

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

Dissertation

Nichtinvasive Tumordiagnostik der Haut mittels parelektrischer
Spektroskopie

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von Frederike Arnold-Brüning
geb. Brüning
aus Kiel

Datum der Promotion: 3. Dezember 2021

Vorwort

In dieser Dissertation wurden Daten aus der folgenden Publikation verwendet:

Arnold - Brüning, F., Blaschke, T., Kramer, K., Lademann, J., Thiede, G., Fluhr, J., Patzelt, A. and Meinke, M. (2019) 'Application of paelectric spectroscopy to detect skin cancer–A pilot study', *Skin Research and Technology*, 26(2), pp. 234-240.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	2
Inhaltsverzeichnis	3
Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	6
Abkürzungsverzeichnis	7
Physikalische Messgrößen	7
Abstract	8
1. Einleitung	10
1.1 Aufbau der Haut.....	10
1.1.1 Maligne Tumoren der Haut	13
1.2 Parelektrische Spektroskopie.....	16
1.2.1 Physikalische Grundlagen des Messprinzips	20
1.2.2 Anwendungen der parelektrischen Spektroskopie	28
1.3 Bestehende nichtinvasive Messverfahren zur Hauttumordiagnostik	30
2. Fragestellungen und Zielsetzung der Untersuchungen	35
3. Material und Methodik	36
3.1 Technisches Gerät ParaScan I	36
3.2 Durchführung der Messungen mittels ParaScan I.....	40
3.3 Studiendesign: Voruntersuchungen, Machbarkeitsstudie	41
3.4 Probanden*innen/Patienten*innenauswahl.....	44
3.5 Datenauswertung.....	49
4. Ergebnisse	50
4.1 Voruntersuchungen.....	50
4.2 Machbarkeitsstudie	51
4.2.1 Patientenkollektiv	53
4.2.2 Ergebnisse der spektroskopischen Messungen.....	55

5.	Diskussion.....	65
6.	Zusammenfassung	72
7.	Literaturverzeichnis.....	74
8.	Eidesstattliche Versicherung.....	79
9.	Anteilerklärung an erfolgter Publikation.....	80
10.	Curriculum Vitae	81
11.	Publikationsliste	82
12.	Danksagung	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau und Struktur der Haut (schematische Darstellung) (Plewig et al., 2018a, p. 4).....	11
Abbildung 2: Debye Kurve (parelectrics UG, 2013).....	21
Abbildung 3: Debye Kurve, Messbereich von ParaScan I von Gewebe und Wasser....	24
Abbildung 4: Grafik von Debye's Beziehungen zur Dispersion ϵ' und Absorption ϵ'' (parelectrics UG, 2013a).....	25
Abbildung 5: Phospholipid-Membran (parelectrics UG, 2013).....	28
Abbildung 6: ParaScan I Messgerät mit Monitor (eigene Fotografie).....	36
Abbildung 7: Blockschaltbild des ParaScan I (parelectrics UG, 2013).....	38
Abbildung 8: ParaScan I Bildschirmansicht (Screenshot der Benutzeroberfläche).....	39
Abbildung 9: Clusterdiagramm der Dichte und Mobilität der Dipole bei unverdächtiger Haut verschiedener Körperregionen (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 236).....	51
Abbildung 10: Debye Kurven mit Dispersion ϵ' und Absorption ϵ'' für A) unverdächtige Haut am inneren Unterarm eines Patienten, B) BCC an der Wange und C) MM am Unterbauch (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 237).....	53
Abbildung 11: Klinisches Bild eines BCC (Wange, Pat.109) (Arnold-Brüning et al., 2019).....	55
Abbildung 12: Klinisches Bild eines MM (Unterbauch, Pat.147) (Arnold-Brüning et al., 2019).....	55
Abbildung 13: Vergleich der rel. Beweglichkeit der Untergruppen (Ausreißer Pat. 140) BCC mit Untergruppen: 1. Metatypisches, sklerodermiformes und oberflächliches; 2. knotiges und zystisches, MM und PEC.....	60
Abbildung 14: Vergleich der rel. Dichte der Untergruppen: BCC (BCC1+BCC2) MM, PEC.....	60
Abbildung 15: Box-Plot mit relativer Dichte (oben) und relativer Beweglichkeit (unten) für die verschiedenen Tumorguppen (BCC,MM,PEC) und Kontrollhaut (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 238).....	62
Abbildung 16: Box-Plot für relative Dichte und relative Beweglichkeit unter Verwendung aller Tumordaten und der entsprechenden normalen Hautdaten, (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 238).....	63
Abbildung 17: Rel. Beweglichkeit und Dichte für Befundgruppen (BCC, MM, PEC) und Normalhaut (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 239).....	64

Abbildung 18: Vergrößerte Darstellung der rel. Beweglichkeit und Dichte für die Befundgruppen (BCC, MM, PEC) und Normalhaut (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 239) 64

Tabellenverzeichnis

*Tabelle 1: Subjektmerkmale; Es wurden 51 Patienten*innen mit 59 Messungen und 14 gesunde Probanden*innen mit 24 Messungen untersucht, wobei 52 Messungen (41 Messungen mit den Befunden BCC und MM) und 14 gesunde Probanden*innen in die Studie einbezogen wurden (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 235).*..... 52

Tabelle 2: Verdachtsdiagnosen und histologisch bestätigte Diagnosen..... 52

Tabelle 3: Ränge: Tumore vs. Normalhaut..... 57

Tabelle 4: Gruppenvariable, Statistik für Test: Tumore vs. Normalhaut..... 57

Tabelle 5: Zusammenfassung der Anzahl der Messungen; N = 59 (ohne Normalhaut); N = 52 (nach Ausschluss von 7 Messungen, 11,9 %)...... 59

Tabelle 6: Übersicht der verschiedenen bildgebenden Verfahren (Modifiziert nach Stolz et al., 2018, pp. 276, 277) 68

Abkürzungsverzeichnis

BCC	Basalzellkarzinom
CRF	Case Report Form, Datenerfassungsbogen
MM	Maligne Melanom
MPG	Medizinproduktegesetz
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
OCT	optische Kohärenztomographie
PEC	Plattenepithelkarzinom
PMMA	Polymethylmethacrylat
PTFE	Polytetrafluorethylen
RCM	Konfokale Lasermikroskopie
rel. Bew.	relative Beweglichkeit
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
UG	Unternehmergesellschaft
VD	Verdachtsdiagnose

Physikalische Messgrößen

ε	Dieletrizitätskonstante, Permittivität
$\Delta\varepsilon$	Dipoldichte als dimensionslose Größe
f_0	Dipolbeweglichkeit als Frequenz
$\varepsilon'(f)$	Dispersion
ε'	Dispersionsantwort
$\varepsilon''(f)$	Absorption
ε''	Absorptionsantwort

Abstract

Die Haut ist die erste Barriere gegenüber der Umwelt. Die Inzidenz maligner Hauttumore steigt weltweit. Die Früherkennung von Hautkrebs ist eine zentrale Herausforderung und erfordert objektive und schnelle Diagnosemethoden. Dabei spielen nichtinvasive Methoden eine immer größer werdende Rolle. In der vorliegenden Pilotstudie wurde das Verfahren der parelektrischen Spektroskopie eingesetzt, um das Potenzial eines nichtinvasiven Nachweises von Basalzellkarzinomen (BCC) und malignen Melanomen (MM) zu bewerten. In der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin am Campus Mitte wurde eine prospektive In-vivo-Pilot-Studie mit dem Titel „nichtinvasive Tumordiagnostik der Haut mittels parelektrischer Spektroskopie“, nach dem Medizinproduktegesetz (MPG) durchgeführt, um die Validität dieses Verfahrens für die klinische Anwendung zu prüfen. In Voruntersuchungen an 14 freiwilligen Probanden*innen, bei denen aus dermatologischer Sicht keine Exzision erfolgen musste, erfolgte der Test an pigmentierten Nävi, sowie klinisch gesunder Haut zur Optimierung des Protokolls. In der Tumorsprechstunde der Charité wurden zunächst durch Dermatologen*innen, 51 Patienten*innen mit den Verdachtsdiagnosen BCC und MM ausgewählt und dann im Rahmen dieser Studie mit dem zu validierenden ParaScan I Messgerät präoperativ nach Einverständniserklärung durch die Patienten*innen vermessen. Die gemessenen Unterschiede der Dipoldichte und -beweglichkeit des untersuchten Gewebes wurden als Referenz mit dem histopathologischen Befund verglichen. Im Ergebnis kann die überprüfte parelektrische Spektroskopie zwischen normaler Haut, BCC und MM unterscheiden, nicht jedoch zwischen verschiedenen Hautkrebsarten. Die Daten wurden auf klinisch gesunder Haut in unmittelbarer Nähe der zu vermessenden Hautpartien normalisiert, da Messpunkte an unterschiedlichen Körperregionen die Dipoldichte und -beweglichkeit beeinflussen können. Die parelektrische Spektroskopie könnte als nichtinvasives, gut handhabbares und schnelles Verfahren, im Kontext mit anderen Methoden, für die Diagnostik von gesunder vs. erkrankter Haut im Praxis- und Klinikalltag im Vorfeld einer histologischen Untersuchung zur Anwendung kommen.

Abstract

The skin is the first barrier to the environment. The incidence of malignant skin tumors is increasing worldwide. Early detection of skin cancer is a key challenge and requires objective and rapid diagnostic methods. In this context, non-invasive methods play an increasingly important role. In the present pilot study parelectric spectroscopy technique was used to evaluate the potential of non-invasive detection of basal cell carcinoma (BCC) and malignant melanoma (MM). In the Department of Dermatology, Venereology and Allergology of the Charité-Universitätsmedizin Berlin at the Campus Mitte, a prospective in vivo study entitled "non-invasive tumor diagnostics of the skin by means of parelectric spectroscopy", according to the Medical Devices Act (MPG), was conducted to assess the validity of this method for clinical application. Preliminary investigation was performed on pigmented nevi and clinically healthy skin of 14 volunteers who did not require dermatological excision to optimize the measurement protocol. In the tumor consultation of the Charité, 51 patients with the suspected diagnosis of BCC and MM were selected by dermatologists and then measured preoperatively within the framework of this study with the ParaScan I measuring device, which was to be validated after the patients had given their consent. The measured differences in dipole density and mobility of the examined tissue were compared with the histopathological findings for reference. As a result the reviewed parelectric spectroscopy can distinguish between normal skin, BCC and MM but not between different skin cancers. The data were normalized on clinically healthy skin in close proximity to the skin areas to be measured, since measurement points on different body regions may influence dipole density and mobility. Parelectric spectroscopy could be used as a non-invasive, easy-to-handle and fast method in context with other methods for the diagnosis of healthy vs. diseased skin in daily practice and clinical routine prior to histological examination.

1. Einleitung

1.1 Aufbau der Haut

Die wichtigsten diagnostischen Methoden einer Hauterkrankung sind Anamnese, körperliche Untersuchung, Labor- und Gewebsdiagnostik, bildgebende Verfahren und Funktionsuntersuchungen. Nur mit zielgerichteten Diagnoseverfahren kann das genaue Krankheitsbild erfasst werden und eine adäquate Therapie begonnen werden. Optimalerweise sollte dabei eine umfassende, rasche und schonende Methode für den/die Patienten*in gewählt werden.

Dabei erscheint der Einsatz des richtigen Diagnoseverfahrens in der Dermatologie durch die komplexe Anatomie und Physiologie der Haut sehr kompliziert. Das Integument ist in die drei wesentlichen Schichten Epidermis, Dermis und Subcutis gegliedert mit jeweils unterschiedlichen Zellstrukturen. Zudem befinden sich Hautanhangsgebilde wie Haare, Nägel, Schweißdrüsen, Talgdrüsen usw. in den verschiedenen Schichten. Somit ist sie nicht nur das Grenzorgan des menschlichen Organismus zur Umwelt, sondern ein wichtiger Bestandteil als Sinnes-, Speicher-, Stoffwechsel- und Repräsentationsorgan.

Einleitung

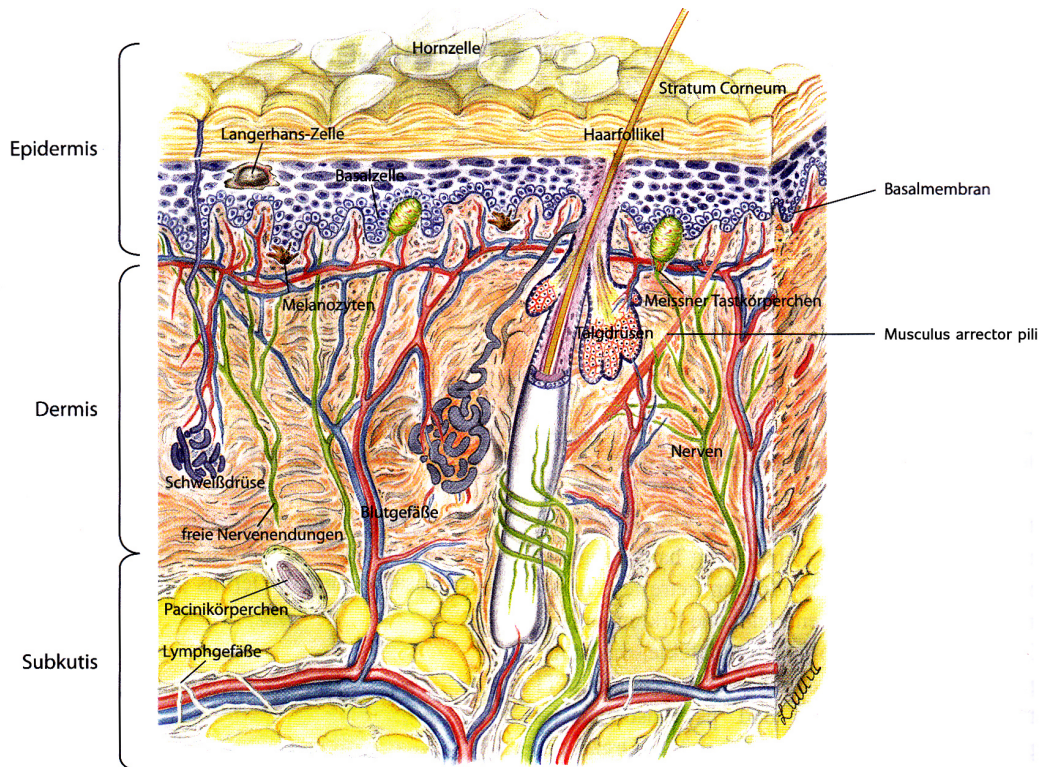


Abbildung 1: Aufbau und Struktur der Haut (schematische Darstellung) (Plewig et al., 2018a, p. 4)

Mit 3,5 - 10 kg und 1,5 - 2 m² ist die Haut das größte Organ des Menschen. Die Haut ist je nach Lokalisation 1,5 bis 4 mm dick. Nur 2,5 - 6,5 % entfallen auf die Epidermis, die wiederum an den Handtellern und Fußsohlen mit einer Hornschicht von ca. 100 µm dick ist, sonst nur 20 µm (Fritsch and Schwarz, 2018, p. 17; Rassner, 2009, pp. 5-11; Terhorst, 2009, p. 1).

Die Funktionen der Haut sind vielfältig (Furter and Jasch, 2007, p. 1): 1. Grenzfunktion und Schutz vor mechanischer Belastung, chemischen Noxen, mikrobiologischen Erregern, Austrocknung durch Wasserverlust, UV-Strahlung, 2. Ort immunologischer Reaktionen, 3. Regulation des Wärmehaushalts, 4. Reizaufnahme, 5. soziale Signalfunktion (Terhorst, 2009, pp. 2-4).

Das Hautorgan erfüllt Sinnesfunktionen, sowie Kontakt –und Schutzfunktionen, die über die Sinnesrezeptoren für Wärme und Kälte, Schmerz, Tastsinn und Juckreiz vermittelt werden. Darüber hinaus realisiert die Haut sehr komplexe Schutzfunktionen: Die Barrierefunktion der Hornschicht verhindert das Austrocknen des Körpers und das Eindringen körperfremder Substanzen. Das keimfeindliche, trockene und saure Oberflächenmilieu kann bakterielle Infektionen verhindern. Überwiegend dem mechanischen Schutz dient

Einleitung

das straffe, elastische und reißfeste Fasergeflecht der Dermis. Die dosierte Wärmeabgabe erfolgt über das feinregulierende Kühlungssystem des Gefäßplexus und der Schweißdrüsen. Der Schutz vor UV-Licht wird wesentlich durch die in Melanozyten produzierten Melaninpigmente gewährleistet. Als „Immunorgan“ verfügt die Haut über Memory-Lymphozyten und antigenpräsentierende Zellen (Langerhans-Zellen und dermale dendritische Zellen). Es wird sekretorisches Immunglobulin A in den Oberflächenfilm der Haut abgegeben (Fritsch and Schwarz, 2018, pp. 6-42).

Es gibt beim Menschen vor allem zwei Melanin-Typen: das Eumelanin (bräunlich schwarze) und das Phäomelanin (gelblich-rote). Das Mischungsverhältnis dieser beiden bestimmt den individuellen Hauttyp. So werden sechs Hauttypen nach Fitzpatrick unterschieden: 1. keltischer Typ (sehr helle Haut, Sommersprossen, rote Haare, helle Augen), 2. Kaukasier (helle Haut, blonde Haare, helle Augen), 3. Mischtyp (hellbraune Haut, hell-dunkelbraune Haare, helle oder braune Augen), 4. mediterraner Typ (mittelbraune Haut, dunkle Haare, dunkle Augen), 5. Asiaten, Lateinamerikaner (dunkelbraune Haut), 6. Afrikaner, Afroamerikaner (schwarze Haut) (Sterry *et al.*, 2018, p. 191).

Beim keltischen Typ, Hauttyp I nach Fitzpatrick, überwiegt das schwefelhaltige Phäomelanin, welches bei dunkleren Haar- und Hauttypen abnimmt (Fitzpatrick, 1987, pp. 226, 1509). Melanine sind Oxidations- und Polymerisationsprodukte der Aminosäure Tyrosin. Durch das Enzym Tyrosinase entsteht das braunschwarze Eumelanin und das gelbrote Phäomelanin. DHICA(Dihydroxyindolcarboxylsäure)-Melanin und DHI(Dihydroxyindol)-Eumelanin streut und absorbiert UV-Strahlung, zum größten Teil durch die Umwandlung der Strahlenenergie in Wärme. Phäomelanin kann nur schlecht vor UV-Strahlung schützen und kann freie Radikale freisetzen. Die Funktion des Melanins ist der Schutz der Erbinformation vor mutagener Strahlung (Fritsch and Schwarz, 2018, pp. 32-33).

Die Epidermis, auch Oberhaut genannt, besteht aus mehrschichtig verhorntem Plattenepithel, 85 % der Zellen sind Keratinozyten und 15 % Spezialzellen, wie Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen. Die Epidermis ist ein Proliferationsgewebe. Die apikale Hornschicht, die sich aus den Keratinozyten entwickelt, ist sehr reißfest und stellt einen effektiven Schutz gegen Wasser und wasserlösliche Substanzen dar.

Einleitung

Die Dermis, Lederhaut, lässt sich in stratum papillare und stratum reticulare unterscheiden und reguliert den Hautturgor, gibt unserer Haut Festigkeit und Spannung. Die Dermis schließt sich der Epidermis an und liegt der Subkutis auf.

Die Subkutis dient als Verschiebeschicht, Fettdepot und Wärmeisolator mit lockerem Binde- und Fettgewebe (Schiebler and Schmidt, 2002, pp. 205-209).

1.1.1 Maligne Tumoren der Haut

Die natürliche UV-Strahlung besteht zu 90% aus UVB 280 - 320 nm und zu 10 % aus UVA 320 - 400 nm - Strahlung. Dies verursacht an unserer Haut Sonnenbrände, oxidativen Stress, Hautalterung und DNA-Schäden (Herzog, Wehrle and Quass, 2009, p. 869; Plewig *et al.*, 2018a, p. 756). Jeder Sonnenbrand ist bereits ein Warnsignal des Körpers, das erkennbare aber auch nicht wahrnehmbare Schädigungen der Haut anzeigt. Es können Immunsuppression und Kanzerogenese auftreten (Narayanan, Saladi and Fox, 2010, p. 979; Helfrich, Sachs and Voorhees, 2008, p. 177; Damian *et al.*, 2011, p. 658). Eine akute Hautschädigung durch eine übermäßige UV-Exposition (Sonnenbrand) während früher Lebensphase, bedingt ein erhöhtes Risiko für die Entstehung maligner Melanome (Balk and Council on Environmental Health and Section on Dermatology, 2011, p. 590; IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1992, p. 219). Für die Entstehung von BCC und PEC ist die UV-Strahlung einer der bedeutendsten Risikofaktoren. Dabei ist der UVB-Anteil (280 - 320 nm) für die Induktion einer DNA-Mutation bei MM, BCC und PEC entscheidend (Plewig *et al.*, 2018b, p. 1788).

Neben dem Hauptrisikofaktor der UV-Strahlung als exogenem Faktor sind die Ursachen von Hautkrebs multifaktoriell: genetische Faktoren (eine herabgesetzte DNA-Reparaturkapazität), humane Papillomaviren (HPV), chemische Karzinogene, Immunsuppression und ionisierende Strahlen sowie individuelle Faktoren : Hautfarbe , Dicke des stratum corneum, chronisch entzündliche Erkrankungen der Haut und der Immunstatus (Plewig *et al.*, 2018b, p. 1801).

Die UVB-Strahlung wird u. a. von der DNA absorbiert und induziert auf diesem Weg Schäden in Form von Doppelstrangbrüchen und Cyclobutan-Pyrimidin-Dimeren. Onkogene und Tumorsuppressorgene sind dabei zentrale Angriffspunkte (Situm *et al.*, 2010, p. 12). Der Zellzyklus wird beispielsweise vom Tumorsuppressorgen P53 kontrolliert. Bei Schäden am genetischen Material, wird der Zellzyklus angehalten, um mehr Zeit für

Einleitung

die DNA-Reparatur zu schaffen. P53 ist mit ca. 50 % das häufigste Zielgen von Mutationen bei der UV-Karzinogenese. Bei schweren Schäden wird die Vermehrung gestoppt und es kommt zur Apoptose. Führt nun die UV-Strahlung zum Funktionsverlust, kommt es zur ungehemmten Vermehrung von genetisch veränderten Zellen. Für die maligne Transformation sind noch weitere Ereignisse relevant, so lassen sich bei mehr als 90 % aller PEC und aktinischen Keratose Mutationen am P53 Gen finden (Fritsch and Schwarz, 2018, p. 728).

UVA-Strahlung hingegen übt keinen direkten Einfluss auf die DNA aus, induziert aber reaktive Sauerstoffspezies (Reactive Oxygen Species, ROS). Dieser Molekültyp ist vor allem verantwortlich für die Hautalterung, kann aber auch die Ursache für Veränderungen an den Basen der DNA-Nukleinsäuren sein. Das typische Merkmal ROS-spezifischer Mutationen ist der Austausch der Base Guanin gegen Thymin, sowie der Austausch von Thymin gegen Guanin. Des Weiteren kann der oxidative Stress zu Strangbrüchen führen (Ikehata and Ono, 2011).

Die gesteigerte Inzidenz von Basalzellkarzinomen, Plattenepithelkarzinomen und deren Vorstufen aktinische Keratosen, sind Folgen chronischer UV-Expositionen der Haut (Wang, Balagula and Osterwalder, 2010; Rigel, 2008; Gilchrest *et al.*, 1999). Die besonders in der hellhäutigen Bevölkerung ansteigende Inzidenz wird zunehmend zu einem sozioökonomischen Problem als Folge von Freizeitaktivitäten im Freien und ungenügendem Sonnenschutz.

