

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

DISSERTATION

Gegenüberstellung UV-induzierter Hautveränderungen in
sonnenexponierter versus sonnengeschützter Haut mittels
in vivo konfokaler Laserscanmikroskopie

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Cathrin Wiggins-Davies, geb. Rüter

aus Göttingen

Datum der Promotion: 04.03.2022

Vorwort

Teile der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht:

Ulrich M, **Rüter C***, Astner S, Sterry W, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Rówert-Huber J (2009): Comparison of UV-induced skin changes in sun-exposed vs. sun-protected skin- preliminary evaluation by reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 161 Suppl 3:46-53.

* Promovendin

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Abkürzungsverzeichnis	IX
Zusammenfassung	X
1 Einleitung.....	1
1.1 Dermatitis solaris.....	1
1.1.1 Ätiologie.....	1
1.1.2 Epidemiologie	2
1.1.3 Pathophysiologie.....	3
1.1.4 Klinik.....	4
1.1.5 Histopathologie.....	5
1.1.6 Differentialdiagnosen	7
1.1.7 Therapie	8
1.1.8 Protektion	9
1.2 Konfokale Lasermikroskopie	11
1.2.1 Optisches Grundprinzip und Auflösung	11
1.2.2 Einsatz der KLM in der Dermatologie	13
1.2.3 KLM-Analyse der gesunden Haut.....	14
1.2.4 KLM-Analyse der akut sonnengeschädigten Haut	15
1.3 Zielsetzung.....	16
2 Material und Methodik	17
2.1 Studienteilnehmer und Studienprotokoll.....	17
2.2 UV-Bestrahlungsgerät – Saalman-Multitester.....	18
2.3 Durchführung der Bestrahlung	19
2.4 Klinische Evaluation.....	20
2.5 Evaluation durch konfokale Lasermikroskopie	21
2.6 Hautbiopsie und Routinehistologie	25
3 Ergebnisse.....	26
3.1 Klinische Auswertung.....	26
3.2 Konfokale Lasermikroskopie (KLM) – unbehandelte Haut	28

3.3	Konfokale Lasermikroskopie (KLM) – ungeschützte Haut.....	31
3.3.1	Spongiose	32
3.3.2	Sunburn cells	34
3.3.3	Mikrovesikel.....	37
3.3.4	Verlust der Honigwabenstruktur	40
3.3.5	Vasodilatation	42
3.4	Histologie der ungeschützten Seite nach der Bestrahlung	44
3.5	Konfokale Lasermikroskopie (KLM) – geschützte Haut	45
3.6	Zusammenfassung der Ergebnisse der Konfokalen Lasermikroskopie (KLM) – ungeschützte Haut vs. geschützte Haut.....	47
4	Diskussion.....	49
4.1	Geschützte versus ungeschützte Haut	50
4.2	Spongiose	51
4.3	Sunburn cells	52
4.4	Mikrovesikel.....	54
4.5	Verlust der Honigwabenstruktur	55
4.6	Vasodilatation.....	56
4.7	Limitationen des Studiendesigns und der KLM-Methodik.....	57
4.8	Fazit und Ausblick	58
5	Literaturverzeichnis	60
6	Eidesstattliche Versicherung.....	71
7	Anteilerklärung	72
8	Lebenslauf	73
9	Publikationsliste	75
10	Danksagung.....	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Hauttypen mit Hautreaktion nach erstmaliger 30-minütiger Sonnenexposition im Sommer (modifiziert nach Neumann und Lehmann, 2003).....	2
Tabelle 2: Lichttreppe im UVB-Bereich.....	18
Tabelle 3: Klinische Evaluation des Erythems am rechten geschützten ventralen Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach UV-Bestrahlung mit einer maximalen Dosis von 204 oder 240 mJ/cm ²	26
Tabelle 4: Klinische Evaluation des Erythems am linken ungeschützten ventralen Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach UV-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED).....	27
Tabelle 5: Klinische Evaluation des Erythems am linken ungeschützten ventralen Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach UV-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 204 oder 240 mJ/cm ²	28
Tabelle 6: Auftreten einer Spongiose am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis.....	32
Tabelle 7: Auftreten von apoptotischen Zellen (Sunburn cells) am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis.....	34
Tabelle 8: Auftreten von Mikrovesikel am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis.....	37
Tabelle 9: Verlust der Honigwabenstruktur am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis.....	40
Tabelle 10: Auftreten einer Vasodilatation am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis.....	42
Tabelle 11: Auftreten einer Spongiose am rechten geschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis.....	45

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Klinisches Bild der Dermatitis solaris Grad 1 – auf die lichtexponierte, ungeschützte bzw. unbedeckte Körperregion begrenztes rotes Erythem (Proksch et al. 2007).....	5
Abbildung 2: Histologie der Dermatitis solaris Grad 1–2 (Proksch et al. 2007).....	7
Abbildung 3: Grundprinzip eines konfokalen Lasermikroskops am Beispiel des Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung der Mavig GmbH).....	12
Abbildung 4: Saalman-Multitester (mit freundlicher Genehmigung Saalman® medical GmbH & Co. KG).....	19
Abbildung 5: Durchführung der UV-Exposition mit dem Saalman-Multitester (mit freundlicher Genehmigung Saalman® medical GmbH & Co. KG).....	20
Abbildung 6: Konfokales Lasermikroskop –Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung der Mavig GmbH).....	22
Abbildung 7: Vorbereitung der Aufnahmen mit dem Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung der Mavig GmbH).....	23
Abbildung 8: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – Stratum corneum (Ulrich et al. 2009).....	29
Abbildung 9: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – Stratum granulosum (Ulrich et al. 2009).....	29
Abbildung 10: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – Stratum spinosum (Ulrich et al. 2009).....	30
Abbildung 11: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – dermoepidermale Junctionszone (Ulrich et al. 2009).....	31
Abbildung 12: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Spongiose im Stratum granulosum (Ulrich et al. 2009).....	33

Abbildung 13: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Spongiose im Stratum spinosum (Ulrich et al. 2009).....	33
Abbildung 14: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum granulosum mit Sunburn cells (Ulrich et al. 2009).....	35
Abbildung 15: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum granulosum mit Sunburn cells (Ulrich et al. 2009).....	35
Abbildung 16: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum spinosum mit Sunburn cells (Ulrich et al. 2009).....	36
Abbildung 17: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 – Stratum granulosum mit Sunburn cells und Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009).....	36
Abbildung 18: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum granulosum mit Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009).....	38
Abbildung 19: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 –Stratum granulosum mit ausgeprägten Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009).....	38
Abbildung 20: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 –Stratum spinosum mit ausgeprägten Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009).....	39
Abbildung 21: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 – Dermoepidermale Junctionszone mit ausgeprägten Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009).....	39
Abbildung 22: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis von 240 mJ/cm^2 – Stratum granulosum/ Stratum spinosum mit Aufhebung der Honigwabenstruktur	41

Abbildung 23: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis von 240 mJ/cm ² – Stratum granulosum/ Stratum spinosum mit Aufhebung der Honigwabenstruktur	41
Abbildung 24: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – papilläre Dermis mit dilatierten Blutgefäßen (Ulrich et al. 2009).....	43
Abbildung 25: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – papilläre Dermis mit dilatierten Blutgefäßen (Ulrich et al. 2009).....	43
Abbildung 26: Histologischer Schnitt (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit 240 mJ/cm ² (Ulrich et al. 2009).....	44
Abbildung 27: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des geschützten rechten Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm ² (Ulrich et al. 2009).....	46
Abbildung 28: Vorkommen der Spongiose in ungeschützter (links) und geschützter Haut (rechts) 24, 48 und 72 Stunden nach der UV-Exposition (mittlere Erythemdosis (MED) bzw. maximale Dosis: 204 oder 240 mJ/cm ²).....	47
Abbildung 29: Vorkommen von Sunburn cells, Mikrovesikel, Verlust der Honigwabenstruktur und Vasodilatation in ungeschützter Haut 24, 48 und 72 Stunden nach der UV-Exposition (mittlere Erythemdosis (MED) bzw. maximale Dosis: 204 oder 240 mJ/cm ²).....	48

Abkürzungsverzeichnis

DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid)
k. A.	keine Angabe
KLM	Konfokale Lasermikroskopie, konfokales Lasermikroskop
LSF	Lichtschutzfaktor
MED	Minimale Erythemdosis
MPT	Multiphotonentomografie
OCT	Optische Kohärenztomografie
SBC	Sunburn cells
UV	ultraviolett

Zusammenfassung

Einleitung: Übermäßige Bestrahlung mit ultraviolettem (UV) Licht führt zu akuten und chronischen UV-Schäden und ist der Hauptrisikofaktor für die Entstehung von Hautkrebs. Zur Prävention werden üblicherweise Sonnenschutzmittel verwendet, deren Wirksamkeit über die Messung der minimalen Erythemdosis (MED), basierend auf makroskopischen Veränderungen der Haut, bestimmt wird. Das Standardverfahren für eine detailliertere Analyse der UV-induzierten Hautveränderungen ist bislang die Histologie. Eine neuere nicht-invasive Untersuchungsmöglichkeit bietet die konfokale Laserscanmikroskopie (KLM), mit der sich die Haut in vivo mit einer Auflösung auf zellulärer Ebene darstellen lässt.

Ziel Das Ziel dieser Studie ist die morphologische Darstellung standardisierter klinischer und histologischer Merkmale der akut sonnengeschädigten Haut mittels KLM sowie die Testung der Effektivität von Sonnenschutzmitteln auf zellulärer Ebene.

Methoden: Hierfür wurden die Unterarme von zehn Studienteilnehmern einmalig mit UVB-Licht mit ansteigender Dosierung (96, 132, 168, 204, 240 mJ/cm²) bestrahlt. Der linke Unterarm blieb dabei ungeschützt, während der rechte Unterarm durch eine hochpotente Sonnencreme geschützt war. Die Untersuchung mittels KLM erfolgte nach 24, 48 und 72 Stunden. Zur Validierung der Ergebnisse wurde von einem Studienteilnehmer eine Biopsie von der ungeschützten Haut entnommen.

Ergebnisse: Die mittels KLM identifizierten morphologischen Veränderungen im ungeschützten Hautareal beinhalteten das Auftreten von Spongiose, Sunburn cells (apoptotische Zellen), Mikrovesikel und einer Vasodilatation sowie den Verlust der Honigwabenstruktur. Das Vorkommen von Sunburn cells und Mikrovesikel hing von der UVB-Dosis und von der individuellen Sensitivität der Studienteilnehmer ab. Im geschützten Hautareal trat nur einmalig eine Spongiose auf. Die Ergebnisse wurden durch den Nachweis von Sunburn cells und Mikrovesikel in der Hautbiopsie validiert.

