

Aus dem
CharitéCentrum für Innere Medizin und Dermatologie
Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Direktor: Professor Dr. med. Wolfram Sterry

Habilitationsschrift

Moderne Technologien zur Evaluation trichologischer Parameter Ihr Stellenwert in Diagnostik und Therapie

Zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Dermatologie, Venerologie und Allergologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Natalie Garcia Bartels
Geboren am 31.05.1971

Eingereicht im	Dezember 2011
Dekanin:	Prof. Dr. med. Annette Grütters-Kieslich
1. Gutachter(in)	Prof. Dr. Peter Elsner, Jena
2. Gutachter(in)	Prof Dr. Hans F. Merk, Aachen

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	3-9
1.1.	Haarausfall - eine diagnostische und therapeutische Herausforderung	3
1.2.	Häufige trichologische Krankheitsbilder	4
1.3.	Konventionelle trichologische Methoden zur Diagnostik und Therapiekontrolle	5
1.4.	Neue Methoden zur trichologischen Diagnostik und Beurteilung der Wirkweise von topischen Substanzen auf das Haarwachstum	7
2.	Zielsetzung der Arbeiten	10
3.	Ergebnisse	11-48
3.1.	Effektivität von topisch appliziertem Minoxidil in der Therapie der androgenetischen Alopezie	11
3.2.	Penetrationswege von topisch appliziertem Minoxidil	28
3.3.	Latanoprost und sein Effekt auf trichologische Parameter in Minizonen	30
3.4.	Optische Kohärenztomographie in der Trichologie	37
3.4.1.	Vergleich der optischen Kohärenztomographie mit konventionellen Methoden zur Erfassung der Haarschaftmorphologie	37
3.4.2.	Anwendung der optischen Kohärenztomographie in vivo bei Alopecia areata	43
4.	Diskussion	49-59
4.1.	Methoden zur quantitativen und qualitativen Evaluierung trichologischer Parameter	49
4.2.	Stellenwert der optischen Kohärenztomographie in Diagnostik und Therapie von Haarerkrankungen	55
5.	Zusammenfassung	60-61
	Abkürzungsverzeichnis	62
	Literaturverzeichnis	63-70
	Danksagung	71
	Erklärung	73

1. Einleitung

1.1. Haarausfall - eine diagnostische und therapeutische Herausforderung

Normalerweise verliert der gesunde Mensch am Tag zwischen 80 – 100 Haare. Kommt es längerfristig zu Störungen des normalen Haarzyklus, tritt ein diffuser oder umschriebener Haarausfall auf. Hält der Haarausfall (syn.: Effluvium) über einen längeren Zeitraum an, kann es zu einer sichtbaren Verminderung der Haardichte, einer sog. Alopezie kommen. Hiervon muss differenzialdiagnostisch das sog. Pseudoeffluvium (1) abgegrenzt werden, welches durch das vermehrte Abbrechen von Haaren im Rahmen von Haarstrukturschäden bedingt ist.

Die gezielte Abklärung des Symptoms Haarsausfall setzt die Kenntnis spezieller diagnostischer Maßnahmen voraus. Zunächst dient die klinische Untersuchung dazu, das Ausmaß der Alopezie bzw. das Behaarungsmuster einzuschätzen. Bei der Erstuntersuchung kommen der manuelle Reibe- und Zupftest sowie die Dermatoskopie zum Einsatz (2). Mit diesen subjektiven Untersuchungen lassen sich die Qualität der Haarschäfte und die Aktivität des Haarausfalls grob einschätzen. Zur Einordnung des Schweregrades der jeweiligen Haarerkrankung stehen verschiedene Klassifikationen zur Verfügung (2;3).

Ein strukturiertes, diagnostisches Vorgehen ist die Basis für eine korrekte Diagnosestellung mit individueller, diagnoseadaptierter und frühzeitiger Therapie. Die Evaluierung des jeweiligen therapeutischen Ansprechens setzt objektivierbare Techniken voraus, welche das Kopfhaar in seiner Vielzahl an trichologischen Parametern sensitiv erfassen. Das Ziel der Therapie von Haarausfall ist es, die Haarqualität, die Haardichte, die Haardicke, die Haarstruktur, die Haarpigmentierung und vor allem das Haarwachstum zu optimieren. Eine umfassende Charakterisierung der Haare ist daher wichtig, um detaillierte Informationen zu gewinnen, mit welchen man die normale Morphologie und Physiologie der Haare von pathologischen Formen unterscheiden und zukünftig adäquate Therapien entwickeln kann.

1.2. Häufige trichologische Krankheitsbilder

Die häufigste Form von Haarausfall bei Frauen und Männern ist die androgenetische Alopezie (AGA). Charakteristisch hierfür ist eine Haardichteminderung, die sich in einem distinkten, genetisch-bedingtem Muster ausprägt. Typischerweise mindert sich das Haarvolumen durch einen Miniaturisierungsprozess, in dem rezeptorabhängige, hormonelle Stimuli eine Umwandlung von kräftigen Terminalhaaren (syn.: Nicht-Vellushaare) der Kopfhaut in feine Flaumhaare (Vellushaare) bewirken. Basierend auf der Pathogenese, die vor allem eine Dysbalance zu Gunsten der Androgene am Haarfollikel postuliert, werden aktuell noch häufig Östrogene, Progesteron oder Antiandrogene topisch eingesetzt. Allerdings lag diesen Therapiekonzepten bis vor kurzem keine fundierte, evidenzbasierte Studie zugrunde. Im Gegensatz dazu ist die Wirkung für das aktuell effektivste Lokalthapeutikum, Minoxidil, in 2% oder 5% Lösung bereits in einige Studien belegt worden. Seinen Wirkmechanismus erklärt man am ehesten über die Regulation der Mikrozirkulation am Haarfollikel (2). Von entscheidender Bedeutung für die Effektivität eines Lokalthapeutikums ist die Penetration des Wirkstoffs zur Zielstruktur, dem Haarfollikel (4). Ähnlich der AGA sind chronische Verläufe und langsames therapeutisches Ansprechen typisch für die meisten Haarerkrankungen. Daher ist es wichtig, mittels standardisierter Methoden die therapeutischen Effekte über einen längeren Zeitraum sinnvoll und objektiv kontrollieren zu können.

Die Alopecia areata (AA) ist nach der androgenetischen Alopezie die häufigste Form des Haarausfalls und betrifft ca. 1-2% der Population wobei das Lebenszeitrisiko für die Erkrankung ca. 2% beträgt (5;6). Überwiegend manifestiert sich die AA als lokalisierter, kreisrunder Haarausfall noch vor dem 20. Lebensjahr, jedoch ist das erstmalige Auftreten bereits bei Kindern von vier Monaten oder Erwachsenen von über 70 Jahren beschrieben worden (7). Die Erkrankung ist prinzipiell zwar innerhalb des ersten Jahres spontan reversibel, in ihren schweren Verlaufsformen (Alopecia areata totalis und universalis) bleibt sie mitunter lebenslang bestehen und stellt für die Patienten eine extreme, psychosoziale Belastung dar. Die Verläufe der AA sind generell individuell und variabel bezüglich Frequenz, Dauer, Ausprägungsgrad und Persistenz (8). Die klini-

sche Variationsbreite und die mögliche Spontanremission innerhalb der ersten zwei Jahre erklärt unter anderem die Schwierigkeit der evidenz-basierten Therapiebeurteilung. So gingen in die aktuellen Leitlinien zur Therapie der AA vor allem Studien ein, welche mittels klinischer Klassifikationen und Scores, sowie Patientenbeurteilungen den Einsatz von intraläsionalen Kortikosteroiden und der topischen Immuntherapie favorisieren (8). Zur Erweiterung der Therapieoptionen bei AA erscheinen innovative, trichologische Methoden sinnvoll, welche den therapeutischen Effekt am betroffenen Areal möglichst frühzeitig und objektiv evaluieren können.

1.3. Konventionelle trichologische Methoden zur Diagnostik und Therapiekontrolle

Das menschliche Kopfhaar wächst ca. 0.35 mm/Tag, so dass es unter normalen Wachstumsbedingungen ca. 1 cm pro Monat an Länge zunimmt (5). Während des Wachstumsprozesses folgt der menschliche Kopfhaarfollikel einem charakteristischen, asynchronen Wechselspiel zwischen einer 2 – 6 Jahre dauernder Wachstumsphase (Anagen), einer in wenigen Tagen ablaufenden Übergangsphase (Katagen) und einer mehrere Monate anhaltenden Ruhephase (Telogen) (5).

Um das Haarzyklusstadium und die Morphologie der Haarwurzel zu beurteilen wird im Rahmen der Diagnostik seit über 60 Jahren das Trichogramm eingesetzt (9;10). Das Trichogramm (TG) ermöglicht mittels semi-invasiver Technik und mikroskopischer Auswertung, die prozentuale Verteilung der Haarfollikel in der jeweiligen Wachstumsphase zu berechnen. An zwei festgelegten Kopfhautarealen werden 60-80 Haare epiliert (3). Je nach Anteil der telogenen, dystrophischen oder anagenen Haare lassen sich Rückschlüsse auf Aktivität und mögliche Ursachen des Haarausfalls ziehen. Diese visuelle Untersuchung ist, ähnlich wie die Längseinbettung von Haaren, zeitaufwändig und die Qualität der Auswertung hängt stark von der individuellen Erfahrung des Auswerters und der Entnahmetechnik ab. Aus diesem Grund ist diese Methode für den Einsatz in klinischen Studien wenig sinnvoll und wird nur von wenigen Dermatologen in der Praxis angewendet.

Eine einfache, reproduzierbare Methode stellt das Phototrichogramm dar. Mittels Rasur werden die Haare in einem definierten Kopfhautareal gekürzt und durch Verlaufsaufnahmen können prozentual anagene Haare, Haardichte und lineare Haarwachstumsrate bestimmt werden. Unter Verwendung einer 20fachen Vergrößerung kann die Haardicke ab $40\mu\text{m}$ bestimmt werden (11). Bei dieser Methode ist von Nachteil, dass die Auswertung manuell und durch eine geschulte Person erfolgen muss. Daher ist sie für klinische Studien oder für den Einsatz in der Diagnostik nicht praktikabel.

