

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

DISSERTATION

Optische Kohärenztomografie zur präoperativen Evaluation  
bei nicht melanozytären Hauttumoren

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Seyed Arash Alawi

aus Teheran/ Iran

Datum der Promotion: 05.12.2014

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>I. Zusammenfassung</b> .....	<b>1-19</b>
1. Abstrakt/ Abstract .....	1-3
1.1 Deutsches Abstrakt.....	1
1.2 English Abstract.....	2
2. Einleitung .....	4-8
2.1 Zielsetzung der Arbeiten.....	7
3. Material und Methodik .....	9-11
3.1 OCT-Geräte .....	9
3.2 Histologie .....	9
3.3 Die praktische Anwendbarkeit von OCT zur präoperativen Tumorgrenzbestimmung bei nicht melanozytären Hauttumoren (NMSC).....	10
3.4 Korrelation von OCT und Histologie beim Mikrozystischen Adnexkarzinom .....	10
3.5 Evaluation von OCT als nicht invasiv diagnostisches Mittel bei der chronischen Wundheilung .....	10
3.6 In-vivo Optimierung der Scan-Tiefe für OCT durch eudermie Agenzien auf Leisten- und Felderhaut .....	11
4. Ergebnisse.....	12-15
4.1 Die praktische Anwendbarkeit von OCT zur präoperativen Tumorgrenzbestimmung bei nicht melanozytären Hauttumoren (NMSC).....	13
4.2 Korrelation von OCT und Histologie beim Mikrozystischen Adnexkarzinom .....	14
4.3 Evaluation von OCT als nicht invasiv diagnostisches Mittel bei der chronischen Wundheilung .....	14
4.4 In-vivo Optimierung der Scan-Tiefe für OCT durch eudermie Agenzien auf Leisten- und Felderhaut .....	15
5. Diskussion .....	16-18
6. Referenzen .....	19
<b>II. Eidesstattliche Versicherung</b> .....	<b>20</b>
<b>III. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen</b> .....	<b>21-22</b>
<b>IV. Publikationen</b> .....	<b>23</b>
<b>V. Lebenslauf</b> .....	<b>24</b>
<b>VI. Komplette Publittkationsliste</b> .....	<b>25</b>
<b>VII. Danksagung</b> .....	<b>26</b>

## **I. Zusammenfassung**

In dieser Publikationspromotion werden die Ergebnisse aus vier Veröffentlichungen zusammenfassend dargestellt. Rechtsgrundlage ist die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin vom 03.12.2012.

### **1. Abstrakt/ Abstract**

#### **1.1 Deutsches Abstrakt**

**Hintergrund:** Optische Kohärenztomografie (OCT) ist ein optisches Verfahren zur Darstellung von oberflächlichen, anatomischen Strukturen basierend auf dem Prinzip der Michelson Interferometrie. Es erlaubt die In-vivo- und Echtzeitmessung von Gewebe bis zu 2 mm Eindringtiefe. Im klinischen Gebrauch kann die OCT für die nicht invasive Diagnose von nicht melanozytären Hauttumoren (NMSC) und insbesondere für die präoperative Bestimmung von Tumorgrenzen sinnvoll sein. Durch die OCT könnte die Erfolgsrate für R0-Resektionen erhöht und des Weiteren durch kontrollierte Grenzbestimmung gesundes Gewebe vor der Exzision bewahrt werden.

**Zielsetzung:** Das Ziel der nachfolgenden Arbeiten ist es, den diagnostischen Wert, die Praktikabilität und die Technik zur Tumorgrenzbestimmung bei NMSC zu beurteilen, morphologische Kriterien für das Mikrozystische Adnexkarzinom (MAC) zu beschreiben und überdies die Beurteilung von morphologischen Änderungen während des Wundheilungsprozesses zu evaluieren.

**Material und Methoden:** Durch OCT-Messungen wurden bei 18 Patienten, die zur Exzision geplant waren, die Tumorgrenzen von 19 Läsionen präoperativ definiert und durch die Ex-vivo Markierung unter dem Mikroskop auf Tumorfreiheit untersucht. Für die Beschreibung des MAC wurde die zentrale Region der Läsion analysiert und retrospektiv mit der Histologie korreliert. Zur Beurteilung des Wundheilungsprozesses wurden 6 Patienten mit chronischer Wundheilungsstörung objektiv durch OCT über einen Zeitraum von 2 Wochen untersucht. Für die Optimierung der Scan-Qualität wurde je ein gesundes Hautareal bei 10 Patienten mit hyperosmolaren Lösungen wie Glycerol oder Glukose behandelt und über einen Zeitraum von insgesamt 60 Minuten untersucht.

**Ergebnisse:** Es wurden 61 Grenzpunkte und 5 komplette Tumorgrenzen von 18 Patienten mit insgesamt 19 Läsionen analysiert. Von diesen waren 63% Basalzellkarzinome (n=12), 16% (n=3) Plattenepithelkarzinome und 21% (n=4) andere

Tumore wie Morbus Bowen (n=1), Aktinische Keratose (n=1), Seborrhoische Keratose (n=1) und einem Porom (n=1). In 84% der Fälle (n=16) waren die lateralen Grenzen In-sano, während die Tumorfreiheit in der Tiefe eine Rate von 95% erreichte. Die Tumorgrenzen des Operateurs unterschritten in keinem Fall die mit OCT-definierten Grenzen. Spezifische OCT-Charakteristika zeigten sich sowohl bei der Wundheilung als auch beim MAC. Eine Optimierung der Scan-Tiefe und Qualität konnte sowohl für Glukose als auch für Glycerol festgestellt werden.

**Schlussfolgerung:** Die nachfolgenden Studien zeigen, dass die Grenzen nicht melanozytärer Hauttumore effektiv mit OCT definiert werden können, ohne die Rate von R0-Resektionen zu reduzieren, und dass OCT-Kriterien für die Beschreibung von Tumorerläsionen wie dem MAC verwendbar sind. Zudem kann die OCT als potentielle nicht invasive Diagnostikmethode zum Monitoring von kutanen Wundheilungsprozessen dienen.

## 1.2 English Abstract

**Background:** In the clinical setting, Optical Coherence Tomography (OCT) can visualize superficial, anatomical structures with a scan depth of up to 2 mm based on Michelson interferometry and may in particular be used for margin definition prior to excision. In this regard, OCT may improve the success rate of removing tumor lesions more effectively, preventing repetitive excisions.

**Objective:** The purpose of the following work was to evaluate the feasibility of OCT for In-vivo pre-surgical margin assessment of non-melanocytic skin tumors (NMSC), to define specific criteria for MAC as well as to evaluate morphologic changes in the process of wound healing.

**Material and methods:** Based on OCT, specific tumor margins of 18 patients with a total number of 19 lesions planned for excision of lesions suspicious of NMSC preoperatively using different scanning modalities were defined. For the analysis of MAC multi-slice images were obtained from the central portion of the lesion. Correlation of OCT findings and histology was performed retrospectively. To determine, whether OCT is suited to display the phases of wound healing, 6 patients with chronic wounds were objectively characterized by OCT during a period of 2 weeks.

Finally, we investigated the increase of scan quality by using of hyperosmolar agents like Glycerol and Glucose on 10 patients and subsequent scans for 60 minutes.

