J Dermatol*. 2007 Jan;156(1):11–21.
54. Weigert U, Gummer M, Stolz W. Empfehlungen für die Diagnostik und Therapie von In-situ-Karzinomen: Diagnostik. In: Szeimies RM, Hauschild A, Garbe C, Kaufmann R, Landthaler M. *Tumoren der Haut: Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie*. 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme; 2010. p. 445–50.

55. Altmeyer P. Morbus Bowen [Internet]. Altmeyers Enzyklopädie. 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/morbus-bowen-4621>.
56. Sterry W, Stockfleth E. Maligne epitheliale Tumoren. In: Plewig G, Landthaler M, Burgdorf W, Hertl M, Ruzicka T. Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie. 6. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 1645–71.
57. Kovács A, Yonemoto K, Katsuoka K, Nishiyama S, Harhai I. Bowen's disease: statistical study of a 10 year period. *J Dermatol*. 1996 Apr;23(4):267–74.
58. Barysch MJ. [Non-melanoma skin cancer]. *Praxis*. 2016 Sep;105(18):1071–7.
59. Ragi G, Turner MS, Klein LE, Stoll HL. Pigmented Bowen's disease and review of 420 Bowen's disease lesions. *J Dermatol Surg Oncol*. 1988 Jul;14(7):765–9.
60. Zalaudek I, Di Stefani A, Argenziano G. The specific dermoscopic criteria of Bowen's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2006 Mar;20(3):361–2.
61. Ulrich M, Kanitakis J, González S, Lange-Asschenfeldt S, Stockfleth E, Roewert-Huber J. Evaluation of Bowen disease by in vivo reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol*. 2012 Feb;166(2):451–3.
62. Casari A, Chester J, Pellacani G. Actinic Keratosis and Non-Invasive Diagnostic Techniques: An Update. *Biomedicines*. 2018 Jan 8;6(1).
63. Ackerman AB. Solar keratosis is squamous cell carcinoma. *Arch Dermatol*. 2003 Sep;139(9):1216–7.
64. Röwert-Huber J, Patel MJ, Forschner T, Ulrich C, Eberle J, Kerl H, Sterry W, Stockfleth E. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol*. 2007 May;156 Suppl 3:8–12.
65. Richtig E, Ahlgrimm-Siess V, Koller S, Gerger A, Horn M, Smolle J, Hofmann-Wellenhof R. Follow-up of actinic keratoses after shave biopsy by in-vivo reflectance confocal microscopy--a pilot study. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2010 Mar;24(3):293–8.
66. Schaefer I, Augustin M, Spehr C, Reusch M, Kornek T. Prevalence and risk factors of actinic keratoses in Germany--analysis of multisource data. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2014 Mar;28(3):309–13.
67. Frost C, Williams G, Green A. High incidence and regression rates of solar keratoses in a queensland community. *J Invest Dermatol*. 2000 Aug;115(2):273–7.