Zur Beurteilung der Haarstruktur, der Haardicke und zur differenzialdiagnostischen Einordnung von Haarschaftanomalien kommt die Längseinbettung von abgeschnittenen Haaren zum Einsatz (12). Sie stellt ebenso wie das Trichogramm eine einmalige, mikroskopische Beurteilung von Haaren dar. Eine Verlaufskontrolle der Haarstruktur und Haarschaftmorphologie am selben Haar im Rahmen einer Therapie ist daher nicht möglich. Die Beurteilung ist zeitaufwändig und entsprechend trainierten Dermatologen vorbehalten.

Die Biopsie der Kopfhaut wird vor allem in der Differenzialdiagnostik von Alopezien eingesetzt. Aus den Biopsaten können abhängig von der Einbettungstechnik horizontale oder vertikale Schnitte angefertigt werden. Die horizontale Technik ermöglicht das Zählen von Haaren in den verschiedenen Wachstumsphasen und die Differenzierung von Vellus- und Nicht-Vellushaaren (Terminalhaare) (11). Diese invasive Methode wird selten in klinischen Studien angewendet, da nur eine sehr geringe Anzahl von Haarfollikeln ausgewertet wird. Vertikal geschnittene Kopfhautbiopsate ermöglichen die Bewertung des Haarschafts in seiner Länge und haben aufgrund der Invasivität vor allem in der Diagnostik von seltenen Haarschaftanomalien ihren Stellenwert (13).

Die Methode des Haarwiegens fand in den 90er Jahren Einzug in die Beurteilung therapeutischer Effekte im Rahmen von klinischen Studien (14). Die nicht-invasive Messung des Haargewichtes von abrasierten Haaren in einem Messareal ist zeitaufwändig und störanfällig, da alle Haarproben von derselben, dafür ausgebildeten Person, gewogen werden müssen (11).

Das Haarvolumen und damit die Bedeckung der Kopfhaut durch die Haare lassen sich durch die Übersichtsphotographie beurteilen. Diese von Lederle 1987

entwickelte Methode wurde im Rahmen von klinischen Studien zur AGA weiterentwickelt (15). Unter standardisierten Bedingungen zeichnet sich diese Methode durch eine gute Reproduzierbarkeit aus; sie scheint für die Beurteilung durch geschulte Experten im Rahmen von Studien durchaus geeignet zu sein (16).

1.4. Neue Methoden zur trichologischen Diagnostik und Beurteilung der Wirkweise von topischen Substanzen auf das Haarwachstum

Bei der Untersuchung der Effektivität von therapeutischen Ansätzen in der Trichologie ist es sinnvoll, die Methodik derart zu optimieren, dass die trichologischen Parameter effektiv, standardisiert und reproduzierbar erfasst werden.

Eine Weiterentwicklung des aufwändigen Phototrichogramms stellt der TrichoScan[®] (TrichoScan, TS) dar. Diese nicht-invasive Methode ermöglicht, durch Kombination der Dermatoskopie und einer speziell programmierten Software, eine objektive und standardisierte Analyse des Haarwachstums und der Haardicke. Bei diesem automatisierten Phototrichogramm werden die Haare an den Untersuchungsarealen rasiert und die trichologischen Parameter Video unterstützt erfasst und berechnet. Vorteile dieser Methode gegenüber dem TG sind, dass eine Vielzahl von trichologischen Parametern, wie Anagen/Telogen-Ratio, Haardichte (alle Haare, einschließlich Telogen- und Vellushaare), Wachstumsaktivität und Haarschaftdicke per Computeranalyse in kurzer Zeit berechnet wird (17). Im Vergleich zum TG besitzt der TS ein breiteres Spektrum an trichologischen Parametern und bietet sich zur objektiven Therapieverlaufskontrolle an. Er zeichnet sich zudem durch bessere Reproduzierbarkeit und eine quantitative, schnelle Auswertung aus. Daher stellt der TS eine interessante Möglichkeit dar, therapeutische Effekte im Rahmen von klinischen Studien zu bewerten und diese vergleichbar zu machen.

Die semiautomatische, digitale Bildanalyse mittels Makrophotographie ist eine neu entwickelte, nicht-invasive Technik, welche bisher noch nicht in klinischen Studien zur Überprüfung von therapeutischen Effekten eingesetzt wurde. Mittels Makrophotographien können trichologische Parameter wie die Nicht-Vellushaardichte = non-vellus target area hair count (TAHC) sowie die kumulative

Nicht-Vellushaardicke = non-vellus target area hair cumulative hair width (TAHW) analysiert werden. Zur Berechnung der TAHC (n/cm^2) wird die Zahl der Haare mit einem Durchmesser von $\geq 30\mu m$ addiert und zur Ermittlung der TAHW (mm/cm^2) werden die einzelnen Haardicken von $\geq 30\mu m$ addiert. Eine speziell entwickelte Software (Hair Metrix[®]) analysiert die durchschnittliche Dicke entlang des einzelnen Haars und ein spezialisierter Bildgebungstechniker überprüft und akzeptiert die einzelne Messzahl.

Die Übersichtsphotographie wird in der von Canfield (16) entwickelten Prozedur von der Vertexregion des Kopfes angefertigt. Eine stereotaktische Apparatur ermöglicht standardisierte Aufnahmen, welche durch ein Expertengremium in der Regel verblindet beurteilt werden können. Durch konstante Vergrößerung und Belichtung können reproduzierbare und vergleichbare Bewertungen des Haarvolumens und der Haarfarbe gewährleistet werden. Als Vorteil für klinische Studien kommt hinzu, dass je nach therapeutischem Ziel, die Bewertungsskalen individuell festgelegt werden können.

Neben dem Anspruch die Effekte von topisch applizierten Substanzen auf das Haarwachstums standardisiert und objektiv zu erfassen, stellt sich die Frage, ob der Penetrationsweg der Moleküle zum Zielorgan sich nach vollziehen lässt. Inwieweit der Haarfollikel als Haupteintrittsweg genutzt wird, ist für das Verständnis der Wirkungsweise von topischen Substanzen und Therapeutika, abhängig von ihrer Konzentration, wichtig. Es existieren einige ex vivo und in vitro Modelle, die das Penetrationsverhalten von verschiedenen Molekülen untersuchen. Deren Nachteil ist, dass hierbei vor allem die epidermale, transkutane Penetration experimentell rekonstruiert wird. Ohne das Vorhandensein von Haarfollikeln kann eine Realitätsnahe in vivo Situation zur Untersuchung der Penetration nach topischer Applikation auf die Haut nicht geschaffen werden (18;19). Neben Tiermodellen versuchen vor allem ex vivo Untersuchungen an exzidierte humaner Haut der in vivo Situation näher zu kommen (20;21). Daher erscheint es sinnvoll, ein neues Modell zur in vivo Untersuchung der Penetrationseigenschaften von Substanzen an humaner Haut zu entwickeln.

Die Wirkweise von topischen Substanzen in der Therapie von Haarerkrankungen kann man mittels der verschiedenen Parameter, die das Haarwachstum charakterisieren, erfassen, andererseits bietet die Analyse der Haarstruktur,

des Durchmessers und der Form der Haare, eine weitere Möglichkeit deren Wirkungsspektrum zu untersuchen. Ein zurzeit noch experimentelles Verfahren zur nicht-invasiven Beurteilung der Haarstruktur stellt die optische Kohärenztomographie (OCT) dar (22). Aufgrund der in vivo Anwendung ermöglicht die OCT die Messung von Haaren in ihrer gesamten Länge und im Verlauf des Wachstums (11). So können Durchmesser und Form der Haare einfach, wiederholt gemessen werden und zur in vivo Diagnostik und Beurteilung eines Therapieverlauf herangezogen werden. Die Längseinbettung oder die horizontale Einbettung von abgeschnittenen oder epilierten Haaren können ebenfalls zur Untersuchung der Haarschaftmorphologie dienen (11). Allerdings lässt sich mit diesen Methoden keine in vivo Messung durchführen, um morphologische Veränderungen an Haaren zu quantifizieren, die durch pathogenetische und therapeutische Einflüsse über einen längeren Zeitraum einen Effekt ausüben.

2. Zielsetzung der Arbeiten

Die therapeutischen Ziele der Behandlung von Patienten mit Haarausfall und Alopezie beinhalten je nach Ursache das Sistieren des Haarausfalls sowie die Verbesserung der Haardichte, des Haarvolumens und der Haarstruktur. Bis vor kurzem existierten nur wenige praktikable und zuverlässige Methoden, um Haarausfall bzw. Haarwachstum reproduzierbar zu messen. Daher ist es wichtig, die seit vielen Jahren praktizierten konventionellen Methoden um innovative Techniken zu erweitern, um Evidenz-basierte Nachweise zur Wirksamkeit und Wirkweise von topisch angewendeten Substanzen zu erbringen. Aufgrund der Komplexität der therapeutischen Effekte, sollte ein breites Spektrum an trichologischen Parametern messbar sein. Neben der Haardichte und des Haarvolumens (Terminal- und Vellushaare) können trichologische Therapeutika zum Ziel haben, eine Verbesserung der Rate wachsender Haare (Anagen/Telogen-Ratio), der Haardicke, der Haarstruktur und der Haarpigmentierung zu bewirken. Bedingt durch den langsam und asynchron ablaufenden Haarzyklus muss man therapeutische Effekte über einen längeren Zeitraum am Haar möglichst nicht-invasiv beobachten. Um die Zielparameter der trichologischen Therapeutika langfristig zu beurteilen, bedarf es objektiver, reproduzierbarer und quantitativer Methoden. Nur so kann man zukünftig auf dem Niveau der evidenzbasierten Medizin Therapiestrategien bewerten und vergleichen. Zudem können neue Strategien zur Therapiekontrolle auch im Rahmen der Diagnostik genutzt werden. In das diagnostische Spektrum für Patienten mit Haarerkrankungen sollten vor allem Methoden integriert werden, welche sich durch verbesserte Objektivität, geringere Abhängigkeit vom Untersucher, geringere Invasivität und zeitlich kürzere Anwendung gegenüber den konventionellen Methoden auszeichnen.

Ziel der nachfolgenden Arbeiten war es, das methodische Spektrum zur Erfassung trichologischer Parameter mittels moderner Technologien zu erweitern, um die Möglichkeiten der Messbarkeit von therapeutischen Effekten zu optimieren und zu standardisieren und damit die Wirkweise von Trichologika besser zu verstehen.