Schlussfolgerung: Die KLM ist ein geeignetes Verfahren zur nicht invasiven Beurteilung von UV-Licht-induzierten, akuten dynamischen Veränderungen der Haut. Ähnlich wie bei der Histopathologie lassen sich durch die KLM akute schwere UV-Schäden durch den Nachweis von Sunburn cells und Mikrovesikel darstellen. Die KLM könnte daher in Zukunft bei der Klassifikation von Sonnenbrandreaktionen und bei der Analyse der Effektivität von Sonnenschutzmitteln auf zellulärer Ebene Verwendung finden.

Summary

Background: Excessive ultraviolet (UV) radiation leads to acute and chronic UV damage and is the main risk factor for the development of skin cancer. Sunscreens are usually used for prevention. Their efficacy is determined by measurement of the minimal erythema dose (MED) which is based on the observation of macroscopic changes occurring to the skin. Currently, histology represents the standard procedure for more accurate morphological alterations of the skin caused by UV light. A novel non-invasive imaging approach is offered by Reflectance confocal microscopy (RCM), a tool that allows in vivo visualization of the skin at cellular-level resolution.

Aim: The aim of this study is to provide a morphological representation of standardized clinical and histological features of acutely sun-damaged skin using RCM as well as analysing the efficacy of sunscreens at a cellular level.

Methods: For this purpose, the forearms of ten study participants were irradiated once with gradually increasing doses of UVB light (96, 132, 168, 204, 240 mJ / cm²) using an irradiation device. The left forearm was unprotected while the right forearm was protected by a highly potent sunscreen. The RCM investigation was performed 24, 48 and 72 hours after irradiation. To validate the results a biopsy was taken from the unprotected skin of one of the study participants.

Results: The morphological changes in the unprotected skin area identified by RCM encompassed appearance of spongiosis, sunburn cells (apoptotic cells), microvesicles and vasodilation as well as the disruption of honeycomb pattern. The detection of sunburn cells and microvesicles depended on the UVB dose and the individual sensitivity of the study participants. Only one time spongiosis was observed in the protected skin. The results were validated by histological detection of sunburn cells and microvesicles in the skin biopsy.

Conclusion: The RCM is a suitable method for the non-invasive assessment of acute dynamic changes in the skin triggered by UV light. Similar to histopathology, RCM can identify acute severe UV damage by detecting important features like sunburn cells and microvesicles. In the future, RCM could therefore be used to classify sunburn reactions and to investigate the effectiveness of sunscreens at a cellular level.

1 Einleitung

1.1 Dermatitis solaris

1.1.1 Ätiologie

Bei der Dermatitis solaris handelt es sich um eine akute, entzündliche Dermatose, die durch eine übermäßige Exposition der Haut gegenüber ultraviolettem (UV) Licht verursacht wird (Megahed und Schaller 2006).

Das auf die Haut einwirkende UV-Licht stammt aus verschiedenen Quellen; dazu zählen als natürliche Lichtquelle die Sonne, aber auch künstliche Lichtquellen wie Solarien oder Fototherapiegeräte (McStay et al. 2018). Vor allem das mittel- und langwellige UV-Licht (290–400 nm) ist in der Haut biologisch wirksam. Innerhalb dieses Bereichs unterscheidet man UVB- (290–320 nm) und UVA-Licht (320–400 nm). Das kurzwelligere UVC-Licht (200–290 nm) gelangt aufgrund der Ozonschicht nicht auf die Erdoberfläche und hat somit keinen Effekt auf die Haut (Fritsch 2009, pp. 84-85).

Hauptauslöser der Erythembildung und der Dermatitis solaris ist die UVB-Bestrahlung (Knuschke et al. 2012). Erytheme können auch durch UVA-Licht erzeugt werden, jedoch sind dafür bis zu tausendmal höhere Dosen notwendig. Da das UVA-Licht den größeren Anteil am Sonnenlicht einnimmt, ist es aber dennoch für 15 % des erythematischen Effekts verantwortlich (Fritsch 2009, pp. 85-86).

Das UVB-Licht spielt auch bei der Synthese von Vitamin D eine wichtige Rolle. Durch eine fotochemische Konversion wird 7-Dehydrocholesterin in der Epidermis zu Vitamin D₃ umgewandelt (Fritsch 2009, p. 84). Zur Bildung von Vitamin D werden relativ geringe UVB-Dosen (ca. 10 % der minimalen Erythemdosis (MED) an Händen und Gesicht bei Exposition zweimal pro Woche) benötigt (Knuschke et al. 2012).

Zu den Einflussfaktoren der Erythemstehung gehören der Feuchtigkeitsgehalt der Haut (feuchte Haut > trockene Haut), die Reflexionseigenschaften der Umgebung (Wasser, Schnee und Eis > Sand), die Dicke der Ozonschicht bzw. die Höhenlage über dem Meeresspiegel (dünne Ozonschicht / Bergregion > dicke Ozonschicht / Flachland), der Breitengrad (Äquator > gemäßigte Zonen) und die Tageszeit (Mittagszeit > Abend- bzw. Morgenstunden) (McStay et al. 2018).

1.1.2 Epidemiologie

Die Dermatitis solaris gehört zu den häufigsten pathologischen Zuständen der Haut. Mehr als drei Viertel aller Sonnenbrände ereignen sich im Kindes- und Jugendalter vor dem 20. Lebensjahr (Fritsch 2009, p. 86). In den USA haben zwei Drittel aller Kinder und mehr als ein Drittel der Erwachsenen (36,2 %) jährlich einen Sonnenbrand (McStay et al. 2018). Das männliche Geschlecht zeigt eine höhere Prävalenz (Hall et al. 2003). Die UV-Empfindlichkeit bzw. die Neigung zu Sonnenbränden beruht auf der individuell vorhandenen Menge und Art des Melanins. Das schwarzbraune Eumelanin absorbiert als potenter Lichtfilter alle Bereiche des UV- und sichtbaren Lichts. Das rötliche Phänomelanin ist dagegen ein vergleichbar schwacher Lichtfilter (Fritsch 2009, p. 86).

Die durch UV-Licht ausgelösten pathobiologischen Reaktionen (z. B. Erythem, Pigmentierung, Dermatitis solaris) hängen vom jeweiligen Hauttyp ab. Das Gleiche gilt für die Entstehung von aktinischen Keratosen, Basalzellkarzinomen und Melanomen unter Langzeit-UV-Einwirkung. Fitzpatrick (1975) unterscheidet sechs Hauttypen (s. Tab. 1). Besonders empfindlich sind Personen mit einem Hauttyp I–II. Sie sind meistens hellhäutig, haben blonde oder rote Haare und blaue oder grüne Augen (Plewig et al. 2012, p. 699).

Tabelle 1: Klassifikation der Hauttypen nach Fitzpatrick mit Hautreaktion nach erstmaliger 30-minütiger Sonnenexposition im Sommer (modifiziert nach Neumann und Lehmann 2003)

Typ	Hautrötung	Bräunung
I	Immer	Nie
II	Immer	Gelegentlich
III	Gelegentlich	Immer
IV ^a	Nie	Immer
V ^a	Mäßig pigmentierte Ethnien	
VI ^a	Stark pigmentierte Ethnien	

^a Nach extremer UV-Exposition ist auch bei diesen Hauttypen ein Sonnenbrand sowie eine zusätzliche Pigmentierung möglich (Plewig et al. 2012, p. 699).

1.1.3 Pathophysiologie

Durch UV-Licht werden pro-inflammatorische Mediatoren, wie Prostaglandine, Interleukin 1 (IL-1), Interleukin 6 (IL-6), Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) und Histamin, freigesetzt, wodurch es zu einer entzündlichen Reaktion der Haut mit Vasodilatation der Hautgefäße und Infiltration von neutrophilen Granulozyten sowie Lymphozyten kommt (Fritsch 2009, p. 86; McStay et al. 2018).

Neben diesen entzündlichen Prozessen wird auch die Desoxyribonukleinsäure (engl. deoxyribonucleic acid, DNA) in den Zellen der Epidermis geschädigt (Mullenders 2018). Bei ausbleibender Reparatur treten typische „UVB-fingerprint Mutationen“, die unter anderem das Tumorsuppressorgen TP53 und das Protoonkogen NRAS betreffen, auf. In epidermalen Keratinozyten und Langerhanszellen wird durch die DNA-Schädigung die Apoptose eingeleitet und die betroffenen Zellen werden eliminiert (Mohania et al. 2017). Der komplexe Apoptose-Signaltransduktionsweg wird durch pro- und anti-apoptotische Mediatoren reguliert. Bei einer chronischen UVB-Strahlung kommt es zur Aufhebung des Gleichgewichts dieser Signale, was zur Bildung von Hautmalignitäten führen kann (Van Laethem et al. 2005).

Auch UVA-Strahlen können die Zellen indirekt über die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (z. B. Superoxidradikale, Wasserstoffperoxid, Hydroxylradikale), die zytotoxisch und kanzerogen wirken, schädigen. UVA-Strahlen dringen bis in die Dermis ein und führen bei chronischer Exposition zur Veränderung des elastischen Bindegewebes und somit zur Faltenbildung (fotoaging) (Berking 2005).

Eine wiederholte und weniger intensive UV-Bestrahlung führt zur Ausbildung von Schutzmechanismen, wozu die Spätpigmentierung und die Ausbildung einer Lichtschwiele gehören. Die Pigmentierung (Bräunung) erfolgt durch eine Stimulation von Melanozyten. Bei der Sofortpigmentierung kommt es durch Oxidation nicht gefärbter Melaninvorstufen zu einer aschgrauen oder bräunlichen Pigmentierung noch während der UV-Exposition (UVA-Strahlen), die bereits nach Stunden verblasst. Bei der Spätpigmentierung tritt 24–72 Stunden nach UV-Exposition (UVA- und UVB-Strahlen) durch eine gesteigerte Melaninsynthese eine verzögerte kupfer- / kaffeebraune Pigmentierung ein, die für Tage bis Wochen bestehen bleibt. Da sich nur das durch UVB-Strahlen synthetisierte Melanin in der gesamten Epidermis verteilt, ist das UVB-Spektrum fast ausschließlich für diesen Schutz verantwortlich. Die durch UVB-induzierte Ausbildung einer Akanthose und Hyperkeratose (Lichtschwiele) schützt

nicht nur vor UV-induzierenden Schäden, sondern auch vor unspezifischen Umweltnoxen. Bei wiederholter Bestrahlung hat sie nach 2–3 Wochen ihr Maximum erreicht und bleibt über Wochen bestehen (Plewig et al. 2012, pp. 698-701). Laut Lee et al. (2002) ist die Akanthose und Hyperkeratose 24–48 Stunden nach einer UVB-Bestrahlung am stärksten ausgeprägt und nimmt nach 72 Stunden allmählich wieder ab.