**Results:** 61 margin points and 5 complete tumor margins were analyzed on 18 patients with a total of 19 lesions including 63% Basal Cell Carcinoma (BCC) (n=12), 16% (n=3) Squamous-cell carcinoma (SCC) and 21% of other types of skin tumors (n=4) that we classified as Morbus Bowen (n=1), Actinic Keratosis (n=1), Seborrheic Keratosis (n=1) and a Poroma (n=1). In 84% of the cases (n=16) the OCT-defined lateral margins correctly indicated complete removal of the tumor. The surgical margins chosen by the surgeon never fell below these OCT-defined margins. MAC as well as the wound healing process featured specific criteria in OCT covered by the same findings in histology. In addition, an optimization of scan depth and quality could be shown for both agents Glycerol and Glucose.

**Conclusion:** This study shows that suspected NMSC can effectively be confirmed and, furthermore, resection margin can be minimized under OCT control without reducing the rate of R0-resection. Criteria of MAC could be achieved, thus enabling prompt diagnosis before surgery. In addition OCT could be a potential non-invasive diagnostic tool for the characterization and monitoring of cutaneous wound healing processes over time.

## 2. Einleitung

Die Optische Kohärenztomografie (OCT) erlaubt durch eine Scan-Eindringtiefe von bis zu 2 mm eine gute Darstellung der oberflächlichen Haut- und Hautanhangsgebilde. Durch das optische Schnittbildverfahren können In-vivo und in Echtzeitmessung oberflächliche, anatomische Strukturen dargestellt werden. Die Bilderzeugung basiert auf dem Prinzip der Michelson-Interferometrie und produziert vertikale Aufnahmen mit einer lateralen Auflösung nahe der Histopathologie.

Die erste Applikation wurde 1991 von Huang et al. [1] beschrieben und für die Messung des Augendurchmessers verwendet. Neben der Etablierung in der Ophthalmologie als Routinediagnostik ist diese Methode zunehmend in anderen Fachbereichen wie der Dermatologie, Kardiologie, Gastroenterologie und der Chirurgie ein fester Bestandteil der Diagnostik geworden. Neben der Evaluierung von OCT für die Analyse von gesunder Haut und der Wundheilung ist die Diagnosestellung von Tumorgewebe und dessen Grenzbestimmung besonders interessant und wurde anfänglich 1997 zur Beschreibung von Tumoren der Mukosa untersucht. In bisherigen Studien konnten OCT-Charakteristika von Hauttumoren wie beispielsweise der Aktinischen Keratose, dem Plattenepithelkarzinom und dem Basalzellkarzinom gezeigt werden [2, 3].

In der klinischen Anwendung kann die OCT für die nicht invasive Diagnosestellung von Pathologien sinnvoll sein und insbesondere Tumore und ihre Grenzen präoperativ definieren. Die heutzutage verfügbare, schnelle Scantechnik erlaubt es große Areale oder Tumorgrenzen mit akzeptablem Zeitaufwand zu untersuchen. Wang et al. konnten die kontrollierte Exzision mittels OCT beim BCC aufzeigen, ohne dabei die Rate an R0-Resektionen zu senken [4]. Durch die In-vivo und Echtzeitmessung mit OCT könnte die Präzision der Exzision bei der Resektion von Hauttumoren erhöht werden und damit gesundes Gewebe eingespart und makroskopisch nicht sichtbares Tumorgewebe primär entfernt werden.

Des Weiteren besteht die Möglichkeit, Therapien, verdächtige Läsionen und Wundheilungsprozesse nicht invasiv über einen Zeitverlauf zu verfolgen. Trotz der Darstellbarkeit von verschiedenen Pathologien ist die Sensitivität und Spezifität zur Diagnosestellung und damit die Fähigkeit zur Differentialdiagnosestellung bisher nicht in größeren Untersuchungen festgestellt worden. Dies liegt sicherlich auch an bisher nicht spezifischen Diagnose-Scores, bei der die Ausprägung von Bildmorphologien objektiv beurteilt werden müssen. Mit den bisherigen, noch nicht standardisierten Kriterien ist es dennoch möglich, Gewebe als pathologisch zu identifizieren.

Neben der präoperativen Nutzung von OCT wurde auch die Möglichkeit der intraoperativen Anwendung beim Mammakarzinom in einer Untersuchung gezeigt [5].

Auch für seltene Hauttumoren wie dem Mikrozystischen Adnexkarzinom (MAC), welches ein seltener Subtyp des malignen Schweißdrüsenkarzinoms ist, müssen Kriterien für eine effiziente Diagnosestellung mit OCT beschrieben werden. Die zunehmende Inzidenz dieser Erkrankung wird in Korrelation mit Immunsuppression gebracht, welche durch fortschreitende Therapieoptionen mit Immunsuppressiva bei Transplantationen sowie immunologischen Erkrankungen an Bedeutung gewonnen hat [6]. Da die alleinige klinische Diagnosestellung oftmals schwierig ist, könnte die OCT eine präoperative Diagnosestellung noch vor der histologischen Diagnosesicherung erlauben.

Klinisch präsentiert sich ein MAC gehäuft bei Frauen im mittleren Alter als knotenförmige, im Kopf- und Halsbereich lokalisierter Tumor mit lokal aggressivem Wachstum und ohne Neigung zur Metastasierung. Goldstein et al. beschrieben das MAC 1982 nach den histologischen Eigenschaften mit Keratinzysten und verkümmerten Follikeln in der oberen Dermis mit desmoplastischen Stroma, Inseln und Strängen von kleinen basaloiden, gutartig erscheinenden Keratinzysten, welche keine zytologischen Atypien aufweisen [7]. Des Weiteren beschrieben sie dermale Bereiche mit einer Zunahme an duktalem Differenzierungen. Eine lokal weitreichende Exzision bei einem hohen Rezidivrisiko ist Therapie der Wahl, welches Martinez et al. gezeigt haben [8]. Diese weitreichenden Resektionen könnten durch eine nicht invasive Darstellung mit OCT unter bildgebender Kontrolle stattfinden und makroskopisch nicht sichtbares Tumorgewebe erkennbar machen und somit das Rezidivrisiko senken.

Die hohe Rate an klinischen und pathologischen Fehldiagnosen sowie die Problematik der sicheren Tumorgrenzbestimmung wurde in vorherigen Studien aufgezeigt, sodass die OCT auch als eine elegante Methode zum nicht invasiven Langzeit follow-up dienen könnte.

Neben der Tumordiagnostik spielt unter anderem die Problematik der Wundheilungsstörung klinisch eine große Rolle. Chronische Wundheilungsstörungen, verursacht durch metabolische, zirkulative oder druckabhängige Veränderungen, gewinnen auch zunehmend durch Gesellschaftserkrankungen bedingt, besonders durch das durchschnittlich steigende Alter, abnehmende Aktivität und Fehlernährung, an Bedeutung. Zu den häufigen Ursachen chronischer Wundheilungsstörungen gehören auch Medikamente mit immunsuppressiver Wirkung, thermische Schädigung und Infektionen nach chirurgischen Eingriffen.