Das Basalzellkarzinom, ein semimaligner Tumor der haarfollikeltragenden Haut, ist die häufigste, nicht gutartige Neubildung der Haut. Es wächst meist nur lokal invasiv und destruierend, metastasiert aber eher selten. BCC sind die häufigsten malignen Tumoren des Menschen und treten zu 80 % im Kopf-Hals-Bereich mit Bevorzugung auf der Nase auf. Die Inzidenz beträgt 100 Fälle auf 100.000 Einwohner und Jahr. Patienten*innen des Hauttyps I oder II (sonnenempfindlicher Haut) mit einem Durchschnittsalter von 60 Jahren sind häufiger betroffen (Moll, 2016, p. 315; Plewig *et al.*, 2018b, p. 1787).

Klinisch zeichnen sich BCC durch eine große Variationsbreite aus, wobei einzelne Subtypen auch klinisch differenzierbar sind (Plewig *et al.*, 2018b, p. 1789).

Zuerst zeigt sich eine grauweiße Papel mit perlmuttartigem Glanz und einzelnen Telangiektasien (Basaliomperle), wobei es durch mechanische Manipulation (Kratzen, Rasie-

Einleitung

ren) mit einer hämorrhagischen Kruste überdeckt wird und sogar im weiteren Verlauf zu Ulzerationen kommen kann (Moll, 2016, p. 315).

Typen des Basalzellkarzinoms sind: initiales, noduläres (solide-häufigster Typ), zystisches, ulzeriertes, pigmentiertes, sklerodermiformes, superfizielles (Rumpfhautbasaliom) BCC, sowie Narbenbasalzellkarzinom und metastasierendes BCC. Weitere Subtypen sind eher histopathologisch klassifizierbar, wie z.B. mikronoduläres, polyploides, infiltrierendes, keloidales und metatypisches BCC, Fibroepitheliom. Differentialdiagnosen sind bei kleinem, solidem BCC: Talgdrüsenhypertrophie, dermale Nävuszellnävi, senile Angiofibrome; beim Rumpfhautbasaliom (superfizielles BCC): Morbus Bowen, Morbus Paget, Psoriasis, nummuläres Exzem; beim ulzerierenden BCC: PEC, Keratoakanthom, und bei pigmentiertem BCC: seborrhoische Keratose, Nävuszellnävus, Angiokeratom, malignes Melanom und Naevus blue.

Die Therapie des BCC bedient sich vieler Behandlungsmethoden: Exzision mit histologischer Untersuchung, Kürretage/Elektrodesikkation/CO₂-Laserablation und Kryotherapie, Strahlentherapie, photodynamische Therapie, immunmodulierende externe Behandlung oder zytostatische Behandlung. Welche Therapieform ausgewählt wird, hängt von der Größe, Lokalisation und dem klinischen/histologischen Subtyp des BCC ab (Plewig *et al.*, 2018b, pp. 1794-1796). Die Prognose zur Heilung nach Therapie primärer BCC liegt bei 95 - 99 % und ca. 90 % für Rezidivtumoren. Nachsorgen sollten über 3 Jahre jedes Jahr 1-mal erfolgen (Plewig *et al.*, 2018b, p. 1794).

Das Melanom, ein bösartiger Tumor, geht von Melanozyten aus. Es ist zumeist ein Tumor der hellhäutigen Bevölkerung und stark abhängig von der Sonneneinstrahlung. Es ist eine häufig tödlich verlaufende Erkrankung. Es verursacht 1 bis 2 % aller Gesamtkrebstodesfälle pro Jahr und stellt in mittleren Breiten ca. 3 % aller Krebsfälle pro Jahr dar (Fritsch and Schwarz, 2018, p. 782; Narayanan, Saladi and Fox, 2010; Marks, 1999).

Das Melanom tendiert durch eine frühzeitige und ausgeprägte Neigung zu lymphogener und/oder hämatogener Metastasierung, mit häufig letalem Ausgang. Es ist für etwa 90 % aller Sterbefälle an Hauttumoren verantwortlich. Deshalb sind frühe Erkennung und bestmögliche Behandlung wichtig.

Einleitung

Von Melanozyten ist bekannt, dass sie Neuralleistenzellen entstammen, die während der Embryogenese in die Haut wandern und dort im Verbund mit den Keratinozyten in der Basalzellschicht der Epidermis verbleiben. Melanomzellen nehmen wiederum Eigenschaften von embryonalen Zellen, wie hohe Proliferations- und Migrationsfähigkeit an, die ihre außergewöhnliche Plastizität und ihr hohes Metastasierungspotenzial erklären (Plewig *et al.*, 2018b, p. 1869).

Das Plattenepithelkarzinom (PEC) oder spinozelluläre Karzinom (Spinaliom), der zweithäufigste maligne Hauttumor, ist eine von den Keratinozyten ausgehende maligne Neoplasie der Epithelzellen, deren Hauptrisikofaktor die UV-Einstrahlung ist. Oberhalb der Basalzellmembran liegen die atypischen Zellen bei einem in-situ-Karzinom, welche dann aber in die Dermis wandern können und zu einem invasiven Karzinom werden, das spinozellulären Ursprungs ist (Plewig *et al.*, 2018b, pp. 1801-1802).

90 % der PEC sind im Kopf-Hals-Bereich angesiedelt. Die Inzidenz in Mitteleuropa liegt bei 25 - 30 Fällen pro 100.000 Einwohner im Jahr und steigt jährlich um 3 - 6 % an. Das Metastasierungsrisiko liegt bei 5 %. Männer sind häufiger als Frauen betroffen. Klinisch ist zumeist eine festhaftende Hyperkeratose auf gerötetem Grund oder direkt ein Tumor zu sehen. Selten werden Sonografie oder andere bildgebende Verfahren zur Beurteilung der Ausdehnung für die Diagnostik verwendet. Histopathologisch kann man bei einem PEC atypische epitheliale Tumorzellformationen erkennen. Diese wachsen infiltrierend und destruierend in die Dermis. Das BCC, eine aktinische Keratose, Morbus Bowen oder Keratoakanthom sind die Differenzialdiagnosen. Eine chirurgische Exzision ist die Therapie der Wahl. Weitere Möglichkeiten bieten die Strahlentherapie, Chemotherapie oder immunmodulierende Behandlung (Moll, 2016, pp. 323-325).

1.2 Parelektrische Spektroskopie

Das Verfahren der parelektrischen Spektroskopie nutzt die Reflexion elektromagnetischer Wellen an der Hautoberfläche. Der gewählte Frequenzbereich von 0,5 bis 50 MHz, der auch in der Ultraschall-Diagnostik genutzt wird, ermöglicht eine Untersuchung der Haut in Tiefen von 500 µm bis 1.000 µm. Dadurch werden nun Aussagen über die Art der Entartung und ihre Ausdehnung auch in tieferen Schichten der Haut möglich. Dies kann die bisherigen optischen Beurteilungen der Haut ergänzen, um in Zukunft die Entnahme von Hautproben auf ein Minimum zu beschränken.

Einleitung

Sind trotz geringer Gesamtladung in einem Molekül (Molekülteil) die Schwerpunkte von positiver und negativer Ladung getrennt, so besitzen diese Träger ein elektrisches Dipolmoment. In einem äußeren elektrischen Feld richten sich diese Dipole gegen die Wärmebewegung teilweise aus und bauen eine Polarisation auf. Diese Antwort entsteht nicht unmittelbar, sondern stellt sich aufgrund der Massenträgheit der dipoltragenden Teilchen und entgegen der Reibung untereinander und mit der Umgebung erst mit Verzögerung ein. Dies geschieht beispielsweise bei den kleinen Wassermolekülen bereits nach ca. 10^{-11} Sekunden, bei den Bausteinen der Zellmembranen erst nach ca. 10^{-6} Sekunden.

Setzt man die zu untersuchenden Gewebeorte nun einem elektrischen Wechselfeld aus, so können die Dipole bei niedrigen Frequenzen den Feldwechseln folgen. Bei immer höheren Frequenzen können sie dies immer weniger gut. Die Polarisation nimmt also über die Frequenzachse mit steigender Frequenz von ihrem Maximalwert auf Null ab. Man erhält als Ergebnis einer solchen frequenzabhängigen Messung - der parlektrischen Spektroskopie - zwei Aussagen. Nämlich die Dipoldichte als Maximalwert der Polarisation und die Beweglichkeit(-sfrequenz) als Wert, bei dem die Polarisation auf die Hälfte ihres Maximalwertes gefallen ist.

Elektrischer Dipol: Sind in einem Molekül bzw. Molekülteil mit Gesamtladung Null die Schwerpunkte $+Q$ von positiver und $-Q$ von negativer Ladungsverteilung durch den Abstand a getrennt, so liegt ein elektrisches Dipolmoment (kurz: ein Dipol) der Größe $p = a * Q$ vor. Im Gewebe hat man es im Wesentlichen mit zwei Sorten solcher Dipole zu tun: Die Kopfgruppen der Zellmembranbausteine tragen einen starken Dipol, da der Abstand zwischen $+Q$ und $-Q$ relativ groß ist. Die sehr viel kleineren aber häufigeren Dipole des Wassers in den Zellen, im Zellzwischenraum und im Blutkreislauf bilden den Zweiten, während der Messung erfassten Anteil.

Dipole p im elektrischen Feld E : Da der Dipol ungeladen ist, erfährt er keine Kraft, wohl aber ein Drehmoment, das ihn - wie eine Magnethöhle im Magnetfeld - zur Ausrichtung in die Richtung des äußeren elektrischen Feldes E 'überreden' möchte. So würden bereits verschwindend kleine Feldstärken eine völlige Ausrichtung aller Dipole im Gewebe hervorbringen. Als 'Konkurrenz' für diese Bemühung tritt die Wärmebewegung auf an der alle Gewebebausteine teilnehmen: Sie möchte eine möglichst hohe Unordnung als

Einleitung

wahrscheinlichsten Zustand erzwingen, d. h. die Dipole in alle Raumrichtungen gleichmäßig verteilen.

Dieses Nebeneinander beider Effekte wird durch den Boltzmann-Faktor beschrieben, $f = \frac{pE}{kT}$ mit der Größe k als Naturkonstante. In unserem Fall liegt f im Bereich von 10^{-5} bis 10^{-6} . Die Anzahl von n Dipolen p im Volumen V definiert die Antwortgröße Polarisation.

$$P = \frac{n \langle p \rangle}{V}$$

Dabei ist $\langle p \rangle$ das mittlere Dipolmoment $\langle p \rangle = pf$. Dadurch wird die Antwort P auf die Fragestellung E zum Feld E selbst proportional. Die Permittivität (= Dielektrizitätskonstante)

$$\varepsilon = 1 + \left(\frac{1}{\varepsilon_0}\right) * \left(\frac{P}{E}\right)$$

ist definiert über P , E und die Influenzkonstante ε_0 eine Naturkonstante, welche aus Gründen des verwendeten Maßsystems hinzutreten muss.

Reaktion auf ein Wechselfeld: Macht man das äußere elektrische Feld E zu einem Wechselfeld $E(t)$ der variablen Frequenz f , so beschreibt man dies durch den Ansatz

$$E = E_0 \cos(2\pi ft), \text{ mit } E_0 = \text{Amplitude} .$$

Die Polarisation P als Antwort wird daher auch zeitabhängig mit derselben Frequenz f , nur gibt es einen Antwortanteil $P'(f)$ 'im Takt' und einen Antwortanteil $P''(f)$ um 1/4 Schwingungsdauer 'verspätet', nämlich

$$P(t) = P'(f) \cos(2\pi ft) + P''(f) \sin(2\pi ft) .$$

Dieses Verhalten pflanzt sich auf die Größe Permittivität $\varepsilon(f)$ fort und auch hier finden wir die beiden Antwortanteile Dispersion $\varepsilon'(f)$ und Absorption $\varepsilon''(f)$. Debye berechnete diese beiden Frequenzabhängigkeiten als

$$\varepsilon'(f) = \frac{\Delta\varepsilon}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)},$$

Einleitung

$$\varepsilon''(f) = \Delta\varepsilon \frac{\left(\frac{f}{f_0}\right)}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)}$$

Hierin sind $\Delta\varepsilon$ die Dipoldichte als dimensionslose Größe und f_0 die Dipolbeweglichkeit als Frequenz. Diese beiden Parameter genügen zur Charakterisierung jeder der beiden im Gewebe vorherrschenden Sorten von Dipolen.

Dem/der Diagnostiker*in werden aus den eingangs angegebenen Gründen, neben dem Verlauf der beiden Kurven $\varepsilon'(f)$ und $\varepsilon''(f)$ für Messung und Vergleich, die beiden Quotienten

$$\frac{\Delta\varepsilon_{\text{Messung}}}{\Delta\varepsilon_{\text{Vergleich}}} \text{ und } \frac{f_{0,\text{Messung}}}{f_{0,\text{Vergleich}}}$$

angeboten. Erfahrungsgemäß liegen die Ergebnisse solcher Messungen für die relativen Dichten im Bereich über Eins und für die relativen Beweglichkeiten im Bereich unter Eins.

Unterscheidung zwischen Dipolarten: Die beiden wichtigsten Dipoltypen im Gewebe unterscheiden sich in ihrem Antwortverhalten gravierend: Die Wassermoleküle als Dipolträger, mit ihrer sehr geringen Molmasse von 18 g/mol, besitzen eine geringe Massenträgheit. Somit liegt bei ihnen f_0 bei ca. 18.000 MHz, also weit oberhalb des benutzten Frequenzbereichs - man darf hier $\varepsilon' = \Delta\varepsilon = 81$ und $\varepsilon'' = 0$ annehmen. Im Fall der Phospholipid-Kopfgruppen, mit einer Molmasse von ca. 600 g/mol, ist die Massenträgheit so groß, dass bereits im Bereich f um 0,1 - 1 MHz der Abfall von $\varepsilon''(f)$ und das Durchlaufen des Maximums von $\varepsilon''(f)$ festgestellt werden kann. Genau deshalb wurde, nach vielen Vorexperimenten an Probanden*innen, der benutzte Frequenzbereich gewählt.

Es müssen für jeden/jede Patienten*in $\Delta\varepsilon_M, \Delta\varepsilon_V$ und daraus die relative Dichte $D = \frac{\Delta\varepsilon_M}{\Delta\varepsilon_V} > 1$ sowie $f_{0,M}, f_{0,V}$ und daraus die relative Beweglichkeit $B = \frac{f_{0,M}}{f_{0,V}}, V < 1$ ermittelt werden.

1.2.1 Physikalische Grundlagen des Messprinzips

Das mathematisch-physikalische Fundament der parelektrischen Spektroskopie wurde u. a. durch Studien zur nichtinvasiven Diagnostik von Larynxgewebe mit 12 verschiedenen Organen von Mäusen erprobt (Mahlstedt *et al.*, 2002; Blaschke *et al.*, 2006).

Basis der nichtinvasiven Methode der Hautdiagnostik mit Hochfrequenz ist die parelektrische Spektroskopie: Den elektrischen Dipolen wird ein äußeres elektrisches Feld angeboten. In diesem möchten die Dipole sich entsprechend einer Magnethöhle im Magnetfeld ausrichten. Dies können sie auch bei niedrigen Frequenzen des Wechselfeldes gut realisieren. Die Antwort, die Debye'sche Dispersionskurve, bleibt aber bei immer höheren Frequenzen wegen der Trägheit der Dipole aus. Dieses Verhalten nennt man Dispersion. Daneben wird elektrische Energie in Wärme umgewandelt, was anfänglich zunimmt, dann aber aus demselben Grund wieder abfällt. Dieses Verhalten nennt man Absorption. Diejenige Frequenz, bei der die Dispersion auf 1/2 abgenommen bzw. die Absorption durch ihr Maximum geht, heißt Dipolbeweglichkeit.

Die parelektrische Spektroskopie ist die Untersuchung der Antwort von elektrischen Dipolen auf ein äußerlich angelegtes elektrisches Feld in Abhängigkeit von der Frequenz (Blaschke *et al.*, 2006). Diese Dipolmomente (p) erfahren durch das angelegte elektrische Feld eine Kraft und richten sich parallel zum Feld (E) aus. Dadurch summieren sich die einzelnen Dipolmomente zu einer Polarisation (P) auf, die mit der Stärke des elektrischen Feldes zunimmt. Es ist sinnvoll, den Quotienten $\varepsilon = \frac{P}{E}$ zu betrachten und zu messen, die sogenannte Dielektrizitätskonstante (ε).

Wird das von außen angelegte magnetische Feld E , zu einem Wechselfeld $E(t)$, $t = \text{Zeit}$, so können bei großen Schwingungsdauern T , d. h. niedrige Frequenzen f ($f = \frac{1}{T}$), die Dipole den Feldwechseln folgen. Wird die Frequenz erhöht, können die Dipole der Frequenz nicht mehr folgen. Die Ursache hierfür ist die Massenträgheit der Moleküle/Molekülteile, wobei die maximale P-Antwort auf E dann auf Null absinkt.

Diejenige Frequenz f_0 , bei welcher die maximale P-Antwort auf die Hälfte gesunken ist, ist die Beweglichkeit(-sfrequenz) und damit eine der beiden Ergebnisgrößen. Die zweite Messgröße ist die Größe der maximalen P-Antwort, d. h. die Dichte der Dipole in entartetem und normalem Gewebe.

Einleitung

Die Dipole 'erfahren' das elektrische Wechselfeld $E(t) = E_0 \cos(2\pi ft)$. Die Antwort $P(t)$ der Dipole kann nur mit derselben Frequenz f erfolgen. Aber die Antwort enthält neben dem 'Im Takt' - also ebenfalls mit $\cos(2\pi ft)$ schwingenden - Teil auch noch einen um $1/4$ der Schwingungsdauer Teil, beschrieben durch die Funktion $\sin(2\pi ft)$. Es folgt

$$P(t) = P' \cos(2\pi ft) + P'' \sin(2\pi ft).$$

Entsprechend fließt in die Dielektrizitätskonstante ϵ ein Anteil der Dispersionsantwort ϵ' und ein Anteil Absorptionsantwort ϵ'' .

In der graphischen Darstellung Abbildung 2 wird die Extinktion gegen die Wellenlänge aufgetragen, die Debye-Kurve wird dargestellt. Mathematisch lässt sich der dargestellte Zusammenhang in Form der Debye Gleichung erläutern.

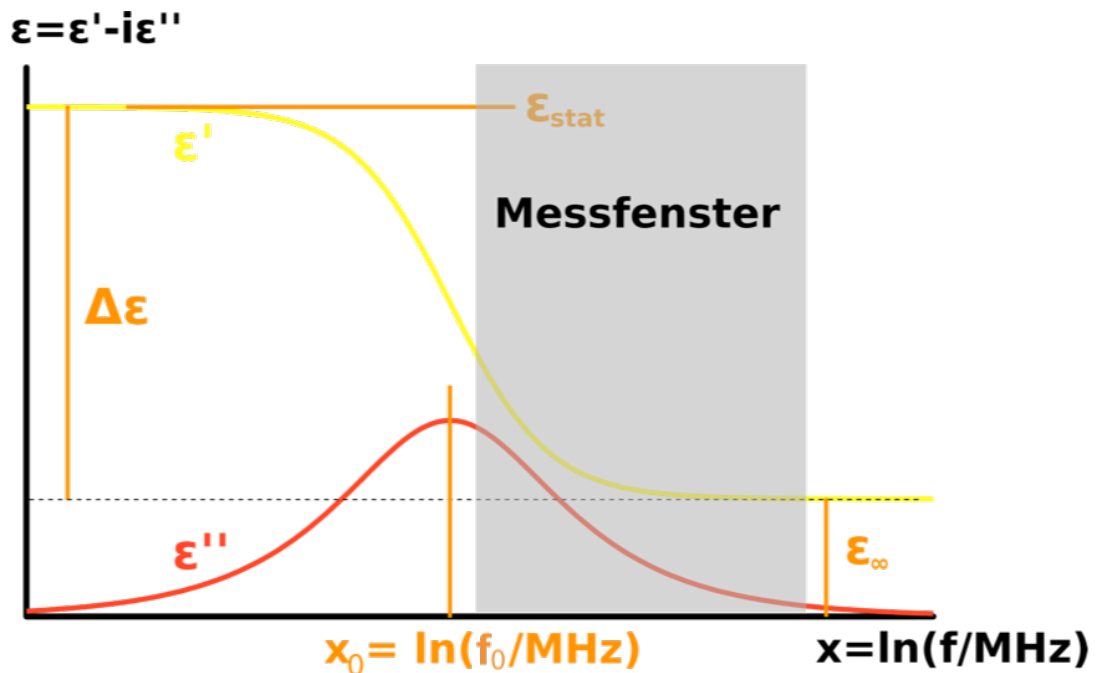


Abbildung 2: Debye Kurve (parelectrics UG, 2013)

Einleitung

In der Abbildung 2 ist die Dipoldichte als dimensionslose Größe $\Delta\varepsilon$ als Differenz von ε_∞ und dem Maximum der Dispersion $\varepsilon' = \varepsilon_{stat}$ aufgetragen. Weiterhin ist die Absorption ε'' dargestellt.

$$\varepsilon'(f) = \frac{\Delta\varepsilon}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)}$$

$$\varepsilon'' = \frac{\Delta\varepsilon\left(\frac{f}{f_0}\right)}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)}$$

$\Delta\varepsilon$ Messung / $\Delta\varepsilon$ Vergleich und f_0 , Messung / f_0 , Vergleich.

Für sehr kleine Frequenzen f startet die Dispersion $\varepsilon'(f)$ bei ihrem Höchstwert $\Delta\varepsilon$ und nimmt mit steigender Frequenz auf Null ab. Für $f = f_0$ durchläuft die Kurve den Wert $\frac{\Delta\varepsilon}{2}$.

Die Absorptionskurve $\varepsilon''(f)$ durchläuft ihren Maximalwert $\frac{\Delta\varepsilon}{2}$ gerade bei der Frequenz $f = f_0$. Wir können also beide gesuchten Werte Dipoldichte $\Delta\varepsilon$ und Dipolbeweglichkeit f_0 aus jedem der beiden Verläufe $\varepsilon'(f)$ oder $\varepsilon''(f)$ gewinnen. Unter Verwendung beider Verläufe lässt sich die Genauigkeit in der Bestimmung von $\Delta\varepsilon$ und f_0 erhöhen.

Bei niedrigen Frequenzen können die Dipolträger bei den notwendigen Umorientierungen den Wechseln des äußeren Feldes $E(t)$ folgen. Aufgrund der Massenträgheit der Dipolträger gelingt dies bei immer schnelleren Richtungswechseln von $E(t)$ immer weniger gut. Die Absorptionskurve $\varepsilon''(f)$ gibt die vom Gewebe absorbierte (d. h. in Wärme umgewandelte) Energie wieder. Da diese Umwandlung über die mit der Geschwindigkeit steigenden Reibung der Dipolträger untereinander bzw. an ihrer Umgebung ansteigt, sollten geringeren Frequenzen $\varepsilon''(f)$ ebenfalls ständig steigen lassen. Dies geschieht auch zu Beginn, bis auch hier aus o. a. Grund die Teilchen dem Feldwechsel nicht mehr folgen können - die Absorptionskurve sinkt wieder.

Da bei den hier verwendeten Leistungen stets die eingestrahlte Feldstärke E und die Polarisationsantwort P linear zusammenhängen, kann die dimensionslose Größe Dielektrizitätskonstante ε eingeführt werden, $\varepsilon = 1 + \frac{p}{\varepsilon_0 E}$, mit ε_0 = Naturkonstante. Diese Größe ist unabhängig von der Amplitude und hängt nur von der Frequenz des Wechsel-

Einleitung

feldes ab. Ihre weitere Verwendung gestattet die mathematische Erfassung der beobachteten physikalischen Vorgänge. Die Polarisationsantwort besitzt einen Anteil P' , der im Gleichtakt mit der Wechselfeldstärke antwortet und den sog. Dispersionsanteil der Dielektrizitätskonstanten

$$\varepsilon'(f) = w + \frac{\Delta\varepsilon}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)}$$

mit w als frequenzunabhängigem Beitrag des Gewebewassers ergibt. Der um $1/4$ Schwingungsdauer verzögert anwortende Absorptionsbeitrag P'' gestattet analog die Festlegung des zweiten Beitrags

$$\varepsilon''(f) = \frac{\Delta\varepsilon\left(\frac{f}{f_0}\right)}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)}$$

diesmal ohne einen Wasserbeitrag, der erst bei höheren Frequenzen auftritt.