3. Ergebnisse

3.1. Effektivität von topisch appliziertem Minoxidil in der Therapie der androgenetischen Alopezie

Minoxidil Lösung wird seit 1996 zur Therapie der androgenetischen Alopezie eingesetzt. Durch die topische Anwendung sollen sich das optische Erscheinungsbild der betroffenen Patienten mit Verbesserung der Haardichte, des Haarvolumens und der Anteil nachwachsender, kräftiger Haare (anagener Terminal-Haare) verbessern. In klinischen Studien konnte dosisabhängig eine gute Verträglichkeit gezeigt werden (15;23). Für die topische Behandlung der AGA wird für Männer die zweimal tägliche Anwendung von 5%iger Minoxidil Lösung und für Frauen die zweimal tägliche Anwendung von 2%iger Minoxidil Lösung in Deutschland empfohlen(24). Seit 2006 ist eine neue Schaumformulierung mit 5% Minoxidil in den USA und seit 2011 in England zur Behandlung der AGA bei Männern erhältlich, die besser verträglich sein soll (23). Unser Anliegen war es, bei Frauen mit AGA möglichst umfassend die Effektivität und Verträglichkeit der einmal täglichen Anwendung von 5%igem Minoxidil in Schaumgrundlage im Vergleich mit der etablierten Therapie auf die verschiedenen trichologischen Parameter zu prüfen. In dieser randomisierten, klinischen Studie wurde eine innovative trichologische Messmethode in Kombination mit zwei Probandenfragebögen angewendet, um folgende Parameter standardisiert zu erfassen: Anzahl an Nicht-Vellushaaren (Haare $\geq 30\mu\text{m}$ im Durchmesser, TAHC in Haaren/cm²), kumulative Haardicke des Messareals (TAHW, kumulative mm/cm²), Haarvolumen (globale, visuelle Bewertung, Skala) und Probandenzufriedenheit. Um die Reproduzierbarkeit der Messungen zu gewährleisten, wurde das Messareal durch Applikation einer 1.9cm durchmessenden Schablone in seiner Größe standardisiert festgelegt. Zudem wurden standardisierte Übersichtsfotographien angefertigt, für die eine stereotaktische Technik zur Kopfpositionierung angewendet wurde (Canfield Scientific Inc.), um das Haarvolumen visuell anhand einer speziell dafür entwickelten Skala zu bewerten. Die TAHC und TAHW wurden mittels neuartiger, semiautomatischer digitaler Technik (Canfield Hair Metrix[®]) berechnet. Standardisierte Makrophotographien des rasierten Messareals konnten die Steigerung der TAHC und TAHW im

Vergleich zum Ausgangswert mittels digitaler Bildanalyse nach 24-wöchiger Anwendung für beide Behandlungen, Minoxidil haltige Lösung und Schaum, ermitteln. Allerdings zeigte sich bei Probandinnen, welche Minoxidil in Schaumgrundlage anwendeten, eine geringere Rate an Zeichen der lokalen Intoleranz*.

* Diese Referenz bezieht sich auf den gesamten Abschnitt 3.4.1.:

U. Blume-Peytavi, K. Hillmann, E. Dietz, D. Canfield, **N. Garcia Bartels**. A randomized, single-blind trial of 5% minoxidil foam once daily versus 2% minoxidil solution twice daily in the treatment of androgenetic alopecia in women. J Am Acad. Dermatol 65 (6), 1126-1134.e2, 2011.

3.2. Penetrationswege von topisch appliziertem Minoxidil

Entscheidend für die erfolgreiche Wirkung von Minoxidil auf das Haarwachstum ist das Penetrationsverhalten des entsprechenden Wirkstoffs bis zur Zielstruktur, dem Haarfollikel. Gerade für das Modelltherapeutikum, das Molekül Minoxidil, welches bei der androgenetischen Alopezie als Mittel der 1. Wahl eingesetzt wird, sind dessen Penetrationseigenschaften am humanen Haarfollikel nicht ausreichend untersucht (25). Um eine optimale Penetration von Minoxidil an die Zielstruktur zu gewährleisten, beinhaltet die Minoxidil Lösung Propylenglykol, da der Wirkstoff in Wasser schwer löslich ist. Die vorangegangene Studie konnte zeigen, dass Minoxidil in propylenglykolfreier Schaumgrundlage vergleichbare klinische Effekte auf die trichologischen Parameter bei Patienten mit AGA hat. Um die Wirkweise von Minoxidil besser zu verstehen, sollten in der folgenden Studie die Penetrationswege von Minoxidil in propylenglykolfreier Grundlage (Schaum) nach lokaler Applikation an gesunden Probanden untersucht werden. In dieser Proof-of-Concept-Studie wollten wir mittels eines neuen, experimentellen Ansatzes an humaner Haut nachvollziehen, ob Minoxidil im propylenglykolfreien Schaum bevorzugt follikuläre Penetrationswege beschreitet, was seine vergleichbare klinische Wirksamkeit zu Minoxidil Lösung erklären könnte. Zur Untersuchung der verschiedenen Penetrationswege durch die Haut oder den Haarfollikel haben wir ein Modell entwickelt, mit welchem wir in vivo die Penetration des Moleküls Minoxidil nachvollziehen konnten. Hierzu wurden bei gesunden männlichen Probanden in einem definierten Messareal entweder die einzelnen Haarfollikelostien oder die interfollikuläre Haut verschlossen; als Kontrolle wurden beide Penetrationswege offen gehalten. Nach topischer Applikation von 5% Minoxidil haltigem Schaum wurde in Zeitreihen die Konzentration von Minoxidil im Blut der Probanden gemessen. Minoxidil konnte bei Probanden, bei welchen der follikuläre Penetrationsweg offen war bereits nach 5 Minuten detektiert werden, wohingegen es über den interfollikulären Penetrationsweg nach 30 Minuten messbar war. Die im Blut gemessene Konzentration von Minoxidil war am höchsten in der Kontrolle, in der beide Penetrationswege möglich waren, gefolgt von der follikulären und am geringsten bei interfollikulärer Penetration*.

* Diese Referenz bezieht sich auf den gesamten Abschnitt 3.2.:
U. Blume-Peytavi, L. Massoudy, A. Patzelt, J. Lademann, E. Dietz, U. Rasuljev,
N. Garcia Bartels. Follicular and percutaneous penetration pathways of
topically applied minoxidil foam. Eur J. Pharm. Biopharm. 76(3), 450-453, 2010.

3.3. Latanoprost und sein Effekt auf trichologische Parameter in Minizonen

Das in der Therapie der AGA etablierte Molekül Minoxidil wurde aufgrund seiner Nebenwirkung einer Hypertrichose bei systemischer Anwendung als Antihypertonikum für den Einsatz in der Trichologie interessant. Ein ähnliches Nebenwirkungsprofil besitzt das Prostaglandin-Analogon Latanoprost, welches vor allem in der Ophthalmologie zur Behandlung des Glaukoms topisch eingesetzt wird. Aufgrund seiner aufgetretenen lokalen Nebenwirkungen, wie das verstärkte Wimpernhaarwachstum und die periokuläre Induktion von Vellushaarwachstum und Pigmentierung der umgebenden Haut, erschien uns die Untersuchung seines Effektes auf das Kopfhhaarwachstum und die Haarpigmentierung bei AGA sehr interessant (26). Ziel dieser Proof-of-Concept-Studie war es, die Wirkung einer topisch applizierten Latanoprost Lösung auf das Haarwachstum und die Haarpigmentierung zu messen. In dieser klinischen Studie wurden bei jungen, männlichen Probanden mit milder AGA und vergleichbarer, heller Haarfarbe zwei Minizonen (je 3cm²) in der frontotemporalen Region festgelegt. Diese erstmalig vorgestellte Minizonen-Technik ermöglicht es, ein Kandidatenmolekül mit vorausgesetzter selektiver, follikulärer Penetration in einem umschriebenen Areal in vivo zu testen. So kann die Effektivität auf die verschiedenen Haarwachstumsparameter, das Nebenwirkungsprofil und die lokale Toleranz eines Wirkstoffs im Rahmen eines Screeningansatzes beurteilt werden. In den Minizonen wurden die Effekte des Verum versus Placebo auf die trichologischen Parameter mittels TrichoScan, Makrophotographie und Übersichtsbeurteilung zu verschiedenen Zeitpunkten erfasst. Hierfür wurden entsprechende Bewertungsskalen neu entwickelt. Nach 24 Wochen täglicher Applikation auf den Minizonen wurde eine signifikante Steigerung der Haardichte im Vergleich mit Placebo gemessen. Bei n=3 war bereits nach 12 Wochen Anwendung eine Zunahme der Haardichte detektierbar. Zudem zeigte sich bei 50% der Probanden eine Zunahme der Haarpigmentierung nach 24wöchiger Anwendung von 0.1%ger Latanoprost Lösung*.

* Diese Referenz bezieht sich auf den gesamten Abschnitt 3.3.:

U. Blume-Peytavi, S. Lönnfors, K. Hillmann, **N. Garcia Bartels**. A randomized double blind placebo-controlled pilot study to assess the efficacy of a 24 weeks topical treatment by latanoprost 0.1% on hair growth and pigmentation in healthy volunteers with androgenetic alopecia. J. Am. Acad. Dermatol. 66(5), 794-800, 2012.

3.4. Optische Kohärenztomographie in der Trichologie

3.4.1. Vergleich der optischen Kohärenztomographie mit konventionellen Methoden zur Erfassung der Haarschaftmorphologie

Die optische Kohärenztomographie ist eine nicht-invasive Technik, welche mittels Interferometrie eine hohe Auflösung von horizontalen Schnittbildern in biologischem Gewebe anfertigt. Wir sehen ihren Stellenwert in der Trichologie vor allem durch ihre langfristige Beurteilbarkeit der Haarmorphologie, da die Messung in vivo, ohne Abschneiden von Haaren, stattfinden kann. So können therapeutische Effekte oder der diagnostische Nachweis von Haarveränderungen wie z.B. im Rahmen von Drogenkonsum möglicherweise zukünftig einfach nach verfolgt werden (27). Um die Vergleichbarkeit dieser neuen Methode zu überprüfen, wurden zunächst die Messergebnisse der OCT mit traditionellen Methoden zur Bestimmung des Haarschaftdurchmessers verglichen. Haare können in der Längs- oder horizontalen Einbettung mikroskopisch untersucht werden. Bisher wurden so Kaliberschwankungen oder Haaranomalien im Rahmen von Haarerkrankungen deskriptiv erfasst. Nachteile dieser Methoden sind Schwankungen bei der Berechnung des Haardurchmessers am längseingebetteten Haar aufgrund der elliptischen Haarform und die mögliche Veränderung der Haarmorphologie durch die Einbettung. In dieser Studie wurden die zwei konventionellen Methoden zur Beurteilung der Haarschaftmorphologie mit der OCT-Technik verglichen. Es zeigte sich, dass bei der Ermittlung des Haardurchmessers die OCT-Methode und die horizontale Einbettung von Haaren eine signifikant geringere Standardabweichung hatten (15 und 22%) im Vergleich zur häufig praktizierten Längseinbettung (84%). Zudem stellen die Längs- oder Quereinbettung von abgeschnittenen Haaren zwar ebenfalls nicht-invasive Verfahren dar, allerdings lassen sich diese am selben Haar aufgrund der Entnahmetechnik nicht wieder reproduzieren*.