Solche Wundheilungsstörungen sind neben einem extensiven Verlust des Integuments häufig von Infektionen betroffen und weisen einen verlängerten Wundheilungsprozess auf. Während die normale Wundheilung aus inflammatorischer Reaktion, proliferativer Phase und der Remodellierungsphase besteht und nach Wochen bis Monaten abgeschlossen ist, dauert die chronische Wundheilung mehrere Monate bis Jahre. Die Geweberegeneration und Wundschließung bei chronischer Wundheilung verlangt eine lange Phase der Therapie und stellt eine Belastung für den Patienten dar. Die fortschreitende Entwicklung der Therapie solcher Wunden unter Verwendung von Bio-Scaffolds, Gen- und Zelltherapie sowie elektromagnetischer Stimulation haben zu einer Verbesserung des Outcomes geführt. Auch die hormonelle Therapie mit Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) oder Growth Factor (GF) und besonders die Verwendung von Micrografts haben eine beschleunigte Wundheilung sowie reduzierte Narbenbildung bewirkt. Das regelmäßige, makroskopische Monitoring und die detaillierte Dokumentation ermöglichen die Beurteilung der Wunde. Eine Biopsie ist weiterhin die beste Methode zur objektiven Darstellung des Stadiums der Wundheilung, führt aber zu einer weiteren Schädigung der Haut und einer Erhöhung des Infektionsrisikos am Ort der Biopsie. Neue diagnostische Techniken wie Ultraschall, photoakustische Techniken und auch Optische Kohärenztomografie werden zunehmend auch für die Diagnostik und Evaluierung der Wundheilung eingesetzt. Zelluläre Details können aktuell nicht visualisiert werden, was jedoch mit dem Goldstandard-Verfahren der Histologie gewährleistet wird.

Für die Limitierung der OCT gibt es sowohl physikalische als auch anatomische Gründe. Die Haut, die dazugehörigen verschiedenen Schichtungen und die unterschiedliche Absorption dieser bewirken eine begrenzte Scan-Tiefe. Das Licht durchdringt zunächst die äußere Schicht, bestehend aus Epidermis mit einer Tiefe von 150-1000 µm. Das Stratum corneum, hauptsächlich bestehend aus Keratinozyten und Fetten zwischen den Zellen, stellt hier die größte Barriere für das Eindringen des Lichtes dar. Nach der Basalmembran wirkt die darunter liegende Dermis mit einer Tiefe von ~ 1 mm und dem diffus orientierten Bindegewebe, bestehend aus unter anderem elastischen Fasern und Kollagen, der Eindringfähigkeit des Lichtes entgegen. Die Limitierung der Penetration des Lichtes im Gewebe bedingt die eingeschränkte Scan-Tiefe. Um diese Problematik einer Lösung zuzuführen, wurden verschiedene Ansätze wie die Applikation von hyperosmolaren Agenzien angewandt, welche eine Modifizierung der Lichtausbreitung und Penetration bewirken sollen. Diese Anwendung



wurde bisher hauptsächlich In-vitro erprobt und erfordert deshalb Untersuchungen bezüglich der Beeinflussung auf die Bildqualität von OCT auf Leisten- und Felderhaut. Strukturelle Veränderungen mit ihrer Dynamik können mit dem derzeitigen Stand der Technik gut über einen definierten Zeitraum beobachtet werden. Dennoch könnte die Zusammenführung verschiedener optischer Verfahren zu einer besseren und effektiveren Diagnostik führen. Der Zeitaufwand muss den Vorteilen der Technik kritisch gegenübergestellt werden. Der klinische Nutzen in Hinblick auf Rezidive, Kostenersparnis durch Früherkennung sowie Reduzierung der Krankenhausliegezeit durch effektivere Tumorsektionen muss in großen Studien untersucht werden.

## **2.1 Zielsetzung der Arbeiten**

Ziel der Untersuchungen war es, die diagnostische Anwendbarkeit von der OCT bei Tumorerkrankungen und der Wundheilung zu prüfen.

### Die praktische Anwendbarkeit von OCT zur präoperativen Tumorgrenzbestimmung bei nicht melanozytären Hauttumoren (NMSC)

Das Ziel dieser Untersuchungen war es, die Effektivität der Tumorgrenzbestimmung mit OCT bei NMSC zu evaluieren, aber auch den praktischen Ansatz zur Grenzbestimmung zu untersuchen.

Die klinische Anwendung von OCT als nicht invasive Diagnostik von Hauttumoren könnte die Tumorgrenzbestimmung präoperativ optimieren und die Erfolgsrate von R0-Resektionen erhöhen, repetitive Exzisionen vermeiden und die Möglichkeit bieten, Gewebe einzusparen. Die Evaluierung des Einsatzes von OCT bei der Überwachung von Pathologien kann zur besseren Diagnosestellung und effektiveren Therapie führen.

### Korrelation von OCT und Histologie beim Mikrozystischen Adnexkarzinom

Bisher durchgeführte Studien zeigten eine gute Korrelation von OCT-Morphologie mit der jeweiligen Histologie für mehrere Typen von Hauttumoren. Es hat sich bestätigt, dass verschiedene Hauttumoren ihre jeweiligen Charakteristika aufweisen. Die Beschreibung und Korrelation von Kriterien auch bei seltenen Hauttumoren wie dem Mikrozystischen Adnexkarzinom kann zur effizienteren Diagnosestellung mittels OCT führen und die Möglichkeit der Differentialdiagnose eröffnen.

## Evaluation von OCT als nicht invasiv diagnostische Methode bei der chronischen Wundheilung

Die Evaluierung und Therapie chronischer Wunden ohne vorherige histologische Sicherung des Stadiums stellt nicht nur in der Dermatologie weiterhin ein Problem dar. Der alleinigen makroskopischen Beurteilung von chronischen Wunden fehlt möglicherweise die Präzision, um die richtige Therapie einzuleiten oder die bestehende zu ändern. Durch OCT-Messungen könnten Wunden ohne histologische Biopsie, welche eine weitere Schädigung der Wunde darstellt, präziser und nicht invasiv evaluiert werden.

## In-vivo Optimierung der Scan-Eindringtiefe für OCT durch eudermie Agenzien auf Leisten- und Felderhaut

Die Limitierung der Scan-Eindringtiefe bedingt eine beschränkte Einsicht in die Haut und dadurch eine Limitierung des Potenzials der Diagnostik von Pathologien. Zur Lösung dieses Problems wurden verschiedene Ansätze wie die Applikation von hyperosmolaren Agenzien angewandt, welche eine Modifizierung der Lichtausbreitung und Penetration bewirken sollen. Die Optimierung der Bildqualität durch hyperosmolare Agenzien wie Glycerol und Glucose könnte eine bessere Beurteilung von sowohl gesunder als auch erkrankter Haut bewirken.

### **3. Material und Methodik**

Alle Messungen erfolgten an Patienten, die an der Charité - Universitätsmedizin Berlin für eine Exzision ihrer tumorverdächtigen Läsion geplant wurden oder bezüglich ihrer Wunde entweder ambulant oder stationär in Behandlung waren. Alle Patienten stimmten mit einer Einverständniserklärung den Messungen zu. Die Messungen mit OCT wurden durch die Ethik-Kommission der Charité - Universitätsmedizin Berlin (EA1/061/09) genehmigt und alle Untersuchungen unterlagen der Deklaration von Helsinki.

Ausschlusskriterien waren mentale Invalidität, Minderjährigkeit, Schwangerschaft, Stillen und Metallimplantate im Areal der Untersuchung.

#### **3.1 OCT-Geräte**

Für die präoperative Tumorgrenzbestimmung bei NMSC und der Beschreibung des Mikrozystischen Adnextumors wurde ein OCT-Gerät (VivoSight, Michelson Diagnostics, Kent, UK) verwendet, welches mit einem Laser der Wellenlänge von  $1305 \pm 150$  nm (HSL-2000, Santec Corp, Komaki, Aichi, Japan) ausgestattet war und Bilder mit einer axialen, optischen Auflösung von  $< 10$   $\mu$ m bei einer lateralen Auflösung von annähernd  $7.5$   $\mu$ m erzeugt. Die maximale Tastweite beträgt  $6 \times 6$  mm mit einer Penetrationstiefe von bis zu 2 mm.