Wird nun die Frequenz f des äußeren elektrischen Wechselfeldes geändert, so können die beiden interessierenden Gewebegrößen Dipoldichte und Beweglichkeit(sfrequenz) f_0 berechnet werden.

Die beiden oben beschriebenen Gleichungen gehen auf den Nobelpreisträger Peter Debye zurück (Debye, 1929). Erst seit wenigen Jahren hat die hochfrequente Sende- und Empfangstechnik einen technischen Stand erreicht, die Konzeption und Aufbau parelektrischer Messsysteme gestattet.

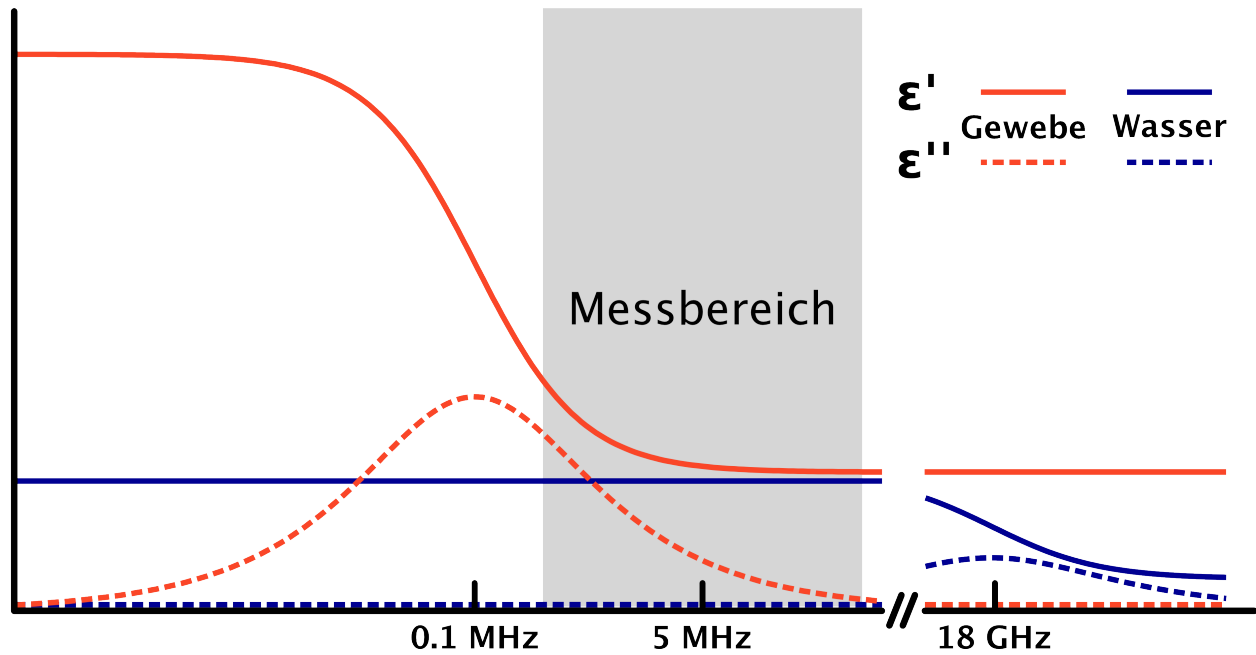


Abbildung 3: Debye Kurve, Messbereich von ParaScan I von Gewebe und Wasser

In der Abbildung 3 wird die Debye Kurve mit den Messungen von Gewebe und Wasser im parelektrischen Messbereich dargestellt. Hauptkomponenten der Bildung von Zellmembranen in Hautzellen sind Phospholipide, deren Kopfteile elektrische Dipole bilden. Diese Dipole reagieren auf ein externes elektrisches Wechselfeld. Die komplexe Permittivität ϵ in Abhängigkeit von der angelegten Frequenz dieses Wechselfeldes wird während des parelektrischen Messvorgangs bestimmt.

Die Dispersion $\epsilon'(f)$ wird von dem Realteil von ϵ repräsentiert und die Absorption $\epsilon''(f)$ von dem Imaginärteil. Durch die Debye-Beziehungen können die beiden Größen Dispersion $\epsilon'(f)$ und Absorption $\epsilon''(f)$ beschrieben werden (Debye, 1930)

$$\epsilon'(f) = \epsilon_{\infty} + \frac{\Delta\epsilon}{\left(1 + \left(\frac{f}{f_0}\right)^2\right)},$$

$$\epsilon''(f) = \frac{\sigma}{2\pi\epsilon_0 f} + \frac{\Delta\epsilon \frac{f}{f_0}}{\left(1 + \left(\frac{f}{f_0}\right)^2\right)}.$$

Die Hauptmerkmale der Dispersion und der Absorptionskurve eines untersuchten Gewebes sind die Dipoldichte $\Delta\epsilon$ und die Mobilität f_0 der permanenten elektrischen Dipolmomente (siehe Abbildung 4).

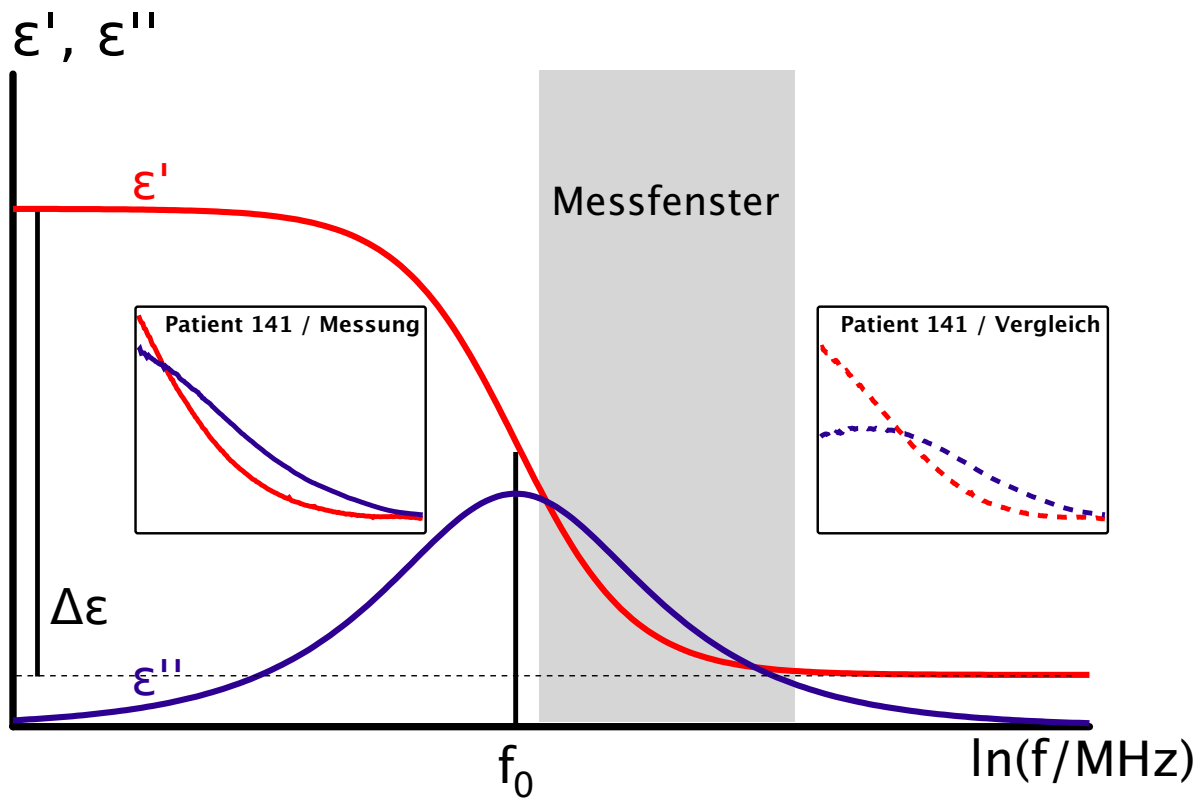


Abbildung 4: Grafik von Debye's Beziehungen zur Dispersion ϵ' und Absorption ϵ'' (parelectrics UG, 2013a)

In der Grafik von Debye's Beziehungen zur Dispersion ϵ' und Absorption ϵ'' , f_0 ist die Dipolmobilität und $\Delta\epsilon$ die Dipoldichte. Grauschattiert ist die gewählte Frequenz für die Messung und die Vergleichsmessung von Patient*in 141 mit einem MM am Unterarm dargestellt.

Sind in einem elektrisch neutralen Molekül oder Molekülteil die Schwerpunkte von positiver und negativer Ladungsverteilung Q durch den Abstand a getrennt, so ist diese Anordnung der Träger eines elektrischen Dipolmomentes $p = a * Q$. In einem äußeren elektrischen Feld E werden sich diese Dipole nach den Feldkräften ausrichten. Die Wärmebewegung wirkt diesem Bestreben entgegen und es wirkt nur ein mittleres Dipolmoment $\langle p \rangle \ll p \gg, \langle p \rangle \leq p \left(\frac{E * p}{3kt} \right)$ mit der Boltzmann'schen Konstante k als physikalische Naturkonstante. Es entsteht als Antwort auf die Feldstärke E eine Polarisation $P = \left(\frac{N}{V} \right) \langle p \rangle$ der N Teilchen im Volumen V . Da die Polarisation proportional zur Feldstärke E ist, definiert man die Permittivität als $\epsilon = 1 + \left(\frac{1}{\epsilon_0} \right) \frac{P}{E}$. Hierin ist die Größe ϵ_0 eine Naturkonstante (Influenzkonstante). Die Polarisation P besteht bei Messungen an

Einleitung

menschlicher Haut aus zwei Beiträgen, nämlich P_G von den Zellbausteinen des Gewebes und P_W vom zellulären und interstitiellen Wasser. Man muss also präzisieren zu

$$\varepsilon = 1 + \left(\frac{1}{\varepsilon_0}\right) \frac{(P_W + P_G)}{E}.$$

Wird die äußere Feldstärke nun zu einer Wechselfeldstärke

$$E(f, t) = E_0 \cos(2\pi ft)$$

mit f als Frequenz und t als Zeit, so wird auch die Polarisationsantwort frequenz- und zeitabhängig, $P = P(f, t)$.

Die Antwort erfolgt zwar immer mit der ausgeprägten Frequenz f , aber enthält einen 'im Takt' antwortenden und einen 'verzögerten' Anteil:

$$P(f, t) = P'(f) \cos(2\pi ft) + P''(f) \sin(2\pi ft).$$

Der erste Term $P'(f)$ trägt den Namen Dispersionsantwort, der zweite Term $P''(f)$ heißt Absorptionsantwort. Dieses Verhalten findet sich in der Permittivität wieder, die nunmehr ebenfalls frequenzabhängig wird. Debye definierte diese Frequenzabhängigkeit von Dispersion und Absorption als

$$\varepsilon'(f) = 1 + \frac{\Delta\varepsilon}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)},$$

$$\varepsilon''(f) = \frac{\Delta\varepsilon \left(\frac{f}{f_0}\right)}{\left(1 + \frac{f^2}{f_0^2}\right)}.$$

Hierin ist $\Delta\varepsilon$ die Dipoldichte und f_0 die Dipolbeweglichkeit. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass für den Wasseranteil die Messfrequenz f stets sehr klein als der Beweglichkeit(-sfrequenz) f_0 der Wasserdipole ist, kann der Wasserbeitrag als konstant angenommen werden. Die messungsentscheidende Beziehung drückt sich folgend als

$$\varepsilon'(f) = \frac{\Delta\varepsilon_W + \Delta\varepsilon_G}{\left(1 + \frac{f^2}{f_{0,G}^2}\right)},$$

Einleitung

$$\varepsilon''(f) = \frac{\Delta\varepsilon_G \left(\frac{f}{f_{0,G}}\right)}{\left(1 + \frac{f^2}{f_{0,G}^2}\right)}$$

aus. Für die eigentliche Diagnostik ist der Anpass-Parameter $\Delta\varepsilon_W$ ohne Bedeutung. Er dient als Hilfsgröße um die beiden relevanten Größen, Dipoldichte $\Delta\varepsilon$ und Dipolbeweglichkeit f_0 , für das Gewebe exakt zu bestimmen.

1.2.2 Anwendungen der parelektrischen Spektroskopie

Zum Zeitpunkt 1996 war die parelektrische Untersuchung von gestapelten Lipiddoppelschichten neu. In der Abbildung 5 ist ein Phospholipid – Membransystem für Dipole dargestellt, wobei diese bis zu 0,5 nm in die Lipide eindringen können.

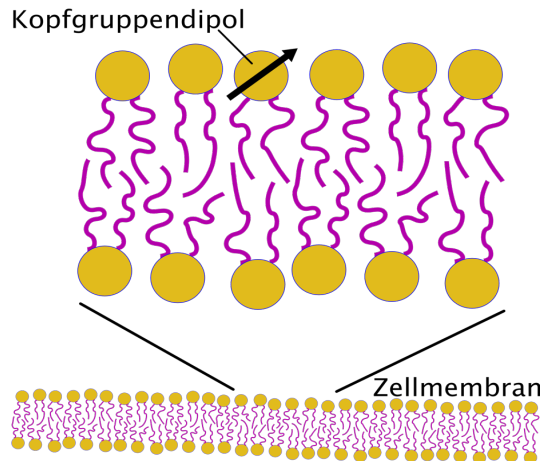


Abbildung 5: Phospholipid-Membran (parelectrics UG, 2013)

Bei dem verwendeten Messverfahren handelt es sich um Relaxationseffekte. Parelektrische Spektroskopie basiert auf dem kausalen Antwortverhalten von permanenten Dipolen auf ein äußeres elektrisches Wechselfeld im Hochfrequenzbereich. Die Dispersions- und Absorptionskurven dieser Lipiddoppelschichten sollten diese temperaturabhängigen Relaxationsprozesse des Phosphatidylcholins beschreiben. Membranen definieren Abgrenzungen und sind für die Kommunikation zwischen dem Inneren und dem Äußeren einer Zelle verantwortlich. Die Hauptbestandteile von Membranen sind die Phospholipide. Viele enzymatische Aufgaben basieren auf der Lipiddynamik. Als Sensor für die Mobilität und Hydratation von Membrankopfgruppen dient die dielektrische Spektroskopie. Mit der neuen koaxialen Sondentechnik ist es möglich die Messfrequenz zwischen 1 und 1000 MHz zu überstreichen, woraus sich aus der Antwort die Dispersion sowie die Absorptionsteile der dielektrischen Permittivität ergibt. Die Beweglichkeit der Kopfgruppen ist ein Maß für die Fluidität der gesamten Membran. Biologische Membranen sind komplizierte Vielkomponenten-Legierungen amphipathischer Moleküle. Es handelt sich um zweidimensionale Systeme, deren Struktur durch die Kopplung mit der Umgebung bestimmt wird. Den niederfrequenten Teil der Signalantwort wird der Relaxation zugeordnet (Debye-Kurve), welche von den Kopfgruppen beigetragen wird. Die Relaxationsfrequenz liegt bei 15 - 100 MHz (Klöggen *et al.*, 1996).

Einleitung

Mithilfe von NMR-spektroskopischen (Kernspinresonanzspektroskopie) Untersuchungen ergab sich, dass durch ein dynamisches NMR-Modell die Dynamik der Phosphatkopfguppen analysiert werden können. Somit liefert die Analyse Korrelationszeiten und kann ein Wert für die Elastizitätskonstante der Doppelschicht, sowie Aktivierungsenergien und Ordnungsparameter für die verschiedenen Bewegungen liefern (Dufourc *et al.*, 1992). Die NMR-Spektroskopie spielt bei der Strukturaufklärung organischer, biologischer, sowie vieler anorganischer Moleküle deshalb eine große Rolle.

Eine bestimmte Strahlungsart des elektromagnetischen Spektrums findet man bei jeder der spektroskopischen Methoden. Die Absorption von elektromagnetischer Strahlung aus ultravioletten, sichtbaren, infraroten oder Radiowellenbereich des elektromagnetischen Spektrums ist die Grundlage der Methoden der Elektronenabsorptions-, Schwingungs (Infrarot)-, und der NMR-Spektroskopie. Die angeregten Energiezustände ändern bei der NMR-Spektroskopie den Spinzustand von Atomkernen, wobei die Moleküle bei der Infrarot-Spektroskopie (Schwingungsspektroskopie) zwischen definierten molekularen Schwingungszuständen wechseln. Eine Anregung von Molekülen in höhere und energiereichere elektronische Zustände wird mit der UV bzw. sichtbaren (Vis)-Spektroskopie in Verbindung gesetzt (Lambert *et al.*, 2012, pp. 4-5, 18).

1.3 Bestehende nichtinvasive Messverfahren zur Hauttumordiagnostik

Die Aussagekraft für die Diagnostik, die Möglichkeiten für den Einsatz und die Begrenzung wird bei bildgebenden Verfahren durch Parameter wie Auflösung, Eindringtiefe und Gerätekonfiguration beeinflusst. Bei höherer Auflösung wird die Eindringtiefe generell geringer, welche vom Gewebe beeinflusst wird. Ein Signal durchdringt das Gewebe und an der Oberfläche kommt es zu Reflexion, in den tieferen Schichten zu Beugung, Brechung, Streuung und Absorption. Absorption hängt von der biochemischen Zusammensetzung des Gewebes ab. Die Streuung von Form, Partikelgröße und Struktur im Gewebe, wobei es meistens eine Mehrfachstreuung bei Ein- und Austritt gibt. Die Reflexion findet beim Eintritt eines Signals aus einem Medium wie Luft in ein anderes wie Gewebe statt. Somit findet die Reflexion bei Änderungen des Brechungsindex (Impedanzsprüngen) statt. Diese führt zu einer Abschwächung des an das Gerät zurückgesandten Signals bzw. zur Verringerung der Detektionstiefe im Gewebe. Somit muss das Signal stark genug sein um ein Rauschen zu reduzieren, welches durch mehrfach gestreute Signale entsteht. Dieses Signal darf jedoch nicht zu stark sein, da sonst durch Erwärmung die Gefahr einer Gewebeschädigung besteht (Stolz *et al.*, 2018, pp. 11-12).

Bislang gehören neben der Dermatoskopie die konfokale Lasermikroskopie, die Multiphotonentomografie, die Profilometrie und die optische Kohärenztomografie zu den Methoden der morphologischen Darstellung.

Weitere spektroskopische Methoden zur Hauttumordiagnostik sind z.B. Fluoreszenzspektroskopie, diffuse Reflexionsspektroskopie (DRS) und Raman-Spektroskopie.

Zur Dermatoskopie gehört die intravitale Betrachtung der Haut mit einer vergrößernden Optik (mit einer 10-fachen Vergrößerung, wobei es auch Geräte mit 400-facher Vergrößerung gibt). Die spektroskopischen Verfahren, liefern darüber hinaus noch Informationen über molekulare Zusammensetzung.

Bei der Sonografie werden Schallwellen reflektiert und auf einem Bildschirm sichtbar. Zur Gefäßdiagnostik wird die farbcodierte Duplexsonografie angewendet. Die niederfrequente Sonografie (7,5 - 10 MHz als Sendefrequenz) wird zur Diagnostik von Muskulatur, Lymphknoten und tieferen Hautschichten verwendet. Die hochfrequente Sonografie

Einleitung

(20 - 50 MHz als Sendefrequenz) dient zur Untersuchung der Epidermis, Dermis und Subkutis.

Histologische Verfahren als Goldstandard der Diagnostik bestätigen mit Hilfe einer Biopsietechnik eine Diagnose. Hierbei kann man Epidermis, Dermis, sowie Subkutis erkennen, sowie alle Zellarten und Tumorstadien. Dies ist der Goldstandard (Moll, 2016, pp. 47-50).

Parameter der Hautfunktionen (Hautfarbe, pH-Wert, Fettgehalt, Elastizität, Schuppung, Sauerstoffversorgung, Durchblutung, Hydratationsstatus und Barrierefunktion) können ebenfalls nichtinvasiv erfasst und quantifiziert werden (Plewig *et al.*, 2018a, pp. 77-83).

Laser-Scan-Mikroskopie (LSM) und Konfokale Reflexionsmikroskopie (RCM):

Es ist eine nichtinvasive optische Untersuchungsmethode, wobei die Oberfläche und darunterliegende Schichten der Haut untersucht werden. Bei diesen Geräten ist das Handstück mit dem Laser- und Detektionssystem verbunden. Im Handstück sind das optische Abbildungs- und Fokussierungssystem enthalten und somit kann es manuell beliebig verschoben werden. Es können Hautschichten auf der 250 x 250 µm großen Messfläche und Zellstrukturen bis zu einer Tiefe von 250 µm analysiert werden (Alborova *et al.*, 2007). Es existieren auch andere LSM-Geräte mit abweichendem Aufbau. Oberflächliche Zellen werden durch Unterspritzung der Wundränder mit einem fluoreszierenden Farbstoff angefärbt. Verfolgt werden kann die Reepithelialisierung *in vivo* dann durch Anfärben an den Untersuchungstagen. Durch starke Vergrößerung und hohe Auflösung entstehen Bilder und man kann Strukturveränderungen der epidermalen und der oberen dermalen Hautschichten unterscheiden. Des Weiteren ist die dermatologische Laser-Scan-Mikroskopie eine effiziente Methode für die Therapiekontrolle, klinische Diagnostik und für die Erforschung physiologischer und pathologischer Prozesse der menschlichen Haut (Meyer *et al.*, 2005).

Die konfokale Laser-Scan-Mikroskopie (kLSM) ermöglicht *in vivo* Aufnahmen in Echtzeit und eröffnet neue Möglichkeiten bei der Melanomfrüherkennung (Tannous *et al.*, 2002, p. 263; Langley *et al.*, 2001, p. 374), der histologischen Untersuchung von unklaren klinischen Befunden, der Basaliom- und PEC-diagnostik sowie deren Nachsorge (Sauer mann *et al.*, 2002; Rajadhyaksha *et al.*, 2001).

Einleitung

Diese Methode basiert auf der Reflexion, Streuung und Absorption von monochromatischem Licht durch die körpereigenen Chromophore der Zelle, wie Hämoglobin, Melanin und Wasser. Das Gerät ist mit einem Diodenlaser im Bereich von 830 nm (Infrarotbereich), einer Objektivlinse mit 30-facher Vergrößerung und einer numerischen Apertur von 0,9 ausgestattet. Dabei wird das reflektierte Licht durch eine Lochblende auf den Detektor geleitet und über diesen dann das aufgenommene Gewebe als horizontales Schnittbild optisch wiedergegeben. Der vom Diodenlaser erzeugte Lichtstrahl zeigt an den Hautstrukturen einen Unterschied im Reflexionsverhalten, welches vom Scanner aufgezeichnet wird. Wellenlängenbedingt können nur Epidermis und obere Dermis dargestellt werden, da die Eindringtiefe auf 250 - 300 μm beschränkt ist. RCM ermöglichen dreidimensionale Aufnahmen. Die RCM dient zur Abmessung der Ausdehnung und Verlaufsbeurteilung entzündlicher Erkrankungen und maligner sowie benigner Tumore (Moll, 2016, p. 50). Es ist ein nichtinvasives Verfahren, welches vom stratum corneum bis in das stratum reticulare der Dermis horizontale Schnitte oberflächlicher Hautschichten mit einer 1 μm zellulären Auflösung darstellt. Das Hautareal wird hierbei am Messkopf mit einem Magnetring befestigt. Durch Lateralverschiebung können die kleinen Einzelspots von 500 μm x 500 μm zu zweidimensionalen Mosaiken von mehreren mm zusammengefügt werden. Oberflächliche Hauttumore und Präkanzerosen können somit histologisch diagnostiziert werden. Bei melanozytärem Tumor, BCC und aktinischer Keratose sowie entzündlichen Hauterkrankungen kann diese Methode angewendet werden. Toxische und allergische Ekzeme können somit nichtinvasiv differenziert, sowie Erreger und Infektionskrankheiten diagnostiziert werden. Zeitersparnis zur normalen Histologie liefert diese Methode bei der Schnellschnittdiagnostik bei mikrografischer Chirurgie (Plewig *et al.*, 2018a, pp. 77-83).