- 68.** Schmitz L, Kahl P, Majores M, Bierhoff E, Stockfleth E, Dirschka T. Actinic keratosis: correlation between clinical and histological classification systems. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2016 Aug;30(8):1303–7.
- 69.** Horn M, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, Weger W, Koller S, Kerl H, Samonigg H, Smolle J, Hofmann-Wellenhof R. Discrimination of actinic keratoses from normal skin with reflectance mode confocal microscopy. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. 2008 May;34(5):620–5.
- 70.** Stockfleth E, Kerl H, Guideline Subcommittee of the European Dermatology Forum. Guidelines for the management of actinic keratoses. *Eur J Dermatol EJD*. 2006 Dec;16(6):599–606.
- 71.** Dragieva G, Hafner J, Dummer R, Schmid-Grendelmeier P, Roos M, Prinz BM, Burg G, Binswanger U, Kempf W. Topical photodynamic therapy in the treatment of actinic keratoses and Bowen’s disease in transplant recipients. *Transplantation*. 2004 Jan 15;77(1):115–21.
- 72.** Fu W, Cockerell CJ. The actinic (solar) keratosis: a 21st-century perspective. *Arch Dermatol*. 2003 Jan;139(1):66–70.
- 73.** Altmeyer P. Keratosis actinica [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie*. 2018 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/keratosis-actinica-2085>.
- 74.** Pfister H, Fuchs PG, Majewski S, Jablonska S, Pniewska I, Malejczyk M. High prevalence of epidermodysplasia verruciformis-associated human papillomavirus DNA in actinic keratoses of the immunocompetent population. *Arch Dermatol Res*. 2003 Dec;295(7):273–9.
- 75.** Stockfleth E, Nindl I, Sterry W, Ulrich C, Schmook T, Meyer T. Human papillomaviruses in transplant-associated skin cancers. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. 2004 Apr;30(4 Pt 2):604–9.
- 76.** Hauschild A, Kähler KC, Egberts F. [Modern treatment modalities in actinic keratoses of the skin]. *Dtsch Med Wochenschr* 1946. 2006 Mar 3;131(9):447–52.
- 77.** Figueras Nart I, Cerio R, Dirschka T, Dréno B, Lear JT, Pellacani G, Peris K, Ruiz de Casas A, Progressing Evidence in AK (PEAK) Working Group. Defining the actinic keratosis field: a literature review and discussion. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2018 Apr;32(4):544-563.
- 78.** Quaedvlieg PJ, Tirsi E, Thissen MR, Krekels GA. Actinic keratosis: how to differentiate the good from the bad ones? *Eur J Dermatol EJD*. 2006 Aug;16(4):335–9.

- 79.** Zalaudek I, Giacomel J, Argenziano G, Hofmann-Wellenhof R, Micantonio T, Di Stefani A, Oliviero M, Rabinovitz H, Soyer HP, Peris K. Dermoscopy of facial nonpigmented actinic keratosis. *Br J Dermatol.* 2006 Nov;155(5):951–6.
- 80.** Ulrich M, Maltusch A, Röwert-Huber J, González S, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Actinic keratoses: non-invasive diagnosis for field cancerisation. *Br J Dermatol.* 2007 May;156 Suppl 3:13–7.
- 81.** Ackerman AB, Mones JM. Solar (actinic) keratosis is squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2006 Jul;155(1):9–22.
- 82.** Stockfleth E, Nindl I. Humane Papillomviren. In: Plewig G, Landthaler M, Burgdorf W, Hertl M, Ruzicka T. *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie.* 6. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 87–99.
- 83.** Leigh IM, Glover MT. Cutaneous warts and tumours in immunosuppressed patients. *J R Soc Med.* 1995 Feb;88(2):61–2.
- 84.** Dyall-Smith D, Trowell H, Dyall-Smith ML. Benign human papillomavirus infection in renal transplant recipients. *Int J Dermatol.* 1991 Nov;30(11):785–9.
- 85.** Altmeyer P. Verrucae vulgares (Übersicht) [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie.* 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/verrucae-vulgares-ubersicht-4265>.
- 86.** Altmeyer P. Verrucae planae juveniles [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie.* 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/verrucae-planae-juveniles-4262>.
- 87.** Altmeyer P. Verrucae plantares [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie.* 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/verrucae-plantares-4263>.
- 88.** Reifenberger J. Onkologische Grundlagen: Genetische Aspekte. In: Szeimies, RM, Hauschild A, Garbe C, Kaufmann R, Landthaler M. *Tumoren der Haut: Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie.* 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme; 2010. p. 23–40.
- 89.** Altmeyer P. Condylomata acuminata [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie.* 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/condylomata-acuminata-871>.
- 90.** Altmeyer P. Bowenoide Papulose [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie.* 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/bowenoide-papulose-724>.