Die Analyse der Wundheilung wurde mit dem Spectral Domain OCT System Callisto® (Thorlabs GmbH, Lübeck, Germany) durchgeführt. Durch die Verwendung eines Breitband- Lichtes mit einer 930 nm Superleuchtdiode und einem linearen CCD array-basierten Spektrometer ist eine Penetrationstiefe von bis zu 1,2-1,3 mm, eine laterale Auflösung von bis zu  $8$   $\mu$ m und eine axiale Auflösung bis zu  $5$   $\mu$ m möglich.

Das technische System wird in seiner detaillierten, physikalischen Funktion ausführlich in Publikationen beschrieben [1, 9].

#### **3.2 Histologie**

Die exzidierten Tumore wurden mittels Routinefärbemethode Hämatoxylin-Eosin-Färbung und etablierter Technik zur mikrographisch kontrollierten Chirurgie nach Breuniger et al. analysiert [10]. Die Proben wurden in Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und dann in Hämatoxylin und Eosin gefärbt und anschließend mittels vertikaler und „breadloaf-cross“ Technik ausgewertet.

### **3.3 Die praktische Anwendbarkeit von OCT zur präoperativen Tumorgrenzbestimmung bei nicht melanozytären Hauttumoren (NMSC)**

Eine Gesamtzahl von 18 Patienten (12 Männer, 6 Frauen) mit einem Durchschnittsalter von 74 Jahren (Bandbreite 47-86 Jahre) und einer Gesamtzahl von 19 Läsionen wurden untersucht. Insgesamt wurden 13 Patienten mit punktförmiger Messmethode untersucht, 4 Patienten mit der Messung der kompletten Tumorgrenze im free-run Modus und 2 Patienten mit der kombinierten Methode.

Mittels der OCT wurden die Grenzpunkte bestimmt und mit einem wasserfesten Stift (Edding 55 fineliner, Edding International GmbH, Ahrensburg, Germany) markiert. Der detaillierte Ansatz zur praktischen Bestimmung der Grenzpunkte ist in der Veröffentlichung aufgeführt. Die Exzision wurde von unterschiedlichen Operateuren nach deren klinischer Beurteilung und Erfahrung durchgeführt. An den Ex-vivo Präparaten wurde die mit OCT gemessenen und vor Exzision markierten Punkte anschließend mit Tätowierungen und Markierungsnähten für die histologische Analyse dauerhaft markiert, um neben den Exzisionsrändern auch die durch die OCT definierten Grenzpunkte auf Tumorfreiheit zu untersuchen.

### **3.4 Korrelation von OCT und Histologie beim Mikrozystischen Adnexkarzinom**

Eine 81-jährige Patientin wurde präoperativ aufgrund eines Rezidivs eines histologisch gesicherten Mikrozystischen Adnexkarzinoms mittels der OCT untersucht. Sie präsentierte sich mit einem 2 cm<sup>2</sup> großen Tumor im Bereich der linken Wange. Die OCT-Messungen erfolgten präoperativ In-vivo. Nach Exzision wurden die gescannten Areale mit der jeweiligen Histologie korreliert.

### **3.5 Evaluation von OCT als nicht invasiv diagnostisches Mittel bei der chronischen Wundheilung**

Es wurden 6 Patienten (3 Männer, 3 Frauen) mit einem Durchschnittsalter von 69 Jahren (Bandbreite 59-79 Jahre) und chronischen Wunden untersucht, die sich mit Ulcera an der unteren Extremität bedingt durch chronisch venöse Insuffizienz (n=3), Pyoderma Gangraenosum (n=1) und Vaskulitis (n=2), und einem Hauttyp von I-II nach der Fitzpatrick Klassifikation präsentierten. Nach täglicher, makroskopischer

Wundkontrolle zur Überprüfung des Fortschreitens der Wundheilung wurde an jedem dritten Tag ein OCT-Scan vom Wundbett gemacht. Während der Messungen wurde der OCT-Scan-Sensor mit 3 cm Abstand von der Wunde aufgesetzt, um Infektionen der Wunde durch das Gerät zu vermeiden. Die verschiedenen OCT-Befunde wurden mit vorhandenen histologischen Präparaten der verschiedenen Wundheilungsphasen verglichen, um eine erneute invasive Biopsie zu vermeiden und den Wundheilungsprozess nicht zu stören.

### **3.6 In-vivo Optimierung der Scan-Tiefe für OCT durch eudermie Agenzien auf Leisten- und Felderhaut**

In diese Studie wurden 10 gesunde kaukasische Probanden (7 Frauen, 5 Männer) mit einem Hauttyp II nach Fitzpatrick eingeschlossen. Das durchschnittliche Alter lag bei 27 Jahren (Bandbreite 20-33). Am Studientag wurde eine komplette physische Untersuchung durchgeführt, um Hauterkrankungen auszuschließen. Weitere Bedingungen für die Teilnahme waren der Verzicht auf Reinigung des Körpers und die Verwendung von kosmetischen Produkten am Tag der Untersuchung.

Für die diagnostische Untersuchung wurden die hyperosmolaren und eudermen Agenzien Glycerol und Glukose verwendet. Beide Stoffe sind feste Bestandteile im menschlichen Organismus und weisen ein sehr niedriges Risiko von allergischen Reaktionen auf. Beide Substanzen wurden in 50 %igem, destilliertem Wasser gelöst und auf die palmare Fläche der Hand und des Unterarms aufgetragen. Vor dem Auftragen wurden OCT-Aufnahmen von der noch unbehandelten Haut erstellt. Die anschließend behandelten Areale wurde dann im Intervall von 5 Minuten über einen Zeitraum von 60 Minuten mittels der OCT untersucht und die Veränderung des Bildes begutachtet. Die Begutachtung wurde sowohl im amplitude-mode scan (A-Scan), was eine Abbildung der Stärke lichtreflektierender Strukturen und deren relative optische Wegstrecke als axiales Tiefenprofil darstellt, als auch im 2D-OCT Modus durchgeführt. Für die Auswertung der Daten wurde SPSS verwendet (Version 19, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Alle gemessenen Werte der Scan-Tiefe und ebenfalls die Evaluation des Kontrastes wurden als Median mit Standardabweichung angegeben. Für die Auswertung wurden des Weiteren der Wilcoxon-Test und die Bonferroni-Korrektur angewandt.

#### 4. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in vier Publikationen zusammengefasst.

**Seyed Arash Alawi**, Monika Kuck, Caroline Wahrlich, Sebastian Batz, Gordon McKenzie, Joachim W. Fluhr, Juergen Lademann, Martina Ulrich.