1.1.4 Klinik

Klinisch imponiert beim UV-Licht-assoziierten Erythem ein hellrotes, scharf auf die lichtexponierte Körperregion begrenztes Areal (Grad 1, s. Abb. 1), das durch Überwärmung, Ödembildung und Berührungsempfindlichkeit gekennzeichnet ist. Es beginnt 4–6 Stunden nach der UV-Exposition, erreicht seinen Höhepunkt nach 12–24 Stunden und klingt nach 48–72 Stunden wieder ab. Bei stärkerer UV-Einwirkung kommt es gelegentlich zur Blasenbildung (Grad 2), sehr selten zur Nekrose (Grad 3). Daneben können Allgemeinsymptome wie Krankheitsgefühl, Kältegefühl, Fieber, Übelkeit, Erbrechen und eine Kreislaufsymptomatik bei schweren Sonnenbränden auftreten. Bei geringgradigem Sonnenbrand folgt auf die entzündliche Rötung eine Abschuppung mit anschließender Pigmentierung. Bei schweren Sonnenbränden gehen die Blasen in ein nässendes und krustöses Stadium über, bevor schließlich eine Schuppung und Abheilung einsetzt (Faurischou und Wulf 2008; Plewig et al. 2012, p. 704; Proksch et al. 2007). Als Folgeerscheinung können Pigmentverschiebungen wie Epheliden, Lentigines und Nävuszellnävi auftreten (Terhorst 2009, p. 76).



Abbildung 1: Klinisches Bild der Dermatitis solaris Grad 1 – auf die lichtexponierte, ungeschützte bzw. unbedeckte Körperregion begrenztes rotes Erythem (Proksch et al. 2007)

1.1.5 Histopathologie

Bei der Dermatitis solaris lassen sich histopathologisch geschädigte Keratinozyten darstellen. Die Schädigung ist nach 12–72 Stunden nachweisbar, ihre Ausprägung hängt von der UV-Dosis ab. Die besonders im oberen und mittleren Stratum spinosum auftretenden eosinophilen dyskeratotischen Zellen zeigen pyknotische zusammengeschrumpfte Kerne mit leer aussehendem, blassem Zytoplasma (Plewig et al. 2012, p. 704). Diese apoptotischen Keratinozyten werden als Sunburn cells (SBC) bezeichnet (s. Abb. 2). Die Apoptose wird als protektiver Mechanismus der Haut interpretiert, der geschädigte Zellen mit einem erhöhten Entartungsrisiko eliminiert (Megahed und Schaller 2006).

Zu den von Linse und Richard (1990) beschriebenen, durch UV-Licht ausgelösten epidermalen Veränderungen gehörten neben SBC, welche die Autoren in "Spiegeleizellen" der frühen exsudativen Phase (Typ I), und in "dunkle Zellen" der späten degenerativen Phase (Typ II) einteilten, auch intra- und extrazelluläre Ödeme und intraepidermale Vesikel.

Bei zunehmender Schädigung ist in der Epidermis neben einer vakuoligen Basalzell-

degeneration ein Übergang der SBC in eine großflächige Zellnekrose bis hin zur Blasenbildung zu beobachten (Megahed und Schaller 2006; Plewig et al. 2012, p. 704).

Im Korium ist eine Vasodilatation mit einem oberflächlichen, perivaskulären und interstitiellen Infiltrat von Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten nachweisbar (Megahed und Schaller 2006).

Lavker et al. (1995) wiesen dermale (z. B. Infiltration von Entzündungszellen) und epidermale Veränderungen (z. B. Hyperplasien, Verdickung des Stratum corneums) nach UV-Exposition nach.

Laut Gilchrest et al. (1983) haben UVA-Strahlen im Vergleich zu UVB-Strahlen eine relativ größere Wirkung auf die Dermis (Infiltration neutrophiler Granulozyten, perivaskuläre lymphozytäre Infiltrate, leichte Endothelzellvergrößerung, Mastzellhypogranulation, Vasodilatation, Extravasation von Erythrozyten) als auf die Epidermis (intra- und interzelluläre Ödeme, Reduktion der Langerhanszellen).

Pearse et al. (1987) fanden sowohl nach UVB- als auch nach UVA-Bestrahlung eine Zunahme der Epidermisdicke, der Dicke des Stratum corneums und der Keratinozytengröße. Der Thymidin-Markierungsindex (Maß für die Proliferation) nahm jedoch nur nach UVB-Bestrahlung zu. Da demnach nicht nur die UVB-Bestrahlung einen direkten Einfluss auf die epidermale Morphologie und den Stoffwechsel hat, sollten auch UVA-Strahlen beim UV-Schutz berücksichtigt werden.

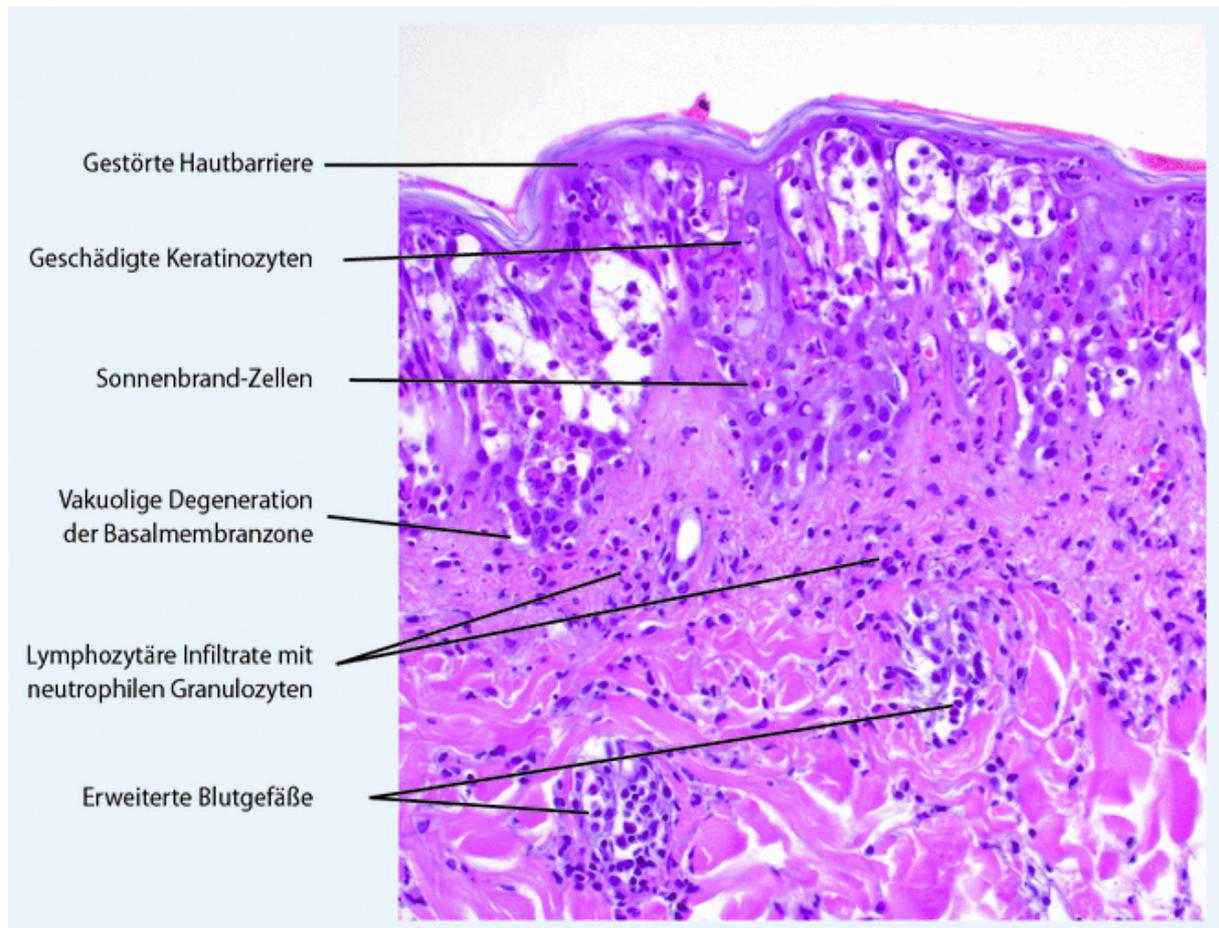


Abbildung 2: Histologie der Dermatitis solaris Grad 1–2 (Proksch et al. 2007)

1.1.6 Differentialdiagnosen

Die bedeutendste Differentialdiagnose der Dermatitis solaris ist die systemische fototoxische Reaktion. Sie gehört neben der fotoallergischen Reaktion zu den Lichtdermatosen, tritt jedoch wesentlich häufiger als diese auf. Zur Auslösung ist neben langwelliger UV-Strahlung eine fotosensibilisierende Substanz notwendig. Diese kann endogen entstehen (Porphyrine) oder iatrogen (Medikamente) zugeführt werden. Zu den Arzneimitteln, die eine systemische fototoxische Reaktion auslösen, zählen beispielsweise Tetracyclin, Ciprofloxacin, Furosemid oder Amiodaron. Strahlendosen, die normalerweise reaktionslos toleriert werden, führen bei fotochemischen Reaktionen ohne immunologische Grundlage zu einer abnormen entzündlichen Hautreaktion (Lehmann und Schwarz 2011; Plewig et al. 2012, pp. 715-716). Das UVA-Licht versetzt den Fotosensibilisator in einen „excited state“. Die Energie wird an Sauerstoffmoleküle (Peroxidbildung) oder andere benachbarte Moleküle ab-

gegeben, wobei freie Radikale entstehen, welche über Umgebungsreaktionen und Bildung toxischer Produkte die fototoxische Reaktion auslösen. Bei der fotoallergischen Reaktion entstehen dagegen antigene Determinanten, die zu einer klassischen CD-4 vermittelten Immunreaktion führen (Fritsch 2009, pp. 89-91).