Die LSM ist das Verfahren bzw. das Gerät, mit dem Bilder im Reflexionsmodus (RCM) und im Fluoreszenzmodus aufgenommen werden können. Im Reflexionsmodus, der konfokalen Laserscanmikroskopie, gelingt die Bildgebung durch die Reflexion eingestrahlt Lichts mit der gleichen Wellenlänge. Bei der Bildgebung im Fluoreszenzmodus gelingt die Bildgebung durch die Erfassung des fluoreszierenden Lichts mit einer längeren Wellenlänge.

Optische Kohärenztomografie (OCT):

Die OCT ist ein bildgebendes Verfahren, welches tomografische Schnittbilder der Haut mittels Laser anfertigt. Diese werden in das Objekt bzw. die Läsion gesandt und reflektiert, absorbiert oder gestreut zurückgesendet. Man kann mit der OCT in Echtzeit die horizontale Darstellung und mittels dynamischer OCT (D-OCT) die Gefäßdarstellung ermöglichen (Stolz *et al.*, 2018, p. 206).

Mit Hilfe dieses nichtinvasiven Verfahrens kann zwischen differentialdiagnostisch erwo-genem BCC oder aktinischer Keratose unterschieden werden, ebenso wie die seitlichen Tumorränder und Rezidive detektiert werden können. Auch eine Differenzierung von nodulären, pigmentierten BCC und einem nodulären MM ist möglich, was klinisch und auflichtmikroskopisch schwer zu erkennen ist. Eine Beurteilung der Tumordinfiltrationstiefe über 2 mm ist aufgrund der technischen Einschränkungen des OCT nicht möglich. Die maximale Tastweite beträgt 6 x 6 mm mit einer Penetrationstiefe bis zu 2 mm. Tiefenschnitte der Haut mit einer größeren Eindringtiefe des Signals bei geringerer Auflösung werden im Vergleich zur konfokalen Lasermikroskopie erreicht. Es lassen sich stratum corneum, die Epidermis und die obere Dermis vermessen (Plewig *et al.*, 2018a, pp. 78-79; Stolz *et al.*, 2018, pp. 206, 275-279). Die dynamische OCT kann den Blutfluss und somit die Durchblutung darstellen. Die OCT stellt eine sinnvolle Ergänzung zu anderen bildgebenden Verfahren dar und ermöglicht eine in vivo Diagnostik. Es besteht eine hohe Flexibilität, welche eine Untersuchung an nahezu jeder Stelle des Körpers möglich macht. Die OCT ermöglicht dem/der Dermatologen*in Diagnosen zeitnah zu sichern und differenzierte Therapieentscheidungen zu treffen, auch wenn sie die histo-logische Untersuchung nicht vollständig ersetzen kann.

Ebenfalls bietet dieses nichtinvasive Verfahren, die Möglichkeit, den Krankheitsverlauf bzw. Therapieerfolg anhand morphologischer Veränderungen in vivo standardisiert zu quantifizieren. Als Lichtquelle wird breitbandige Superlumineszenzdiode oder Laserlicht im nahinfraroten Wellenlängenbereich zwischen 800 - 1.700 nm verwendet. Mit der entsprechenden Lichtquelle wird kohärentes Licht in das zu untersuchende Gewebe eingestrahlt und das zurückgestreute Licht mit einem Referenzwert verglichen. Die Interferenz der beiden Signale ergibt ein Muster und wird durch eine Fourier-Transformation in Raumkoordinaten umgerechnet, sodass ein Tiefenstreuprofil entsteht, das als A-Scan bezeichnet wird. Durch Ablenkung der Lichtquelle kann eine Sequenz

Einleitung

benachbarter A-Scans aufgenommen werden, die als B-Scan bezeichnet wird und ein Querschnittbild entstehen lässt. Durch die Kombination mehrerer B-Scans entsteht eine dreidimensionale Darstellung.

Raman-Spektroskopie:

Die Raman-Spektroskopie bewährte sich bereits in einigen Studien zur Melanom- und Nicht-Melanom-Hautkrebsarten (NMSC) Erkennung. In neueren Studien konnten Spektren von normaler Haut, Basaliom und PEC mit annähernd 100 % Sensitivität und 70 % Spezifität von normalem pigmentiertem Gewebe unterschieden werden (Schleusener *et al.*, 2015).

Die Laserstrahlung von 785 nm Wellenlänge dringt in das Gewebe ein und wird im Gewebe diffus gestreut, wobei ein kleiner Teil an den Molekülbindungen des Gewebes gestreut wird. Die damit einhergehende molekülbindungsspezifische Energieänderung wird im Spektrum des detektierten Lichts als Wellenlängenverschiebung erfasst. Ein Ramanspektrum enthält somit Informationen über die molekulare Gewebezusammensetzung. Da die Entartung von Gewebe mit Zusammensetzungsänderungen einhergeht, unterscheiden sich Spektren von normalem und entartetem Gewebe (Schleusener *et al.*, 2015).

Multiphotonentomografie (MPT):

Die MPT kommt ohne Fluoreszenzmarkierung aus und kann nichtinvasiv eine optische Darstellung lebender Gewebe bieten. Mit dieser Methode kann man die Hautveränderungen, den Zellstoffwechsel und transkutane Transportprozesse beurteilen (Stolz *et al.*, 2018, p. 259).

Im Vergleich zur konfokalen Laserscanmikroskopie stellt die Multiphotonenmikroskopie Horizontalschnitte der Haut mit höherer Auflösung und Gewebedifferenzierung dar. Ein Laser beleuchtet die Haut mit Impulsen. Bei dieser Methode wird die Bildgebung durch die Anregung der Eigenfluoreszenz oder einer Frequenzverdopplung erreicht. Im Empfänger werden die vom Gewebe emittierten Photonen erkannt. Die Multiphotonentomografie wird zurzeit nur in der Forschung eingesetzt.

2. Fragestellungen und Zielsetzung der Untersuchungen

Für die klinische Überprüfung der Anwendbarkeit und Validität des Verfahrens, wurde eine prospektive In-vivo-Machbarkeitsstudie nach dem Medizinproduktegesetz (MPG) mit dem Einsatz der parelektrischen Spektroskopie für die Hauttumordiagnostik, in Zusammenarbeit mit der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte und der Firma parelectrics UG Berlin durchgeführt.

Aufbauend auf erfolgsversprechenden Voruntersuchungen der parelektrischen Spektroskopie zur Untersuchung zwischen malignem und normalem Hautgewebe für die Hautkrebsarten Basaliom und malignes Melanom an einem/einer Patienten*in, war die Frage zu klären, in wieweit diese Methode Hauttumoren von tumorfreier Haut und Hauttumoren untereinander unterscheiden kann.

Zielsetzung:

Ziel der Untersuchungen ist eine eindeutige und statistisch signifikante Unterscheidung zwischen erkranktem und normalem Hautgewebe für die Hautkrebsarten BCC und MM mittels des Einsatzes der parelektrischen Spektroskopie zu erzielen. Hierzu müssten sich die Werte sowohl in Dipoldichte als auch in Beweglichkeit außerhalb der Fehlergrenzen unterscheiden.

Von der Firma parelectrics UG wurden hierzu, zunächst an 12 Proband*innen, die Unterschiede zwischen verschiedenen 'normalen' Hautgeweben an 5 unterschiedlichen Körperstellen untersucht und das Messvorgehen optimiert.

Im Anschluss wurde im Rahmen einer klinischen Prüfung die Trennschärfe des Verfahrens der zu untersuchenden beiden Hauttumoren, Basaliom und malignes Melanom, an jeweils 10 Patienten*innen untersucht. Dem muss sich - selbst bei diesem relativ geringen Messwerteaufkommen - eine konfirmative Statistik anschließen. Zur Überprüfung der mit dem Einsatz der parelektrischen Spektroskopie gewonnenen Diagnostik-Aussagen muss jeweils eine bioptische Untersuchung als 'Goldstandard' zur Verifikation/Falsifikation der Ergebnisse dienen.

3. Material und Methodik

3.1 Technisches Gerät ParaScan I

Für die Studie kam der ParaScan I der Firma Parelectrics zum Einsatz.

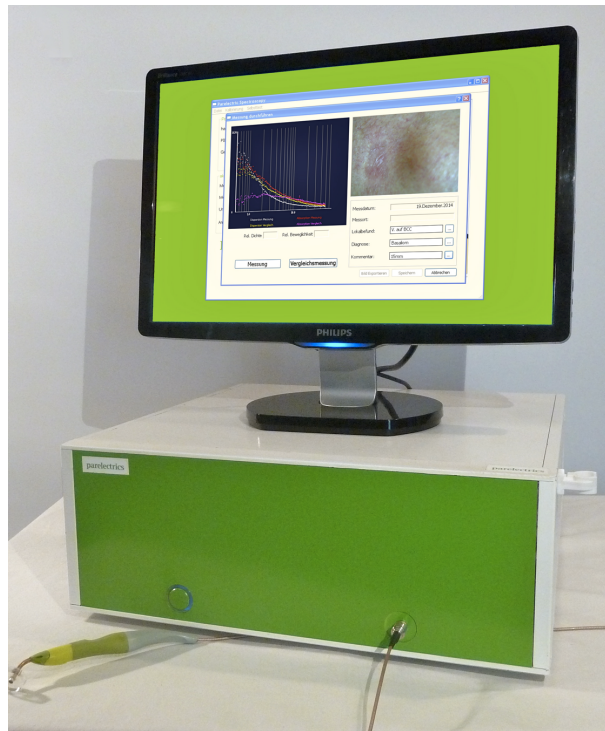


Abbildung 6: ParaScan I Messgerät mit Monitor (eigene Fotografie)

Das ParaScan I - System besteht aus einer Steuereinheit und einer Messsonde. Aufgabe der Steuereinheit ist die Interaktion mit dem Anwender über eine Maus sowie die Verarbeitung der Messsignale. Die Messsonde verwendet für die Messung der Hautareale am Sondenkopf eine Elektrode.

Die Parascan-Messung kann durch den Arzt*in selber oder einen geschulten Anwendenden (medizinische Assistent*in) durchgeführt werden. Die Gerätekosten liegen im Bereich von ungefähr 3.000 Euro.

Die Messungen vom ParaScan I werden unmittelbar analysiert. Das Ergebnis der ParaScan I-Messung wird auf dem Bildschirm in Form einer Debye Kurve angezeigt, die den Dispersionskoeffizienten bzw. den Messbereich darstellt, in Kombination mit der Dispersions- und Absorptionskurve der Polarisation. Weitere Informationen wie Lage der untersuchenden Läsion, Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme, Alter des Pati-

enten*in, spätere histologische Absicherung etc. können zu der klinischen Diagnosestellung hinzugezogen werden und jederzeit ergänzt werden. Durch die dermatologisch klinische Diagnostik, sowie die Ergebnisse der zusätzlichen histologischen Untersuchung war eine endgültige, auf verlässlichen wissenschaftlichen Fakten beruhende Diagnose möglich.

Beschreibung des zu prüfenden Medizinprodukts, Behandlungsverfahren:

Das Gerät 'ParaScan I' zur nichtinvasiven Hautkrebsdiagnostik ist ein Medizinprodukt der Klasse I, aktiv, mit Messfunktion. Der 'ParaScan I' besteht im Wesentlichen aus zwei Teilen:

1. dem Gerät 'ParaScan I' und 2. der Messsonde als Kontakt zur Untersuchung der Haut.

Das Gerät 'ParaScan I' ist ein Tischgerät auf der Basis eines Standard-PCs. Zur Bedienung sind eine Tastatur, eine Computermaus sowie ein PC-Bildschirm angeschlossen. Die Frontplatte verfügt über einen Bedienknopf ("Ein/Aus") und über einen Stecker zum Anschluss der Messsonde.

Die Messsonde ist mit einem 2 Meter langen flexiblen Koaxialkabel an den 'Para-Scan I' angeschlossen. Das Kabel endet in einem ergonomisch geformten Handgriff, in dem es über eine Steckverbindung mit dem vorderen Teil der Messsonde verbunden ist. Der vordere Teil der Messsonde wird für die Messung auf die Haut aufgesetzt. Die Messsonde wird bei der Anwendung des 'ParaScan I' nur kurzzeitig auf die Haut aufgesetzt.

Die Stoffe, die mit der Hautoberfläche des/der Patienten*in bei der Messung in Kontakt kommen, sind

- die Plexiglasscheibe der Auflagefläche der Messsonde bestehend aus Polymethylmethacrylat (PMMA),
- die metallenen Kontaktflächen des Endes der Messsonde, die vollständig vergoldet sind,
- das Dielektrikum des Koaxialkabels zwischen Außen- und Innenleiter bestehend aus PTFE (Polytetrafluorethylen).

Die biologische Beurteilung im Rahmen der Risikoanalyse hat ergeben, dass von der Messsonde aufgrund der verwendeten Materialien keine Gefährdung des/der Patienten*in oder des Anwendenden ausgeht.

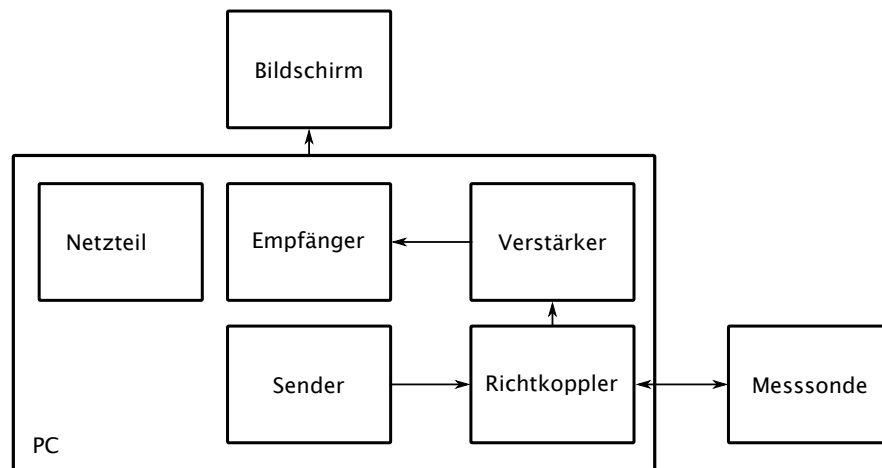


Abbildung 7: Blockschaftbild des ParaScan I (parelectrics UG, 2013)

Methode:

Es gibt eine Unterscheidbarkeit der beiden Hauttumoren BCC und MM im Vergleich mit normalem Hautgewebe durch die beiden Messgrößen „Verhältnis der Dipoldichten“ und „Verhältnis der Dipolbeweglichkeiten“.

Durch Untersuchungen sollen Aussagen über das Verhalten der verdächtigen Läsion in den tieferen Schichten der Haut, über die Art der Entartung und ihre Ausdehnung in der Tiefe bei einem Frequenzbereich von 0,5 - 50 Mhz getroffen werden können.

Es ist die Untersuchung der Antwort von elektrischen Dipolen auf ein äußeres elektrisches Feld in Anhängigkeit von der Frequenz. Durch die Unterschiede der Dipole in Dichte und Beweglichkeit, gibt sich der Unterschied zwischen erkranktem und normalem Gewebe zu erkennen.

Es gibt eine Bildgebung um das Ergebnis mit dem histologischen Befund zu vergleichen, sowie eine Anfertigung eines Bildes der Läsion für den CRF-Bogen und zur Dokumentation.

Material und Methodik

Die Eindringtiefe in die Hautschicht liegt bei 500 μm - 1.000 μm , es besteht also eine hohe Sensitivität in der Tiefe der Basalmembran.

Die Sendefrequenz liegt bei 0,5 - 50 MHz. Dies ist um den Faktor 1.600 geringer als die Leistung eines Mobiltelefons.

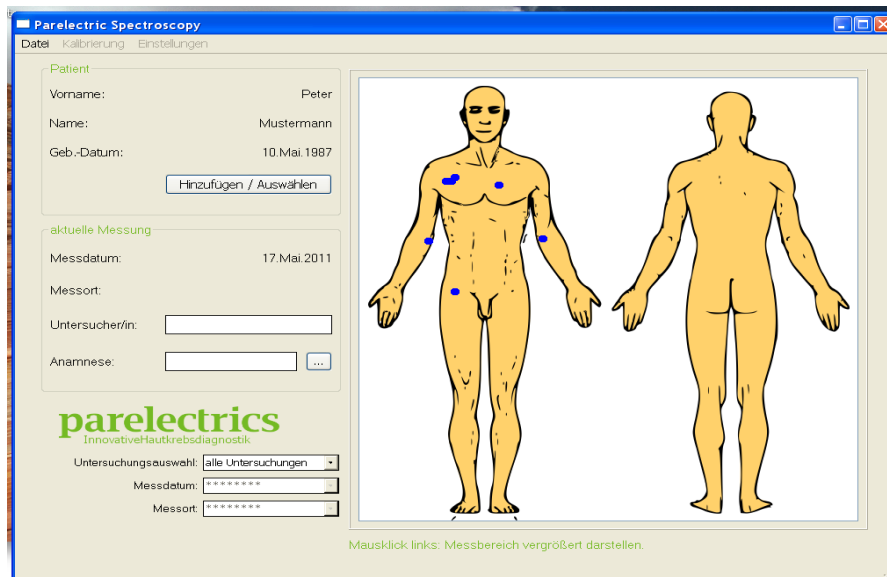


Abbildung 8: ParaScan I Bildschirmansicht (Screenshot der Benutzeroberfläche)

Kalibrierung:

Das Gerät besteht neben den implementierten Rechenprogrammen hardwareseitig im Wesentlichen aus einem durchstimmbaren Sender und einem Empfänger. Letzterer muss die an der Hautoberfläche reflektierten Signale verarbeiten. Um dies korrekt zu tun, werden mehrere bekannte Faktoren berücksichtigt. Der Sender gibt im verwendeten Frequenzbereich (0,5 - 50 MHz) eine nicht konstante Spannung ab, der Empfänger muss anschließend die reflektierte Spannung dem passenden Wert der physikalischen Größe der Permittivität ϵ zuordnen. Da neben den parelektrischen Eigenschaften des Gewebes, nämlich Dipoldichte und -beweglichkeit, auch noch eine elektrische Leitfähigkeit zu berücksichtigen ist, müssen alle diese Umstände dem Gerät mitgeteilt werden.

Man verwendet daher herstellenseitig Kalibrierungen im gesamten Frequenzbereich f , d. h. Messungen mit drei Substanzen bei denen die Werte der Dipoldichte, -beweglichkeit und elektrischen Leitfähigkeit genau bekannt sind. Die drei Kalibrierungs-

substanzen sind destilliertes Wasser, isotonische NaCl-Lösung und Ethylendiglykol. Die jeweils 200 Werte von Dispersion $\varepsilon'(f)$ und Absorption $\varepsilon''(f)$ sind für alle drei Substanzen im Speicher des Systems hinterlegt.

Da Messungen an den Patienten*innen nicht immer bei der gleichen Temperatur möglich sind, muss vor Erfassung jedes Messwertepaares an der verdächtigen Stelle und einem benachbarten Ort eine weitere Kalibrierungsmessung in Luft erfolgen. Die hin- und rücklaufenden Wellen legen durch die Verkabelung im Gerät selbst und bis zur Messsonde Wege zurück, die sich mit der Temperatur leicht verändern.

3.2 Durchführung der Messungen mittels ParaScan I

Die Messsonde wurde ohne Verrutschen oder Wackeln auf die Läsion mit moderatem/mittlerem Druck gehalten und die Messung mit einem Fußschalter ausgelöst. Es wurden stets 3 unabhängige und repräsentative Messungen der Hautläsion (BCC oder MM) mit mittlerem Druck der Messsonde und anschließend 6 Vergleichsmessungen von einem benachbarten unauffälligen „normalen“ Hautareal im Abstand von 2 cm gemessen. Jede Messung dauert 20 Sekunden. War ein solcher Hautbereich in unmittelbarer Nähe (z.B. im Gesicht) nicht erreichbar, wurde ein entsprechender Bereich der korrespondierenden Gesichtsseite als Referenz genommen.

Mit der Messsonde schickt ein Sender eine elektromagnetische Welle auf die Hautstelle vor der Messleitung und analysiert das dort reflektierte Signal. Zu dieser Analyse sind dem Gerät 'ParaScan I' werksseitig bereits die Verhaltensweisen bei Reflexion am offenen Leitungsende, die Reflexion bei destilliertem Wasser als Messsubstanz und - wegen einer stets im menschlichen Gewebe vorhandenen elektrischen Leitfähigkeit - das Verhalten bei Nutzung einer isotonischen NaCl-Lösung als Messsubstanz mitgeteilt. Durch Vergleich mit diesen Kalibrierdaten kann das Gerät die dipolaren Eigenschaften der zu messenden Hautstellen berechnen.

Die Messung ist empfindlich gegenüber dem auf die Sonde ausgeübten Druck. Es wurde ein mittlerer Druck angewendet (das Gewicht der Sonde übt keinen zusätzlichen Druck aus), um einen guten Kontakt zu gewährleisten und eine vaskuläre Kompression zu vermeiden. Vor jeder Messung wird ein Wassertropfen auf das Hautareal appliziert. Durch eine Luftmessung zur Erfassung möglicher Temperatureinflüsse wird das Gerät vor jeder Messung kalibriert. Nach der jeweiligen Messung wurden die Parameter in dem Gerät gespeichert und die Messsonde mit Desinfektionsmittel gereinigt.

Untersuchungsablauf:

Schritt 1, Anfeuchten der Haut: Vor der Messung wird die „Referenz“ - Haut, sowie die zu untersuchende Hautläsion mit Wasser wie folgt angefeuchtet: Die Haut wird 1 - 2-mal mit Hilfe einer feuchten Kompresse abgewischt.

Schritt 2, Referenzmessung: Nach diesen 20 Sekunden wird die überschüssige Flüssigkeit mit einer trockenen Kompresse in einer Bewegung abgewischt. Danach wird die Sonde in der angefeuchteten Haut ausgerichtet. Die Referenzhaut wird gemessen. Die Messung dauert ca. 20 Sekunden.

Schritt 3, Läsionsmessung: Dieses Messverfahren (Schritt 1 und 2) wird an der zu untersuchenden Läsion wiederholt. Dabei muss sichergestellt sein, dass die Läsion vollständig durch die Messung erfasst wird. Bei größeren Läsionen müssen dementsprechend mehrere Messpunkte ausgewählt werden bis die gesamte zu untersuchende Fläche der atypischen Hautveränderung erfasst ist. Es sind immer 3 Messungen der Läsion notwendig.

3.3 Studiendesign: Voruntersuchungen, Machbarkeitsstudie

Voruntersuchung

Die Testung von Störfaktoren wurde an normaler Haut von 14 Probanden*innen durchgeführt. Es wurde die Auswirkung von Anpressdruck und Wasserzugabe untersucht.

Machbarkeitsstudie

In dieser Pilotstudie wurden 51 Patienten*innen mit Verdacht auf BCC und Melanom rekrutiert, wobei die Messungen präoperativ durchgeführt wurden. Die spektroskopischen Ergebnisse wurden mit den histologischen Befunden verglichen. Vor Beginn dieser Studie wurden die Einflüsse von Druck und Wasser als Kontaktmittel an Probanden*innen untersucht.

Aus dem Teil des Konformitätsbewertungsverfahren sind die grundlegenden Anforderungen an die Leistungsfähigkeit und Unbedenklichkeit des zu prüfenden Medizinproduktes (ParaScan I) erfüllt. Das Studiendesign ist offen, kontrolliert (Machbarkeitsstudie) nach dem Medizinproduktegesetz (MPG) und dem Versicherungsschutz. Es erfolgte eine pseudonymisierte Datensammlung.