**Optical coherence tomography for presurgical margin assessment of non-melanoma skin cancer - a practical approach.** Exp Dermatol. 2013 Aug;22(8):547-51. doi: 10.1111/exd.12196., **Impact Factor: 3.578**, 5- Year Impact Factor: 3.613 (Year 2012), Category Dermatology **Ranking 2012: 6/59**, International führende Fachzeitschrift mit Eigenfaktor Score: 0.01187 - **Charité Definition „Topjournal“**

**Seyed Arash Alawi**, Sebastian Batz, Joachim Röwert-Huber, Joachim W. Fluhr, Jürgen Lademann, Martina Ulrich.

**Correlation of optical coherence tomography and histology in microcystic adnexal carcinoma: a case report.** Skin Res Technol. 2014 Feb 17. doi: 10.1111/srt.12149. , **Impact Factor: 1.409**, 5- Year Impact Factor: 1.687 (Year 2012), Category Dermatology **Ranking 2012: 32/59**, Eigenfaktor Score: 0.00242

Monika Kuck, Helene Strese, **Seyed Arash Alawi**, Sabine Schanzer, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Guido J. Burbach, Martin Krah, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann.

**Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in chronic wound healing.** Skin Res Technol. 2013 Jun 19. DOI: 10.1111/exd.12196, **Impact Factor: 1.409**, 5- Year Impact Factor: 1.687 (Year 2012), Category Dermatology **Ranking 2012: 32/59**, Eigenfaktor Score: 0.00242

Monika Kuck, **Seyed Arash Alawi**, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Martin Krah, Fanny Knorr, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann.

**In vivo Enhancement of Imaging Depth for Optical Coherence Tomography by Eudermic Agents on Ridged and Meshed Human Skin.** Laser Phys. Lett. 11 (2014) 035602 **Impact Factor 7.714**, 5- Year Impact Factor: 4.974 (Year 2012), Category Optics **Ranking 2012: 3/80**, International führende Fachzeitschrift mit Eigenfaktor Score: 0.01187- **Charité Definition „Topjournal“**

#### **4.1 Die praktische Anwendbarkeit von OCT zur präoperativen Tumorgrenzbestimmung bei nicht melanozytären Hauttumoren (NMSC)**

Es wurden insgesamt 61 Grenzpunkte und 5 komplette Grenzen bei 18 Patienten mit einer Gesamtzahl von 19 Läsionen untersucht. Die untersuchten Läsionen beinhalteten 63% Basalzellkarzinome (n=12), 16% Plattenepithelkarzinome (n=3) und in 21% (n=4) andere NMSC mit Morbus Bowen (n=1), Aktinischer Keratose (n=1), Seborrhoische Keratose (n=1) und einem Porom (n=1). Die häufigste Lokalisation der Tumore war die Kopf- und Halsregion mit einem Anteil von 80%.

In 84% (n=16) befand sich die laterale mit OCT-definierte Grenze In-sano, während die tiefe Grenze mit einer Erfolgsrate von 95% (n=18) tumorfrei war. In 37% (n=7) übernahm der Operateur die mit OCT-definierte Grenze. Von diesen waren 71% In-sano. Die übrigen 63% (n=12) waren weiter distanziert zu den Grenzbestimmungen. Von diesen OCT-Grenzen waren 92% in sano (n=11). Die klinisch vom Operateur definierte Grenze unterschritt in keinem Fall die mit OCT-definierte Grenze.

Bedingt durch anatomisch obstruierende Strukturen oder durch dreidimensionale oberflächliche Veränderungen der Läsion und aufgrund der Schnitfführung nach den RSTL (Relaxed Skin Tension Lines) war die praktische Umsetzung der Messung in 16% (n=3) der Fälle nicht möglich.

In einem Fall führten vergangene Exzisionen im gleichen Areal zu einem falsch-positiven BCC-Rezidiv im OCT, was sich in der Histologie als gesunde Haut zeigte. Die ähnliche Darstellung eines Poroms im OCT führte in einem Fall zu einer falsch-positiven Diagnose eines BCC.

Nicht melanozytäre Hauttumore zeigen gehäufte Charakteristika in der OCT. So stellte sich ein Basalzellkarzinom mit hyporeflektiven, multiplen, ovalen Strukturen dar, die oft unterhalb der Epidermis organisiert waren. Hyporeflektive Streifen waren oftmals unterhalb der Tumore zu erkennen. Darüber hinaus konnten Zysten und eine Destruktion der dermo-epidermalen Junktionszone beobachtet werden.

Plattenepithelkarzinome zeichnen sich besonders durch die Destruktion der Epidermis aus, die oftmals mit einer Hyperkeratose und einer Destruktion der epidermalen und sub-epidermalen Strukturen einhergeht. Die Unterscheidung zwischen den verschiedenen Graden der Aktinischen Keratose und die klare Abgrenzung zum histologisch definierten Plattenepithelkarzinom waren dennoch schwierig. Durch die

Hyperkeratose bedingt war die Beurteilung der tieferen Schichten durch starke Reflexion des Lichtes bedingt kaum möglich.

Zur praktischen Grenzbestimmung empfiehlt sich die punktförmige Grenzbestimmung mit dem multi-slice Mode und einer Erweiterung von free-run Untersuchungen zwischen den Punkten bei unsicheren Arealen. Anatomische Strukturen wie Haare oder Hyperkeratosen aber auch Ulzerationen auf der Läsion minderten die Bildqualität sowohl beim BCC als auch beim Plattenepithelkarzinom.

#### **4.2 Korrelation von OCT und Histologie beim Mikrozystischen Adnexkarzinom**

Das mikrozystische Adnexkarzinom zeigte charakteristische Kriterien im OCT, welche in superfizielle und sub-epidermale Kriterien eingeteilt wurden.

Die superfizielle Schicht zeigte sich mit einer unregelmäßigen, hügeligen und glatten Oberfläche. Hautanhangsgebilde waren vermindert und neben einigen Haarfollikeln kaum auffindbar. In der sub-epidermalen Schicht fanden sich runde, scharf abgrenzbare, homogene Areale mit dünnen, hyporeflektiven Streifen, welche histologisch die Keratinzysten darstellten.

Zusätzlich wurde eine Zunahme an kreisrunden, duktalem Strukturen mit einem zentral hyporeflektiven Bereich beobachtet.

#### **4.3 Evaluation von OCT als nicht invasiv diagnostisches Mittel bei der chronischen Wundheilung**

Morphologische Übereinstimmungen konnten durch Verlust der Epidermis, Vasokonstriktion, Vasodilatation und Epithelialisation zwischen dem OCT und den Wunden festgestellt werden.

Um den Vergleich zwischen dem OCT und der Histopathologie zu vereinfachen, wurden die drei Hauptphasen -Inflammations-, Proliferations-, und Remodellingphase- der Wundheilung analysiert. Durch die Korrelation konnten Kriterien sowohl für die gesunde Haut als auch für die verschiedenen Phasen der Wundheilung im OCT definiert werden. Die Inflammationsphase zeichnete sich im OCT durch einen Verlust der Epidermis, der dermo-epidermalen Junktionszone und der Darstellung von Wundsekret aus. Die Proliferationsphase stellte sich durch eine anfängliche Epithelialisation ausgehend von den Wundrändern, einer Neubildung der epidermalen Junktionszone und eine zunehmende Gefäßdichte im Bereich des Stratum reticulare dar. Die anschließende



Remodellingphase wies eine abgeschlossene Reepithelialisation mit einer Wiederherstellung der dermo-epidermalen Junktionszone, einer Zunahme an Kollagenfasern, welche sich durch eine Hyperdensität zeigte, und einer ausgeprägten Gefäßdarstellung auf. Dieser Verlauf bestätigte sich in der histologischen Darstellung.

#### **4.4 In-vivo Optimierung der Scan-Tiefe für OCT durch eudermie Agenzien auf Leisten- und Felderhaut**

Nach Auftragen von Glycerol und Glukose konnten die Bildveränderungen im 2D-OCT sowie im Modus des A-Scans nachverfolgt und analysiert werden.