- 91.** Veasey JV, Framil VM de S, Nadal SR, Marta AC, Lellis RF. Genital warts: comparing clinical findings to dermoscopic aspects, in vivo reflectance confocal features and histopathologic exam. *An Bras Dermatol.* 2014 Feb;89(1):137–40.
- 92.** Böer A, Steinkraus V. Empfehlungen für die Diagnostik und Therapie des Plattenepithelkarzinoms: Diagnostik. In: Szeimies RM, Hauschild A, Garbe C, Kaufmann R, Landthaler M. *Tumoren der Haut: Grundlagen, Diagnostik und Therapie in der dermatologischen Onkologie.* 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme; 2010. p. 513–21.
- 93.** Altmeyer P. Hyperplasie, fokale epitheliale [Internet]. *Altmeyers Enzyklopädie.* 2017 [cited 2018 Jun 21]. Available from: <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de/dermatologie/hyperplasie-fokale-epitheliale-1861>.
- 94.** Kolm I, Braun RP. How Reflectance Confocal Microscopy Works. In: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvehy J, Soyer HP. *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases.* Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 7–10.
- 95.** Gareau DS, Patel YG, Rajadhyaksha M. Basic principles of reflectance confocal microscopy. In: González S, Gill M, Halpern AC. *Reflectance Confocal Microscopy of Cutaneous Tumors: An Atlas with Clinical, Dermoscopic and Histological Correlations.* 1. Edition. London: Informa Healthcare; 2008. p. 1–6.
- 96.** Winston PH. Marvin L. Minsky (1927-2016). *Nature.* 2016 Feb 18;530(7590):282.
- 97.** Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol.* 1995 Jun;104(6):946–52.
- 98.** Rajadhyaksha M, Anderson RR, Webb RH. Video-rate confocal scanning laser microscope for imaging human tissues in vivo. *Appl Opt.* 1999 Apr 1;38(10):2105–15.
- 99.** Rajadhyaksha M, González S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol.* 1999 Sep;113(3):293–303.
- 100.** Software: VivaScan® [Internet]. MAVIG VivaScope. [cited 2018 Jun 21]. Available from: <http://www.vivascope.de/produkte/software/vivascanr.html>.
- 101.** Lieb JA, Gill M, Patel YG, Rajadhyaksha M, González S. Normal skin. In: González S, Gill M, Halpern AC. *Reflectance Confocal Microscopy of Cutaneous Tumors: An Atlas with Clinical, Dermoscopic and Histological Correlations.* 1. Edition. London: Informa Healthcare; 2008. p. 7–29.

- 102.** Welzel J, Ulrich M, Lange-Asschenfeldt S, Stolz W, Sattler E. S1-Leitlinie 013-076: Konfokale Lasermikroskopie in der Dermatologie [Internet]. AWMF online: Das Portal der wissenschaftlichen Medizin. 2017 [cited 2018 Aug 21]. Available from: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/013-076.html>.
- 103.** Astner S, Ulrich M. [Confocal laser scanning microscopy]. *Hautarzt Z Dermatol Venerol Verwandte Geb.* 2010 May;61(5):421–8.
- 104.** Erdoğan S, Dorittke P, Kardorff B. Pulsed dye laser (FPDL) treatment of a plantar verruca vulgaris and in vivo monitoring of therapy with confocal laser scan microscopy (CLSM). *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG.* 2013 Aug;11(8):760–2.
- 105.** Hui D, Hong-Yan J, Ai-E X. Evaluation of verruca plana by in vivo reflectance confocal microscopy and dermoscopy. *Skin Res Technol Off J Int Soc Bioeng Skin ISBS Int Soc Digit Imaging Skin ISDIS Int Soc Skin Imaging ISSI.* 2017 Aug;23(3):437–40.
- 106.** Liu H, Chen S, Zhang F, Shi B, Shi Z, Zhang D, Yu M, Tian H, Yang B. Seborrheic keratosis or verruca plana? A pilot study with confocal laser scanning microscopy. *Skin Res Technol Off J Int Soc Bioeng Skin ISBS Int Soc Digit Imaging Skin ISDIS Int Soc Skin Imaging ISSI.* 2010 Nov;16(4):408–12.
- 107.** Huzaira M, Rius F, Rajadhyaksha M, Anderson RR, González S. Topographic variations in normal skin, as viewed by in vivo reflectance confocal microscopy. *J Invest Dermatol.* 2001 Jun;116(6):846–52.
- 108.** González S, Swindells K, Rajadhyaksha M, Torres A. Changing paradigms in dermatology: confocal microscopy in clinical and surgical dermatology. *Clin Dermatol.* 2003 Oct;21(5):359–69.
- 109.** Puig S, Carrera C, Salerni G, Rocha-Portela J. Epidermis, Dermis and Epidermal Appendages. In: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvehy J, Soyer HP. *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases.* Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 23–31.
- 110.** Sauermann K, Gambichler T, Wilmert M, Rotterdam S, Stücker M, Altmeyer P, Hoffmann K. Investigation of basal cell carcinoma [correction of carcionoma] by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol Off J Int Soc Bioeng Skin ISBS Int Soc Digit Imaging Skin ISDIS Int Soc Skin Imaging ISSI.* 2002 Aug;8(3):141–7.
- 111.** Ahlgrimm-Siess V, Horn M, Koller S, Ludwig R, Gerger A, Hofmann-Wellenhof R. Monitoring efficacy of cryotherapy for superficial basal cell carcinomas with in vivo reflectance confocal microscopy: a preliminary study. *J Dermatol Sci.* 2009 Jan;53(1):60–4.