Material und Methodik

In der Tumorsprechstunde der Hautklinik der Charité Campus Mitte wurde die Vorauswahl der Patienten*innen mit der verdächtigen Läsion getroffen bzw. die Patienten*innen für die Studie ausgewählt. Nach ausführlicher Erklärung über die Ziele und den Studienablauf der Studie, wurde den Patienten*innen die Einverständniserklärung und Patienten*inneninformation ausgehändigt. Nach schriftlicher Einwilligung wurde die Anamnese erhoben. Jeder/jede Patient*in bekam eine Nummer und die Daten wurden pseudonymisiert in einen CRF-Bogen (Einschluss- und Ausschlusskriterien der Studie, Anamnese, Messverlauf, Erfassung von unerwünschten Ereignissen und die Ergebnisse der Histologie) eingefügt. Eine Liste der Teilnehmer*innen wurde unabhängig von den Studienunterlagen angefertigt. Zur Dokumentation wurde ein Foto der zu untersuchenden Läsion aufgenommen.

Der Studienzeitraum erstreckte sich über einen Zeitraum vom 01.08.2012 - 31.07.2013.

Mit dem Medizinprodukt ParaScan I von parelectrics sollten 10 (max. 40) Patienten*innen mit der Verdachtsdiagnose MM und 30 (max. 40) Patienten*innen mit der Verdachtsdiagnose BCC untersucht werden.

Die Dauer der Teilnahme lag bei ca. 15 Minuten (Messdauer jeweils 20 Sekunden), wobei immer 3 Messungen pro Patient*in durchgeführt wurden.

Titel der klinischen Prüfung: Trennbarkeit im Nachweis von Hautveränderungen.

Art des Vorhabens: Klinische Prüfung nach dem Medizinproduktegesetz.

Studienziel/Hypothese: Einsatz der parelektrischen Spektroskopie zur Untersuchung zwischen entartetem und normalem Hautgewebe für die Hautkrebsarten Basaliom und malignes Melanom.

Primärer Endpunkt:

Unterscheidbarkeit der beiden Hauterkrankungen Basaliom und malignes Melanom von normalem Hautgewebe durch die beiden Messgrößen "Verhältnis der Dipoldichten" und "Verhältnis der Dipolbeweglichkeiten".

Wesentliches Kriterium hierfür ist, dass die beiden Messgrößen signifikant größer sind als die Fehlergrenzen der Messung beider Größen.

Fragestellung aufbauend auf wissenschaftlichem Hintergrund:

Feststellung der Trennschärfe zwischen gesundem Gewebe und den genannten Entartungen.

Prüfprodukt: Prototyp ‚ParaScan I‘ als Diagnostik-Gerät

Studiendesign: offene Studie; Anwendungserprobung

Studientyp: klinische Prüfung eines Medizinproduktes

Zeitplan: Beginn der Rekrutierung: Nach zustimmender Bewertung durch die Ethikkommission Ende der Rekrutierung: 12 Monate nach Beginn der Studie

Ende der klinischen Prüfung: 14 Monate nach Beginn

Gesamtzahl Patienten*innen:

- 30 Patienten*innen für die Erkrankungsart Basaliom (Basalzellkarzinom - BCC). Da sich nicht bei allen Patienten*innen mit Verdachtsdiagnose BCC diese in der histologischen Untersuchung bestätigt werden Messungen an bis zu maximal 40 Patienten*innen mit entsprechender Verdachtsdiagnose durchgeführt. Bei Erreichen von 30 bestätigten BCC-Diagnosen werden keine weiteren Patienten*innen untersucht.
- 10 Patienten*innen für die Erkrankungsart Malignes Melanom (MM). Da sich ebenfalls nur bei einem Teil aller Patienten*innen mit Verdachtsdiagnose MM dieser in der histologischen Untersuchung bestätigt, werden Messungen an bis zu maximal 40 Patienten*innen mit entsprechender Verdachtsdiagnose durchgeführt. Bei Erreichen von 10 bestätigten MM-Diagnosen werden keine weiteren Patienten*innen untersucht.

Risiko-Nutzen-Abwägung:

Die entsprechend der Risikoanalyse verbleibenden Restrisiken sind alle als vertretbar akzeptiert. Die Anwendung des ‚ParaScan I‘ in der Hautdiagnostik ermöglicht das Erkennen von Haut- und Gewebeveränderungen auch unter der Hautoberfläche. Dies war durch bisherige optische Verfahren ohne eine invasive Biopsie oder Exzision des Gewebes bisher nicht möglich.

Das Ablaufschema der gesamten klinischen Prüfung lässt sich wie folgt zusammenfassen:

Material und Methodik

1. Screening mit Überprüfung Einschluss- / Ausschlusskriterien
2. Patienten*innenaufklärung/ -einwilligung
3. Entscheidung über Studieneinschluss
4. Untersuchung der Haut mit dem 'ParaScan I'
5. Vergleich Messergebnis 'ParaScan I' mit Ergebnissen der Histologie

Die von klinischer Seite vorgesehene Behandlung der Patienten*innen wird durch die Untersuchungen im Rahmen der klinischen Prüfung in keiner Weise beeinflusst, weder inhaltlich noch zeitlich oder organisatorisch.

Beschreibung der Anwendung:

Entsprechend der Gebrauchsanweisung für den 'ParaScan I' sind vor Messbeginn die beiden Hautstellen 'entartet' und 'normal' auszuwählen und in gleicher Weise unbehandelt zu lassen oder zu reinigen. Vor jeder Messung an einem neuen Patienten*in ist die Sonde mit einem praxisüblichen Mittel zu desinfizieren. Eine Messung an irritierten Hautstellen verbietet sich.

Jede Messung besteht aus den drei Schritten: Messung in Luft (zur Erfassung möglicher Temperatureinflüsse), Messung an der entarteten Stelle und Messung an der Vergleichsstelle. Zu jedem Schritt wird der/die Prüfer*in über das Bedienungsfeld auf dem Monitor eindeutig aufgefordert. Die Beendigung jeder der drei Teilmessungen wird angezeigt.

Nach Vollzug der drei Einzelschritte werden dem/der Prüfer*in im Bedienungsfeld das Verhältnis zwischen den Dichten und den Beweglichkeiten der Gewebebausteine angezeigt. Beide Größen werden anschließend als Wertepaar durch Anklicken des Feldes 'Speichern' in die Datenbank der Einzelprüfungen aufgenommen.

Erhebungsbogen/Prüfbogen (CRF):

Die Daten und Ergebnisse werden in für die Studie angelegten Akten (Studienordner) dokumentiert.

3.4 Probanden*innen/Patienten*innenauswahl

Nach Ausschluss von 7 Messungen wurden 49 Patienten*innen im Alter von 19 bis 93 Jahren beiderlei Geschlechts, mit einem Hauttyp I, II und III nach Fitzpatrick mit 52 tu-

Material und Methodik

morverdächtigen Hautläsionen in die klinische Studie eingeschlossen. Die Tumorgrenzen für die Messungen wurden im Abstand von 2 cm von der jeweiligen veränderten Läsion festgelegt. Es wurden pro Läsion 3 Messungen mit jeweils einer Luftmessung zur Kalibrierung der ParaScan I, eine Messung der Läsion mit Wasser und eine Vergleichsmessung der Normalhaut mit Wasser in einem Abstand von 2 cm zur Läsion gemessen. Zur Läsion wurde ein Foto angefertigt.

Die Anzahl der Messungen der Studie mit der jeweiligen Verdachtsdiagnose waren für BCC 45 Messungen und für MM 14 Messungen. Im Anschluss wurde das tumorverdächtige Gewebe unter Lokalanästhesie im OP von den Dermatologen*innen exzidiert und histologisch untersucht.

Vor Beginn der Messung lagen folgende Dokumente vor: Risikomanagement, Gebrauchsanleitung, Arbeitsanweisung, Aufklärungsblatt und Einwilligung für Patienten*innen, Patienten*innenblatt (CRF), Nachweis über den Patienten*innen-Versicherungsschutz.

Die Untersuchungen wurden im Bereich für „Experimentelle und angewandte Physiologie der Haut“ an der Universitätshautklinik Charité Berlin durchgeführt.

In Übereinstimmung mit der Zielstellung der Arbeit wurden die Messungen vom 01.08.2012 – 31.07.2013 durchgeführt. Zur Charakterisierung der Hautläsionen erfolgten neben den Messungen des Gerätes auch klinische Untersuchungen durch den/die Dermatologen*in, sowie histologische Untersuchungen.

Alle Studienteilnehmer hatten vor Studienbeginn eine schriftliche Einwilligungserklärung (CRF) unterzeichnet. Die Studie wurden von der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin bewilligt (EA1/061/09) und in Übereinstimmung mit den Vorgaben der Deklaration von Helsinki (WMA-Generalversammlung, 2013) durchgeführt.

Ein- und Ausschlusskriterien wurden erhoben. Zudem wurde darauf geachtet, dass im Untersuchungsgebiet keine starke Behaarung oder inhomogene Pigmentierung vorlag, da dies zum Studienausschluss führte.

Das Auftreten von Nebenwirkungen und Unverträglichkeiten gegenüber dem Prüfprodukt ist sehr unwahrscheinlich. Sollte es trotzdem zum Auftreten von Unwohlsein oder einer Reaktion der Haut kommen, würde dies zum sofortigen Abbruch der Untersu-

chung führen, gefolgt von einer ärztlichen Behandlung und engmaschigen ärztlichen Nachkontrollen.

Die Rekrutierung der Patienten*innen erfolgt durch die behandelnden Ärzte*innen der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie. Die Untersuchung im Rahmen der Studie erfolgte zusätzlich zu den üblichen Diagnose- und Therapieverfahren. Auf Behandlungs- und Therapieschemata wird durch das Studienteam keinerlei Einfluss genommen.

Einschlusskriterien:

Die Untersuchungen wurden an Studienteilnehmern*innen durchgeführt, bei denen aufgrund der Verdachtsdiagnosen BCC und MM und anderer klinischer und sonstiger Befunde eine histologische Untersuchung erfolgt. Patient*innen, bei denen die Untersuchungsstelle für die Messung leicht zugänglich ist. Patient*innen die über die Ziele der Studie und das Wesen der Untersuchungen aufgeklärt wurden und ein Mindestalter von 18 Jahren erreicht haben.

Ausschlusskriterien:

Ausschlusskriterien der Studie waren Personen, bei denen eine Unterbringung in einer Anstalt auf gerichtlicher oder behördlicher Anordnung (nach § 20 MPG) besteht, Personen mit Hautkrankheiten oder Irritationen in der gleichen oder nahen Lokalisation der zu untersuchenden Hautstelle, Personen mit sonstigen auffälligen Hauterkrankungen, schwangere und stillende Mütter, sowie Personen, die nicht eigenverantwortlich Entscheidungen treffen können und minderjährige Patienten*innen (unter 18 Jahren).

Die Rekrutierung der Patienten*innen fand auf der Station und in der täglichen dermatologisch/ chirurgischen Sprechstunde der Dermatologie im Hause der Charité statt. Es erfolgte eine mündliche Aufklärung, eine Überprüfung der Teilnahmebedingungen und schriftliche Einwilligung des/der Patienten*in, sowie das Ausfüllen des CRF-Bogens. Danach wurde ein Foto der Läsion für den CRF-Bogen und zur Dokumentation angefertigt. Es wurde das Geschlecht, Alter, Gewicht, Größe, Anamnese (Bluthochdruck, Diabetes, koronare Herzerkrankung etc.), Begleitmedikation, Medikamente, Allergien, Verdachtsdiagnose und anschließend der histologische Befund in den CRF-Bogen eingetragen.

Material und Methodik

Der Abbruch der Studie würde nach dem sehr unwahrscheinlichen Auftreten von Nebenwirkungen nach der Anwendung der Prüfprodukte erfolgen.

Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und konnte jederzeit ohne Begründung widerrufen werden, woraus sich keine Nachteile für den/die Patient*in ergeben hätten.

Die Studie wurde nach den geltenden datenschutzrechtlichen Bestimmungen durchgeführt. Sämtliche personenbezogenen, während der Studie erhobenen Daten wurden vor ihrer Übermittlung pseudonymisiert, d. h. der/die Empfänger*in kann keine Verbindung zwischen Ihren Daten und Ihrer Person herstellen.

Durch die Unterschrift auf der Einwilligungserklärung erklärten die Patienten*innen sich damit einverstanden, dass der Studienarzt oder die Studienärztin und seine/ihre Mitarbeiter*innen die personenbezogenen Daten zum Zweck der o. g. Studie erheben und verarbeiten dürfen. Personenbezogene Daten sind z. B. Name, Geburtsdatum, Geschlecht, Daten zur physischen und psychischen Gesundheit oder anderen persönlichen Daten, die während Ihrer Teilnahme an der Studie oder bei Folgeuntersuchungen erhoben wurden.

Die erhobenen Daten der Studienergebnisse wurden für Zwecke der Verwaltung, Durchführung der Studie, sowie für Forschung und statistische Auswertung verwendet.

Soweit erforderlich, durften die erhobenen Daten pseudonymisiert weitergegeben werden: a) an die parelectrics UG zum Zwecke der wissenschaftlichen Auswertung, b) im Falle schwerwiegender unerwünschter Ereignisse: an die parelectrics UG und die zuständige Bundesoberbehörde, c) an die parelectrics UG zum Zweck der Durchführung des Konformitätsbewertungsverfahrens (d. h. zum Zweck der Prüfung, ob die grundlegenden Anforderungen an die Leistungsfähigkeit und Unbedenklichkeit des zu prüfenden Medizinproduktes erfüllt sind), d) an die benannte Stelle im Rahmen des von der parelectrics UG durchgeführten Konformitätsbewertungsverfahrens.

Die Patienten*innen wurden informiert, dass die Ergebnisse der Studie in der medizinischen Fachliteratur veröffentlicht werden, wobei Ihre Identität jedoch anonym bleibt.

Die Prüfbögen mit den pseudonymisierten Daten werden für die Dauer von 15 Jahren nach Beendigung der klinischen Prüfung aufbewahrt, wie es die Vorschriften über die klinische Prüfung von Medizinprodukten bestimmen. Die sonstige Dokumentation ein-

Material und Methodik

schließlich der Ergebnisse der klinischen Prüfung wird für die Dauer von 10 Jahren nach Beendigung aufbewahrt.

Nach Genehmigung der Studie von Seiten der Berliner Ethikkommission (DIMDI Nr.:00018467, Eudamed Nr.: CIV-11-10-10-002625), wurde diese von April 2012 bis August 2013 in Übereinstimmung mit den ethischen Richtlinien der Erklärung von Helsinki durchgeführt. Nach Aufklärung aller Freiwilligen gaben diese ihre schriftliche Zustimmung.

Alle Patienten*innen die untersucht wurden, waren für einen chirurgischen Eingriff (entweder Biopsie oder Entfernung) eingeplant. Als Referenz diente die Histopathologie (Arnold - Brüning *et al.*, 2019, p. 236).

3.5 Datenauswertung

Es wurde eine deskriptive und explorative Statistik durchgeführt. Als abhängige Variable wurde immer der Median der drei Messungen für die statistische Auswertung ausgewählt. Der Median ist das Lagemaß für ordinalskalierte Merkmale und kann somit für intervall- oder verhältnisskalierte Merkmale berechnet werden. Er ist ein geeignetes Lagemaß, um eine Tendenz zu einer Variablen angeben zu können. Der Median teilt die Messwerte (nach Größe geordnet) des Merkmals in zwei gleich große Hälften, wobei oberhalb des Medians 50 % und unterhalb oder beim Wert des Medians 50 % der Werte liegen.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel 2010 und SPSS 22 (IBM ® SPSS ® Statistics) für Windows 2010.

Durch nicht-parametrische, gepaarte und ungepaarte Tests wurden die Daten analysiert. Des Weiteren, falls zutreffend, wurde mit der Analyse der (Co)Varianz, des Kruskal-Wallis-Tests, des Mann-Whitney- und Wilcoxon-Tests analysiert.

Angenommen wurde ein Signifikanzniveau unter $p \leq 0,05$.

Der Rangsummentest ist ein nichtparametrischer Test, bei dem eine theoretisch hergeleitete, durch Parameter definierbare Verteilung wie z.B. Normalverteilung nicht vorausgesetzt wird. Der Wilcoxon-Rangsummentest muss aus einer Grundgesamtheit stammen, damit unter H_0 die Irrtumswahrscheinlichkeit α zutrifft. Der U-Test von Mann, Whitney und Wilcoxon stellt unter H_0 keine Bedingungen und ist ein Rangtest für unabhängige Stichproben. Der U-Test verliert an Aussagekraft, wenn sich die Verteilungsform der beiden verglichenen Stichproben stark unterscheiden (Harms, 2019, pp. 196-198). Die Häufigkeitsverteilung der Tumore und der Normalhaut wurden mithilfe von Box Plots in Origin dargestellt.

4. Ergebnisse

4.1 Voruntersuchungen

Aus den Voruntersuchungen ergab sich, dass ein mittlerer Druck für die Untersuchungen reproduzierbare Werte lieferte. So wurden bei einem/einer Probanden*in 3 Druckverhältnisse (leichter, mittlerer und starker Druck) gemessen. Bei leichtem oder starkem Druck traten Fehlermessungen auf. Bei leichtem Druck liegt die Messsonde nicht auf, bei starkem Druck wird das Blut aus den Kapillaren herausgedrückt. Hierbei wird eine geringere Beweglichkeit des Volumens vorgetäuscht, da das Blut mit seiner hohen Beweglichkeit fehlt. Bei leichtem Druck (Gewicht der Messsonde) lag der prozentuale Fehler der Dichte bei 20 % und der Beweglichkeit bei 10 %, bei mittlerem Druck halbierten sich beide Fehler (10 % bei der Dichte und 6 % bei der Beweglichkeit), bei starkem Druck (Anämie des zu untersuchenden Areals) halbierten sie sich fast wieder (4 % bei der Dichte und 5 % bei der Beweglichkeit). Nahezu fehlerfreie und konstant reproduzierbare Messergebnisse sind somit mit einem mittleren Auflagedruck erzielbar.

Weiterhin zeigte sich dabei, dass das Anfeuchten mit Wasser, ebenfalls konstant reproduzierbare Ergebnisse ergab. Bei zwei Probanden*innen wurde ohne Wasserzugabe auf die zu untersuchende Haut gemessen, die Daten zeigten fehlerhaft sehr hohe Werte in der Beweglichkeit.

Messungen an verschiedenen Körperarealen ergaben große Variationen, sodass eine Vergleichsmessung mit gesundem umliegendem Gewebe für die Machbarkeitsstudie geplant wurde.

Des Weiteren wurde in den Voruntersuchungen evaluiert, dass zur Erleichterung der Messung für die Messungsauslösung ein Fußschalter vorhanden sein sollte und nach Beendigung der Messung ein akustisches Signal ertönen sollte. Mit der Kamera wurde jeweils ein Foto von der zu untersuchenden Hautlokalisierung angefertigt.

Die Voruntersuchungen umfassten 110 Messungen an 14 Probanden*innen im Alter von 24 - 70 Jahren an Normalhaut und z.B. pigmentierten Nävi, wobei 96 Messungen nach Kalibrierung verwendet wurden. 72 Messungen dienten lediglich zur besseren Kalibrierung des Gerätes und Evaluierung der Messbedingungen. 24 Messungen wurden an der Wange und am Unterarm der Probanden*innen durchgeführt und in die Statistik

Ergebnisse

mit einbezogen. Zwischen klinisch gesunder Haut und pigmentierten Nävi konnte in den Werten (Dichte und Beweglichkeit) nicht unterschieden werden.

Das Clusterdiagramm in Abbildung 9 stellt die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchung der Dichte- und Beweglichkeitsdaten von unverdächtiger Haut an verschiedenen Körperregionen dar, wobei die Daten größtenteils in einer hyperbolisch geformten Kurve angeordnet sind.

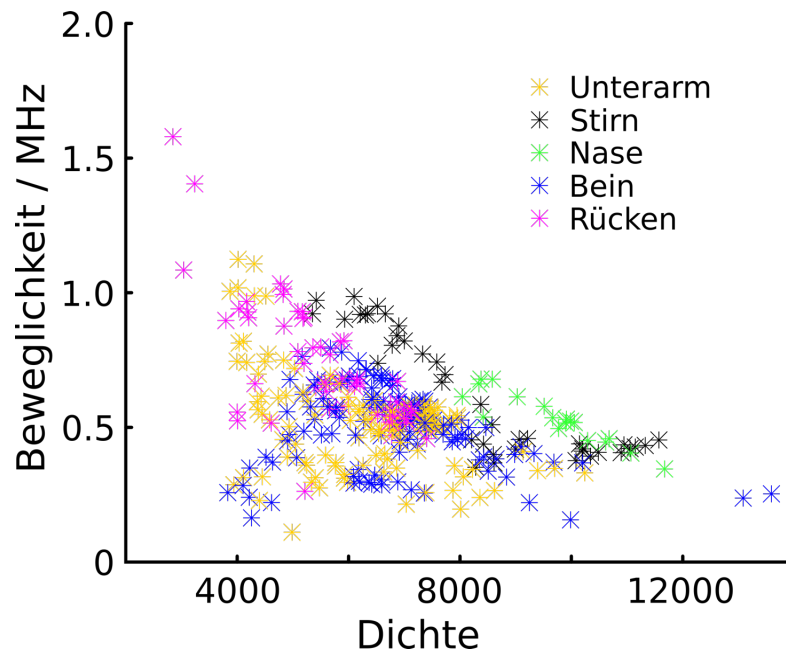


Abbildung 9: Clusterdiagramm der Dichte und Mobilität der Dipole bei unverdächtiger Haut verschiedener Körperregionen (Arnold - Brüning *et al.*, 2019, p. 236)

Die Ergebnisse an Probanden*innen zeigten eine starke Streuung der absoluten Werte. Des Weiteren zeigte sich, dass für die Studie Messungen mit Befeuchtung der Messstelle sowie mittelstarkem Druck gut reproduzierbar sind. Hierbei ist vorausgesetzt, dass die Hautstelle für die Sonde gut zugänglich ist.

4.2 Machbarkeitsstudie

Von den 52 gemessenen Hautläsionen bestand bei 40 Läsionen (76,9 %) der Verdacht auf ein BCC, bei 12 Läsionen (23,1 %) auf ein MM.

Von den 40 zunächst als BCC eingestuften Läsionen, konnten bei der histologischen Sicherung 31 Läsionen (77,5 %) als BCC bestätigt werden. Eine Läsion (2,5 %) erwies sich als MM, 5 Läsionen (12,5 %) als PEC und 3 Läsionen (7,5 %) als alternative Befunde.

Ergebnisse

Von den 12 zunächst als MM eingestuften Läsionen, konnten 8 (66,7 %) histologisch gesichert werden. Eine Läsion (8,3 %) erwies sich als BCC und 3 Läsionen (25 %) als alternative Befunde. Nach der histologischen Absicherung enthält die Analysestichprobe 32 (61,5 %) Basalzellkarzinome, <10 (17,3 %) maligne Melanome, 5 (9,6 %) Plattenepithelkarzinome und 6 (11,5 %) alternative Befunde.

In Tabelle 1 und Tabelle 2 sind die beschriebenen Befunde zusammenfassend dargestellt.