*Diese Referenz bezieht sich auf den gesamten Abschnitt 3.4.1:

N. Garcia Bartels, K. Stieler, H. Richter, J. Lademann, U. Blume-Peytavi. Optical coherent tomography: promising in vivo measurement of hair shaft cross-section. *J. Biomed. Opt.*, 16(9), 096003, 2011.

3.4.2. Anwendung der optischen Kohärenztomographie in vivo bei Alopecia areata

Die Alopecia areata ist durch eine extreme klinische Variabilität nicht nur in Bezug auf die Erstmanifestation sondern auch auf die Dauer, das Ausmaß und das Muster in der jeweiligen Episode des Schubs charakterisiert. Diese Variablen sowie die Unmöglichkeit die Dauer des Haarausfallschubes voraus zu sagen, machen es schwer, klinische Studien zur Therapie bei AA zu planen und durchzuführen (28). Es existieren vor allem kleine Studien zur AA, welche nicht miteinander vergleichbar sind(29-31). Ihnen fehlen vergleichbare, quantitative Endpunkte und klar definierte Messgrößen. Zur Beurteilung von therapeutischen Effekten bei Patienten mit Alopecia areata wurden daher eine klinische Bewertungsskala im Bereich des betroffenen Kopfhaars für klinische Studien vorgeschlagen (28;32). Trotz dieser Leitlinien besteht ein klarer Bedarf an trichologischen Messmethoden für die Anwendung in therapeutischen Studien bei Patienten mit AA, um sie besser vergleichbar zu machen (32).

Im Rahmen der klinischen Manifestation der AA kommt es gerade im Randbereich des von Haarausfall betroffenen Areals, zu Schwankungen des Haarkalibers und Veränderungen der Haarstruktur, welche möglicherweise mit der Krankheitsaktivität und der Prognose korrelieren (33). Daher erschien uns die OCT als eine einfach durchführbare und am selben Haar wiederholbare Methode besonders interessant, um mögliche Unterschiede des Haardurchmessers und der Haarform bei AA zu ermitteln. In dieser Studie wurden an Patienten mit AA die Haarstrukturveränderungen mittels OCT Technik erstmalig in vivo gemessen. Es wurden Haare aus dem Randbereich alopezischer Areale mit Haaren aus klinisch unauffälligen Arealen bei Patienten mit AA mittels OCT verglichen. Es zeigte sich, dass Haare im Randbereich aktiver Areale einen signifikant geringeren Haardurchmesser im Vergleich zu klinisch nicht betroffenen Arealen aufwiesen*.

* Diese Referenz bezieht sich auf den gesamten Abschnitt 3.4.2:

N. Garcia Bartels, I. Jahnke, A. Patzelt, H. Richter, J. Lademann, U. Blume-Peytavi. Hair shaft abnormalities in alopecia areata evaluated by optical coherence tomography. *Skin. Res. Technology.* 17(2), 201-205, 2011.

4. Diskussion

4.1. Methoden zur quantitativen und qualitativen Evaluierung trichologischer Parameter

Die androgenetische Alopezie tritt bis zum 70. Lebensjahr bei bis zu 80% der Männer und 42% der Frauen auf. Sie stellt die häufigste Alopezieform in Europa dar, welche mit Ausdünnung der Haare auf dem Oberkopf einhergeht (34). Es wird eine Vielzahl von Therapien angeboten, welche eine Verbesserung der Haardichte und des Haarvolumens zum Ziel haben. Für die Erstellung von Leitlinien ist es wichtig, diese therapeutischen Effekte mittels objektiver, reproduzierbarer und möglichst nicht-invasiver Methoden zu prüfen, um evidenzbasierte Empfehlungen aussprechen zu können. Zur Bewertung eines Wirkstoffs in der Behandlung der AGA ist neben der Auswahl des Messzeitraums und des Testareals vor allem die Auswahl der trichologischen Zielparameter entscheidend.

Seit den 70er Jahren wurden vor allem traditionelle, aufwändige Methoden zur Untersuchung der Effektivität von Wirkstoffen in der Therapie der AGA eingesetzt. Unter Verwendung des Trichogramms wurde die Anzahl wachsender (anagener) und ausfallender (telogener) Haare bestimmt (35-37). Da diese Methodik keine Bestimmung der Haardichte zulässt und vom Untersucher abhängt, wurde sie im Verlauf vor allem durch das Phototrichogramm abgelöst. Mit dieser Methode lässt sich die Haardichte durch das optische Auszählen der Terminalhaare (syn. Nichtvellushaare) bestimmen. Im Laufe der Jahre wurde von verschiedenen Forschungsgruppen versucht, diese Methodik weiter zu entwickeln. Obwohl dazu eine computerassistierte Bilderverarbeitung verwendet wurde, war ein ausgebildeter Techniker nötig, um die einzelnen Terminalhaare von Vellushaaren mittels farblicher Markierung unterscheidbar zu machen (15;38). Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist, dass Terminalhaare und Vellushaare auf der Basis ihrer unterschiedlichen Pigmentierung und nicht anhand der tatsächlichen Haardicken vom Techniker definiert wurden. Daneben wurden in anderen Studien weiterhin traditionelle Methoden verwendet, welche das manuelle Zählen der Haare beinhalten (14;39;40). Diese Methoden sind nicht nur zeitaufwändig sondern auch für größere Studien un-

praktikabel, da nur ein Techniker die Auswertung der Haaranalysen machen kann, um eine Variabilität der Auswertung gering zu halten.

Im Gegensatz dazu zeichnen sich die in den vorgestellten Studien verwendeten Methoden durch verschiedene Vorteile aus. Mit der Hair Matrix-Technik erfolgt die Unterscheidung von Nichtvellushaaren und Vellushaaren computerassistent an einheitlich dunkel gefärbten Haaren (Kap. 2.1). So ist das Haar unabhängig von der tatsächlichen Haarfarbe optimal für die Software zu erkennen. Auf diese Weise entscheidet der Durchmesser des Haares über die Zuordnung zum Nichtvellushaar- oder Vellushaar-Typ (41). Das Unterscheidungsmerkmal der Pigmentierung ist gerade bei heller Haarfarbe nicht sinnvoll, da unpigmentierte Vellushaare und helle Terminalhaare verwechselt werden können. Die TrichoScan-Methode definiert Vellushaare ab einem Durchmesser von $\leq 40\mu\text{m}$, bei der Hair Matrix-Methode liegt die Grenze bei $\leq 30\mu\text{m}$. Die Vergleichbarkeit der Methoden ist gegeben, da der Durchmesser von Terminalhaaren in der Regel bei 50-100 μm liegt, er kann je nach ethnischer Herkunft variieren (41). Vorteil beider Methoden ist eine schnelle computerassistentierte Auswertung eines, in seiner Größe standardisiert, definierten Areals, in welchem die Haare auf eine definierte Länge rasiert werden. Die Photographie des Areals erfolgt mit zwei unterschiedlichen Systemen, allerdings unter standardisierter Einstellung von Licht und Messabstand. Bei der erstmalig verwendeten Hair Matrix-Methode werden die aus der Bildanalyse generierten Daten durch einen ausgebildeten Techniker kontrolliert. Im Gegensatz dazu ist die Datenauswertung mit dem etablierten TrichoScan-Verfahren kürzer, da eine zusätzliche Kontrolle entfällt (42;43). Mittels Hair Matrix-Methodik kann neben der Anzahl der Nichtvellushaare (TAHC) auch die kumulative Haardicke (TAHW) gemessen werden, welche die Haardichte und respektive das Haarvolumen widerspiegeln.

Mit dieser neuen Methode konnte in der vorgestellten Studie ein gleichwertiger Effekt auf die Haardichte und das Haarvolumen nach Anwendung von 5%igen Minoxidil Schaum (einmal täglich) und 2%iger Minoxidil Lösung (zweimal täglich) gezeigt werden (Kap. 2.1). Zum Wirksamkeitsnachweis erschien es uns sinnvoll, neben der quantitativen Bestimmung von Haardichte und Haardicke die globale Veränderung des Haarvolumens mittels Makrophotographie zu ermitteln. Daher wurden die standardisiert erfassten Übersichtsphotographien von jeweils einem Expertengremium und den Probandinnen verblindet bewertet

(Kap. 2.1). Die Ergebnisse von Experten und Probanden waren mit den Daten, die mit der Hair Matrix-Methodik ermittelt wurden, vergleichbar und wiesen eine Steigerung des Haarvolumens nach.

Um den gleichwertigen Effekt von Minoxidil in zwei verschiedenen Grundlagen bei annähernd gleicher Konzentration zu verstehen, wurde ein Modell verwendet, welches die Penetrationswege von topisch applizierten Substanzen in vivo am Menschen untersucht (Kap. 2.2). Topisch applizierte Substanzen können abhängig von ihrer Grundlage, Molekülgröße und Molekülart den transkutanen oder follikulären Penetrationsweg beschreiten. Für die optimale Penetration von Minoxidil ist dessen Anwendung in propylenglykolhaltiger, alkoholischer Lösung bisher als notwendig erachtet worden (44). Im Mausmodell wurde die Penetration von Minoxidil Lösung an haarloser Haut in vitro und in vivo getestet (44). Für die Untersuchung von Substanzen, welche zur Behandlung von Haarerkrankungen eingesetzt werden, erscheinen neue in vivo Modelle an humaner Haut sinnvoller, welche Haarfollikel enthalten (45). Um qualitativ und quantitativ Substanzen in der Haut nachzuweisen existieren verschiedene Methoden. Zum Beispiel kann man die Verteilung einer Substanz im Stratum corneum mittels Klebefolien-Abriss nachweisen (46) oder Substanzen in der Dermis mit einer Mikrodialyse-Methode detektieren (45;47). Ebenso können biologische Effekte wie Rötung oder Veränderungen im Blutfluss gemessen werden (45;48). Allerdings lassen diese Methoden keine Rückschlüsse auf die Penetrationseigenschaften zu, welche für den Effekt einer topischen Therapie von grundlegender Bedeutung sind (45). Ebenso wenig gelingt es mit in vitro Modellen an humaner Haut den tatsächlichen follikulären Penetrationsweg einer Substanz nach zu vollziehen (49).