- 112.** Curchin CE, Wurm EM, Lambie DL, Longo C, Pellacani G, Soyer HP. First experiences using reflectance confocal microscopy on equivocal skin lesions in Queensland. *Australas J Dermatol*. 2011 May;52(2):89–97.
- 113.** Villarreal-Martinez A, Bennàssar A, Gonzalez S, Malvehy J, Puig S. Application of in vivo reflectance confocal microscopy (RCM) and ex vivo fluorescence confocal microscopy (FCM) in most common subtypes of Basal Cell Carcinoma and correlation with histopathology. *Br J Dermatol*. 2018 May;178(5):1215-1217.
- 114.** Castro RP, Stephens A, Fraga-Braghiroli NA, Oliviero MC, Rezze GG, Rabinovitz H, Scope A. Accuracy of in vivo confocal microscopy for diagnosis of basal cell carcinoma: a comparative study between handheld and wide-probe confocal imaging. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2015 Jun;29(6):1164–9.
- 115.** Longo C, Lallas A, Kyrgidis A, Rabinovitz H, Moscarella E, Ciardo S, Zalaudek I, Oliviero M, Losi A, Gonzalez S, Guitera P, Piana S, Argenziano G, Pellacani G. Classifying distinct basal cell carcinoma subtype by means of dermatoscopy and reflectance confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2014 Oct;71(4):716-724.e1.
- 116.** Segura S, Puig S, Carrera C, Palou J, Malvehy J. Dendritic cells in pigmented basal cell carcinoma: a relevant finding by reflectance-mode confocal microscopy. *Arch Dermatol*. 2007 Jul;143(7):883–6.
- 117.** Peppelman M, Wolberink EA, Blokx WA, van de Kerkhof PC, van Erp PE, Gerritsen MJ. In vivo diagnosis of basal cell carcinoma subtype by reflectance confocal microscopy. *Dermatol Basel Switz*. 2013;227(3):255–62.
- 118.** Ulrich M, Lange-Asschenfeldt S, González S. In vivo reflectance confocal microscopy for early diagnosis of nonmelanoma skin cancer. *Actas Dermosifiliogr*. 2012 Nov;103(9):784–9.
- 119.** Karaarslan I, Tepret S, Yildiz S, Yaman B, Ozdemir F. The role of reflectance confocal microscopy in a case of Bowen’s disease difficult to diagnose. *Dermatol Pract Concept*. 2018 Jan;8(1):63–5.
- 120.** Debarbieux S, Perrot JL, Cinotti E, Labeille B, Fontaine J, Douchet C, Balme B, Thomas L. Reflectance confocal microscopy of Pigmented Bowen’s disease: misleading dendritic cells. *Skin Res Technol Off J Int Soc Bioeng Skin ISBS Int Soc Digit Imaging Skin ISDIS Int Soc Skin Imaging ISSI*. 2017 Feb;23(1):126–8.
- 121.** Braga JC, Paschoal FM, Blumetti TC, Bussade M, Duprat J, Landman G, Rezze GG. Hypomelanotic melanoma mimicking pigmented Bowen disease. *J Am Acad Dermatol*. 2016 Jan;74(1):e11-13.