*Tabelle 1: Subjektmerkmale; Es wurden 51 Patienten*innen mit 59 Messungen und 14 gesunde Probanden*innen mit 24 Messungen untersucht, wobei 52 Messungen (41 Messungen mit den Befunden BCC und MM) und 14 gesunde Probanden*innen in die Studie einbezogen wurden (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 235).*

	Anzahl der Messungen	Anzahl der Messungen histologisch bestätigt, absolut (%)	Lokalisation	Durchschnittsalter ± Standardabweichung	Geschlecht
BCC	45 (38 Pat.)	32 (61,5 %)	Kopf	75 ± 24	16 w / 16 m
MM	14 (13 Pat.)	9 (17,3 %)	Extremitäten, Rumpf	48 ± 37	3 w / 6 m
SCC	-	5 (9,6 %)	Kopf	75 ± 18	2 w / 3 m
Alternative Befunde	-	6 (11,5 %)	Kopf, Rumpf	62 ± 43	3 w / 3 m
Ausgeschlossen	-	7 (11,9 %)	Kopf	67 ± 18	2 w / 5 m
Freiwillige	24 (14 Pat.)	-	Kopf, innerer Unterarm	61 ± 22	11 w / 3 m

Tabelle 2: Verdachtsdiagnosen und histologisch bestätigte Diagnosen

		Histologie bestätigt				Gesamt	
		BCC	MM	PEC	ALTBEF		
Histologie Verdacht	BCC	Anzahl % von Histologie Verdacht	31 77,5 %	1 2,5 %	5 12,5 %	3 7,5 %	40 100 %
	MM	Anzahl % von Histologie Verdacht	1 8,3 %	8 66,7 %	0 0,0 %	3 25,0 %	12 100 %
	Gesamt	Anzahl % von Gesamt	32 61,5 %	9 17,3 %	5 9,6 %	6 11,5 %	52 100 %

BCC: Basalzellkarzinom; MM: Malignes Melanom; PEC: Plattenepithelkarzinom; ALTBEF: Alternative Befunde

4.2.1 Patientenkollektiv

Von Patient*in zu Patient*in und zwischen den verschiedenen Hautbereichen unterscheiden sich die Absolutwerte der Dispersion und Absorption stark. Die Hauttumoren wurden mit der umgebenden Haut in einem Abstand von durchschnittlich 2 cm normalisiert um solche Einflüsse auszuschließen.

Abbildung 10 zeigt einen Teil der Debye Kurve der Messung der absoluten Werte für einen/eine Patienten*in beispielhaft, wobei die Kurven von Dispersion $\epsilon'(f)$ und Absorption $\epsilon''(f)$ jeweils dargestellt sind.

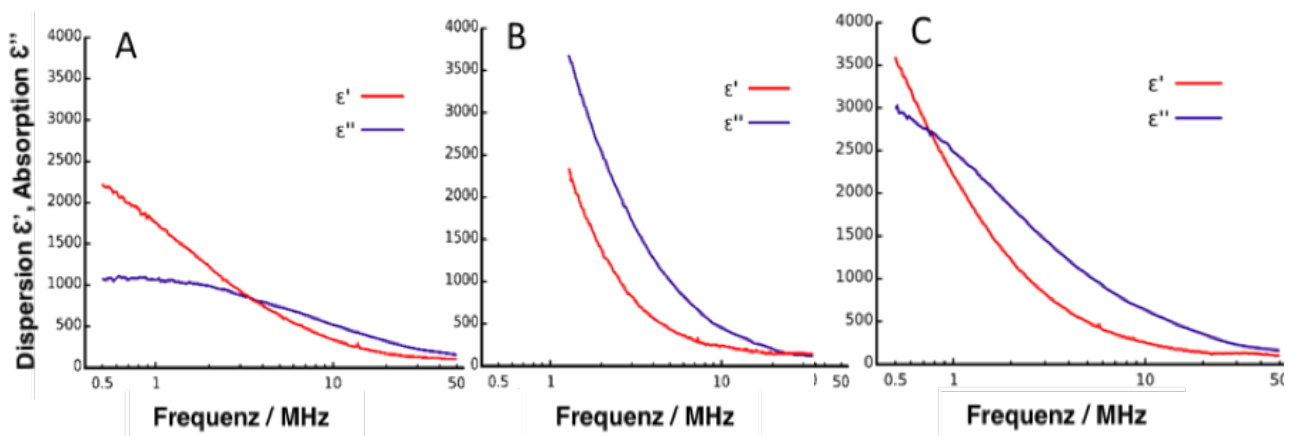


Abbildung 10: Debye Kurven mit Dispersion ϵ' und Absorption ϵ'' für A) unverdächtige Haut am inneren Unterarm eines Patienten, B) BCC an der Wange und C) MM am Unterbauch (Arnold - Brüning et al., 2019, p. 237).

Die untersuchten malignen Melanome bestanden zu 80 % an Extremitäten und im Bereich des Rumpfes, die BCC zu 80 % im Kopfbereich. Durchgeführt wurden die Messungen an 51 Patienten*innen. Nach Ausschluss von 7 Messungen wurden 49 Patienten*innen mit 52 tumorverdächtigen Hautläsionen gemessen. Für die Gesamtheit der Messungen nach histologischer Untersuchung und Fehlerkorrektur ergaben sich in 61,5 % der Fälle ein BCC (n = 32), in 17,3 % (n = 9) ein MM, in 9,6 % (n = 5) ein Plattenepithelkarzinom, in 11,5 % (n = 6) alternative Befunde und in 11,9 % (n = 7) Befunde, die wegen methodischer Mängel nicht verwertbar waren.

Nach der histologischen Befundung zeichneten sich 2 Untergruppen von BCC's ab: 1. metatypisches, sklerodermiformes und oberflächliches BCC, 2. knotiges, zystisches BCC. Die MM wurden nicht unterteilt.

Ergebnisse

Die 6 alternativen Befunde wurden bei jeweils 3 Frauen und Männern im Alter von 19 - 88 Jahren festgestellt: 1. am Oberarm mit einer pigmentierten Verruca seborrhica und Verdachtsdiagnose (VD) auf ein MM, 2. an der Stirn eine Lentigo senilis (Altersfleck) mit VD auf BCC, 3. an der Nase eine Narbe mit VD auf ein BCC, 4. an der Wange ein Morbus Bowen mit VD auf ein BCC, 5. an der Brust ein dysplastischer NZN mit VD auf ein BCC und 6. am Fuß mit einer intracornealen Einblutung mit VD auf ein MM gemessen und histologisch untersucht.

Die 7 nicht verwertbaren Befunde wurden aufgrund methodischer Mängel wie Messungenauigkeiten und falschen Daten entfernt, basierend auf Fehlermessungen, die im Nachhinein auch nicht wiederholt werden konnten.

Die Voruntersuchungen umfassten 110 Messungen an 14 Patient*innen im Alter von 24 - 70 Jahren an der Normalhaut wovon 96 Messungen nach Kalibrierung verwendet wurden. 72 Messungen dienten lediglich zur besseren Kalibrierung des Gerätes. 24 Messungen wurden an der Wange und am Unterarm der Patient*innen durchgeführt und in die Statistik mit einbezogen.

4.2.2 Ergebnisse der spektroskopischen Messungen

Bildgebende und histologische Kontrolle der untersuchten Tumore

In den folgenden Abbildungen wird exemplarisch der optische Vergleich zwischen einem oberflächlichen BCC und einem MM von zwei verschiedenen Patienten*innen dargestellt.

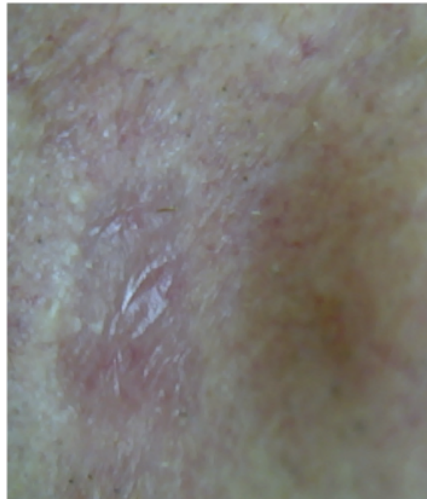


Abbildung 11: Klinisches Bild eines BCC (Wange, Pat.109) (Arnold-Brüning et al., 2019)



Abbildung 12: Klinisches Bild eines MM (Unterbauch, Pat.147) (Arnold-Brüning et al., 2019)

Ergebnisse

In Abbildung 11 und Abbildung 12 sind Aufnahmen mit der integrierten Kamera des ParaScan I von bestätigten BCC und MM dargestellt. Läsionen mit Verdacht auf BCC und MM gehörten zu den Einschlussparametern. Beim BCC liegt eine inhomogene Struktur vor. Das MM ist auch inhomogen, bietet aber eine klarere Abgrenzung zur umgebenden Haut.

Bei der zunächst klinisch durchgeführten Untersuchung fällt das äußere Bild dieser Hautveränderung auf. Es zeigt deutliche Merkmale der ABCD-Regel. Die Hautveränderung zeigt insgesamt ein asymmetrisches Bild. Der Rand ist unregelmäßig begrenzt. Verschiedenste Farbtöne dominieren das Aussehen, weiterhin ist sie eleviert.

Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Null-Hypothese war, dass kein Unterschied zwischen den Parametern vorliegt. Ein nicht signifikantes Ergebnis bedeutet, dass es einen relevanten Unterschied zwischen Gruppen gibt und die Hypothese angenommen werden kann.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programmpaket SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 22.

Für Vergleiche zwischen jeweils zwei Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Dieses nonparametrische Verfahren erschien angemessen, da die Gruppenumfänge sehr unterschiedlich und zum Teil gering waren (BCC: $n = 32$; MM: $n = 9$; PEC: $n = 5$). Bei derartig kleinen Stichproben ist nicht von einer Normalverteilung der Werte auszugehen, sodass ein verteilungsfreies Verfahren anzuwenden war (Bortz, 2005). Im Ergebnisteil wurden für jede Analyse die Mediane, die mittleren Rangplätze, der U-Wert und die Signifikanz (p) angegeben.

Für Vergleiche zwischen drei Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Dieses nonparametrische Verfahren stellt eine Erweiterung des U-Tests für Analysen mit mehr als zwei Gruppen dar (Bortz, 2005).

Im Ergebnisteil wurden für jede Analyse die Mediane, die mittleren Rangplätze, der Chi-Quadrat-Wert (Chi-Quadrat; χ^2), welcher Auskunft über den Zusammenhang von zwei nominal- oder ordinalskalierten Variablen gibt, und die Signifikanz (p) angegeben.

Für eine Überprüfung des möglichen Einflusses des Alters der Probanden*innen auf die relative Beweglichkeit und die relative Dichte wurden Varianzanalysen und Kovarianzanalysen durchgeführt. Gegenstand der Analysen war hier der Vergleich zwischen Tumoren und Normalhaut. Das parametrische Verfahren der Varianzanalyse wurde

Ergebnisse

ausgewählt, da die Gruppengrößen hier hinreichend waren (Tumore: $n = 41$; Normalhaut: $n = 24$) und kein entsprechendes nonparametrisches Verfahren verfügbar ist (Bortz, 2005). Sowohl für die relative Beweglichkeit als auch für die relative Dichte wurde jeweils eine Analyse (Tumore versus Normalhaut) ohne Kovariante Alter und eine Analyse mit Kovariante Alter durchgeführt.

Tabelle 3: Ränge: Tumore vs. Normalhaut

	Tumore vs. Normalhaut	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Relative Beweglichkeit Median	1 Tumore BCC + MM	41	27,54	1129
	2 Normalhaut	24	42,33	1016
	Gesamt	65		

Im Ergebnisteil werden jeweils die Mittelwerte, F-Werte und Signifikanzen (p) berichtet. Entlang des U-Werts werden die mittleren Ränge der beiden Gruppen signifikant voneinander unterschieden.

Tabelle 4: Gruppenvariable, Statistik für Test: Tumore vs. Normalhaut

	Relative Beweglichkeit Median
Mann-Whitney-U	268
Wilcoxon-W	1129
Z	-3,045
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,002

Beispielhaft kann ein U-Wert von $U = 268,0$ mit einer Prüf-Signifikanz von $p = 0,002$ oder $p < 0,01$ genannt werden. Für sämtliche Analysen wurde das Signifikanzniveau für $p < 0,05 =$ signifikant und $p < 0,01 =$ hoch signifikant festgelegt.

Die grafischen Darstellungen wurden ebenfalls mit SPSS und Origin erstellt. Die Datenerfassung, die statistische Auswertung sowie die Präsentation wurden mit MS Office XP Version 10.0, Mac OS X Version 10.6.8, dem SPSS und Origin durchgeführt. Ausgehend vom Median wurden die Varianzen der Befunde mit einer Varianzanalyse (ANOVA) analysiert und danach die Ergebnisse anhand eines Mann-Whitney-U Tests validiert. Dazu kamen grafische Vergleiche (Scatterplots) und Box-Plots zur Visualisierung

Ergebnisse

der Verteilungen einzelner Befunde, wo die Ergebnisse des Mann-Whitney-U Tests als Signifikanzen eingesetzt wurden.

Für die Patienten*innendaten wurden der Mittelwert der Mediane und die Standardabweichungen der Absolutwerte berechnet. Zur Überprüfung der Signifikanz der verschiedenen Messungen wurde jeweils der nonparametrische U-Test nach Wilcoxon angewandt. In dieser klinischen Studie wurde ein Signifikanzniveau von $P < 0,05$ gewählt. Für die statistische Auswertung wurden der Mann-Whitney Test genutzt (SPSS-Programm). Als Datengrundlage dienten die Mittelwerte, die Standardabweichungen und Mediane. Mittelwerte, Standardabweichungen und Mediane wurden zunächst für jeden einzelnen Probanden*innen errechnet, dann wurden die Tumore und die Normalhaut analysiert. Es wurden die drei Tumor-Gruppen sowohl untereinander, als auch jede Gruppe mit der Normalhaut einzeln verglichen.

Ergebnisse nach Tumorgruppen, Vergleich der Daten, einzelne Tumorgruppen gegenüber Normalhaut, Vergleich der Tumorgruppen untereinander

Bei dem hier untersuchten Patienten*innenkollektiv bestand in 76,27 % (45) der Fälle der Verdacht eines BCC und in 23,73 % (14) eines MM. Nach histologischer Sicherung konnte dieses bei 61,5 % (32) BCC und 17,3 % (9) MM bestätigt werden. Nebenbefunde insgesamt 9,6 % (5), ergaben im wesentlichen PEC (Spinaliome).

Das Verfahren ist an gesunder Haut (Normalhaut) reproduzier- und durchführbar, es ergibt sich eine Normalverteilung der rel. Dichte und rel. Beweglichkeit.

Die relative Beweglichkeit und Dichte der Normalhaut liegen im Bereich von 1. Zum Vergleich der gesunden Haut gegen die erkrankten Läsionen im Rahmen der Box-Plot Darstellung gibt es eine hohe Signifikanz in der rel. Beweglichkeit und eine Signifikanz in der rel. Dichte. Ein nicht signifikanter Trend zu einer Unterscheidung der Untergruppen BCC 1 (metatypisches, sklerodermiformes, oberflächliches) und BCC 2 (knotiges, zystisches) ist erkennbar. Im Vergleich zu BCC, MM und PEC ergibt sich keine Signifikanz ($p = 0,05$). Die Clusteranalyse blieb ergebnislos.

Während der Vergleich der Altersgruppen zwischen I. 19 bis 71 Jahre und II. 72 bis 93 Jahre in der rel. Beweglichkeit signifikant ist, kann dieser Vergleich kein signifikantes Ergebnis für die rel. Dichte liefern.

Ergebnisse

Werden PEC und Normalhaut verglichen ergibt sich in der rel. Beweglichkeit und in der rel. Dichte eine Signifikanz. Während im Vergleich zwischen MM und Normalhaut die rel. Beweglichkeit signifikant ist, ist jedoch die rel. Dichte nicht signifikant. Im Vergleich zwischen BCC und Normalhaut ergibt sich eine hohe Signifikanz in der rel. Beweglichkeit und in der rel. Dichte eine Tendenz.

Der Vergleich der Vorerkrankungen wie Bluthochdruck, Diabetes, koronare Herzerkrankung sowie die Medikation mit Blutdrucksenker, Antidiabetika und Blutverdünner zeigen keine Signifikanz der rel. Beweglichkeit sowie der rel. Dichte auf. Aus der Varianzanalyse zwischen dem Geschlecht ergibt sich das gleiche Ergebnis (keine Unterschiede zwischen Frauen und Männer) beider Messgrößen. In der Tabelle 5 wird die Anzahl der Messungen zusammengefasst dargestellt.

Tabelle 5: Zusammenfassung der Anzahl der Messungen; N = 59 (ohne Normalhaut); N = 52 (nach Ausschluss von 7 Messungen, 11,9 %)

	Anzahl der Messungen Verdachtsdiagnose	Anzahl der Messungen nach Histologie & Korrektur
BCC	45 (76,27 %)	32 (61,5 %)
MM	14 (23,73%)	9 (17,3 %)
PEC (Spinaliom)	-	5 (9,6 %)
Alternative Befunde	-	6 (11,5 %)
Ausgeschlossen	-	7 (11,9 %)
Normalhaut	110	96 24 davon Wange & Unterarm

Ergebnisse

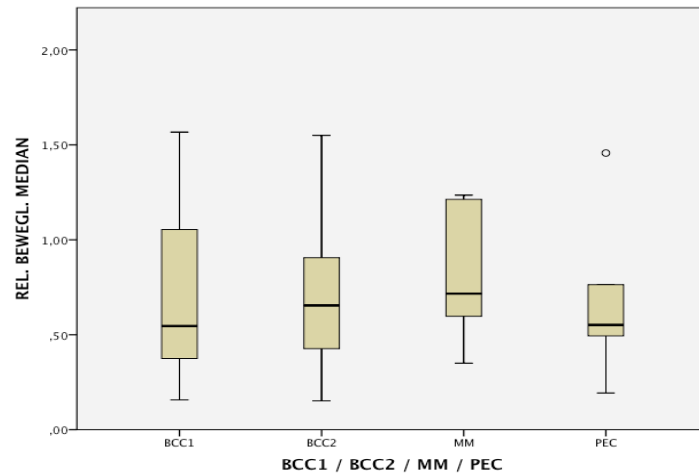


Abbildung 13: Vergleich der rel. Beweglichkeit der Untergruppen (Ausreißer Pat. 140) BCC mit Untergruppen: 1. Metatypisches, sklerodermiformes und oberflächliches; 2. knotiges und zystisches, MM und PEC

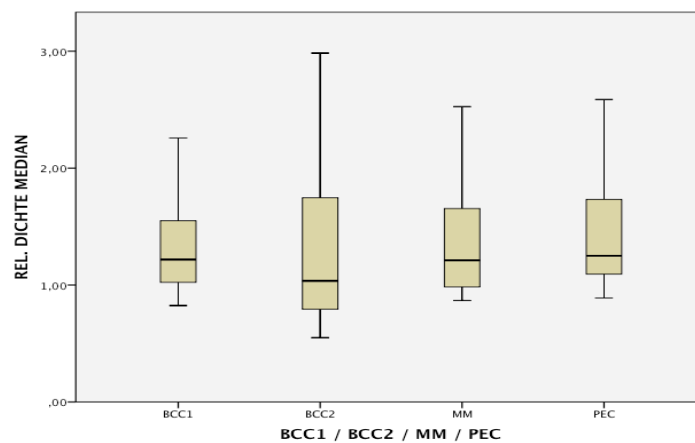


Abbildung 14: Vergleich der rel. Dichte der Untergruppen: BCC (BCC1+BCC2) MM, PEC

In Abbildung 13 wird die rel. Beweglichkeit und in Abbildung 14 die rel. Dichte der Untergruppen BCC1 und BCC2, MM und PEC in Box-Plots dargestellt.

Ergebnisse

In Abbildung 15 wurde die berechnete relative Beweglichkeit und relative Dichte für die verschiedenen Tumorläsionen und die unverdächtige Haut dargestellt. Die histopathologischen Befunde ergaben fünf PEC anstelle der klinischen Verdachtsdiagnosen MM oder BCC. Diese wurden neben BCC und MM mit in die Analyse einbezogen. Die Daten von sieben Patient*innen mussten ausgeschlossen werden. Hintergrund dafür war Luft zwischen Sonde und Haut oder dass die Sonde nicht plan aufgelegt worden war. Ein weiterer Grund für das Verwerfen kann eine krustige oder erhabene Struktur der zu untersuchende Läsion darstellen. Des Weiteren stellen die Messdaten offensichtliche Ausreißer dar, dies stets bei Patient*innen mit multiplen Erkrankungen (Bluthochdruck, Diabetes, koronare Herzerkrankung oder Nahrungsmittelallergie).

Die Daten der unverdächtigen Haut (Kontrollhaut) zeigen eine geringe Varianz um den Wert 1 für die relative Mobilität. Für die relative Dichte liegt der Median der normalen Haut unter 1, die Varianz ist höher als bei den Daten zur Beweglichkeit. Die Daten der Tumorgruppen liefern alle eine hohe Varianz unabhängig von der Tumorentität. Alle Mediane der relativen Beweglichkeit sind größer 1, alle Mediane der relativen Dichte niedriger als 1. Die relative Beweglichkeit für normale Haut ist deutlich geringer als für BCC, MM und PEC. Es gibt innerhalb der verschiedenen Tumorentitäten keine Messauffälligkeiten, jedoch zwischen unauffälliger Haut und den Tumorentitäten in der Gesamtheit.

Die relativen Dichten von BCC, MM und PEC sind im Vergleich zu normaler Haut nicht signifikant unterschiedlich, ebenfalls gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen BCC und PEC. Für beide parelektrischen Parameter konnten keine Unterschiede zwischen den Tumorgruppen festgestellt werden (Arnold - Brüning *et al.*, 2019, p. 238).

Die Irrtumswahrscheinlichkeit p , welche die zahlenmäßig ausgedrückte Wahrscheinlichkeit beschreibt, dass sich das Ergebnis der statistischen Analyse vom Ergebnis der Grundpopulation unterscheidet, wird hier in den folgenden Abbildungen dargestellt.

In Abbildung 15 werden jeweils die Zusammenhänge der rel. Dichte und rel. Beweglichkeit zwischen den Medianen der einzelnen Befundgruppen dargestellt.

Ergebnisse

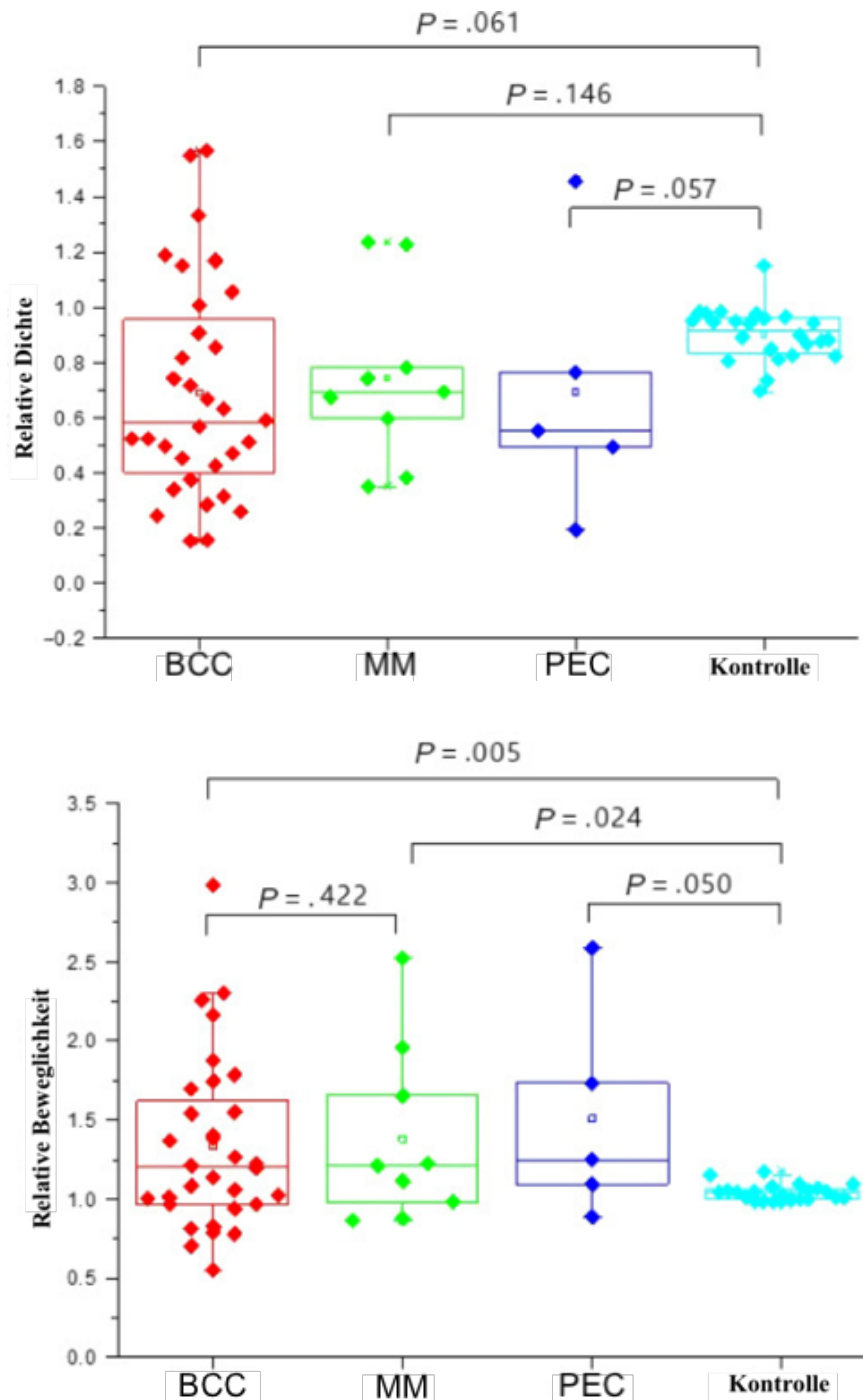


Abbildung 15: Box-Plot mit relativer Dichte (oben) und relativer Beweglichkeit (unten) für die verschiedenen Tumorgruppen (BCC,MM,PEC) und Kontrollhaut (Arnold - Brüning et al., 2019, p. 238)

In Abbildung 15 werden alle Daten der Tumorgruppen mit normaler Haut verglichen, wobei sich die relative Dichte und die relative Beweglichkeit deutlich von der normalen Haut unterscheiden. Die Unterschiede zur normalen Haut sind für die relative Beweglichkeit sogar sehr ausgeprägt ($p \leq 0.01$). Diese Daten veranschaulichen auch die höhere Variation der Beweglichkeit von 1 für Tumordaten im Vergleich zu den Dichtewerten.