Die Aufnahmen zeigten eine Optimierung und Zunahme der Scan- Eindringtiefe von 50 µm bis zu 100 µm für beide Agenzien, sowohl auf dem Unterarm als auch auf der palmaren Handfläche. Diese Verbesserung konnte nach einer Einwirkdauer von 15-25 Minuten festgestellt werden.

## 5. Diskussion

Die Anwendung der OCT bei der Diagnostizierung von Hauttumoren wurde mit einer guten Korrelation zur Histologie in vorherigen Studien aufgezeigt. Diese Übereinstimmungen wurden sowohl beim Verlauf von Pathologien wie bei der Wundheilung als auch bei Hauttumoren mit den spezifischen morphologischen Kriterien verdeutlicht [11, 12]. In Anbetracht der nicht invasiven Durchführung und der einfachen und schnellen Bilderzeugung bietet die OCT-Vorteile im Bereich der präoperativen Diagnostik und insbesondere der Grenzbestimmung von Tumoren. Die Eindringtiefe von bis zu 2 mm ist sicherlich nicht nur bei der Grenzbestimmung von Tumoren limitierend, sondern auch bei der Beurteilung weiterer Pathologien der Haut. In Untersuchungen wurde die Sensitivität von OCT zwischen 79% und 94% und eine Spezifität von 85% bis 96% festgestellt [12]. Diese Bandbreite ist durch die unterschiedlichen Geräte und die unterschiedlichen Fähigkeiten wie manuelle Adjustierung sowie in der Erfahrung des Untersuchers begründet. Auch hier sind weitere Untersuchungen zum Potenzial der Differentialdiagnose sowohl im Hinblick auf unterschiedlich erfahrenen Untersucher als auch auf objektive Kriterien durchzuführen. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass bei der Tumorgrenzbestimmung trotz mangelnder Eindringtiefe des OCT-Systems die Rate mit erfolgreicher R0-Resektion zur Tiefe keine entscheidende Rolle zu spielen scheint. Des Weiteren konnte eine Verbesserung der R0-Resektion der lateralen Grenze gezeigt werden. Durch die Verwendung von OCT konnte Gewebe eingespart werden, da die Tumorgrenzen des Operateurs in keinem Fall die mit OCT-definierten Grenzen unterschritt. Dies zeigt, dass an manchen Tumorrändern die makroskopische Grenze OCT gestützt und mit visueller Kontrolle verkleinert werden kann, was auch die Arbeit von Wang et al. bestätigt [4].

Neben der Diagnosestellung von häufigen NMSC, ist die Beschreibung auch von seltenen Hauttumoren wie dem MAC bedeutsam. Die Analyse stellt den ersten Fall eines Mikrozystischen Adnexkarzinoms dar, welches mit OCT evaluiert wurde. Neben der guten Korrelation sind jedoch weitere Pathologien wie das desmoplastische Trichoepitheliom, das gutartige Syringom, das Trichoadenom, das papilläre ekkrine Adenom und das morpheoforme Basalzellkarzinom als Differentialdiagnose zu betrachten [13]. Es müssen weitere Beschreibungen der genannten Erkrankungen erfolgen, damit eine klare Diagnose gestellt werden kann. Das MAC, welches häufig Rezidive zeigt, wird bisher mit einer lokalen, weiten Resektion therapiert, während größere oder ungünstig lokalisierte Tumore bestrahlt werden. Die Bestrahlung stellt sich

jedoch weiterhin als weniger effektiv dar. Sowohl die aufgezeigte gute Visualisierung durch OCT beim BCC [14], als auch die Ergebnisse zur präoperativen Grenzbestimmung [4] könnten die Grenzbestimmungen auch für das MAC effektiver gestalten und zu niedrigeren Rezidivraten führen oder als nicht invasive follow-up Untersuchung genutzt werden.

Neben der Anwendung der OCT bei Tumorerkrankungen kann sie zur Therapie der chronischen Wundheilung einschließlich Verlaufskontrolle eingesetzt werden. Die OCT ermöglicht die Darstellung der mikroskopischen Charakteristika im Prozess der Wundheilung, welche normalerweise erst durch die histologische Darstellung aufgezeigt werden können. OCT-Kriterien für die Inflammations-, Proliferations- und für die Remodellingphase wurden durch den Verlust und Wiederaufbau der Epidermis, der dermo-epidermalen Junktionszone, zunächst Vasokonstriktion und anschließender Dilatation sowie Veränderungen der Kollagenstruktur gezeigt.

Die Haut als inhomogenes Organ mit den unterschiedlichen Schichten stellt für die Optische Kohärenztomographie allgemein eine Limitierung dar. Eine Optimierung der Bildqualität und Scan-Eindringtiefe konnte jedoch durch externes Auftragen von optisch aktiven Lösungen erreicht werden. Die Anwendung von optischen Lösungen 5-25 Minuten vor einem diagnostischen Scan bewirkte eine Verbesserung der Bilddarstellung und Tiefe um 50-100  $\mu\text{m}$ . Die Applikation dieser Substanzen auf die Haut mit anschließender Diffusion in die verschiedenen Hautschichten und Zellen resultiert in einer Optimierung des Brechungsindex. Trotz Optimierung ist weiterhin keine Einsicht in die tiefere Dermis und Subkutis möglich. Für die Verwendung in der Klinik ist jedoch auch das potenzielle Risiko einer Infektion beim Auftragen von Glukose auf geschädigter Haut zu beachten. Bei Hauterkrankungen sollte deshalb Glycerol bevorzugt werden.

Die exakte Lokalisation des gescannten Gewebes stellt weiterhin ein Problem dar, welches mit der Verwendung von Referenzmarkern begegnet werden kann. Durch die Verwendung von Steri-Strips (3M Steri Strip, 3M GmbH, Neuss, Germany) als Referenzmarker können die einzelnen Bilder nach Erscheinen des Markers im OCT-Bild in Beziehung gesetzt und das dazugehörige Gewebe lokalisiert werden. Dennoch würde die Möglichkeit einer eleganteren, computergestützten und an die OCT gekoppelte Markierung die praktische Messung noch deutlich vereinfachen.

Die Effektivität, entweder die komplette Tumorgrenze oder nur eine definierte Anzahl von Tumorpunkten zu analysieren, unterscheidet sich hauptsächlich im Zeitaufwand und muss hinsichtlich der Rate an R0-Resektionen beurteilt werden. Die Beurteilung

von Pathologien ist sicherlich auch mit weiteren Untersuchungstechniken sinnvoll und muss mit der OCT-Methode verglichen werden.

High Definition-OCT (HD-OCT) bietet im Vergleich zur konventionellen OCT-Technik eine bessere Einsicht nahe der Histopathologie mit einer axialen und lateralen Auflösung von 1-3  $\mu\text{m}$  und einer Eindringtiefe von bis zu 600  $\mu\text{m}$ . Dennoch ist durch die erhöhte Auflösung eine Minderung der Eindringtiefe verbunden. Trotz dieser Erhöhung der Auflösung scheint die HD-OCT keinen Zugewinn an Informationen zu liefern, welche die Fähigkeit der Differentialdiagnose signifikant verändern würden. So ist es zwar möglich, BCC-Kriterien mit HD-OCT zu definieren, dennoch kann zwischen den häufigsten BCC-Subtypen nicht unterschieden werden. Die Limitierungen der konventionellen OCT scheinen nicht durch die HD-OCT kompensiert zu werden. Die Fähigkeit, dermatologische Tumorerkrankungen differentialdiagnostisch vor histologischer Prüfung zu diagnostizieren und voneinander abzugrenzen, muss in großen, randomisierten Studien sowohl für OCT als auch für HD-OCT geprüft werden.