Das klinische Bild der fototoxischen Reaktion ähnelt einem starken Sonnenbrand mit Erythem, Ödem und Blasen mit häufiger anschließender Pigmentierung und ist streng auf das lichtexponierte Hautareal begrenzt. Die Diagnose lässt sich durch den typischen Befund und eine ausführliche Anamnese stellen. Zusätzlich kann der Fotosensibilisator durch eine Fotoprovokation nachgewiesen werden. Neben Absetzen der auslösenden Substanz und Lichtschutz kommen lokal Glukokortikoid- und zinkhaltige Externa zum Einsatz (Lehmann und Schwarz 2011; Plewig et al. 2012, pp. 715-716).

1.1.7 Therapie

Die symptomatische Therapie der Dermatitis solaris erfolgt primär ambulant. In schweren Fällen, d. h. bei Verbrennungen zweiten Grades (Blasenbildung) mit einem Befall von > 10–15 % der Körperoberfläche bei Erwachsenen bzw. 5–10 % der Körperoberfläche bei Kindern ist eine stationäre Behandlung mit Überwachung indiziert. (Altmeyer o. J.).

Bis zur völligen Rückbildung der Symptome sollte die UV-Exposition vermieden werden. Zudem ist eine ausreichende Flüssigkeitszufuhr sicherzustellen (Dirschka et al. 2010, pp. 355-356). Bei Verbrennungen ersten Grades sollte die Haut zur Begrenzung der Entzündung und des Ausmaßes der Verbrennung sowie zur Schmerzlinde- rung mit feuchten Umschlägen gekühlt werden. Eine Kühlung mit Eis- oder Cold-Packs ist aufgrund der potenziellen Kälteschäden zu vermeiden (Proksch et al. 2007).

Eine Lokalthherapie mit zinkhaltigen Lotionen lindert den Juckreiz und wirkt kühlend (Plewig et al. 2012, p. 704). Die Wirksamkeit von lokalen Steroiden ist umstritten. Wegen der erhöhten Infektionsgefahr bei längerer Anwendung sollte eine Applikation frühzeitig über einen kurzen Zeitraum in Form von Cremes oder Lotionen erfolgen (Proksch et al. 2007). Der Therapieansatz beruht lediglich auf klinischer Erfahrung (Altmeyer o. J.). Die meisten Studien belegen nur einen geringen oder keinen Effekt

lokaler Steroide bei Verbrennungen. Bei einer Reevaluation der Wirksamkeit von Steroiden im Rahmen zweier Übersichtsartikel basierend auf unterschiedlichen Studien fehlte ebenfalls ein signifikanter Effekt (Proksch et al. 2007).

Bei ausgedehnter Bläschenbildung kann direkt nach Sonnenexposition einmalig Acetylsalicylsäure (z. B. ASS) 1000 mg und ergänzend Vitamin C (z. B. Cebion) 400–1000 mg unter Magenschutz verabreicht werden. Nicht-steroidale Antirheumatika werden aufgrund der unzureichenden Studienlage nicht mehr allgemein zur Behandlung der Dermatitis solaris empfohlen. Nur bei schweren Reaktionen mit großen Blasen und umfangreichem Erythem werden schnell ausschleichend systemische Glukokortikoide wie Prednisolon 40–60 mg/Tag per os (z. B. Decortin H) eingesetzt (Altmeyer o. J.).

1.1.8 Protektion

Zum Schutz vor UV-Strahlen kommen neben der Meidung starker Sonnenexposition, der Nutzung entsprechender Bekleidung sowie einer Kopfbedeckung und Sonnenbrille auch Sonnenschutzmittel zum Einsatz (Teichmann et al. 2006). Sonnencremes und -lotionen beinhalten unlösliche physikalische und / oder lösliche chemische Filter. Bei physikalischen Filtern (z. B. Zinkoxid, Titandioxid) wird das UV-Licht größtenteils gestreut und reflektiert. Bei chemischen Filtern wird die energiereiche Strahlung absorbiert und als energieärmere, langwelligere Strahlung wieder abgegeben. Sonnencremes mit chemischen Filtern wirken erst 30 Minuten nach der Applikation (Bundesamt für Strahlenschutz 2020).

Der Lichtschutzfaktor (LSF) gibt an, wieviel länger man sich mit Sonnenschutzmittel im Vergleich zu ohne Sonnenschutzmittel in der Sonne aufhalten kann, ohne einen Sonnenbrand zu bekommen. Der von der „Internationalen Methode zur Bestimmung des Lichtschutzfaktors“ bestimmte Wert bezieht sich auf den Schutz vor UVB-Strahlen. Hochwertige Sonnenschutzmittel sollten aber sowohl vor UVB- als auch vor UVA-Strahlen schützen. Der Schutz vor UVA-Strahlen wird separat angegeben (Bundesamt für Strahlenschutz 2020).

Sonnenschutzmittel werden nach europäischer Klassifikation entsprechend ihres LSF in vier Schutzstufen eingeteilt (niedriger Schutz LSF 6–10, mittlerer Schutz LSF 15–25, hoher Schutz LSF 30–50, sehr hoher Schutz LSF > 50) (Plewig et al. 2012, p.

722).

Laut dem Bundesamt für Strahlenschutz sollten Kinder Sonnenschutzmittel mit mindestens einem LSF 30 und Erwachsene mit einem LSF 20 auftragen. In Regionen mit starker UV-Einwirkung sollte ein hoher bis sehr hoher LSF gewählt werden (Bundesamt für Strahlenschutz 2020).

Zum Erreichen des maximalen Schutzes muss eine große Menge Sonnenschutzmittel aufgetragen werden. Um den gesamten Körper eines Erwachsenen zu schützen, sind 30–35 ml (Springer Medizin 2020) oder 2 mg/cm² nötig (Bundesamt für Strahlenschutz 2020). Ein regelmäßiges Nachcremen ist besonders nach dem Aufenthalt im Wasser notwendig, da auch bei wasserfesten Präparaten nach zweimaligem 20-minütigen Baden bis zu 50 % abgewaschen werden. Kinder müssen konsequent vor UV-Strahlen geschützt werden. Insbesondere Säuglinge und Kleinkinder bis zum Alter von 2 Jahren dürfen nicht direkt der Sonne ausgesetzt werden; ein Aufenthalt im Schatten und textiler Schutz sind unbedingt erforderlich (Bundesamt für Risikobewertung 2019; Bundesamt für Strahlenschutz 2020).

Aktuell wird über mögliche gesundheitliche Risiken und umweltschädigende Wirkungen einiger Inhaltsstoffe von Sonnenschutzmitteln diskutiert. In einer Studie der Food and Drug Administration (USA) wurden chemische UV-Filter (Oxybenzon, Octocrylen, Octinoxat, Avobenzon, Homosalat, Octisalal) nach Hautapplikation im Blut nachgewiesen. Da diese Studie jedoch keinen Beweis für eine Gesundheitsschädigung liefert, halten die Autoren einen Verzicht auf Sonnenschutzmittel nicht für gerechtfertigt (Matta et al. 2020). Laut dem Bundesamt für Risikobewertung sind nach derzeitigem wissenschaftlichen Stand gesundheitsschädliche Beeinträchtigungen bei Verwendung von in der Europäischen Union erhältlichen Sonnenschutzmitteln nicht zu erwarten (Bundesamt für Risikobewertung 2019).

Ebenso fehlen aktuell Beweise dafür, dass Inhaltsstoffe von Sonnencremes für die Schädigung von Wasserorganismen (z. B. im Rahmen des Korallensterbens) verantwortlich sind. Experten sehen eher die Erwärmung der Ozeane durch den Klimawandel als ursächlich (Bundesamt für Strahlenschutz 2020). Dennoch verbietet der Pazifikstaat Palau seit 2020 als erstes Land weltweit Sonnencremes mit bestimmten Inhaltsstoffen (z. B. Oxybenzon, Octinoxat, Octocrylen) wegen ihrer Auswirkung auf das marine Ökosystem. Die amerikanischen Jungferninseln folgten bereits diesem Vorgehen; Hawaii und Key West (Florida) werden sich 2021 anschließen (Altmeyer

und Barth 2020). Das Thema bleibt Gegenstand weiterführender wissenschaftlicher Untersuchungen.

1.2 Konfokale Lasermikroskopie

Bei histologischen Analysen wird die Gewebemorphologie lediglich *in vitro* beurteilt. Bei diesem Verfahren können bei der Probengewinnung iatrogene Gewebetraumata ausgelöst werden und bei der Aufarbeitung Artefakte entstehen (Rajadhyaksha et al. 1999b). Neuere, nicht invasive Untersuchungsmethoden, wie die optische Kohärenztomografie (OCT) (Gambichler et al. 2005a; 2005b; 2006) und die konfokale Lasermikroskopie (KLM), umgehen diese Nachteile und ermöglichen die Darstellung von histomorphologischen Strukturen *in vivo*. Mit diesen Techniken lassen sich morphologische Veränderungen in Geweben *in vivo* in Echtzeit über einen längeren Zeitraum beobachten (Rajadhyaksha et al. 1999b; Schmitz et al. 2013).

1957 wurde das Prinzip der KLM erstmals beschrieben. Als Lichtquelle diente zu der Zeit Weißlicht (Gareau et al. 2008, pp. 1-6; Winston 2016). Bis zur Entstehung eines hochauflösenden *in vivo* Mikroskops dauerte es fast vierzig Jahre. 1995 entwickelten Rajadhyaksha et al. (1995; 1999a; 1999b) an der Harvard Medical School unter Verwendung eines Lasers als Lichtquelle das erste KLM.

1.2.1 Optisches Grundprinzip und Auflösung

Das KLM ist aus einer Lichtquelle, einem Strahlteiler, einer Objektiv- und Fokussierungslinse, einer Scanoptik, einer Lochblende und einem Detektor aufgebaut (s. Abb. 3). Bei der Lichtquelle handelt es sich um einen Dioden-Laserstrahl, der in die Haut eindringt, nachdem er den Strahlteiler und die zwischengeschaltete Optik passiert hat (Calzavara et al. 2008; Gareau et al. 2008, pp. 1-6).