- 122.** Ulrich M, Astner S. Actinic Keratosis. In: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Malvehy J, Soyer HP. Reflectance Confocal Microscopy for Skin Diseases. Berlin Heidelberg: Springer; 2012. p. 285–95.
- 123.** Tan JM, Lambie D, Sinnya S, Sahebian A, Soyer HP, Prow TW, Ardigò M. Histopathology and reflectance confocal microscopy features of photodamaged skin and actinic keratosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2016 Nov;30(11):1901–11.
- 124.** Aghassi D, Anderson RR, González S. Confocal laser microscopic imaging of actinic keratoses in vivo: a preliminary report. *J Am Acad Dermatol*. 2000 Jul;43(1 Pt 1):42–8.
- 125.** Rishpon A, Kim N, Scope A, Porges L, Oliviero MC, Braun RP, Marghoob AA, Fox CA, Rabinovitz HS. Reflectance confocal microscopy criteria for squamous cell carcinomas and actinic keratoses. *Arch Dermatol*. 2009 Jul;145(7):766–72.
- 126.** Ulrich M, Forschner T, Röwert-Huber J, González S, Stockfleth E, Sterry W, Astner S. Differentiation between actinic keratoses and disseminated superficial actinic porokeratoses with reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol*. 2007 May;156 Suppl 3:47–52.
- 127.** Ulrich M, Krueger-Corcoran D, Roewert-Huber J, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Reflectance confocal microscopy for noninvasive monitoring of therapy and detection of subclinical actinic keratoses. *Dermatol Basel Switz*. 2010;220(1):15–24.
- 128.** Longo C, Casari A, De Pace B, Simonazzi S, Mazzaglia G, Pellacani G. Proposal for an in vivo histopathologic scoring system for skin aging by means of confocal microscopy. *Skin Res Technol Off J Int Soc Bioeng Skin ISBS Int Soc Digit Imaging Skin ISDIS Int Soc Skin Imaging ISSI*. 2013 Feb;19(1):e167-173.
- 129.** Astner S, Ulrich M, Cuevas J, González S. Squamous neoplasia. In: González S, Gill M, Halpern AC. Reflectance Confocal Microscopy of Cutaneous Tumors: An Atlas with Clinical, Dermoscopic and Histological Correlations. 1. Edition. London: Informa Healthcare; 2008. p. 49–59.
- 130.** Calzavara-Pinton P, Longo C, Venturini M, Sala R, Pellacani G. Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging. *Photochem Photobiol*. 2008 Dec;84(6):1421–30.
- 131.** Tearney GJ, Brezinski ME, Southern JF, Bouma BE, Hee MR, Fujimoto JG. Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography. *Opt Lett*. 1995 Nov 1;20(21):2258.