Eine weitere alternative Technik wie Hochfrequenz-Ultraschall (HFUS, 20 MHz) verfügt mit einer axialen Auflösung von 50  $\mu\text{m}$  und einer lateralen Auflösung von 350  $\mu\text{m}$  über eine geringere Auflösung mit einer höheren Eindringtiefe. Die Korrelation zwischen HFUS und Histopathologie wurde von verschiedenen Gruppen erfolgreich beim BCC im Hinblick auf Breite und Tiefe der Tumoraläsion überprüft. Dennoch scheint die OCT mit ihrer höheren Auflösung im Vergleich zum HFUS exakter in der Messung der Tumordicke präoperativ beim BCC zu sein.

Als weitere Alternative ist die Konfokale Mikroskopie zu nennen, die eine hohe laterale Auflösung von  $< 1 \mu\text{m}$  bietet und die Beurteilung von Zellen In-vivo erlaubt. Diese Genauigkeit zeigte sich in Untersuchungen von Guitera et al. mit einer Sensitivität von 100% und einer 88.5%igen Spezifität mit dem Nachteil langer Scan Dauer und einer Scan-Tiefe von nur 250 bis 300  $\mu\text{m}$  [15]. Der ausführliche Vergleich von weiteren Pathologien mit allen Techniken fehlt bisher, kann aber in Zukunft Erkenntnisse über die Bevorzugung eines Systems bei speziellen Pathologien liefern. Abschließend kann man sagen, dass bisher die Genauigkeit der Histopathologie nicht erreicht wird, aber die Kombination aus allen unterschiedlichen Diagnostiktechniken den meisten Nutzen bringen könnte.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der bisherigen Studien eine zunehmende Entwicklung für den klinischen Einsatz und ein vielversprechendes Potential, um objektive Veränderungen sowie Heilungsprozesse darzustellen und frühzeitig Therapiekonzepte zu wählen oder zu ändern.

## 6. Referenzen

- [1] Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science (New York, NY)*. 1991;254; 1178-1181.
- [2] Forsea AM, Carstea EM, Ghervase L, Giurcaneanu C, Pavelescu G. Clinical application of optical coherence tomography for the imaging of non-melanocytic cutaneous tumors: a pilot multi-modal study. *J Med Life*. 2010;3; 381-389.
- [3] Boone MA, Norrenberg S, Jemec GB, Del Marmol V. Imaging of basal cell carcinoma by high-definition optical coherence tomography: histomorphological correlation. A pilot study. *Br J Dermatol*. 2012;167; 856-864.
- [4] Wang KX, Meekings A, Fluhr JW, McKenzie G, Lee DA, Fisher J, et al. Optical coherence tomography-based optimization of mohs micrographic surgery of Basal cell carcinoma: a pilot study. *Dermatol Surg*. 2013;39; 627-633.
- [5] Sullivan AC, Hunt JP, Oldenburg AL. Fractal analysis for classification of breast carcinoma in optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2011;16; 066010.
- [6] Blake PW, Bradford PT, Devesa SS, Toro JR. Cutaneous appendageal carcinoma incidence and survival patterns in the United States: a population-based study. *Arch Dermatol*. 2010;146; 625-632.
- [7] Goldstein DJ, Barr RJ, Santa Cruz DJ. Microcystic adnexal carcinoma: a distinct clinicopathologic entity. *Cancer*. 1982;50; 566-572.
- [8] Martinez SR, Barr KL, Canter RJ. Rare tumors through the looking glass: an examination of malignant cutaneous adnexal tumors. *Arch Dermatol*. 2011;147; 1058-1062.
- [9] Alper J. OCT: images of coherence. *Science (New York, NY)*. 1993;261; 555.
- [10] Breuninger H, Schaumburg-Lever G. Control of excisional margins by conventional histopathological techniques in the treatment of skin tumours. An alternative to Mohs' technique. *J Pathol*. 1988;154; 167-171.
- [11] Maier T, Braun-Falco M, Laubender RP, Ruzicka T, Berking C. Actinic keratosis in the en-face and slice imaging mode of high-definition optical coherence tomography and comparison with histology. *Br J Dermatol*. 2013;168; 120-128.
- [12] Mogensen M, Joergensen TM, Nurnberg BM, Morsy HA, Thomsen JB, Thrane L, et al. Assessment of optical coherence tomography imaging in the diagnosis of non-melanoma skin cancer and benign lesions versus normal skin: observer-blinded evaluation by dermatologists and pathologists. *Dermatol Surg*. 2009;35; 965-972.
- [13] Wetter R, Goldstein GD. Microcystic adnexal carcinoma: a diagnostic and therapeutic challenge. *Dermatol Ther*. 2008;21; 452-458.
- [14] Maier T, Braun-Falco M, Hinz T, Schmid-Wendtner MH, Ruzicka T, Berking C. Morphology of basal cell carcinoma in high definition optical coherence tomography: en-face and slice imaging mode, and comparison with histology. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27; e97-104.
- [15] 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.

## II. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Seyed Arash Alawi, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „**Optische Kohärenztomografie zur präoperativen Evaluation bei nicht melanozytären Hauttumoren**“ 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](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

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

---

**Datum**

---

**Unterschrift**

### III. Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

In Bezug auf die beigefügte Publikationsliste erkläre ich hiermit meinen Anteil an den Publikationen wie folgt:

1. **Seyed Arash Alawi**, Monika Kuck, Caroline Wahrlich, Sebastian Batz, Gordon McKenzie, Joachim W. Fluhr, Juergen Lademann, Martina Ulrich.

**Optical Coherence Tomography for presurgical margin assessment of non-melanoma skin cancer - a practical approach.** [Exp Dermatol.] 2013 Aug;22(8):547-51. doi: 10.1111/exd.12196.

Erstellung des wissenschaftlichen Konzeptes in Zusammenarbeit mit Herrn PD. Dr. Joachim Fluhr, Frau Dr. Martina Ulrich und Herrn Prof. Dr. Jürgen Lademann. Alleinige Erstellung des Manuskriptes auf Basis eigener Datenerhebung- und Auswertung sowie selbstständiger Literatursuche, Anfertigung graphischer Darstellungen. Diskussionsleitung mit Koautoren und alleiniger Durchführung von Korrekturarbeiten.

2. **Seyed Arash Alawi**, Sebastian Batz, Joachim Röwert-Huber, Joachim W. Fluhr, Jürgen Lademann, Martina Ulrich.

**Case report: Correlation of optical coherence tomography and histology in malignant cutaneous adnexal tumors.** [Skin Res Technol.] 2014 Feb 17. doi: 10.1111/srt.12149.

Erstellung des wissenschaftlichen Konzeptes. Alleinige Erstellung des Manuskriptes auf Basis eigener Datenerhebung- und Auswertung sowie selbstständiger Literatursuche, eigenständige Anfertigung graphischer Darstellungen. Diskussionsleitung mit Koautoren und alleiniger Durchführung von Korrekturarbeiten.

3. Monika Kuck, Helene Strese, **Seyed Arash Alawi**, Sabine Schanzer, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Guido J. Burbach, Martin Krah, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann.