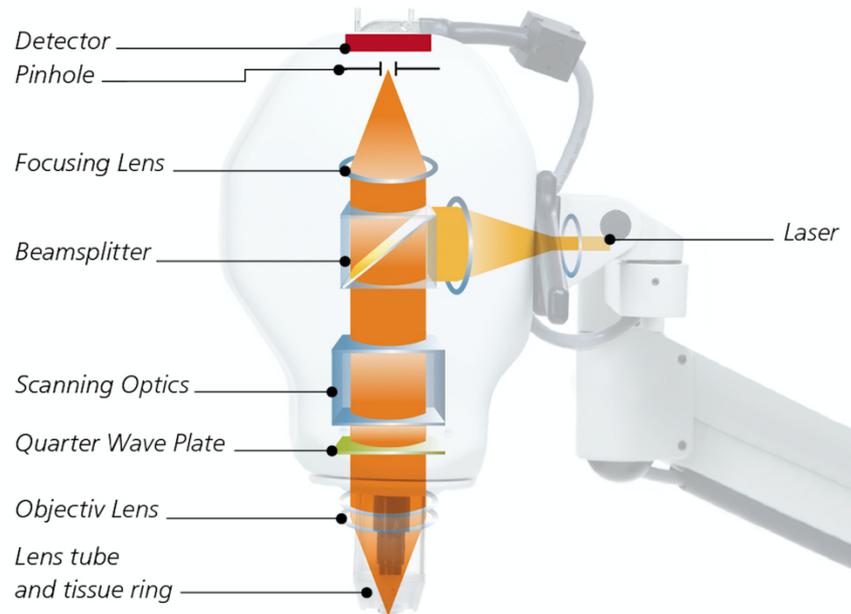


Abbildung 3: Grundprinzip eines konfokalen Lasermikroskops am Beispiel des Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung der Mavig GmbH)

In der Haut fokussiert der Laserstrahl einen kleinen Punkt in einer Gewebeebene, wobei mit Hilfe eines Rasterscanners die Ebene in horizontaler Richtung untersucht wird. Die Gewebe-, Zell- und Mikrostrukturen weisen verschiedene Brechungsindizes auf, wodurch der auftretende Lichtstrahl unterschiedlich reflektiert, gestreut oder absorbiert wird. Der reflektierte Lichtstrahl gelangt dann über die Lochblende zurück zum Detektor, wodurch Signale herausgefiltert werden, die nicht aus der fokussierten Ebene kommen. Dadurch ergibt sich die hohe Auflösung des KLM (Astner und Ulrich 2010; Hofmann-Wellenhof et al. o. J.; Welzel et al. 2017) Die vom Detektor auf den Computer geleiteten Signale werden von der integrierten Software (VivaScan®) bearbeitet, so dass aus den unterschiedlichen Reflexionsmustern zweidimensionale Bilder in unterschiedlichen Graustufen entstehen, auf welchen die verschiedenen Hautschichten und Strukturen morphologisch sichtbar sind (Calzavara-Pinton et al. 2008).

Je heller die Struktur im konfokal mikroskopischen Bild zur Darstellung kommt, desto höher ist der Brechungsindex dieses „endogenen Kontrastmittels“. Den höchsten Brechungsindex weist Melanin ($n=1,72$) auf, gefolgt von Keratin ($n=1,51$) und Kollagen ($n=1,43$). Dagegen besitzen die Epidermis ($n=1,34$) und Dermis ($n=1,41$) niedrige Brechungsindizes (Astner und Ulrich 2010; Gareau et al. 2008, pp. 1-6; Welzel et al. 2017).

Die laterale Auflösung beträgt 0,5–1 µm und liegt daher im zellulären Bereich. Die axiale Auflösung liegt bei 3–5 µm und ist vergleichbar mit der Routinehistologie, bei der die Schichtdicke typischerweise 5 µm beträgt.

Bei der konventionellen Histologie werden die Gewebeschnitte senkrecht zur Körperoberfläche angefertigt, wodurch vertikale Bilder entstehen. Bei der KLM sind die optischen Schnittbilder dagegen horizontal zur Körperoberfläche ausgerichtet, was ein Umdenken bei der Auswertung erfordert. Die maximale Eindringtiefe beträgt 300 µm, womit eine Darstellung der Epidermis bis in die obere Dermis möglich ist (Astner und Ulrich 2010; Rajadhyaksha et al. 1999b).

Der Name der KLM leitet sich aus der Anordnung der Lichtquelle, des fokussierten Punktes im Gewebe und des Blendendurchmessers des Detektors ab. Sie befinden sich in einer optisch konjugierten fokalen Ebene zueinander (Calzavara-Pinton et al. 2008).

1.2.2 Einsatz der KLM in der Dermatologie

Das KLM-Verfahren ermöglicht eine hochauflösende, horizontale Darstellung der Hautschichten bis ins obere Stratum reticulare (Sies et al. 2020; Welzel et al. 2017). Die Vorteile gegenüber der konventionellen Histologie mit vertikalen Schnittbildern sind eine Vermeidung von zeitaufwändigen Gewebepräparationen mit irreversiblen Gewebeuntergang, die Vermeidung von Artefakten bei der Probeentnahme, Einlegung und Färbung sowie die Vermeidung von iatrogenen Traumata und Narbenbildungen (Astner und Ulrich 2010; Rajadhyaksha et al. 1999b).

In den vergangenen Jahrzehnten wurde die KLM erfolgreich zur Diagnostik bei benignen, neoplastischen und entzündlichen Hauterkrankungen eingesetzt (Welzel et al. 2017). Dazu zählen Basalzellkarzinome (Nori et al. 2004), aktinische Keratosen (Ulrich et al. 2008), Morbus Bowen (Ulrich et al. 2012), Kontaktekzeme (Astner et al. 2005; 2006; Maarouf et al. 2019), Psoriasis (Ardigo et al. 2009) und Vitiligo (Ardigo et al. 2007b). Inzwischen hat sich die KLM in der dermatologischen Praxis zur Diagnostik, Verlaufsbeobachtung und Therapiekontrolle oberflächennaher Hautveränderungen etabliert.

Besonders hilfreich ist die KLM bei der Einschätzung der Dignität von melanozytären Läsionen. Laut Pellacani et al. (2014) wird durch den Einsatz der KLM die Anzahl

unnötiger Entnahmen von gutartigen Nävi reduziert und die Spezifität der Melanomdiagnostik verbessert. In einer Studie von Rueter et al. (2019) erreichte die KLM bei der Diagnostik von Basalzellkarzinomen bei immunsupprimierten Patienten nach Organtransplantation Sensitivitätsraten von 80–100 %.

Bei oberflächlichen entzündlichen Dermatosen interessieren neben den Diagnosen auch die Verläufe und Therapieeffekte (Welzel et al. 2017). Laut einer Multi-Center-Studie von Ardigo et al. (2016) ist die KLM in der Lage, die drei dermatohistopathologischen Hauptgruppen (spongiotische, psoriasiforme und Interface-Dermatitis) entzündlicher Dermatosen zu differenzieren.

Im Rahmen der Erregerdiagnostik lassen sich mit der KLM in vivo Milben (*Sarcoptes scabiei* bei Scabies oder *Demodex folliculorum* bei Rosacea) sowie Hyphen bzw. Sporen bei der Onychomykose bzw. *Tinea corporis* darstellen. Für die Visualisierung von Viren und Bakterien ist die Auflösung zu schwach. Infektionen werden indirekt über die Darstellung der Entzündungsreaktion identifiziert (Welzel et al. 2017).

Weiter kann die KLM auch ex vivo angewendet werden. Die Technik ist insbesondere für die Schnellschnittdiagnostik und Schnittrandkontrolle in der onkologischen Chirurgie interessant (Sies et al. 2020; Welzel et al. 2017). Kürzlich wurde die KLM ex vivo erfolgreich bei der Diagnosestellung des bullösen Pemphigoids eingesetzt (Bagci et al. 2019), wenn auch die klassische direkte Immunfluoreszenz eine höhere Sensitivität zeigte (Sies et al. 2020).

1.2.3 KLM-Analyse der gesunden Haut

Mithilfe der KLM lassen sich die Schichten der Haut mit ihrer Zellanordnung darstellen (Welzel et al. 2017). Bei einer Eindringtiefe von bis zu 300 µm sind alle Schichten vom Stratum corneum bis zum oberen Stratum reticulare erfassbar.

Das **Stratum corneum** besteht aus großen (10–30 µm), kernlosen, polygonalen Keratinozyten. Aufgrund der unterschiedlichen Refraktionsindices von Immersionsmedium und Stratum corneum stellt sich diese Schicht leuchtend hell dar. Die Keratinozyten haben dunkle Umrandungen und sind in Inselgruppen angeordnet. Die Gruppen werden durch dunkle Falten separiert, die der Hautfalterung entsprechen. Im tieferliegenden **Stratum granulosum** und **Stratum spinosum** sind die polygonalen Zellen kleiner (10–25 µm) und weisen dunkle Zellkerne und leuchtendes Zyto-

plasma auf. In den Zellen des Stratum granulosum treten zusätzlich helle Granula im Zytoplasma auf. Durch die regelmäßige Anordnung der Zellen entsteht eine honigwabenartige Struktur.

In dem darunterliegenden **Stratum basale** sind die Basalzellen lediglich 10–20 µm groß. Ihre Helligkeit ist abhängig vom Melaningehalt, d. h. vom Hauttyp (s. Tab. 1) und vom Bräunungszustand der Haut. Durch die Darstellung pigmentierter basaler Keratinozyten auf den Papillenspitzen zeigt sich ein pflastersteinartiges Muster.

An der **dermoepidermalen Junktionszone** bilden die Basalzellen leuchtende Ringe um die dunklen dermalen Papillen. In ihrem Zentrum befinden sich kleine Hohlräume, in denen sich bewegende refraktile Zellen erkennen lassen. Diese Strukturen entsprechen den Kapillargefäßen und dem in vivo Blutfluss. Die Blutgefäße sind im darunterliegenden **Stratum papillare** und **Stratum reticulare** von Kollagenbündeln umgeben, die ein netzartiges Geflecht bilden.

Mit der KLM können auch Hautanhangsgebilde (z. B. Ausführungsgänge ekkriner Drüsen, Talgdrüsen, Haarfollikel) abgebildet werden. Die spiralartigen Ausführungsgänge ekkriner Drüsen schlängeln sich hell durch die Epidermis und Dermis, die Talgdrüsen erscheinen spulenartig mit einem hellen zentralen Haar.

Die mit der KLM dargestellten Merkmale können stark variieren und hängen vom Alter, vom Geschlecht und von der Ethnie des Individuums sowie von der Lokalisation des Areals ab. Die Struktur der Haut verändert sich nach UV-Exposition (Calzavara-Pinton et al. 2008; Nehal et al. 2008). Melanin wirkt als Kontrastmittel, so dass das Zytoplasma von stark pigmentierten Zellen hell erscheint (Middelkamp-Hup et al. 2006; Rajadhyaksha et al. 1995).