Gerade in der Behandlung von Haarerkrankungen ist die gezielte Aufnahme einer Substanz über den Haarfollikel wichtig, um möglichst effektiv und nebenwirkungsarm seine Wirkung an der Zielstruktur zu entfalten (50). Eine Retention von verschiedenen Trägerstoffen wie Nanopartikeln oder Farbstoffen konnte in Haarfollikeln nachgewiesen werden (49;51); wenige Modelle beschäftigten sich bisher mit dem quantitativen Nachweis von Wirkstoffen im Stratum corneum und den Haarfollikeln (52;53). In einem in vitro Modell an humaner Haut fand man nach Applikation von Minoxidil Lösung Hinweise darauf, dass die Hautan-

hangsgebilde und das Stratum corneum ein Reservoir für Minoxidil darstellen (25). Allerdings konnten keine klaren Ergebnisse für die bevorzugte Penetration von Minoxidil ohne Propylenglykol gewonnen werden (25).

Das vorgestellte in vivo Modell zur Untersuchung der Penetrationseigenschaften von Minoxidil in Schaumgrundlage konnte an humaner Haut zeigen, dass die propylenglykolfreie Grundlage die Penetration von Minoxidil zur Zielstruktur gewährleisten kann (Kap. 2.2). Nach Applikation von Minoxidil in Schaumgrundlage konnte eine schnellere und höhere Blutkonzentration von Minoxidil nachgewiesen werden, wenn der transkutane Weg durch Blockierung der interfollikulären Haut nicht beschritten werden konnte. Es zeigte sich außerdem, dass Minoxidil abhängig von dem Zeitabstand zur Applikation beide, follikuläre und transkutane Penetrationswege, beschreiten kann. Dieses Resorptionsverhalten, mit bevorzugt follikulärer Penetration, erklärt die vergleichbare Wirkung von Minoxidil in propylenglykolfreier Schaumgrundlage und in propylenglykolphaltiger, alkoholischer Lösung, welche in der zuvor besprochenen Studie gezeigt wurde (Kap.2.1).

Mit diesem Modell kann das Penetrationsverhalten von topisch applizierten Substanzen an humaner Haut in vivo nachvollzogen werden (45). Da die Resorption von Molekülen je nach Körperregion variiert, ist für Untersuchungen zur Penetration die Auswahl der Testareale zu berücksichtigen. Die Kenntnis der Haardichte und der Anzahl von Terminal- oder Vellushaaren im Testareal sind von Bedeutung für das Verständnis des Penetrationsverhaltens der zu untersuchenden Substanz (45). Die vorgestellte Methode könnte als zukünftiges Modell zur Untersuchung der Penetrationswege von neuen, topischen Wirkstoffen in vivo an humaner Haut genutzt werden.

Es trägt außerdem zum verbesserten Verständnis von möglichen, systemischen Nebenwirkungen und damit zur Sicherheit einer Substanz bei. Zukünftig eröffnen sich mit diesem Penetrationsmodell innovative Wege zum besseren Verständnis des selektiven Haarfollikel-Targetings, welche Einzug in neue therapeutische Ansätze erhalten sollten (50).

Zur Untersuchung von neuen Wirkstoffen in der Trichologie stellt die AGA ein gutes Modell zur Erforschung der Wirkung von neuen Substanzen auf das Haarwachstum dar. In der vorgestellten Studie wurde Latanoprost aufgrund

seiner lokalen Nebenwirkungen, wie Hypertrichose und Hyperpigmentierung (54), als topisch zu testende Substanz gewählt, um seine Wirkung auf die Haardichte und Haarpigmentierung bei der AGA zu untersuchen (Kap. 2.3). Im Rahmen unserer Proof.-of-Concept-Studie wurde die Wirkung von 0.1% Latanoprost Lösung im Vergleich zu Placebo in zwei definierten Minizonen im frontotemporalen Bereich von blonden Männern mit milder bis moderater AGA zu verglichen. Vorteil der erstmalig für den Kopfbereich entwickelten Minizonen-Methode ist, dass jeder Proband jeweils Verum und Placebo auf einer kleinen Fläche auftragen konnte. So konnten das Ausmaß und Risiko möglicher lokaler oder systemischer Nebenwirkungen minimiert werden. Die topische Anwendung von Latanoprost zeigte eine signifikante Steigerung der Haardichte von Terminal- und Vellushaaren im Vergleich zu Placebo nach 24 Wochen. Interessanterweise konnte in beiden Minizonen eine tendenzielle Steigerung der Vellushaare gemessen werden, was für einen zusätzlichen Effekt des Vehikels sprechen könnte. Durch die TrichoScan-Technik konnte die unterschiedliche Wirkung von Latanoprost und Vehikel auf Terminalhaar- und Vellushaar-Dichte herausgearbeitet werden. Zudem stellte sich heraus, dass unter Anwendung von Latanoprost eine stabile Anagen/Telogen-Ratio gemessen wurde und damit die Anagenphase der individuellen Haarfollikel nicht verlängert wurde. Allerdings liegt die Vermutung nahe, dass Latanoprost neue Haare in den Haarwachstumszyklus überführt, da die Anzahl anagener und telogener Haare insgesamt gestiegen war.

Die Unterscheidung der verschiedenen trichologischen Parameter ist von Bedeutung für das Verständnis der Wirkweise einer Substanz. Hierfür bietet sich der TrichoScan als nicht-invasive und effektive Methode an, um eine videoassistierte, computergestützte Auswertung der Haardichte und der Anzahl anagener und telogener Haare (pro cm²) vorzunehmen (42). Gerade bei neuen Substanzen ist dies sinnvoll, um neben der Erfassung der Haardichte auch die Wirkung auf das Haarwachstum, der Anzahl anagener und telogener Haare, zu erfassen. Um optimale Behandlungsergebnisse in der Therapie der AGA zu erzielen, sollte eine Normalisierung der Rate ausfallender, telogener Haare und eine Verbesserung der Rate von Terminalhaaren angestrebt werden, um insgesamt das Haarvolumen zu stabilisieren und zu verbessern.

Zur standardisierten, videounterstützten Erfassung von Haaren werden für Bildanalyse des TrichoScans analog der Hair Metrix-Methode die Haare gefärbt. Die Ergebnisse lassen sich nicht mit in früheren Studien verwendeten, konventionellen Methoden ohne Haarfärbung vergleichen, dennoch haben neuere Methoden wie TrichoScan- oder Hair Metrix-Verfahren bereits Einzug in das moderne Studiendesign erhalten. Vorteil beider Methoden ist es, dass durch die Haarfärbung und die so erzielte Kontrastverstärkung alle Haare in gleicher Weise sichtbar gemacht werden können und durch die Ermittlung des Haardurchmessers automatisch Terminalhaare von Vellushaaren unterschieden werden können. Diese Techniken zeichnen sich neben guter Reproduzierbarkeit auch durch eine einfache Handhabung aus und ermöglichen, die Effekte von Substanzen auf verschiedene trichologische Parameter zu generieren.

Die Effekte von Latanoprost auf die Haarpigmentierung wurden in der vorgestellten Studie nur visuell durch ein Expertengremium erfasst, allerdings durch Vorlage verblindeter Fotos. Für zukünftige Studien wäre ein Verfahren sinnvoll, welches unter standardisierten Lichtverhältnissen die Haarfarbe colorimetrisch erfasst.

Zur Erfassung des Effekts eines neuen Moleküls ist die Festlegung der Messzeitpunkte von Bedeutung, um den Beginn und die Steigerung der Wirkung auf die trichologischen Parameter einzugrenzen werden. Basierend auf unseren Ergebnissen könnten zukünftig die Messzeitpunkte in größeren Abständen terminiert werden, um neben dem Wirkungsbeginn die langfristige Wirkung und Verträglichkeit von Latanoprost zu untersuchen. Ebenso kann die Lokalisation der Minizonen verändert oder um weitere ergänzt werden. Die Minizonen wurden in dieser Studie in der fronto-temporalen Region festgelegt. Für zukünftige Studien können aufgrund des Haarausfallsmusters bei AGA zusätzlich Minizonen im Vertex oder hoch-occipitalen Bereich festgelegt werden. Des Weiteren erscheint eine Kombination der Minizonen-Technik mit anderen Methoden, wie der Hair Metrix-Methode, möglich.

Die Ergebnisse dieser Studie eröffnen eine neue Substanzgruppe, die Prostaglandin-Analoga, als zukünftige Kandidaten für die Behandlung der AGA. Weitere Studien könnten die Beeinflussung des Haarwachstums durch die topische Anwendung von Latanoprost untersuchen, welche nicht nur für die Thera-

pie der AGA sondern möglicherweise auch bei anderen Haarerkrankungen von Bedeutung sein könnten.

Das Minizonen-Modell kann als neues, innovatives Modell in der Erforschung neuer Therapiestrategien bei Haarerkrankungen verstanden werden, mit welchem die intraindividuelle, placebokontrollierte, verblindete Testung von Kandidatenmolekülen standardisiert möglich ist.

4.2. Stellenwert der optischen Kohärenztomographie in Diagnostik und Therapie von Haarerkrankungen

Die Morphologie des Haarschafts wird entscheidend durch seine Form und Dicke charakterisiert, welche je nach Körperregion und ethnischer Herkunft variiert (41). Genetische Mutationen, wie z.B. im Bereich des Clusters der Haarkeratine, können zu einer Störung des Keratinfilamentnetzwerks führen (1). Im Rahmen von Genotrichosen können auf diese Weise verschiedene, morphologische Veränderungen des Haarschafts entstehen, welche mit einer erhöhten Brüchigkeit von Haaren einhergehen (12). Da der Haarfollikel von einem dichten kapillaren Netzwerk umgeben wird, ist es nachvollziehbar, dass metabolische Noxen die Struktur des Haarschafts beeinflussen können. Toxische Substanzen, Medikamente, eine ernährungsbedingte Unterversorgung oder chronische Entzündungen wirken sich je nach Intensität direkt auf Zellproliferation und das Haarwachstum aus. Dieser Effekt vollzieht sich in der Regel, analog der Beau-Reil-Nagelfurchen, mit einer Verdünnung des Haares, wodurch man Rückschlüsse auf den Beginn und die Dauer der Noxe schließen kann (27).