**Evaluation of Optical Coherence Tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing.** [Skin Res Technol.] 2013 Jun 19. DOI: 10.1111/exd.12196.

Gemeinsame Datenerhebung- und Auswertung. Zusammenarbeit bei Auswahl und Bearbeitung von Bildmaterial. Teilnahme an Diskussionen mit Hauptautorin Frau Monika Kuck und Durchführung von Korrekturarbeiten.

4. Monika Kuck, **Seyed Arash Alawi**, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Martin Krah, Fanny Knorr, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann

**In vivo Enhancement of Imaging Depth for Optical Coherence Tomography by Eudermic Agents on Ridged and Meshed Human Skin.** [Laser Physics Letters] Dec. 2013 accepted, Laser Phys. Lett. 11 (2014) 035602.

Gemeinsame Datenerhebung- und Auswertung. Zusammenarbeit bei Auswahl und Bearbeitung von Bildmaterial. Teilnahme an Diskussionen mit Hauptautorin Frau Monika Kuck und Durchführung von Korrekturarbeiten.

**Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin**

---

**Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin**

---



#### IV. Publikationen

**Optical coherence tomography for presurgical margin assessment of non-melanoma skin cancer - a practical approach.**

**Authors:** Seyed Arash Alawi, Monika Kuck, Caroline Wahrlich, Sebastian Batz, Gordon McKenzie, Joachim W. Fluhr, Jürgen Lademann, Martina Ulrich.

Exp Dermatol. 2013 Aug;22(8):547-51. doi: 10.1111/exd.12196., Impact Factor: 3.578, 5- Year Impact Factor: 3.613 (Year 2012), Category Dermatology **Ranking 2012: 6/59**

International führende Fachzeitschrift mit Eigenfaktor Score: 0.01187,

**Charité Definition „Topjournal“**

**Correlation of optical coherence tomography and histology in microcystic adnexal carcinoma: a case report.**

**Authors:** Seyed Arash Alawi, Sebastian Batz, Joachim Röwert-Huber, Joachim W. Fluhr, Jürgen Lademann, Martina Ulrich.

Skin Res Technol. 2014 Feb 17. doi: 10.1111/srt.12149. **Impact Factor: 1.409**, 5- Year Impact Factor: 1.687 (Year 2012), Eigenfaktor Score: 0.00242, Category Dermatology

**Ranking: 2012: 32/59**

**Evaluation of Optical Coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in chronic wound healing.**

**Authors:** Monika Kuck, Helene Strese, Seyed Arash Alawi, Sabine Schanzer, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Guido J. Burbach, Martin Krahl, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann.

Skin Res Technol. 2013 Jun 19. DOI: 10.1111/exd.12196, **Impact Factor: 1.409**, 5- Year Impact Factor: 1.687 (Year 2012), Eigenfaktor Score: 0.00242, Category

Dermatology **Ranking 2012: 32/59**

**In vivo Enhancement of Imaging Depth for Optical Coherence Tomography by Eudermic Agents on Ridged and Meshed Human Skin.**

**Authors:** Monika Kuck, Seyed Arash Alawi, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Martin Krahl, Fanny Knorr, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann

Laser Phys. Lett. 11 (2014) 035602. **Impact Factor 7.714**, Impact Factor 7.714, 5- Year Impact Factor: 4.974 (Year 2012), Category Optics **Ranking 2012: 3/80**, International

führende Fachzeitschrift mit Eigenfaktor Score: 0.01187, Charité Definition „Topjournal“

## **V. Lebenslauf**

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

## VI. Komplette Publikationsliste

**Seyed Arash Alawi**, Monika Kuck, Caroline Wahrlich, Sebastian Batz, Gordon McKenzie, Joachim W. Fluhr, Juergen Lademann, Martina Ulrich.

Optical Coherence Tomography for presurgical margin assessment of non-melanoma skin cancer - a practical approach.

Exp Dermatol. 2013 Aug;22(8):547-51. doi: 10.1111/exd.12196. **(Impact Factor: 3.578)**

**Seyed Arash Alawi**, Sebastian Batz, Joachim Röwert-Huber, Joachim W. Fluhr, Jürgen Lademann, Martina Ulrich.

Correlation of optical coherence tomography and histology in microcystic adnexal carcinoma: a case report.

Skin Res Technol. 2014 Feb 17. doi: 10.1111/srt.12149. **(Impact Factor: 1.409)**

Monika Kuck, Helene Strese, **Seyed Arash Alawi**, Sabine Schanzer, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Guido J. Burbach, Martin Krah, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann.

Evaluation of Optical Coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in chronic wound healing.

Skin Res Technol. 2013 Jun 19. DOI: 10.1111/exd.12196. **(Impact Factor: 1.409)**

Monika Kuck, **Seyed Arash Alawi**, Martina C. Meinke, Joachim W. Fluhr, Martin Krah, Fanny Knorr, Wolfram Sterry, Jürgen Lademann

In vivo Enhancement of Imaging Depth for Optical Coherence Tomography by Eudermic Agents on Ridged and Meshed Human Skin.

Laser Phys. Lett. 11 (2014) 035602. **(Impact Factor: 7.714)**

## VII. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr.-Ing. Jürgen Lademann, Herrn PD Dr. med. Joachim Fluhr sowie Frau Dr. med. Martina Ulrich für ihre starke Unterstützung, ihre Leitung, ihr Wissen, ihre Erfahrung und Ermutigungen, welche mir bei der Fertigstellung meiner Arbeiten geholfen haben.

Durch die gemeinsame Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Lademann, Herrn Dr. Fluhr und Frau Dr. Ulrich entwickelten wir die Forschungsfragestellungen, Lösungsansätze und analysierten die Daten. Herrn Dr. Fluhr möchte ich herzlich danken, der mit Gordon Mckenzie, PhD, Direktor von Michelson Diagnostics, die Zusammenarbeit startete und mir die Arbeit mit der Optischen Kohärenztomografie ermöglichte und zu jeder Zeit für Fragen und Hilfestellungen verfügbar war.

Besonders Herrn Prof. Dr. Lademann und Frau Dr. Ulrich möchte ich für die finale Auswertung, ihre Motivation und das Abschließen der Arbeiten danken. Neben der intensiven Begleitung bei den Forschungsfragestellungen, überließen sie mir sehr viele Freiheiten, die maßgeblich zur Fertigstellung der Arbeit führten.

Dankbar erkenne ich von allen Beteiligten ihren Beitrag zu den jeweiligen Phasen meiner Arbeiten an.

Desweiteren möchte ich meinen Mitdoktoranden Monika Kuck, Caroline Wahrlich und Sebastian Batz für die kollegiale Zusammenarbeit bei der Akquise, der Analyse und der kritischen Auswertung der Daten sowie den Mitarbeitern in den Operationssälen der Dermatologie Campus Mitte danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, Seyed Nourradin Alawi und Shahla Ramezani Haratmeh, sowie meinen Geschwistern, Shila Alawi und Niloufar Alawi, die jegliche Grundsteine für meinen Werdegang gelegt haben, mir das Medizinstudium ermöglichten und mich maßgeblich mit ihrer Liebe, ihren Erfahrungen und Ratschlägen unterstützen. Ihre Großherzigkeit und der Rückhalt bleiben mir immer eine Inspiration.

Abschließend widme ich die Arbeit all denen, die als Patienten an Forschungsprojekten bereitwillig partizipieren und damit einen wichtigen Beitrag zur Weiterentwicklung der Medizin liefern.