1.2.4 KLM-Analyse der akut sonnengeschädigten Haut

Gambichler et al. (2006) wiesen mittels KLM und OCT nach einer Bestrahlung mit der MED bzw. dreifachen MED eine Zunahme der Epidermisdicke, eine Zunahme der Pigmentation der Basalzellschicht (Zunahme der Helligkeit des Stratum basale rund um die dermalen Papillen), eine Zunahme des Gefäßdurchmessers (Vasodilatation) in den dermalen Papillen und eine Abnahme der dermalen Reflexivität (dermales Ödem) nach. Die Veränderungen waren bis zu 72 Stunden nach der UV-Exposition nachweisbar. Die Dickenzunahme der Epidermis (Abstand zwischen der

Hautoberfläche und der oberen Grenze der dermalen Papillen) um 20–50 % beruhte hauptsächlich auf einer Dickenzunahme des Stratum corneum (Abstand von der Hautoberfläche bis zum ersten erkennbaren Kern im Stratum granulosum), aber auch auf einer Verdickung des Stratum spinosum durch eine Akanthose .

Zu den mittels KLM detektierten histomorphologischen Veränderungen der Epidermis von Probanden, die in Solarien innerhalb von drei Wochen sechsmal mit UVA bestrahlt wurden, zählten eine Zunahme der Dicke des Stratum corneums und der minimalen Epidermisdicke, eine Zunahme des Melanisierungsindex und eine Abnahme der Größe der Zellen im Stratum granulosum (Gambichler et al. 2004b).

Da eine UV-Exposition (Dermatitis solaris) vornehmlich tiefere Schichten der Epidermis und thermische Hitze eher höhere Schichten der Epidermis beeinflusst, manifestieren sich die resultierenden Verbrennungen ersten Grades in der KLM verschieden. Bei der Dermatitis solaris nimmt die Dicke des Stratum corneums zu, bei der thermischen Schädigung dagegen ab. Die Dickenzunahme des Stratum basale ist bei der Dermatitis solaris größer als bei der thermischen Schädigung. Die Größenzunahme der Körnerzellen des Stratum granulosum sind dagegen bei der thermischen Verbrennung stärker ausgeprägt (Altintas et al. 2009).

1.3 Zielsetzung

Durch UV-Licht induzierte Veränderungen der Haut wurden bereits in vorangegangenen Studien mittels KLM untersucht (Gambichler et al. 2004a; 2004b; 2006). Das Ziel der vorliegenden Dissertation ist die KLM-basierte Analyse von durch UV-Licht ausgelösten morphologischen Veränderungen im Halbseitenvergleich. Dazu werden die Befunde von ungeschützter (linker Unterarm) und mittels hochpotenter UV-Filter geschützter Haut (rechter Unterarm) nach UV-Exposition über einen Zeitraum von 72 Stunden verglichen. Zur Analyse der Effektivität der Sonnencreme auf zellulärer Ebene sollen die Entwicklung interzellulärer Ödeme (Spongiose), die Aufhebung der Organisation der Zellverbände (Verlust der Honigwabenstruktur) und die Veränderung der Blutgefäße (Vasodilatation) beurteilt werden.

Der Fokus soll aber auf bislang noch nicht untersuchten Aspekten, wie dem Nachweis von apoptotischen Zellen (SBC) und Mikrovesikeln liegen. Ergänzend sollen die durch die KLM dargestellten Veränderungen durch eine Hautbiopsie validiert werden.

2 Material und Methodik

2.1 Studienteilnehmer und Studienprotokoll

In die vorliegende klinische Studie wurden zehn Studienteilnehmer eingeschlossen. Bei den Teilnehmern handelte es sich um Studenten und Angestellte der Universitätsklinik Charité Berlin, wobei die Rekrutierung durch direktes mündliches Ansprechen erfolgte. Acht der Probanden waren weiblich und zwei männlich. Zum Zeitpunkt der Untersuchung lag das Alter der Studienteilnehmer zwischen 24 und 34 Jahren (Durchschnittsalter 28,5 Jahre). Die Testpersonen wiesen einen Hauttyp zwischen II und IV auf (s. Tab. 1). Die Teilnahme an der Studie war freiwillig.

Vor der Durchführung wurden den Teilnehmern der Ablauf sowie der Anlass der Studie erklärt. Zusätzlich wurde vor Beginn der Untersuchung sichergestellt, dass im Testareal keine UV-Exposition innerhalb der letzten zwei Monate stattgefunden hatte und dass in der Eigen- bzw. Familienanamnese der Probanden kein Hautkrebs vorlag. Weitere Ausschlusskriterien waren eine Fotosensibilität, die Einnahme von fotosensibilisierenden Medikamenten, ein Alter unter 18 Jahren, eine Schwangerschaft oder eine geistige Behinderung.

Die klinische Untersuchung wurde nach den ethischen Grundsätzen der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Eine Genehmigung der Ethikkommission der Charité Berlin für medizinische Forschung am Menschen lag vor (Ethikantrag Nummer EA 1/020/09).

Die Ergebnisse von fünf Probanden des vorliegenden Kollektivs wurden veröffentlicht (Ulrich et al. 2009). Bei den Autoren ist die Autorin der vorliegenden Arbeit als C. Rüter geführt. Die aus der Arbeit übernommenen Abbildungen werden im Folgenden gekennzeichnet.

2.2 UV-Bestrahlungsgerät – Saalman-Multitester

Die UV-Exposition der Haut erfolgte mithilfe eines Saalman-Multitesters (Saalman GmbH, Herford, Deutschland). Mit diesem Gerät können Fotopatch-Tests durchgeführt und Lichttreppen erstellt werden. Der Saalman-Multitester verfügt über einen getrennt einstellbaren UVA- und UVB-Bereich mit einem UVA/UVB-Lichttreppenvorsatz. Dieser besteht aus je fünf Testfeldern mit einem Durchmesser von je 15 mm (s. Abb. 4). Die fest integrierte Energieabstufung für die Testareale beträgt 85 %, 70 %, 55 % und 40 % der eingestellten Ausgangsdosis. Für die Energieabstufung gibt es Dosistabellen, wobei die Empfehlungen je nach Hauttyp variieren können. Als Eingabedosis wird vom Hersteller ein Mittelwert von 100 mJ/cm² empfohlen. Über die Steuerung wird die Belichtungszeit ermittelt. Im Folgenden ist die für die vorliegende Arbeit relevante UVB-Lichttreppe in verkürzter Form aufgeführt (s. Tab. 2).

Tabelle 2: Lichttreppe im UVB-Bereich

(Übernommen und gekürzt aus Saalman-Multitester SBC LT 400, Gebrauchsanweisung und Technische Beschreibung (Multi 99.doc, REV 01, Stand 14.06.1999))

Eingabedosis	Dosis	Dosis	Dosis	Dosis
Areal 1	Areal 2	Areal 3	Areal 4	Areal 5
[mJ/cm ²]				
90	77	63	50	36
100	85	70	55	40
110	94	77	61	44
120	102	84	66	48
130	111	91	72	52
140	119	98	77	56
150	128	105	83	60
160	136	112	88	64
170	145	119	94	68
180	153	126	99	72
190	162	133	105	76
200	170	140	110	80
210	179	147	116	84
220	187	154	121	88
230	196	161	127	92
240	204	168	132	96
250	213	175	138	100



Abbildung 4: Saalman-Multitester (mit freundlicher Genehmigung Saalman® medical GmbH & Co. KG)

2.3 Durchführung der Bestrahlung

Die Bestrahlung mittels des Saalman Multitesters (Saalman GmbH, Herford, Deutschland) erfolgte in der Fototherapieabteilung der Charité Berlin. Alle Studienteilnehmer wurden einmalig mit UVB-Licht nach einem definierten Protokoll zu Beginn der Studie bestrahlt. Die UVB-Bestrahlung wurde in Form einer Lichttreppe mit ansteigender Dosierung (96, 132, 168, 204, 240 mJ/cm²) durchgeführt, worüber dann die MED bestimmt wurde.

Als Testareal dienten die ventralen Unterarme, da diese in der Regel dem UV-Licht kaum ausgesetzt sind (s. Abb. 5). Darüber hinaus war in diesem Bereich die Bestrahlung, die Untersuchung und die Beurteilung einfach durchzuführen. Der linke ventrale Unterarm wurde ungeschützt und der rechte unter Sonnenschutz bestrahlt. Dazu wurde eine kommerziell erhältliche, liposomale Sonnencreme mit einem hohen Lichtschutzfaktor (LSF) und Pumpsystem verwendet (Daylong actinica, Filter: Tinosorb S und Tinosorb M; Spring Ltd., Egerkingen, Schweiz). Auf den rechten Unterarm wurden 30 Minuten vor der Bestrahlung zwei Hübe entsprechend einer Menge von 2 mg/cm² aufgetragen.



Abbildung 5: Durchführung der UV-Exposition mit dem Saalman-Multitester (mit freundlicher Genehmigung Saalman® medical GmbH & Co. KG)

2.4 Klinische Evaluation

Die klinische Beurteilung erfolgte 24, 48 und 72 Stunden nach der UVB-Bestrahlung. Dabei wurden die Daten der ungeschützten und der mittels Sonnencreme geschützten ventralen Unterarme verglichen.

Erytheme

Die durch die UVB-Bestrahlung entstandenen Erytheme wurden folgendermaßen klassifiziert:

- A = kein Erythem
- B = gerade erkennbares, ungleichmäßiges Erythem
- C = flächiges, gleichmäßiges, helles Erythem
- D = deutliches Erythem ohne Ödem
- E = feuerrotes Erythem mit Ödem und Schmerzhaftigkeit
- F = violett rotes Erythem mit starkem Ödem und starker Schmerzhaftigkeit, eventuell Blasenbildung

Bestimmung der Minimalen Erythemdosis (MED) und der maximalen UV-Dosis

Die MED ist die kumulative UV-Dosis, bei der erstmals ein Erythem auftritt (Sanclemente et al. 2008). Nach Durchführung der Lichttreppe, bei der fünf Testfelder mit UV-B-Licht in aufsteigender Dosierung (96, 132, 168, 204, 240 mJ/cm²) bestrahlt wurden, wurden die potenziell entstandenen Erytheme nach 24 Stunden beurteilt. Dabei wurde bestimmt, bei welcher Bestrahlungsdosis erstmals ein Erythem auftrat. Diese entsprach der individuellen MED des Studienteilnehmers. In der vorliegenden Studie lagen die MED entweder bei 168 oder bei 204 mJ/cm². Der nächsthöhere ablesbare Wert wurde als individuelle maximale UV-Dosis festgelegt und lag bei 204 oder 240 mJ/cm².