Die konventionellen, diagnostischen Methoden zur Bestimmung des Haardurchmessers mittels Lichtmikroskopie beinhalten das Entfernen von Haaren und das anschließende vertikale oder horizontale Einbetten. Diese invasiven Methoden sind zeitaufwändig und störanfällig, zumal sie von der Ausbildung und Erfahrung des Untersuchers abhängig sind. Die optische Kohärenztomographie beruht auf einem Ultraschall-ähnlichem Verfahren, wodurch sich nicht nur der Haardurchmesser sondern auch die Haarform nicht-invasiv und in vivo messen lassen. In der vorgestellten Studie wurden die konventionellen Methoden zur Bestimmung des Haardurchmessers mit der OCT-Methode verglichen.

Hierfür wurden die Haare nach der Anwendung der OCT für die Längs- oder die horizontale Einbettung verwendet. Im Gegensatz zur OCT-Technik beruht die Berechnung des Haardurchmessers in der Längseinbettung auf der Annahme, dass ein Haar eine runde und nicht eine elliptische Form besitzt. Es stellte sich heraus, dass die Berechnung des Haardurchmessers mit der Längseinbettung eine deutlich höhere Standardabweichung im Vergleich zur OCT und horizontalen Einbettung hatte. Die OCT-Methode eignet sich aufgrund ihrer guten Reproduzierbarkeit und nicht-invasiven Anwendung *in vivo* sowohl für die Diagnostik von Veränderungen der Haarstruktur im Rahmen von Haarerkrankungen bei Kindern und Erwachsenen als auch für die Überwachung der Therapie. Dieses Verfahren bietet auch die Möglichkeit metabolische Störungen der Haarstruktur, welche durch systemische Erkrankungen, Medikamente oder Drogen verursacht werden, zu erkennen und klinisch einzuordnen (27). Da das Haar im Mittel ca. 1 cm pro Monat wächst, könnte die nicht-invasive Bestimmung des Haardurchmessers in der Diagnostik und Verlaufskontrolle von verschiedenen metabolischen Erkrankungen und möglicherweise auch für das Screening von Medikamenten herangezogen werden (27). Insgesamt eröffnet sich für die OCT-Methodik ein sehr breites Anwendungsgebiet.

Im Rahmen der trichologischen Diagnostik wurde die Berechnung des Haardurchmessers oder die Bestimmung der Haarform mit den konventionellen Methoden vorwiegend zur differenzialdiagnostischen Einordnung bei Genotrichosen oder erworbenen Haarschaftanomalien eingesetzt (1;12). Die OCT-Methode bietet die Möglichkeit, auch bei anderen Haarerkrankungen die Haarform und den Haardurchmesser zu berechnen, um sie als Kriterium in die Diagnostik einzubeziehen. Aufgrund der nicht-invasiven Methodik lassen sich mittels OCT Veränderungen der Haarstruktur über einen definierten Zeitraum beobachten, was für das Verständnis in der Pathogenese von Haarerkrankungen und auch für die Beurteilung von therapeutischen Effekten hilfreich sein könnte.

Typischerweise treten bei der Alopecia areata im Bereich klinisch aktiver Herde morphologische Veränderungen der Haarstruktur auf, welche sich klinisch als Ausrufezeichen-Haare und Kaliberschwankungen einzelner Haare manifestieren (55). Die kurzen Ausrufezeichen-Haare sind durch eine distale Verschmälerung und Aufsplitterung des Haarschafts charakterisiert. Klinische Entzündungszeichen an der Haut sind nicht sichtbar; dennoch findet man in der mikro-

skopischen Begutachten von Biospien aus alopezischen Herden ein perifollikuläres und intrafollikuläres, lymphozytäres Infiltrat, welches sich Bienenschwarm-artig um anagene Haarfollikel anordnet. Man vermutet, dass diese perifollikuläre Entzündung neben einer Verkürzung und Unterbrechung der Anagenphase eine Verdünnung des Haarschafts verursacht (55).

In der vorgestellten Studie wurde erstmalig die Haarstruktur bei Patienten AA in vivo mittels OCT untersucht. Durch die Bestimmung des Haardurchmessers (cross-section, CS) und der Haarform (form factor, FF) konnte an Haaren aus klinisch unbetreffener Kopfhaut eine inter-individuelle Variabilität deutlich gemacht werden, wobei die Haare eines Probanden aus klinisch unbetreffenen Arealen gut vergleichbare Haardurchmesser aufwiesen. Im Vergleich zu diesen Arealen war der CS in klinisch betroffenen Arealen signifikant geringer. Mit der OCT-Methode konnte in vivo nachgewiesen werden, dass sich der Haardurchmesser in aktiven AA-Herden insgesamt verringert. Man vermutet, dass sich aus den so vorgeschädigten Haaren im Verlauf Ausrufezeichen-Haare entwickeln können, in dem der Haarschaft bricht, das distale Ende aufsplittert und der craniale Anteil im Haarfollikel verbleibt (55;56). Die Ergebnisse der vorgestellten Studie zeigen, dass die typischen Veränderungen der Haarstruktur bei Patienten mit AA mittels OCT an einer größeren Anzahl und auf praktikable Weise im Gegensatz zu den konventionellen Methoden quantifiziert werden kann. Daher bietet sich die OCT für die differenzialdiagnostische Abgrenzung zu anderen Alopezieformen insbesondere bei Kindern an, bei welchen die Epilation von Haaren aufgrund der Schmerzhaftigkeit häufig nicht durchgeführt wird. Zudem könnte die OCT in Rahmen von Studien zu Evaluierung der verschiedenen therapeutischen Strategien bei AA eingesetzt werden, da sich über einen längeren Zeitraum die Auswirkungen einer Therapie auf die Haarschaftdicke messen lassen. Die OCT könnte die bisher im Rahmen von Studie empfohlenen klinischen Skalen zur Berechnung des alopezischen Fläche als eine objektive, reproduzierbare in vivo Methode ergänzen. Für die Entwicklung zukünftiger evidenz-basierten Therapieempfehlungen bei AA sind neben klinischen Klassifikationen neue Methoden wünschenswert, welche helfen, die individuellen Verläufe der AA zu berücksichtigen. Ebenso könnte die OCT zur prognostischen Beurteilung der AA im Rahmen frühzeitiger Erkennung von

Haarschaftveränderungen herangezogen werden, da der Haardurchmesser vermutlich mit dem weiteren Krankheitsverlauf korrelierbar ist (33).

Zukünftig könnten mittels OCT therapeutische Effekte direkt an den betroffenen Haarschäften und an wachsenden Haaren nachvollzogen werden. Neben der AA eröffnet sich aufgrund der Erkenntnisse dieser Studien eine Vielzahl von möglichen trichologischen Erkrankungen, in welchen die OCT ihren Einsatz finden könnte.

Bisher gab es auf dem vielschichtigen Gebiet der Haarerkrankungen wenige Therapie-Studien, in denen Methoden angewendet werden, die vergleichbare und quantitative Endpunkte haben (14;17;57). In den vorgestellten Studien wurden verschiedene Methoden zur Ermittlung trichologischer Parameter verwendet, um die Wirkweise von Substanzen in der Behandlung von Haarerkrankungen besser vergleichbar und standardisierbar zu machen. Die Minizonen-Methode an der Kopfhaut und das Penetrationsmodell bieten die Möglichkeit einerseits die Effektivität von Kandidatenmolekülen und andererseits das Penetrationsverhalten von topischen Therapeutika in vivo am Menschen zu untersuchen. Die vorgestellten Techniken, wie TrichoScan-, Hair Metrix- und OCT-Methode, erweitern das Spektrum der Diagnostik und Therapie von Haarerkrankungen durch die standardisierte, nicht-invasive Erfassung von trichologischen Zielparametern. Die vorgestellten neuen Methoden sind für Haarerkrankungen wie der AGA und der AA als innovative Messmethoden zur Beurteilung des therapeutischen Effektes gerade in den Zeiten der evidenzbasierten Medizin zu fordern. Hierbei bietet die OCT eine Methode, welche es erlaubt langfristig einen Therapieverlauf anhand einer nicht-invasiven Haaranalyse zu beurteilen. Neben der OCT-Technik könnten die TrichoScan- und Hair Metrix-Methode bei Kindern mit Haarerkrankungen im Rahmen der Diagnostik und Kontrolle des therapeutischen Verlaufs Verwendung finden. Die neuen Technologien könnten so das Verständnis für die Pathogenese, Klinik und Therapie der verschiedenen Haarerkrankungen bei Kindern und Erwachsenen verbessern. Gerade die konventionellen Methoden sind häufig invasiv und zeitaufwändig und sind daher für die Anwendung an Kindern nicht sinnvoll. Die vorgestellten Messmethoden zeichnen sich durch gute Reproduzierbarkeit, hohen Standard

und nicht-invasive Methodik aus und generieren quantifizierbare, vergleichbare trichologischer Parameter.