- 132.** Technik: Hardware [Internet]. MAVIG VivaScope. [cited 2018 Jun 21]. Available from: <http://www.vivascope.de/konfokale-laserscanmikroskopie/technik/hardware.html>.
- 133.** Fletcher RH, Fletcher SW. Klinische Epidemiologie: Grundlagen und Anwendung. 2. Auflage. Bern: Hans Huber; 2007.
- 134.** Hilgers RD, Bauer P, Scheiber V. Einführung in die Medizinische Statistik. 2. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer; 2007.
- 135.** Altman DG. Practical Statistics for Medical Research. Boca Raton London New York Washington, D.C.: Chapman and Hall/CRC Texts in Statistical Science; 1990.
- 136.** Agozzino M, Gonzalez S, Ardigo M. Reflectance Confocal Microscopy for Inflammatory Skin Diseases. *Actas Dermosifiliogr*. 2016 Oct;107(8):631–9.
- 137.** Guida S, Longo C, Casari A, Ciardo S, Manfredini M, Reggiani C, Pellacani G, Farnetani F. Update on the use of confocal microscopy in melanoma and non-melanoma skin cancer. *G Ital Dermatol E Venereol Organo Uff Soc Ital Dermatol E Sifilogr*. 2015 Oct;150(5):547–63.
- 138.** Scope A, Mahmood U, Gareau DS, Kenkre M, Lieb JA, Nehal KS, Rajadhyaksha M. In vivo reflectance confocal microscopy of shave biopsy wounds: feasibility of intraoperative mapping of cancer margins. *Br J Dermatol*. 2010 Dec;163(6):1218–28.
- 139.** Guitera P, Menzies SW, Longo C, Cesinaro AM, Scolyer RA, Pellacani G. In vivo confocal microscopy for diagnosis of melanoma and basal cell carcinoma using a two-step method: analysis of 710 consecutive clinically equivocal cases. *J Invest Dermatol*. 2012 Oct;132(10):2386–94.
- 140.** Venturini M, Sala R, González S, Calzavara-Pinton PG. Reflectance confocal microscopy allows in vivo real-time noninvasive assessment of the outcome of methyl aminolaevulinate photodynamic therapy of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2013 Jan;168(1):99–105.
- 141.** Moscarella E, Rabinovitz H, Zalaudek I, Piana S, Stanganelli I, Oliviero MC, Lallas A, Ardigo M, Cota C, Catricalà C, Mazzoni L, Pellacani G, Argenziano G, Longo C. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of pigmented actinic keratoses: a morphological study. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2015 Feb;29(2):307–14.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Lena Evelyne Rüter, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Non-invasive Diagnostik virusassoziierter und neoplastischer Hautveränderungen bei Organtransplantierten mit Hilfe der Reflektanz-konfokalen Laserscanmikroskopie 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.

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

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr.-Ing. Jürgen Lademann, Leiter des Centrums für Experimentelle und Angewandte Physiologie der Haut, der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, für die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit sowie die äußerst produktive und stets angenehme Zusammenarbeit.

Ich danke Frau Dr. med. Martina Ulrich, die mich in die Anwendung der Reflektanz-konfokalen Laserscanmikroskopie einführte und ganz maßgeblich an der Vorbereitung und Durchführung der Studie beteiligt war.

Herrn Dr. med. Bernd Kardorff danke ich für seine fachliche Kompetenz während der Auswertung des konfokalen Bildmaterials. Seine wertvolle und sachkundige Unterstützung trug entscheidend zur Fertigstellung dieser Dissertation bei.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Dipl.-Math. Klaus Lenz für die Beratung zur statistischen Datenauswertung.

Mein größter Dank gilt meinem lieben Verlobten, Dr. rer. nat. Pierluigi Ramadori, für seine beständige persönliche und wissenschaftliche Unterstützung sowie seine unaufhörliche Geduld.

Von Herzen danke ich außerdem meinen Eltern, Evelyne Rüter und Dr. med. Wilhelm Rüter, meiner Schwester Cathrin Wiggins-Davies sowie meinem Bruder Wolf-Wilhelm Rüter, die mich stets in meinen Bestrebungen unterstützten und fortwährend an mich glaubten. Meiner Schwester Theresa Rüter danke ich zusätzlich für die gewissenhafte Durchsicht und Korrektur dieser Arbeit sowie ihre wertvolle Kritik.

Mein Dank gilt schließlich all den Patienten aus der Sprechstunde für Organtransplantierte am Hauttumorzentrum der Charité, die bereit waren, sich an der Studie zu beteiligen, und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.