Bestimmung des Hauttyps

Der Hauttyp der Probanden wurde durch die Promovendin bestimmt (s. Tab. 1). Berücksichtigt wurden die Hautfarbe und das Vorkommen oder Fehlen von Sommersprossen, die Haarfarbe, die Augenfarbe, die anamnestische Reaktion auf eine Sonnenbestrahlung, d. h. die Wahrscheinlichkeit des Auftretens oder Nichtauftretens eines Sonnenbrandes bzw. einer Bräunung, und die anamnestische Eigenschutzzeit, d. h. die benötigte Zeit bis zum Auftreten eines Erythems bei ungeschützter Haut.

2.5 Evaluation durch konfokale Lasermikroskopie

Gerätecharakteristika des Vivascope 1500

Für die in vivo Untersuchung der Haut wurde ein kommerziell erhältliches KLM-System (Vivascope 1500; Mavig GmbH, München, Lucid-Tech Inc., Henrietta, NY, USA) verwendet (s. Abb. 6). Das KLM (VivaScope®) besteht aus einem Gerätewagen mit PC (Monitor und Tastatur), einer digitalen Makrokamera (VivaCam®) und einem 830 nm Diodenlaser, der an einem Schwenkarm angebracht ist. Er verfügt über ein 30 x-Wasserimmersions-Objektiv und eine numerische Apertur von 0,9. (Gareau et al. 2008, pp. 1-6; Mavig GmbH 2020). Die Laserenergie ist kleiner als 30 mW und damit ungefährlich für das Auge und das zu untersuchende Gewebe (Laserklasse I) (Welzel et al. 2017).



Abbildung 6: Konfokales Lasermikroskop – Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung der Mavig GmbH)

Vorbereitung für die Aufnahmen

Für die Untersuchung wurde ein Edelstahl-Gewebering mit einem zuvor befestigten transparenten Fenster auf die Haut geklebt (s. Abb. 7A). Vorher wurde auf die Haut ein Tropfen Immersionsöl aufgebracht, um die Oberflächenreflexion zu minimieren. Da die Refraktionsindices von Öl ($n=1,50$), Stratum corneum ($n=1,55$) und transparentem Fensterglas ($n=1,52$) annähernd gleich sind, wurde so eine vorzeitige Brechung des Lichts vermieden. Anschließend wurde mit einer digitalen Makrokamera (VivaCam®), die auf dem Edelstahlring positioniert wurde, ein dermatoskopisches Bild der Hautoberfläche mit einer Größe von 10 x 10 mm und 5 Megapixeln angefertigt (s. Abb. 7B). Diese Aufnahme diente der Orientierung zur Lokalisation der konfokalmikroskopisch untersuchten Areale. Nach Entfernung der Kamera wurde auf das Klebefenster ein wasserbasiertes Ultraschallgel ($n=1,35$) aufgebracht (s. Abb. 7C). Der Brechungsindex des Gels ähnelt dem der Epidermis ($n=1,34$), wodurch eine Darstellung durch die Epidermis bis in die Dermis möglich wurde. Danach wurde das Gehäuse des Objektivs auf dem Gewebering magnetisch fest fixiert, wodurch bewe-

gungsbedingte Artefakte minimiert werden sollten (s. Abb. 7D) (Gareau et al. 2008, pp. 1–6; Hofmann-Wellenhof et al. o. J.; Mavig GmbH 2020).

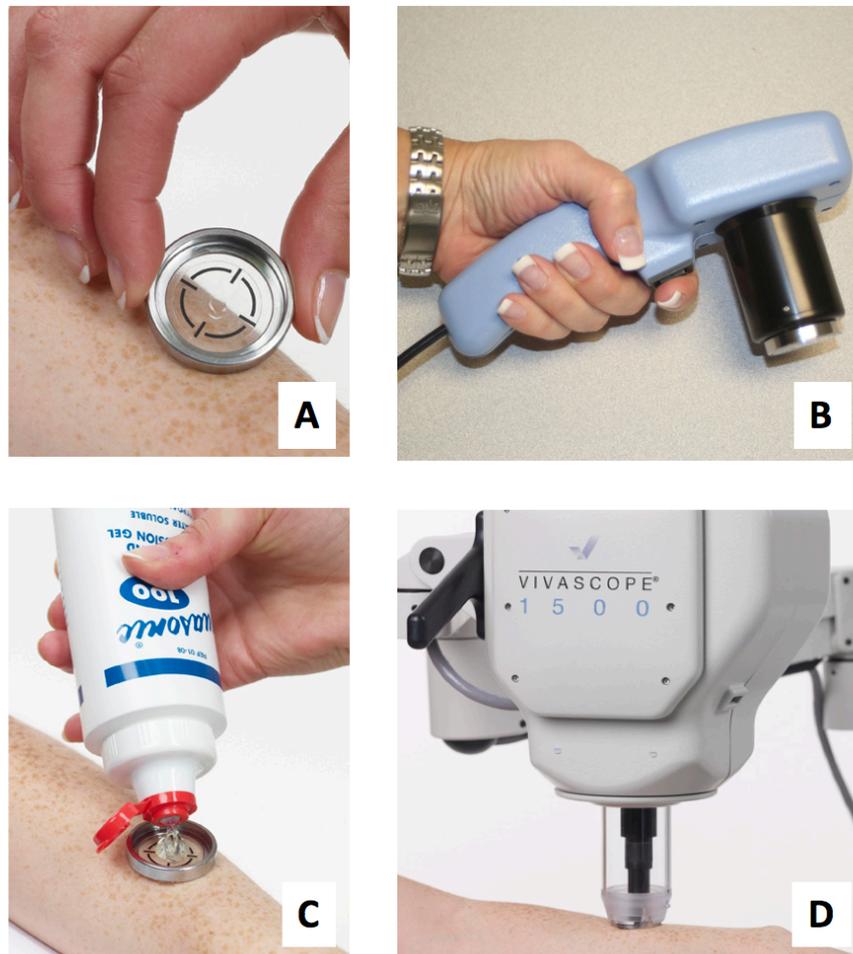


Abbildung 7: Vorbereitung der Aufnahmen mit dem Vivascope 1500 (mit freundlicher Genehmigung der Mavig GmbH)

A: Positionierung des Edelstahl-Geweberings, B: VivaCam® zur Anfertigung einer Übersichtsaufnahme, C: Applikation des Ultraschallgels, D: Positionierung des Vivascope 1500 auf dem Gewebering

Aufnahmemodalitäten des Gerätes

Bei der Aufnahme kann zwischen verschiedenen Modalitäten gewählt werden. In einer gewählten horizontalen Ebene (Epidermis, dermoepidermale Junctionszone oder obere Dermis) ist es möglich, ein Einzelbild von einer Größe von $500 \times 500 \mu\text{m}$ zu erstellen. Die Aufnahme von 16×16 Einzelbildern in dieser Ebene (x-y-Richtung) mit einer maximalen Ausdehnung von $8 \times 8 \text{ mm}$ wird als VivaBlock® bezeichnet. Dieser hat eine Auflösung von $2 \text{ Pixel}/\mu\text{m}$. Bei der Erstellung eines VivaStacks® werden Aufnahmen in vertikaler Ebene (z-Richtung) durchgeführt, wodurch eine „optische Stanzbiopsie“ entsteht. Durch die Kombination der VivaBlock®- und VivaStack®-Aufnahme (x-y-z-Richtung) entsteht ein VivaCube® mit einer 3D-

Darstellung eines bestimmten Areals. Zudem ist es möglich, Videosequenzen aufzunehmen und dadurch sich bewegende Blutzellen bzw. den Blutfluss darzustellen. Der ganze Aufnahmevorgang dauert ungefähr 10 Minuten (Hofmann-Wellenhof et al. o. J.; Mavig GmbH 2020; Welzel et al. 2017).

Mit der integrierten VivaScan® Software werden die Patientendaten und Aufnahmen gespeichert, bearbeitet und dargestellt. Mit dem „Electronic Zoom“ können Aufnahmen um das 1,7-fache vergrößert werden, mit dem „Automatic Image Control“ wird die Bildintensität automatisch angepasst und mit dem „Video Capture Software Modul“ können Videoaufnahmen erstellt werden (Mavig GmbH 2020).

Aufnahmen und Dokumentation der Schichten der Epidermis und Dermis

Die Bilder wurden systematisch aufgenommen und dokumentiert. Die Auswertung erfolgte durch die Promovendin in Zusammenarbeit mit einem Dermatologen, der über weitreichende Erfahrungen mit der KLM verfügte.

Dabei wurde mit der Darstellung der obersten Schicht der Epidermis, d. h. mit dem Stratum corneum, begonnen. Danach wurden Bilder des Stratum granulosum, des Stratum spinosum und der dermoepidermalen Junctionszone angefertigt. Zuletzt wurde die retikuläre Dermis dargestellt. Für jede Schicht wurden drei horizontale (XY)-Karten (VivaBlock®) angelegt (Übersichtskarte: 4 mm x 4 mm). Zusätzlich wurden pro Schicht vier bis sechs Bilder mit einer Ausschnittgröße von 500 x 500 µm aufgenommen. Die Aufnahmen erfolgten vor der UVB-Bestrahlung (Zeitpunkt 1) sowie 24 (Zeitpunkt 2), 48 (Zeitpunkt 3) und 72 Stunden (Zeitpunkt 4) nach der Bestrahlung. Untersucht wurde die Haut des ungeschützten und des mittels Sonnencreme geschützten ventralen Unterarms.

Der Vergleich bzw. die Auswertung des Bildmaterials erfolgte verblindet nach einem standardisierten Protokoll. Die Verblindung betraf den Namen, das Alter, das Geschlecht und den Hauttyp der Probanden. Die Bilder wurden retrospektiv morphologisch-deskriptiv evaluiert.