5. Zusammenfassung

Um die Vergleichbarkeit für zukünftige Studien zu gewährleisten, eröffnet sich durch die neue Modelle und Methoden ein breites Spektrum zur gezielten Bestimmung trichologischer Parameter. Dies wird in den aktuellen Studien durch die praktische Anwendung verdeutlicht. Die Methoden eignen sich, um gezielt die verschiedenen trichologischen Parameter nicht nur in kleinen Kollektiven sondern auch in großen, multizentrischen Studien zu untersuchen. Die Untersuchung der Wirkweise von Substanzen auf das Haarwachstum setzt die Kenntnis der verschiedenen Methoden und deren Zielparameter voraus. Wichtig ist es gerade bei langfristigen Studien, welche beim Wirkungsnachweis in der Trichologie aufgrund des langsamen Haarzyklus sinnvoll sind, einfach und gut reproduzierbare Methoden anzuwenden. Diese sollten, je nach Fragestellung, die Unterscheidung von Vellus- und Terminalhaaren, von Anagen- und Telogenhaaren sowie die Berechnung der Haardichte zulassen. Hierfür bieten sich die TrichoScan- und die Hair Metrix-Methode in vergleichbarer Weise an. Daneben sollten zusätzlich standardisierte, makroskopische Beurteilungen des Haarvolumens und der Haarfarbe erfolgen, um die gemessenen Parameter in Relation zum sichtbaren Effekt setzen zu können. Zusätzlich spielt die Patientenzufriedenheit gerade in Behandlung von Haarerkrankungen eine wichtige Rolle, da ein längerfristiges Effluvium und die daraus resultierende Alopezie bei den Betroffenen häufig zu großem Leidensdruck und deutlichen psychosozialen Konflikten führen. Daher erscheint es sinnvoll, neben der Beurteilung durch den Untersucher auch die Bewertung des Probanden in die Methodik einzubinden. Für die Generierung von neuen Substanzen zur Behandlung von Haarerkrankungen ist es sinnvoll, diese zunächst an kleinen Kollektiven zu untersuchen. Hierfür eignet sich die erstmalig, an der behaarten Kopfhaut, vorgestellte Minizonen-Technik, welche die Ermittlung von trichologischen Parametern unter Anwendung von Verum und Placebo an einem Probanden ermöglicht. Auf diese Weise erscheint die intraindividuelle Testung von Kandidatenmolekülen in der Therapie von Haarerkrankungen zukünftig besser möglich. Gerade für die Ermittlung von trichologischen Daten auf einer kleinen Fläche und an einem kleinen Probandenkollektiv ist die Auswahl einer Messmethode wichtig, welche wie die TrichoScan- oder Hair Metrix-Methode reproduzierbare Ergebnisse

liefern, um möglichst exakt die notwendigen Ziel-Parameter zu ermitteln. Ein weiterer Vorteil der in den Studien verwendeten Modelle ist, dass die Methoden zur Ermittlung der Vielzahl an trichologischen Parameter nicht-invasiv sind. Dies ist nicht nur wichtig für die Compliance der Probanden sondern implementiert auch ihre zukünftige, routinemäßige Anwendung in der Diagnostik und der Kontrolle des Therapieverlaufs während der ambulanten Behandlung in standardisiert festgelegten, vergleichbaren Untersuchungsarealen.

Abkürzungsverzeichnis

AA	Alopecia areata
AGA	Androgenetische Alopzie
CS	cross-section, Haardurchmesser
FF	form factor, Haarform
OCT	optische Kohärenztomographie
TAHC	Nicht-Vellushaardichte = non-vellus target area hair count
TAHW	kumulative Nicht-Vellushaardicke = non-vellus target area hair cumulative hair width
TG	Trichogramm
TS	TrichoScan [®]
VEGF	vaskulärer, endothelialer Wachstumsfaktor

Literaturangaben

1. A. Mleczko, Bartels N. Garcia, C. Kahl, and U. Blume-Peytavi. [Hair loss or pseudo hair loss]. *J.Dtsch.Dermatol Ges.* 5 (11):1031-1033, 2007.
2. U. Blume-Peytavi and A. Vogt. Current standards in the diagnostics and therapy of hair diseases - hair consultation. *J.Dtsch.Dermatol.Ges.* 9 (5):394-410, 2011.
3. K. Hillmann and U. Blume-Peytavi. Diagnosis of hair disorders. *Semin.Cutan.Med.Surg.* 28 (1):33-38, 2009.
4. A. Vogt, N. Mandt, J. Lademann, H. Schaefer, and U. Blume-Peytavi. Follicular targeting--a promising tool in selective dermatotherapy. *J.Investig.Dermatol.Symp.Proc.* 10 (3):252-255, 2005.
5. N. Mandt, B. Almond-Roesler, and U. Blume-Peytavi. Häufige Haarkrankheiten. In: *Therapie der Hautkrankheiten*, edited by CE Orfanos and C Garbe, Berlin, Heidelberg, New York:Springer, 2002, p. 1396-1422.
6. K. H. Safavi, S. A. Muller, V. J. Suman, A. N. Moshell, and L. J. Melton, III. Incidence of alopecia areata in Olmsted County, Minnesota, 1975 through 1989. *Mayo Clin.Proc.* 70 (7):628-633, 1995.
7. T. Kakourou, K. Karachristou, and G. Chrousos. A case series of alopecia areata in children: impact of personal and family history of stress and autoimmunity. *J.Eur.Acad.Dermatol.Venereol.* 21 (3):356-359, 2007.
8. S. P. MacDonald Hull, M. L. Wood, P. E. Hutchinson, M. Sladden, and A. G. Messenger. Guidelines for the management of alopecia areata. *Br.J.Dermatol.* 149 (4):692-699, 2003.

9. V. Pecoraro, I. Astore, J. Barman, and C. IGNACIOARAUJO. The normal trichogram in the child before the age of puberty. *J.Invest Dermatol.* 42:427-430, 1964.
10. M. J. Scott. Cutaneous reactions to embedded extraneous hair. *AMA.Arch.Derm.* 76 (1):39-42, 1957.
11. U. Blume-Peytavi, K. Hillmann, and M. Guarrera. Hair Growth and Assessment Techniques. In: *Hair Growth and Disorders*, edited by U. Blume-Peytavi, A. Tosti, D. Whiting, and R. Trüeb, Berlin, Heidelberg:Springer Medizin Verlag, 2010, p. 125-157.
12. U. Blume-Peytavi and N. Mandt. Hair shaft abnormalities. In: *Atlas of Hair and Nails*, edited by M. Hordinsky and M. Scher S. Sawaya, Philadelphia:Churchill Livingstone, 1999, p. 105-119.
13. D. M. Elston, M. L. McCollough, and V. L. Angeloni. Vertical and transverse sections of alopecia biopsy specimens: combining the two to maximize diagnostic yield. *J.Am.Acad.Dermatol.* 32 (3):454-457, 1995.
14. V. H. Price, E. Menefee, and P. C. Strauss. Changes in hair weight and hair count in men with androgenetic alopecia, after application of 5% and 2% topical minoxidil, placebo, or no treatment. *J.Am.Acad.Dermatol.* 41 (5 Pt 1):717-721, 1999.
15. E. A. Olsen, F. E. Dunlap, T. Funicella, J. A. Koperski, J. M. Swinehart, E. H. Tschen, and R. J. Trancik. A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J.Am.Acad.Dermatol.* 47 (3):377-385, 2002.
16. D. Canfield. Photographic documentation of hair growth in androgenetic alopecia. *Dermatol.Clin.* 14 (4):713-721, 1996.
17. R. Hoffmann. TrichoScan: Ein neues Werkzeug für die digitale Haarzählung. *Hautarzt* 53:798-804, 2002.

18. M. Chen, X. Liu, and A. Fahr. Skin penetration and deposition of carboxyfluorescein and temoporfin from different lipid vesicular systems: In vitro study with finite and infinite dosage application. *Int.J.Pharm.* 408 (1-2):223-234, 2011.
19. I. Hanno, C. Anselmi, and K. Bouchemal. Polyamide Nanocapsules and Nano-emulsions Containing Parsol(R) MCX and Parsol(R) 1789: In Vitro Release, Ex Vivo Skin Penetration and Photo-Stability Studies. *Pharm.Res.*, 2011.
20. T. Gratieri, U. F. Schaefer, L. Jing, M. Gao, K. H. Kostka, R. F. Lopez, and M. Schneider. Penetration of quantum dot particles through human skin. *J.Biomed.Nanotechnol.* 6 (5):586-595, 2010.
21. X. J. Xing, L. Yang, Y. You, B. Y. Zhong, Q. H. Song, J. Deng, and F. Hao. Study of the biological function and penetration pathways of the mouse epidermal growth factor ethosomal delivery system. *Exp.Dermatol.* 20 (11):945-947, 2011.
22. T. Gambichler, V. Jaedicke, and S. Terras. Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects. *Arch.Dermatol.Res.* 303 (7):457-473, 2011.
23. E. A. Olsen, D. Whiting, W. Bergfeld, J. Miller, M. Hordinsky, R. Wanser, P. Zhang, and B. Kohut. A multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of a novel formulation of 5% minoxidil topical foam versus placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J.Am.Acad.Dermatol.* 57 (5):767-774, 2007.
24. A. Blumeyer, A. Tosti, A. Messenger, P. Reygagne, V. del Marmol, P. I. Spuls, M. Trakatelli, A. Finner, F. Kiesewetter, R. Trüeb, B. Rzany, and U. Blume-Peytavi. Evidence-based (S3) Guideline for the Treatment of Androgenetic Alopecia in Women and in Men. *J.Dtsch.Dermatol.Ges.* 9 Suppl 6:1-57, 2011.

25. J. E. Grice, S. Ciotti, N. Weiner, P. Lockwood, S. E. Cross, and M. S. Roberts. Relative uptake of minoxidil into appendages and stratum corneum and permeation through human skin in vitro. *J.Pharm.Sci.* 99 (2):712-718, 2010.
26. T. Demitsu, M. Manabe, N. Harima, T. Sugiyama, K. Yoneda, and N. Yamada. Hypertrichosis induced by latanoprost. *J.Am.Acad.Dermatol.* 44 (4):721-723, 2001.
27. J. Lademann, J. Shevtsova, A. Patzelt, H. Richter, N. D. Gladkova, V. M. Gelikonov, S. A. Gonchukov, W. Sterry, A. M. Sergeev, and U. Blume-Peytavi. Optical coherent tomography for in vivo determination of changes in hair cross section and diameter during treatment with glucocorticosteroids--a simple method to screen for doping substances? *Skin Pharmacol.Physiol* 21 (6):312-317, 2008.
28. E. A. Olsen, M. K. Hordinsky, V. H. Price, J. L. Roberts, J. Shapiro, D. Canfield, M. Duvic, L. E. King, Jr., A. J. McMichael, V. A. Randall, M. L. Turner, L. Sperling, D. A. Whiting, and D. Norris. Alopecia areata investigational assessment guidelines--Part II. National Alopecia Areata Foundation. *J.Am.Acad.Dermatol.* 51 (3):440-447, 2004.
29. A. K. Gupta, C. N. Ellis, K. D. Cooper, B. J. Nickoloff, V. C. Ho, L. S. Chan, T. A. Hamilton, D. C. Tellner, C. E. Griffiths, and J. J. Voorhees. Oral cyclosporine for the treatment of alopecia areata. A clinical and immunohistochemical analysis. *J Am.Acad.Dermatol* 22 (2 Pt 1):242-250, 1990.
30. E. A. Olsen. Topical and systemic corticosteroids in alopecia areata. *Australian J.Dermatol.* 38 (2):242-250, 1997.
31. M. C. Wiseman, J. Shapiro, N. MacDonald, and H. Lui. Predictive model for immunotherapy of alopecia areata with diphencyprone. *Arch.Dermatol* 137 (8):1063-1068, 2001.