Ergebnisse

Zusammenfassend sind die Unterschiede der Mediane der relativen Dichte und relativen Beweglichkeit zwischen Tumoren und Normalhaut in Abbildung 16 dargestellt.

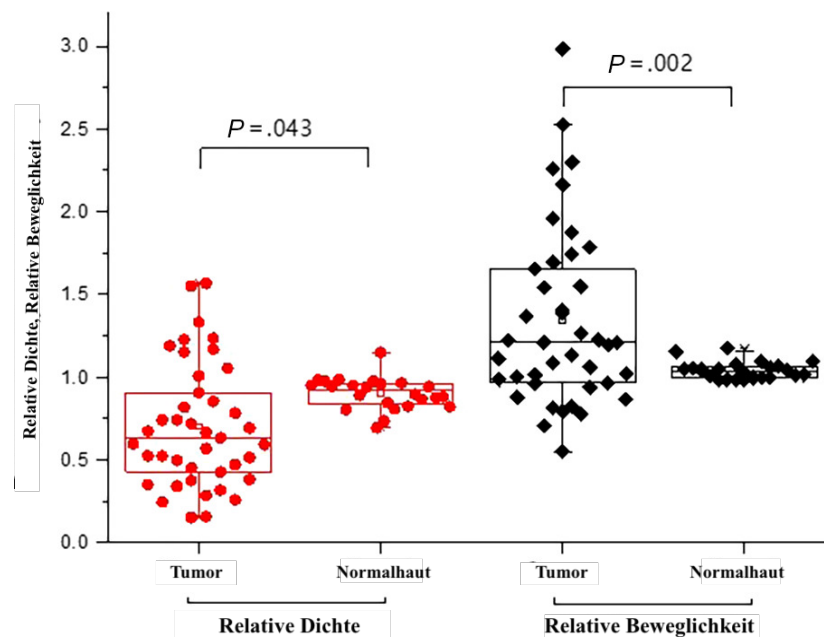


Abbildung 16: Box-Plot für relative Dichte und relative Beweglichkeit unter Verwendung aller Tumordaten und der entsprechenden normalen Hautdaten, (Arnold - Brüning et al., 2019, p. 238)

Eine weitere Möglichkeit die Daten zu analysieren und visualisieren besteht darin, Box-Plots zu verwenden, wie bereits in Abbildung 16 für verschiedene normale Hautbereiche gezeigt. Abbildung 17 zeigt ein Clusterdiagramm aller relativen Tumordaten und der jeweiligen relativen Normaldaten. Die Varianz der normalen Daten in diesem Diagramm ist gering und sie konzentrieren sich um 1:1. Abbildung 18 zeigt einen vergrößerten Ausschnitt aus Abbildung 17. Der Kreis veranschaulicht ein mögliches Cluster hauptsächlich normaler Hautdaten. Es beinhaltet drei BCC und eine PEC als falsch-negative Daten.

In Abbildung 17 wird die relative Dichte und Beweglichkeit für BCC, MM, PEC und unverdächtige Haut von allen Daten und in Abbildung 18 ausgewählte Daten an der Grenze zur unverdächtigten Kontrollhaut dargestellt.

Ergebnisse

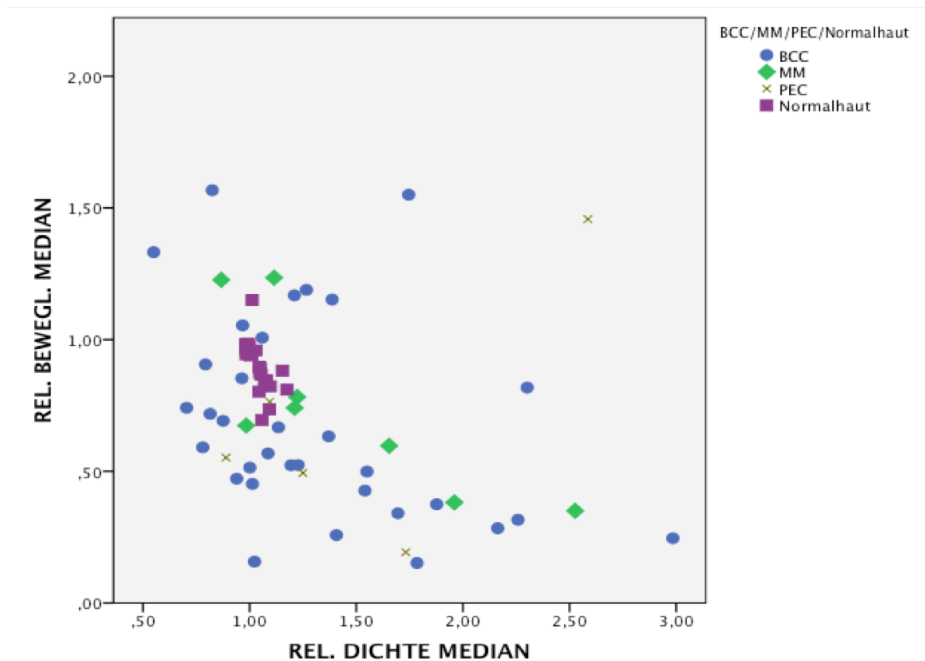


Abbildung 17: Rel. Beweglichkeit und Dichte für Befundgruppen (BCC, MM, PEC) und Normalhaut (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 239)

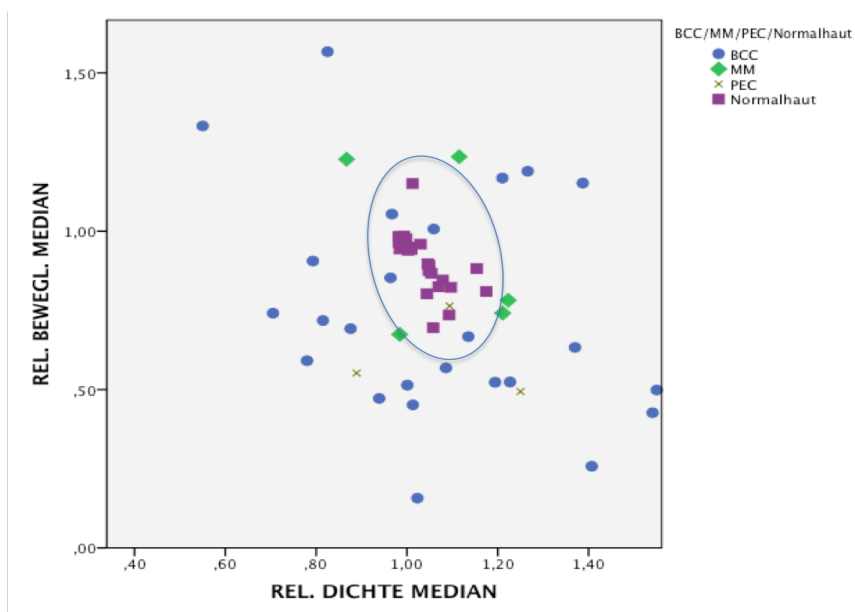


Abbildung 18: Vergrößerte Darstellung der rel. Beweglichkeit und Dichte für die Befundgruppen (BCC, MM, PEC) und Normalhaut (Arnold-Brüning et al., 2019, p. 239)

In der Zusammenfassung der Ergebnisse zu dieser Studie der parelektrischen Spektroskopie zeigt sich, dass das Gerät als neues technisches Verfahren einsetzbar sein kann. Für eine Etablierung in der dermatologischen Praxis sind jedoch weitere Studien nötig.

5. Diskussion

Diese erste Pilotstudie einer nichtinvasiven parelektrischen Spektroskopie zur Unterscheidung von Hauttumoren hat hohe Variationen der Dipolbeweglichkeit und der Dichte für normale unverdächtige Haut an verschiedenen Hautarealen ergeben.

Die nichtinvasive parelektrische Spektroskopie bestimmt spezifische elektrische Eigenschaften und strukturelle Veränderungen des Gewebes. Permanente elektrische Dipole richten sich z.B. unter dem Einfluss eines externen Wechselfeldes auf Zellmembranen aus und bilden daraufhin eine Polarisation, die mit einer Koaxialsonde gemessen wird. Die aus der Polarisation berechneten parelektrischen Parameter wie Dipoldichte und Dipolbewegung sowie die Polarisation werden durch die Gewebestruktur und die darauf wirkenden Faktoren beeinflusst. Die gemessenen Dipole könnten mit in der Haut allgegenwärtigen Wassermolekülen und Zellmembran-Phospholipiden assoziiert werden (Blaschke *et al.*, 2006, pp. 1623-1631). Die menschliche Haut kann mikroskopisch in Epidermis (Stratum corneum, Stratum lucidum, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale), Dermis (Stratum papillare und Stratum reticulare) und Subcutis unterteilt werden. Je nach Lage variiert die Dicke der Haut zwischen 1,5 und 4 mm (Terhorst, 2009, pp. 2-5).

Die überwiegend aus Keratinozyten bestehende Epidermis, als Grenzfläche zur Umgebung, hat eine Dicke von 75 bis 150 μm (bis zu 600 μm dick auf Handflächen/Sohle). Die Dermis ist in der Regel < 2 mm dick, kann aber an bestimmten Lokalisationen wie dem erwachsenen Rücken bis zu 4 mm dick sein und gibt der Haut den größten Teil der mechanischen Festigkeit (Wong *et al.*, 2016). Die Variation in den parelektrischen Parametern könnte mit dieser unterschiedlichen Dicke der Hautschichten an verschiedenen Stellen und einzelnen Hautgewebekomponenten zusammenhängen. Dies steht im Einklang mit anderen nichtinvasiven Untersuchungen wie der Optischen Kohärenztomographie (OCT), der Multiphotonen-Tomographie (MPT) und der Raman-Spektroskopie, die Unterschiede der Messungen in der Dicke der Epidermis und des Stratum corneum, der Größe und Anzahl der Haarfollikel, der Schweißdrüsendichte und der Hautgewebekomponenten aufzeigen konnten (Mahlstedt *et al.*, 2002; Debye, 1930).

Um diese lokalisationsbedingten Messwertschwankungen auszuschließen, wurden die gemessenen Absolutwerte von Hauttumorerläsionen mit der unverdächtigen nahegelegenen Haut oder genau entsprechenden Haut der anderen Körperseite normiert. Ein sol-

Diskussion

ches Vorgehen wurde auch für andere spektroskopische Methoden wie die Raman-Spektroskopie zur Erkennung von Hautkrebs angewendet (de Leeuw *et al.*, 2009).

Die Ergebnisse der relativen Mobilität und Dichte der Tumorläsionen im Vergleich zur normalen Haut deuten auf unterschiedliche Hautstrukturen oder -zusammensetzungen bei Hauttumoren hin. Die relative Mobilität zeigte höhere Werte und signifikant höhere Unterschiede zur normalen Haut im Vergleich zum anderen Parameter, der relativen Dichte. Die Dichte der Tumorläsion nimmt ab und die Mobilität nimmt zu. Dies könnte mit freieren mobilen Wassermolekülen in der Haut in Verbindung gebracht werden, wie ebenfalls auch die Raman-Spektroskopie gezeigt hat, die unterschiedlichen Mobilitäten von Wassermolekülen auf die unterschiedlichen Stärke der Wasserstoffgrenzen zurückführt (Paul and Saha, 2017).

Die Ergebnisse der polarisierten Spektroskopie stimmen mit optischen Messungen wie OCT überein, die auf Brechungsindexunterschieden der verschiedenen Hautschichten und -strukturen basieren. Hauttumore sind mit anderen Brechungsindizes assoziiert. Dieser Brechungsindex kann mit verschiedenen Gewebedichten korreliert werden. Auch bei der OCT sind Tumorentitäten schwer zu unterscheiden (Terhorst, 2009).

Die polarisierte Spektroskopie hat gezeigt, dass sie Unterschiede zwischen normalem und krebsartigem Gewebe und Organen bei Mäusen und menschlichem Kehlkopfgewebe erkennen kann (Sivaramakrishnan *et al.*, 2004; Braem *et al.*, 2007). Dennoch wurde keine Sensitivität zur Erkennung von Unterschieden zwischen Hauttumorarten erreicht.

Bisher wird visuell, mit dermatoskopischer Beurteilung der Läsion, sowie einer Biopsie und nachfolgender histopathologischer Beurteilung die Diagnose von Hautkrebs erstellt. Die nichtinvasiven Technologien, vereint in dem Ziel die Diagnosegenauigkeit bei Hautkrebs zu erhöhen, sind momentan noch durch hohe Kosten, Schulungen vom Personal und geringe Spezifität eingeschränkt, wobei die Vorteile gegenüber einer Biopsie evidenter werden (Dorrell and Strowd, 2019).

Die nichtinvasive Raman-Spektroskopie erfasst optische Signale über molekulare Schwingungen in Gewebeproben (Zhao *et al.*, 2017). Zur Erkennung von Melanom und Nicht-Melanom-Hautkrebs (NMSC), werden bei der Raman-Spektroskopie mithilfe einer fasergekoppelten Sonde, welche Signale bis zur Basalmembran (Region für Entstehung

Diskussion

früher Hautkrebsstadien) erfassen kann, die Körperstellen untersucht. Diese Methode kann vielleicht zur Unterscheidung von MM und pigmentierten Nävi dienen (Schleusener *et al.*, 2015).

In einer aktuellen Studie konnte gezeigt werden, dass die Dermatofluoroskopie helfen kann, Melanome zu diagnostizieren, wobei es auch Einschränkungen bei unzureichender Melaninbildung gibt, dies aber eher bei rückläufigen oder amelanotischen Läsionen (Forschner *et al.*, 2018).

Mithilfe der Mittelinfrarot-Spektroskopie ($4.000 - 500 \text{ cm}^{-1}$) konnte in einer Studie gezeigt werden, dass ein Melanom die Permeabilität der Zellmembran verändert. In den Krebsregionen werden freie Radikale (ROS) produziert, welche erst zu einer Lipidperoxidation und dann zu Aldehyden (-CHO) führen (Kyriakidou *et al.*, 2017).

Die OCT, welche tomografische Schnittbilder der Haut mithilfe von Licht anfertigt, zeigte vielversprechende Ergebnisse bei entzündlichen Hauterkrankungen und der Beurteilung der tiefen Ränder von Hauttumoren. Zwischen prämaligen und malignen Läsionen konnte nicht unterschieden werden. Mit der Fluoreszenzspektroskopie kann man die biochemische Zusammensetzung des Gewebes darstellen, mittels Zwei-Photonen-Anregung von Melanin ist die Früherkennung eines malignen Melanoms möglich. Die Tumorränder und die Differenzialdiagnosen zwischen malignen und nicht-malignen Läsionen zeigen keine eindeutigen Ergebnisse an. Die Raman-Spektroskopie erwies sich bei der Diagnose nach einem Karzinom oder Melanom mit hohen Sensitivitäten und Spezifitäten. Die konfokale Mikroskopie, welche mittels Auflichttechnik die hochauflösende Bildgebung von Gewebe ermöglicht, hat eine hohe klinische Akzeptanz, da sie der histopathologischen Untersuchung sehr ähnlich ist. Es Bedarf jedoch weiterer Studien für eine breite klinische Anwendung der optischen Techniken (Calin *et al.*, 2013).

Je nachdem welche Indikation zur Hautkrebsdiagnostik besteht, führt die Auswahl oder eine Kombination der Verfahren zum Ziel. Das Screening bedient sich weiterhin der Dermatoskopie. Pigmentierte Läsionen werden mit der konfokalen Lasermikroskopie oder MPT, epitheliale Tumoren mit der OCT oder konfokalen Lasermikroskopie untersucht. Die Einschätzung der Tumordicke erfolgt mittels Ultraschalls oder OCT. Neben diesen bildgebenden Techniken können auch biophysikalische Verfahren wie Raman-Spektroskopie, elektrische Impedanzspektroskopie oder Multispektralanalyse, zur Differenzialdiagnose pigmentierter Läsionen herangezogen werden, wobei es zwischen

Diskussion

Nävuszellnävi und Melanomen eine hohe Sensivität, aber eine nicht so hohe Spezifität gibt. Mit einem Score-System wird anhand eines Punktwertes die Wahrscheinlichkeit ermittelt, ob eine benigne oder maligne Pigmentläsion vorhanden ist. Um die Diagnosestellung zu optimieren, ist die Kombination mit bildgebenden Verfahren sinnvoll. Als Ausblick dazu könnten bald die Dermatofluoroskopie (Basis ist die Fluoreszenz des Melanins in den Melanosomen pigmentierter Zellen) und optoakustische Bildgebung (Gewebe absorbiert elektromagnetische Strahlung und gibt die Energie in Ultraschallwellen ab; 3-D-Bildgebung mit 5 - 20 µm Eindringtiefe) angewendet werden.

Die Eindringtiefe der konfokalen Lasermikroskopie mit 250 µm liegt in der Dermis und reicht bis zum stratum papillare, die OCT mit 1,5 - 1,8 mm in die Dermis und hochfrequenter Ultraschall kann 20 MHz in tiefere Regionen der Dermis 8 mm bis zur Subkutis. Die parelektrische Spektroskopie liegt bei 0,5 - 50 MHz mit 0,5 - 1,00 mm Eindringtiefe in die Haut und somit im Vergleich zwischen der kLM und der OCT (Stolz *et al.*, 2018, pp. 275-299).

Tabelle 6: Übersicht der verschiedenen bildgebenden Verfahren (Modifiziert nach Stolz *et al.*, 2018, pp. 276, 277)

Technik	Wellenlänge/ Frequenz	Eindringtiefe	Zeitaufwand	Kosten [€]	Erlernbarkeit
Dermatoskopie	LED-Diode	ca. 200 µm	Sekunden	500	leicht - mittel
Hochfrequenter Ultraschall	20 Mhz	8 mm	5 min	7.500	leicht - mittel
OCT	1.305 - 1.325 nm	1,5 - 1,8 mm	3 min	78.000	mittel
Konfokale Lasermikroskopie	445 nm, 658 nm, 785 nm, 830 nm	250 µm	10 - 15 min	100.000	mittel - schwierig
MPT	700 - 1.000 nm	200 - 300 µm	15 min	ab 250.000	mittel - schwierig
Parelelektrische Spektroskopie	0,5 - 50 MHz	0,5 - 1,0 mm	15 min	ca. 3.000	leicht - mittel

Durch die nichtinvasive parelektrische Spektroskopie werden strukturelle Veränderungen des Gewebes und spezifische elektrische Eigenschaften bestimmt. Es hat sich in dieser Pilotstudie gezeigt, dass es zur Unterscheidung von Hauttumoren eine hohe Variation bei der Beweglichkeit und der Dichte der Dipole für normale unverdächtige Haut an verschiedenen Hautarealen gekommen ist.

Es ist wahrscheinlich, dass die Variation der parelektrischen Parameter mit unterschiedlicher Dicke und Hautgewebekomponenten der Hautschichten an verschiedenen Lokalisationen zusammenhängt. Diese lokalisationsbedingten Messunterschiede kann man auch mit anderen nichtinvasiven Untersuchungen wie der Optischen Kohärenztomographie (OCT), der Multiphotonen-Tomographie (MPT) und der Raman-Spektroskopie de-

Diskussion

tektieren. Ursache dafür sind die Unterschiede in der Dicke der Epidermis und des Stratum corneum, der Größe und Anzahl der Haarfollikel, der Schweißdrüsendichte und der Hautgewebekomponenten (Czekalla *et al.*, 2019; Otberg *et al.*, 2004; Czekalla *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2018).

Die gemessenen Absolutwerte von Hauttumorläsionen wurden auf unverdächtig nahegelegener Haut oder mit dem korrespondierenden Hautareal der anderen Körperseite normiert, um Hautbereichsschwankungen auszuschließen. Für andere spektroskopische Methoden wie die Ramanspektroskopie wurde dieses Verfahren auch zur Erkennung von Hautkrebs angewendet (Schleusener *et al.*, 2015).

Man kann aufgrund der Ergebnisse der relativen Beweglichkeit und Dichte der Tumorläsionen im Vergleich zur normalen Haut auf unterschiedliche Hautstrukturen oder Zusammensetzungen bei Hauttumoren schließen. Im Vergleich zum Parameter relative Dichte zeigte die relative Beweglichkeit höhere Werte und signifikant höhere Unterschiede zur normalen Haut. Dies könnte mit freieren mobilen Wassermolekülen der Haut in Verbindung gebracht werden, ähnlich der Raman-Spektroskopie. Die unterschiedlichen Stärken der Wasserstoffgrenzen resultieren in unterschiedlichen Mobilitäten von Wassermolekülen (Sdobnov *et al.*, 2019).

Die Ergebnisse der parelektrischen Untersuchungen stimmen mit optischen Messungen wie OCT überein. Die OCT basiert auf Brechungsindexunterschieden der verschiedenen Hautschichten und -strukturen, wobei Tumorarten schwer zu unterscheiden sind. Hauttumore sind mit anderen Brechungsindizes assoziiert, welche mit verschiedenen Gewebedichten korreliert werden können und liefern unterschiedliche Grauwerte (Batz *et al.*, 2018).

Die parelektrische Spektroskopie kann Unterschiede zwischen normalem und krebsartigem Gewebe in Organen bei Mäusen und menschlichem Kehlkopfgewebe erkennen (Blaschke *et al.*, 2006; Mahlstedt *et al.*, 2002). Allerdings wurde keine Sensitivität zur Erkennung von Unterschieden zwischen Hauttumorarten erreicht.