32. E. A. Olsen. Investigative guidelines for alopecia areata. *Dermatol Ther.* 24 (3):311-319, 2011.
33. S. Inui, T. Nakajima, and S. Itami. Coudability hairs: a revisited sign of alopecia areata assessed by trichoscopy. *Clin.Exp.Dermatol.* 35 (4):361-365, 2010.
34. U. Blume-Peytavi, A. Blumeyer, A. Tosti, A. Finner, V. Marmol, M. Trakatelli, P. Reygagne, and A. Messenger. S1 guideline for diagnostic evaluation in androgenetic alopecia in men, women and adolescents. *Br.J Dermatol* 164 (1):5-15, 2011.
35. C. E. Orfanos and L. Vogels. [Local therapy of androgenetic alopecia with 17 alpha-estradiol. A controlled, randomized double-blind study (author's transl)]. *Dermatologica* 161 (2):124-132, 1980.
36. G. Wozel, S. Narayanan, G. Jäckel, and A. Lutz. Alfatradiol (0.025%) - an Effective and Safe Therapy for the Treatment of Androgenetic Alopecia in Women and Men. *Akt Dermatol* 31 (12):553-560, 2005.
37. H. Wustner and C. E. Orfanos. [Alopecia androgenetica and its local treatment with estrogen- and corticosteroid externa]. *Z.Hautkr.* 49 (20):879-888, 1974.
38. A. W. Lucky, D. J. Piacquadio, C. M. Ditre, F. Dunlap, I. Kantor, A. G. Pandya, R. C. Savin, and M. D. Tharp. A randomized, placebo-controlled trial of 5% and 2% topical minoxidil solutions in the treatment of female pattern hair loss. *J.Am.Acad.Dermatol.* 50 (4):541-553, 2004.
39. R. L. Rietschel and S. H. Duncan. Safety and efficacy of topical minoxidil in the management of androgenetic alopecia. *J.Am.Acad.Dermatol.* 16 (3 Pt 2):677-685, 1987.
40. A. Saraswat and B. Kumar. Minoxidil vs finasteride in the treatment of men with androgenetic alopecia. *Arch.Dermatol.* 139 (9):1219-1221, 2003.

-
41. A. Vogt and U. Blume-Peytavi. [Biology of the human hair follicle. New knowledge and the clinical significance]. *Hautarzt* 54 (8):692-698, 2003.
 42. R. Hoffmann. TrichoScan: combining epiluminescence microscopy with digital image analysis for the measurement of hair growth in vivo. *Eur.J.Dermatol.* 11 (4):362-368, 2001.
 43. R. Hoffmann. Trichoscan: what is new? *Dermatology* 211 (1):54-62, 2005.
 44. S. Tata, N. Weiner, and G. Flynn. Relative influence of ethanol and propylene glycol cosolvents on deposition of minoxidil into the skin. *J.Pharm.Sci.* 83 (10):1508-1510, 1994.
 45. N. Otberg, A. Teichmann, U. Rasuljev, R. Sinkgraven, W. Sterry, and J. Lademann. Follicular penetration of topically applied caffeine via a shampoo formulation. *Skin Pharmacol.Physiol* 20 (4):195-198, 2007.
 46. J. Lademann, H. J. Weigmann, S. Schanzer, H. Richter, H. Audring, C. Antoniou, G. Tsikrikas, H. Gers-Barlag, and W. Sterry. Optical investigations to avoid the disturbing influences of furrows and wrinkles quantifying penetration of drugs and cosmetics into the skin by tape stripping. *J.Biomed.Opt.* 10 (5):054015, 2005.
 47. E. Benfeldt. In vivo microdialysis for the investigation of drug levels in the dermis and the effect of barrier perturbation on cutaneous drug penetration. Studies in hairless rats and human subjects. *Acta Derm.Venereol.Suppl (Stockh)* 206:1-59, 1999.
 48. A. Sommer, G. W. Lucassen, A. J. Houben, and M. H. Neumann. Vasoconstrictive effect of topical applied corticosteroids measured by laser doppler imaging and reflectance spectroscopy. *Microvasc.Res.* 65 (3):152-159, 2003.

-
49. Y. Y. Grams and J. A. Bouwstra. Penetration and distribution of three lipophilic probes in vitro in human skin focusing on the hair follicle. *J.Control Release* 83 (2):253-262, 2002.
 50. U. Blume-Peytavi and A. Vogt. Human hair follicle: reservoir function and selective targeting. *Br.J Dermatol* 165 Suppl 2:13-17, 2011.
 51. J. Lademann, F. Knorr, H. Richter, U. Blume-Peytavi, A. Vogt, C. Antoniou, W. Sterry, and A. Patzelt. Hair follicles--an efficient storage and penetration pathway for topically applied substances. Summary of recent results obtained at the Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology, Charite -Universitätsmedizin Berlin, Germany. *Skin Pharmacol.Physiol* 21 (3):150-155, 2008.
 52. A. Teichmann, U. Jacobi, M. Ossadnik, H. Richter, S. Koch, W. Sterry, and J. Lademann. Differential stripping: determination of the amount of topically applied substances penetrated into the hair follicles. *J.Invest Dermatol* 125 (2):264-269, 2005.
 53. R. Marks and R. P. Dawber. Skin surface biopsy: an improved technique for the examination of the horny layer. *Br.J.Dermatol* 84 (2):117-123, 1971.
 54. M. A. Johnstone. Hypertrichosis and increased pigmentation of eyelashes and adjacent hair in the region of the ipsilateral eyelids of patients treated with unilateral topical latanoprost. *Am.J.Ophthalmol.* 124 (4):544-547, 1997.
 55. P. Freyschmidt-Paul, K. McElwee, and R. Hoffmann. Alopecia Areata. In: *autoimmune diseases of the skin: pathogenesis, diagnosis, management*, edited by M. Hertl, Wien, New York:Springer, 2005, p. 385-420.
 56. U. Runne. Alopecia Areata. In: *Haar und Haarkrankheiten*, edited by C. E. Orfanos, New York, Stuttgart:Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1979, p. 529-531.

57. D. J. Van Neste. Contrast enhanced phototrichogram (CE-PTG): an improved non-invasive technique for measurement of scalp hair dynamics in androgenetic alopecia--validation study with histology after transverse sectioning of scalp biopsies. *Eur.J.Dermatol.* 11 (4):326-331, 2001.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Wolfram Sterry, Direktor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin, danke ich besonders für seine stete, wohlwollende Unterstützung meines ärztlich-wissenschaftlichen Werdegangs und den gewährten Freiraum für meine wissenschaftliche Arbeit.

Meine große Dankbarkeit gilt besonders Frau Prof. Dr. Ulrike Blume-Peytavi, Direktorin des Clinical Research Center for Hair and Skin Science (CRC) und leitende Oberärztin an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie. Seit Beginn meiner ärztlichen Laufbahn hat sie mich mit ihren Ideen und Visionen zu ärztlichem und wissenschaftlichem Arbeiten motiviert. Neben ihrer unerschöpflichen Energie und ihrem Humor, welche stets unsere wissenschaftlichen Diskussionen begleiteten, brachte sie mir ihr kontinuierliches Vertrauen entgegen. Im Rahmen ihrer Mentorenschaft erfuhr ich eine individuelle und nachhaltige Förderung meiner beruflichen Entwicklung, für die ich sehr dankbar bin.

Herrn Prof. Dr. Thorsten Zuberbier, Co-Direktor der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, und Frau Dr. Zuberbier danke ich sehr für die umfassende allergologische Ausbildung und die stete Bereitschaft klinisch-wissenschaftliche Fragestellungen zu erörtern.

Herrn Prof. Dr. Constantin Orfanos, ehem. Direktor der Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Universitätsklinikum Benjamin Franklin der FU Berlin, bin ich besonders dankbar für die fundierte und strukturierte klinische Ausbildung zur Fachärztin für Dermatologie und für seine Anregung zu kritischem Denken.

Herrn Prof. Dr. Roland Wauer und Herrn Dr. Hans Proquitté, Klinik für Neonatologie CCM, danke ich besonders für die gute und anregende klinisch-wissenschaftliche Kooperation im Rahmen unserer kinderdermatologischen Forschungsprojekte.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Jürgen Lademann, seinen Mitarbeitern, sowie Frau Dr. Alexa Patzelt, Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology, für die konstruktive und nette Zusammenarbeit zur Entwicklung innovativer Methoden.

Herrn Prof. Dr. Peter Martus, sowie seinen Mitarbeitern, und Frau Andrea Stroux, Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie, danke ich für ihre Unterstützung, unsere Projekte korrekt und mit hohem Anspruch statistisch zu planen und auszuwerten.

Ich bin Frau Prof. Dr. Helga Albrecht-Nebe, Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, besonders dankbar für ihre stets aufmunternde, sympathische und interessierte Art, mit der sie mir begegnete.

Besonders dankbar bin ich Frau Priv. Doz. Dr. Annika Vogt, CRC, für ihre seit vielen Jahren währende freundschaftliche Verbundenheit.

Frau Hannelore Thomas, CRC, danke ich für ihre Hilfsbereitschaft, die hilfreichen Einblicke in ihre Ordnung und für ihren Humor, mit dem sie das CRC erhellte.

Bei Frau Giga Hallbauer, CRC, bedanke ich mich für ihre ruhige Art, mit der sie mich aufmunterte, mich von meinen Wörtern zu trennen, um auf die gewünschte Wortzahl der Artikel zu kommen („kill your darlings“).

Frau Sanna Lönnfors, CRC, bin ich dankbar für die sprachliche Korrektur meiner Arbeiten.

Außerdem bedanke ich mich bei den Ärzten und Mitarbeitern im CRC und in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, welche mir ihre Freundlichkeit und ihr Vertrauen entgegenbrachten.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der Hab=Med der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde.
- Die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- Mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Datum

Unterschrift