Mögliche Fehlerquellen können Flüssigkeit und Luft zwischen Haut und Sonde bei der Messung sein. Der richtige Anpressdruck der Sonde auf die Haut, die nicht so gute Erreichbarkeit in Gesichtsregionen wie z.B. laterale Nasenanteile und die Inhomogenität des Gewebes können weitere Fehlerquellen beinhalten. Man könnte ggf. das Messfens-

Diskussion

ter verschieben und limitieren: Tiefenauflösung von 0,5 mm auf 1 mm, durch eine Sonde mit $R = 1$. Nur passieren dann zwei Dinge: Zum einen nimmt das Seitenauflösungsvermögen ab, d. h. man kann nur zwei Messorte unterscheiden, die mindestens 2 mm auseinanderliegen. Zum anderen wird wegen der doppelt so großen Sondengeometrie, bei gleicher Hochfrequenzspannung, die Feldstärke nur halb so groß, d. h. das Signal nimmt um die Hälfte ab. Wenn man mehr Mittelungen durchführen würde, also, viermal so lange für jeweils eine Messung mit Luft, eine Messung an der Läsion und eine Messung an der Kontrollstelle, könnte man diesem zweiten Punkt gegensteuern.

Der Nutzen der jeweiligen Methode bzw. der Kombination von den Techniken hängt grundsätzlich von der Erfahrung der Untersuchenden ab.

Es stehen optische und akustische Methoden für die nichtinvasive Diagnostik zur Verfügung, welche sich im Auflösungsvermögen, Eindringtiefe der Haut, Anwendbarkeit im Alltag bzw. Praktikabilität, Schnelligkeit und Schwierigkeit der Erlernbarkeit und somit Zeitaufwand und letztlich auch Kosten für die Anschaffung und Unterhaltung des jeweiligen Gerätes unterscheiden.

Im Gegensatz zur parelektrischen Spektroskopie arbeitet die Dermatoskopie mit ringförmig angeordneten LED und bietet ein 2-D-Bild der Farb- und Strukturmerkmale, die in der Epidermis und Dermis gelegenen Läsionen mit einer Vergrößerung (10 - 60-fach). Die Eindringtiefe kann leider nicht exakt bestimmt werden. Die Sonografie hingegen vermag im Wesentlichen Tiefe und subkutane Strukturen mit der niedrig (3,5 - 5,0 MHz) -mittelfrequenten (7,5 - 11,0 MHz) Ultraschall-Methode diagnostizieren. 8 - 10 cm ist die Eindringtiefe (Stolz *et al.*, 2018, pp. 275-277).

Die Ergebnisse aus den bisherigen Studien, sowie dieser Pilotstudie, sind momentan noch nicht eindeutig genug, als dass es als ergänzende Methode zur Evaluation von Hautveränderungen eingesetzt werden können. Es weist jedoch ein gutes Potenzial für diagnostische Fragestellungen auf. Hinsichtlich der Übersicht und Eindringtiefe (Scantiefe), kann die Aussagekraft parelektrischer Spektroskopie durch die Kombination verschiedener Techniken, wie Auflichtmikroskopie, Multiphotonentomographie, LSM, Raman-spektroskopie, Fluoreszenzspektroskopie und OCT verbessert werden.

Diskussion

Der Einsatz von ParaScan I ermöglicht momentan noch keine Ergänzung im Praxisalltag, da die visuelle Bewertung von Läsionen mit einer objektivierbaren nicht visuellen Analyse der Zelleigenschaften verbessert werden muss. Insbesondere in Fällen kutaner Läsionen mit unklaren klinischen oder anamnestischen Befunden. Bei Hinweisen auf Melanome soll sich die Entscheidung, ob eine Exzision vorgenommen werden sollte somit leichter treffen lassen. ParaScan I ist ein einfaches, preiswertes und schnelles Verfahren und könnte sich problemlos in den Sprechstundenablauf eines/einer Dermatologen*in einfügen, da die Ergebnisse sofort zur Verfügung stehen.

6. Zusammenfassung

Die Haut bietet in ihrer Funktion als Abwehr und Regulator einen nicht vollständigen Schutz gegenüber UV-Strahlung. Die dauerhafte Aussetzung der Haut an die Sonne kann zu irreversiblen Schädigungen wie frühzeitige Hautalterung, Immunsuppression und Hautkrebs führen.

Für die Differenzierung und Diagnose sind das klinische Erscheinungsbild und die histologische Untersuchung der Hauterkrankungen von essenzieller Bedeutung. Die Biopsie für die Histologie ist eine invasive Diagnostikmethode mit dem Risiko von Nachblutungen, Wundinfektionen und Narbenbildung. Für die in vivo Untersuchung von Hautveränderungen wurden in den letzten Jahren nichtinvasive diagnostische Verfahren entwickelt. Die parelektrische Spektroskopie ist eine dieser nichtinvasiven Untersuchungsmethoden.

Anhand der Ergebnisse können folgende Aussagen getroffen werden: tumoröses und tumorfreies Gewebe kann mittels parelektrischer Spektroskopie mit kleinen Fehlerraten differenziert werden. An gesunder Haut besteht eine Normalverteilung der rel. Dichte und rel. Beweglichkeit von 1.

Die Untersuchung hat gezeigt, dass die Werte für Beweglichkeit und Dichte der Dipole eine hohe Varianz in Abhängigkeit von der Körperregion aufweisen. Darüber hinaus ist die Beweglichkeit der Dipole bei Hautkrebs stärker verändert als die Dichte. Weiterhin konnten relevante Parameter wie der Anpressdruck und Anfeuchten der zu messenden Stelle für die Durchführung der Messungen erfolgreich evaluiert werden. Es wurden konstant reproduzierbare Messergebnisse erzielt.

Die Ergebnisse der Pilotstudie deuten daraufhin, dass die parelektrische Spektroskopie ein zusätzliches nichtinvasives Diagnoseverfahren sein könnte, um zwischen normaler Haut und Hautkrebs zu unterscheiden. Sie vermag aber nicht zwischen verschiedenen Arten von Hautkrebs zu unterscheiden. Es ist also weiterhin eine histologische Untersuchung erforderlich. Bei Läsionen tiefer als 1 mm ist dies ohnehin notwendig, da spektroskopische Messungen diese Tiefe methodisch nicht erreichen können.

Die nichtinvasive parelektrische Spektroskopie ermöglicht momentan noch keine Differenzierung unterschiedlicher Hautveränderungen, kann aber eine ergänzende Methode zur Diagnostik von Hauterkrankungen darstellen. Zelluläre Details müssen weiterhin mit

Zusammenfassung

dem Goldstandard-Verfahren der Histologie dargestellt werden. Die parelektrische Spektroskopie eignet sich auf dem gegenwärtigen technischen Stand noch nicht zur Verlaufsbeurteilung von strukturellen Veränderungen, wobei die Anwendung im klinischen Alltag durch die Kombination verschiedener nichtinvasiver Techniken zu einer verbesserten Diagnostik führen könnte.

So könnte in unsicheren Fällen die parelektrische Spektroskopie komplementäre Zusatzinformationen zu den visuellen Untersuchungen ermöglichen. Insbesondere bei unklarem klinischen oder anamnestischen Verdacht eines Melanoms würde sich die wichtige Entscheidung, ob eine Exzision vorgenommen werden sollte, anhand dieser Informationen leichter treffen lassen können.

Es gibt momentan keine Hinweise dafür, dass mit ParaScan I womöglich zukünftig auch die Diagnose nicht-melanozytärer cutaner Malignome zu stellen sein wird.

Die parelektrische Spektroskopie könnte sich als nichtinvasive Untersuchung der Haut etablieren und eine ergänzende Methode zur Diagnostik von Hauterkrankungen darstellen, wenn weitere Studien mit einer höheren Anzahl an Patienten*innen zur Verfestigung der Pilot-Studie (Machbarkeitsstudie) durchgeführt werden und eine Optimierung der Frequenzen erreicht wird. Dabei sollten für weitere Untersuchungen bzw. Studien die Frequenzen von ParaScan I tiefer kalibriert werden, damit der Messbereich vergrößert wird und sich auf der Debye Kurve weiter nach links auf der x-Achse verlagert.

Die parelektrische Spektroskopie ist eine Methode, deren Aussagekraft noch nicht die anderer in vivo Techniken erreicht. Diagnostische Perspektiven und das mögliche Potenzial für den klinischen Alltag muss noch genauer definiert werden. Diese Arbeit stellt die Grundlage für die weitere Forschung und Untersuchung von unterschiedlichen Hautveränderungen mittels parelektrischer Spektroskopie dar.

7. Literaturverzeichnis

Alborova, A., Lademann, J., Meyer, L., Kramer, A., Patzelt, A., Sterry, W. and Antoniou, C. (2007) 'Einsatz der Laser-Scan-Mikroskopie zur Charakterisierung der Wundheilung', *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär*, 2(2).

Arnold - Brüning, F., Blaschke, T., Kramer, K., Lademann, J., Thiede, G., Fluhr, J., Patzelt, A. and Meinke, M. (2019) 'Application of paretic spectroscopy to detect skin cancer—A pilot study', *Skin Research and Technology*, 26(2), pp. 234-240.

Balk, S. J. and Council on Environmental Health and Section on Dermatology (2011) 'Ultraviolet Radiation: A Hazard to Children and Adolescents', *American Academy of Pediatrics*, 127(3), pp. 588-597.

Batz, S., Wahrlich, C., Alawi, A., Ulrich, M. and Lademann, J. (2018) 'Differentiation of Different Nonmelanoma Skin Cancer Types Using OCT', *Skin Pharmacology and Physiology*, 31(6), pp. 238-245.

Blaschke, T., Sivaramakrishnan, R., Gross, M. and Kramer, K. D. (2006) 'Organ mapping using paretic spectroscopy', *Physics in Medicine and Biology*, 51(6), pp. 1623-1631.

Bortz, J. (2005) *Statistik - für Human- und Sozialwissenschaftler*. Berlin: Springer-Verlag.

Braem, C., Blaschke, T., Panek-Minkin, G., Herrmann, W., Schlupp, P., Paepenmüller, T., Müller-Goyman, C., Mehnert, W., Bittl, R., Schäfer-Korting, M. and Kramer, K. D. (2007) 'Interaction of drug molecules with carrier systems as studied by paretic spectroscopy and electron spin resonance', *Journal of Controlled Release*, 119(1), pp. 128-135.

Calin, M. A., Parasca, S. V., Savastru, R., Calin, M. R. and Dontu, S. (2013) 'Optical techniques for the noninvasive diagnosis of skin cancer', *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 139(7), pp. 1083-1104.

Czekalla, C., Schönborn, K. H., Döge, N., Jung, S., Darvin, M. E., Lademann, J. and Meinke, M. C. (2017) 'Impact of Body Site, Age, and Gender on the Collagen/Elastin Index by Noninvasive in vivo Vertical Two-Photon Microscopy', *Skin Pharmacology and Physiology*, 30(5), pp. 260-267.

Czekalla, C., Schönborn, K. H., Lademann, J. and Meinke, M. C. (2019) 'Noninvasive Determination of Epidermal and Stratum Corneum Thickness in vivo Using Two-Photon Microscopy and Optical Coherence Tomography: Impact of Body Area, Age, and Gender', *Skin Pharmacology and Physiology*, 32(3), pp. 142-150.

Literaturverzeichnis

Damian, D. L., Matthews, Y. J., Phan, T. A. and Halliday, G. M. (2011) 'An action spectrum for ultraviolet radiation-induced immunosuppression in humans', *British Journal of Dermatology*, 164(3), pp. 657-659.

de Leeuw, J., van der Beek, N., Neugebauer, W. D., Bjerring, P. and Neumann, H. A. (2009) 'Fluorescence detection and diagnosis of non-melanoma skin cancer at an early stage', *Lasers in Surgery and Medicine*, 41(2), pp. 96-103.

Debye, P. (1929) *Polare Molekeln*. Leipzig: Verlag S. Hirzel.

Debye, P. (1930) 'Interferometrische Bestimmung der Struktur von Einzelmolekülen', *Zeitschrift für Elektrochemie und angewandte physikalische Chemie*, 36(9), pp. 612-615.

Dorrell, D. N. and Stowd, L. C. (2019) 'Skin Cancer Detection Technology', *Dermatologic Clinics*, 37(4), pp. 527-536.

Dufourc, E. J., Mayer, C., Stohrer, J., Althoff, G. and Kothe, G. (1992) 'Dynamics of phosphate head groups in biomembranes. Comprehensive analysis using phosphorus-31 nuclear magnetic resonance lineshape and relaxation time measurements', *Biophysical journal*, 61(1), pp. 42-57.

Fitzpatrick, T. B. (1987) *Dermatology in General Medicine*. New York: McGraw-Hill.

Forschner, A., Keim, U., Hofmann, M., Spänkuch, I., Lomberg, D., Weide, B., Tampouri, I., Eigentler, T., Fink, C., Garbe, C. and Haenssle, H. A. (2018) 'Diagnostic accuracy of dermatofluoroscopy in cutaneous melanoma detection: results of a prospective multicentre clinical study in 476 pigmented lesions', *British Journal of Dermatology*, 179(2), pp. 478-485.

Fritsch, P. and Schwarz, T. (2018) *Dermatologie Venerologie - Grundlagen. Klinik. Atlas*. Berlin: Springer Verlag.

Furter, S. and Jasch, K. (2007) *Crashkurs Dermatologie*. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.

Gilchrest, B. A., Eller, M. S., Geller, A. C. and Yaar, M. (1999) 'The Pathogenesis of Melanoma Induced by Ultraviolet Radiation', *The New England Journal of Medicine*, 340(17), pp. 1341-1348.

Harms, V. (2019) *Medizinische Statistik*. Kiel: Harms Verlag.

Helfrich, Y. R., Sachs, D. L. and Voorhees, J. J. (2008) 'Overview of skin aging and photoaging', *Dermatology Nursing*, 20(3), pp. 177-183.

Literaturverzeichnis

Herzog, B., Wehrle, M. and Quass, K. (2009) 'Photostability of UV Absorber Systems in Sunscreens', *Photochemistry and Photobiology*, 85(4), pp. 869-878.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (1992) *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans - Solar and Ultraviolet Radiation*. Lyon: World Health Organization - International Agency for Research on Cancer.

Ikehata, H. and Ono, T. (2011) 'The Mechanisms of UV Mutagenesis', *Journal of Radiation Research*, 52(2), pp. 115-125.

Klöggen, B., Reichle, C., Kohlsmann, S. and Kramer, K. D. (1996) 'Dielectric Spectroscopy as a Sensor of Membrane Headgroup Mobility and Hydration', *Biophysical Journal*, 71(6), pp. 3251-60.

Kyriakidou, M., Anastassopoulou, J., Tsakiris, A., Kouli, M. and Theophanides, T. (2017) 'FT-IR Spectroscopy Study in Early Diagnosis of Skin Cancer', *In vivo*, 31(6), pp. 1131-1137.

Lambert, J. B., Gronert, S., Shurvell, H. F. and Lightner, D. A. (2012) *Spektroskopie - Strukturaufklärung in der organischen Chemie*. München: Pearson.

Langley, R. G. B., Rajadhyaksha, M., Dwyer, P. J., Sober, A. J., Flotte, T. J. and Anderson, R. R. (2001) 'Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45(3), pp. 365-376.

Lee, M., Won, K., Kim, E. J., Hwang, J. S. and Lee, H. K. (2018) 'Comparison of stratum corneum thickness between two proposed methods of calculation using Raman spectroscopic depth profiling of skin water content', *Skin Research and Technology*, 24(3), pp. 504-508.

Mahlstedt, K., Blaschke, T., Kramer, K. D. and Gross, M. (2002) 'Parelektrische Spektroskopie zur nichtinvasiven Diagnostik von Larynxgewebe / Noninvasive Evaluation of the Larynx Using Parelectric Spectroscopy', *Biomedizinische Technik*, 47(4), pp. 70-75.

Marks, R. (1999) 'Photoprotection and prevention of melanoma', *European Journal of Dermatology*, 9(5), pp. 406-412.

Meyer, L. E., Otberg, N., Tietz, H. J., Sterry, W. and Lademann, J. (2005) 'In vivo imaging of Malassezia yeasts on human skin using confocal laser scanning microscopy', *Laser Physics Letters*, 2(3), pp. 148-152.

Moll, I. (2016) *Duale Reihe - Dermatologie*. Stuttgart: Thieme.

Literaturverzeichnis

Narayanan, D. L., Saladi, R. N. and Fox, J. L. (2010) 'Ultraviolet radiation and skin cancer', *International Journal of Dermatology*, 49(9), pp. 978-986.

Otberg, N., Richter, H., Schaefer, H., Blume-Peytavi, U., Sterry, W. and Lademann, J. (2004) 'Variations of hair follicle size and distribution in different body sites', *The Journal of Investigative Dermatology*, 122(1), pp. 14-19.

parelectrics UG 2013a. In: Arnold-Brüning, F.S. (ed.).

parelectrics UG (2013b) *Gebrauchsanweisung ParaScan I*. Berlin: parelectrics UG.

Paul, T. and Saha, J. (2017) 'Effect of head group orientation on phospholipid assembly', *Physical Review E*, 95(6), pp. 062703.

Plewig, G., Ruzicka, T., Kaufmann, R. and Hertl, M. (2018a) *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie - Band 1*. Berlin: Springer-Verlag.

Plewig, G., Ruzicka, T., Kaufmann, R. and Hertl, M. (2018b) *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie - Band 2*. Berlin: Springer-Verlag.

Rajadhyaksha, M., Menaker, G., Flotte, T., Dwyer, P. J. and González, S. (2001) 'Confocal examination of nonmelanoma cancers in thick skin excisions to potentially guide mohs micrographic surgery without frozen histopathology', *Journal of Investigative Dermatology*, 117(5), pp. 1137-1143.

Rassner, G. (2009) *Dermatologie: Lehrbuch und Atlas*. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.

Rigel, D. S. (2008) 'Cutaneous ultraviolet exposure and its relationship to the development of skin cancer', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(5), pp. 129-132.

Sauermann, K., Gambichler, T., Wilmert, M., Rotterdam, S., Stücker, M., Altmeyer, P. and Hoffmann, K. (2002) 'Investigation of basal cell carcinoma [correction of carcionoma] by confocal laser scanning microscopy in vivo', *Skin Research and Technology*, 8(3), pp. 141-147.

Schiebler, T. H. and Schmidt, W. (2002) *Anatomie*. Berlin: Springer-Verlag.

Schleusener, J., Gluszczyńska, P., Reble, C., Gersonde, I., Helfmann, J., Fluhr, J. W., Lademann, J., Röwert-Huber, J., Patzelt, A. and Meinke, M. C. (2015) 'In vivo study for the discrimination of cancerous and normal skin using fibre probe-based Raman spectroscopy', *Experimental Dermatology*, 24(10), pp. 767-772.

Sdobnov, A. Y., Darvin, M. E., Schleusener, J., Lademann, J. and Tuchin, V. V. (2019) 'Hydrogen bound water profiles in the skin influenced by optical clearing molecular

agents—Quantitative analysis using confocal Raman microscopy', *Journal of Biophotonics*, 12(5).

Situm, M., Buljan, M., Cavka, V., Bulat, V., Krolo, I. and Lugović Mihić, L. (2010) 'Skin changes in the elderly people - How strong is the influence of the UV radiation on skin aging?', *Collegium Antropologicum*, 34, pp. 9-13.

Sivaramakrishnan, R., Nakamura, C., Mehnert, W., Korting, H. C., Kramer, K. D. and Schäfer-Korting, M. (2004) 'Glucocorticoid entrapment into lipid carriers — characterisation by paretic spectroscopy and influence on dermal uptake', *Journal of Controlled Release*, 97(3), pp. 493-502.

Sterry, W., Czaika, V. A., Drecoll, U., Hadshiew, I. and Kiecker, F. (2018) *Kurzlehrbuch Dermatologie*. Stuttgart: Thieme Verlag.

Stolz, W., Hänßle, H., Sattler, E. and Welzel, J. (2018) *Bildgebende Diagnostik in der Dermatologie - Dermatoskopie, Sonografie, optische Kohärenztomografie, konfokale Lasermikroskopie und weitere physikalische Verfahren*. Stuttgart: Thieme.

Tannous, Z. S., Mihm, M. C., Flotte, T. J. and González, S. (2002) 'In vivo examination of lentigo maligna and malignant melanoma in situ, lentigo maligna type by near-infrared reflectance confocal microscopy: comparison of in vivo confocal images with histologic sections', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 46(2), pp. 260-263.

Terhorst, D. (2009) *Basics Dermatologie*. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.

Wang, S. Q., Balagula, Y. and Osterwalder, U. (2010) 'Photoprotection: a Review of the Current and Future Technologies', *Dermatologic Therapy*, 23(1), pp. 31-47.

WMA-Generalversammlung (2013) *WMA Deklaration von Helsinki - Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen*. Fortaleza: WMA-Generalversammlung.

Wong, R., Geyer, S., Weninger, W., Guimberteau, J. C. and Wong, J. K. (2016) 'The dynamic anatomy and patterning of skin', *Experimental Dermatology*, 25(2), pp. 92-98.

Zhao, J., Zeng, H., Kalia, S. and Lui, H. (2017) 'Using Raman Spectroscopy to Detect and Diagnose Skin Cancer In Vivo', *Dermatologic Clinics*, 35(4), pp. 495-504.

8. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Frederike Sophie Arnold-Brüning, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Nichtinvasive Tumordiagnostik der Haut mittels parelektrischer Spektroskopie“ 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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum / Unterschrift der Doktorandin

9. Anteilserklärung an erfolgter Publikation

Frederike Arnold-Brüning hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Arnold - Brüning, F., Blaschke, T., Kramer, K., Lademann, J., Thiede, G., Fluhr, J., Patzelt, A. and Meinke, M. (2019) 'Application of parelectric spectroscopy to detect skin cancer–A pilot study', *Skin Research and Technology*, 26(2), pp. 234-240.

Beitrag im Einzelnen:

Hospitation und alleinige Patienten*innenrekrutierung mit Patienten*innenaufklärung und Durchführung aller Messungen mit ParaScan I der parelektrischen Spektroskopie (Anteil: 100 %) mit Erfassung der Rohdaten und Erfassung und Aktualisierung von Datenerhebungsunterlagen (CRF-Bogen) mit histologischen Befunden (Anteil: 100 %). Unterstützung bei der Auswertung und Verfassung des Manuskriptes (Anteil: 70 %).

Aus meinen statistischen Auswertungen ist die Tabelle 1 sowie die Abbildungen 9, 15, 16, 17 und 18 entstanden.

Aus meinen Patienten*innenmessungen entstand Abbildung 10 sowie die klinischen Abbildungen 11 und 12.

Unterschrift, Datum und Stempel der erstbetreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift der Doktorandin

10. Curriculum Vitae

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

11. Publikationsliste

Arnold - Brüning, F., Blaschke, T., Kramer, K., Lademann, J., Thiede, G., Fluhr, J., Patzelt, A. and Meinke, M. (2019) 'Application of preelectric spectroscopy to detect skin cancer–A pilot study', *Skin Research and Technology*, 26(2), pp. 234-240.

12. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Martina Meinke, betreuende Disstertationsmutter und Leiterin der Forschungsgruppe Hautphysiologie Universitätsklinik Charité.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Herrn Kramer und Herrn Blaschke der Firma Parelectrics für die engagierter Betreuung sowie dem bereits verstorbenen Herrn Lesemann für die Initiierung dieser Studie.

Herrn Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann, Herrn Prof. Dr. Fluhr und der Forschungsgruppe der Hautphysiologie Universitätsklinik Charité danke ich für die wissenschaftliche und lehrreiche Zusammenarbeit.

Bei den Stationsschwestern der Station 161 und 162, sowie der Oberärztin Frau Pokrywka, möchte ich mich für die Patientenrekrutierung bedanken. Den Probanden*innen danke ich für die durchgeführten Messungen der Studie. Dank gilt auch dem Histologen Herrn Dr. Röwert-Huber für die Bereitstellung der Histologie.

Bei meiner Familie und Freunden, insbesondere meinem Mann und meinem Vater, möchte ich mich besonders für die Geduld bedanken. Für die Betreuung unserer Tochter danke ich unserer Tagesmutter.

Ich widme diese Arbeit meinem Mann und unser gemeinsamen Tochter sowie meinen Eltern.