Folgende Parameter wurden auf den KLM-Aufnahmen untersucht:

- Auftreten einer Spongiose (interzelluläres Ödem)
- Auftreten von SBC
- Auftreten von Mikrovesikel
- Verlust der Honigwabenstruktur
- Auftreten einer Vasodilatation

Die Bewertung der Parameter erfolgte nach folgendem Schema:

- - nicht vorhanden
- (-) nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung
- + vorhanden/ schwach ausgeprägt
- ++ vorhanden / mäßig ausgeprägt
- +++ vorhanden / stark ausgeprägt
- k. A. keine Angabe

2.6 Hautbiopsie und Routinehistologie

Zur Validierung wurden die Ergebnisse der KLM mit nachweisbaren morphologischen Veränderungen einer Routinehistologie abgeglichen. Hierfür wurde zum Zeitpunkt 3 (48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung) von einem Studienteilnehmer eine 4 mm Stanzbiopsie vom linken ventralen Unterarm entnommen. Die entsprechende Hautstelle wurde zunächst desinfiziert und mit Lokalanästhesie betäubt. Die Aufarbeitung und Auswertung des entnommenen Probematerials erfolgte in der Abteilung für Dermatohistologie der Charité Universitätsmedizin Berlin. Hier wurde das Biopsat zunächst mit Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Dann erfolgte der Zuschnitt in vertikale 3 µm dicke Scheiben und anschließend eine Färbung mittels Hämatoxylin-Eosin. Die Beurteilung unter dem Lichtmikroskop erfolgte durch einen erfahrenen Dermatohistologen.

3 Ergebnisse

Zu den Zeitpunkten 1–3 konnten die Daten aller Probanden (n = 10) ausgewertet werden. Die Daten zum Zeitpunkt 4 beziehen sich auf neun Probanden, da ein Proband den Untersuchungszeitpunkt nicht wahrnehmen konnte.

3.1 Klinische Auswertung

Zunächst wurde die Erythementwicklung der Probanden am rechten ventralen sonengeschützten Unterarm nach 24, 48 und 72 Stunden beurteilt. Nach der Bestrahlung mit der individuell unterschiedlichen maximalen Dosis von 204 oder 240 mJ/cm² zeigte sich bei keinem Probanden zu keinem Zeitpunkt ein Erythem (s. Tab. 3). Auf die Beurteilung und Dokumentation der Befunde des rechten Unterarms nach der Bestrahlung mit der MED wurde daher verzichtet.

Tabelle 3: Klinische Evaluation des Erythems am rechten geschützten ventralen Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach UV-Bestrahlung mit einer maximalen Dosis von 204 oder 240 mJ/cm²

Studien- teilnehmer	Hauttyp	UV-B Dosis in mJ/cm ²	Ablesung nach 24 h	Ablesung nach 48 h	Ablesung nach 72 h
1	II	240	A	A	A
2	III	240	A	A	A
3	III	240	A	A	A
4	III	240	A	A	A
5	III	240	A	A	A
6	II	204	A	A	A
7	II	204	A	A	A
8	IV	240	A	A	A
9	II	204	A	A	A
10	III	204	A	A	k. A.

Legende: A = kein Erythem; B = gerade erkennbares, ungleichmäßiges Erythem; C= flächiges, gleichmäßiges, helles Erythem; D= deutliches Erythem ohne Ödem; E= feuerrotes Erythem mit Ödem und Schmerzhaftigkeit; F= violett rotes Erythem mit starkem Ödem und starker Schmerzhaftigkeit, eventuell Blasenbildung; k.A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

Anschließend wurde die Erythmentwicklung des linken ungeschützten ventrale Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der MED bewertet. Dabei zeigten die Probanden individuell unterschiedliche Reaktionen (s. Tab. 4). Die meisten Probanden entwickelten 24 Stunden nach der Bestrahlung mit der MED ein gerade erkennbares, ungleichmäßiges Erythem, das im Zeitverlauf abheilte oder persistierte. Bei einem Studienteilnehmer wurde das Erythem im Untersuchungsverlauf jedoch stärker. Nach 48 und 72 Stunden war ein feuerrotes, schmerzhaftes Erythem mit Ödem nachweisbar.

Tabelle 4: Klinische Evaluation des Erythems am linken ungeschützten ventralen Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach UV-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED)

Studien- teilnehmer	Hauttyp	UVB-Dosis in mJ/cm ²	Ablesung nach 24 h	Ablesung nach 48 h	Ablesung nach 72 h
1	II	204	C	E	E
2	III	204	C	B	B
3	III	204	B	B	A
4	III	204	B	B	A
5	III	204	B	B	B
6	II	168	B	B	B
7	II	168	B	B	A
8	IV	204	B	A	A
9	II	168	C	C	C
10	III	168	C	C	k. A.

Legende: A = kein Erythem; B = gerade erkennbares, ungleichmäßiges Erythem; C= flächiges, gleichmäßiges, helles Erythem; D= deutliches Erythem ohne Ödem; E= feuerrotes Erythem mit Ödem und Schmerzhaftigkeit; F= violett rotes Erythem mit starkem Ödem und starker Schmerzhaftigkeit, eventuell Blasenbildung; k. A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

Nach der Bestrahlung mit der individuell unterschiedlichen maximalen UV-Dosis von 204 oder 240 mJ/cm² zeigte sich 24 Stunden nach der Bestrahlung bei den meisten Probanden ein etwas stärkeres flächiges, gleichmäßiges, helles Erythem, das sich im weiteren Untersuchungsverlauf zurückbildete (s. Tab. 5). Auch hier entwickelte sich das Erythem eines Studienteilnehmers gegenläufig (siehe unten).

Tabelle 5: Klinische Evaluation des Erythems am linken ungeschützten ventralen Unterarm 24, 48 und 72 Stunden nach UV-Bestrahlung mit einer maximalen Dosis von 204 oder 240 mJ/cm²

Studien- teilnehmer	Hauttyp	UVB-Dosis in mJ/cm ²	Ablesung nach 24 h	Ablesung nach 48 h	Ablesung nach 72 h
1	II	240	D	E	E
2	III	240	C	C	C
3	III	240	C	B	B
4	III	240	C	B	B
5	III	240	C	B	B
6	II	204	C	B	B
7	II	204	B	B	B
8	IV	240	B	B	A
9	II	204	D	D	C
10	III	204	C	C	k. A.

Legende: A = kein Erythem; B = gerade erkennbares, ungleichmäßiges Erythem; C= flächiges, gleichmäßiges, helles Erythem; D= deutliches Erythem ohne Ödem; E= feuerrotes Erythem mit Ödem und Schmerzhaftigkeit; F= violett rotes Erythem mit starkem Ödem und starker Schmerzhaftigkeit, eventuell Blasenbildung; k. A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

3.2 Konfokale Lasermikroskopie (KLM) – unbehandelte Haut

Die Epidermis zeigte in den KLM-Aufnahmen eine gleichmäßige Struktur (s. Abb. 8–10). Charakteristisch waren epidermale Inseln, die durch dunkle Falten separiert wurden. Diese Falten entsprachen den Hautfalten. Die Keratinozyten waren regelmäßig angeordnet, wodurch sich die typische honigwabenartige Struktur ergab.

Intrazellulär zeigten Keratinozyten ein dunkles Zentrum, das dem Zellkern entsprach. Das umgebende Zytoplasma war deutlich heller gefärbt. Die Zellen variierten in Abhängigkeit von der Schicht in ihrer Größe. Im Stratum corneum waren die Zellen mit 10–30 µm am größten (s. Abb. 8). In dem darunterliegenden Stratum granulosum hatten die Keratinozyten eine Größe von 20–25 µm (s. Abb. 9). Im Stratum spinosum betrug der Durchmesser der Zellen 15–25 µm (s. Abb. 10).

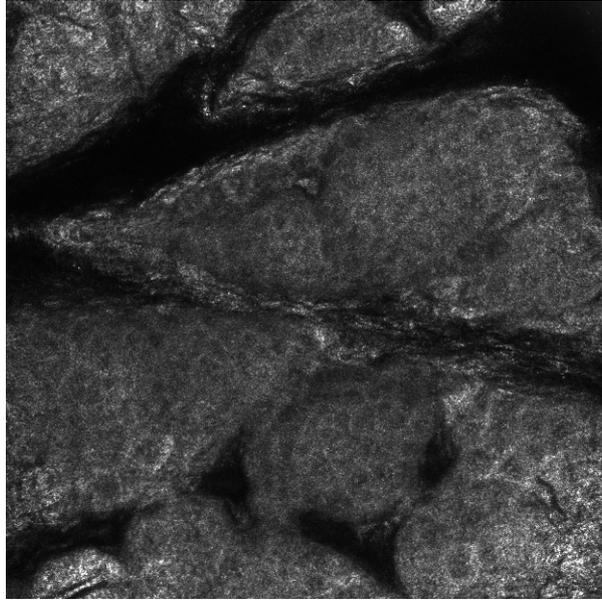


Abbildung 8: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – Stratum corneum (Ulrich et al. 2009)
Charakteristisch für das Stratum corneum sind große, gleichmäßig angeordnete, kernlose, polygonale Zellen.

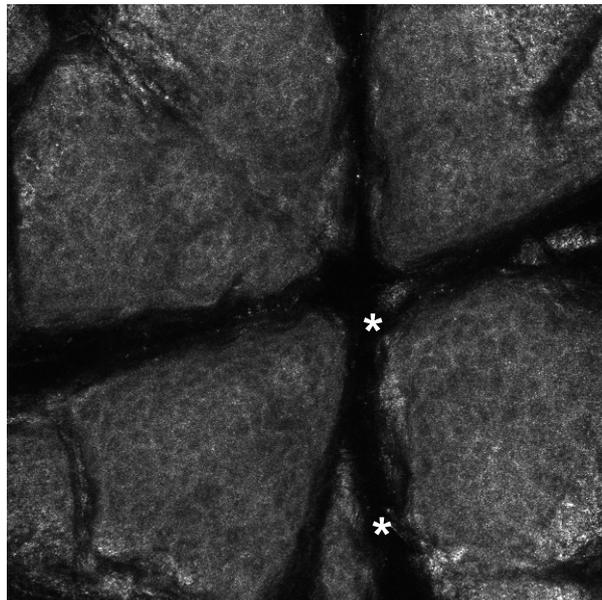


Abbildung 9: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – Stratum granulosum (Ulrich et al. 2009)
Charakteristisch für das Stratum granulosum sind regelmäßig angeordnete, polygonale Zellen (Honigwabenmuster). Der Zellkerne sind dunkel gefärbt, das Zytoplasma leuchtend mit hellen Granula. Bei den dunklen Arealen handelt es sich um Hautfalten (*).

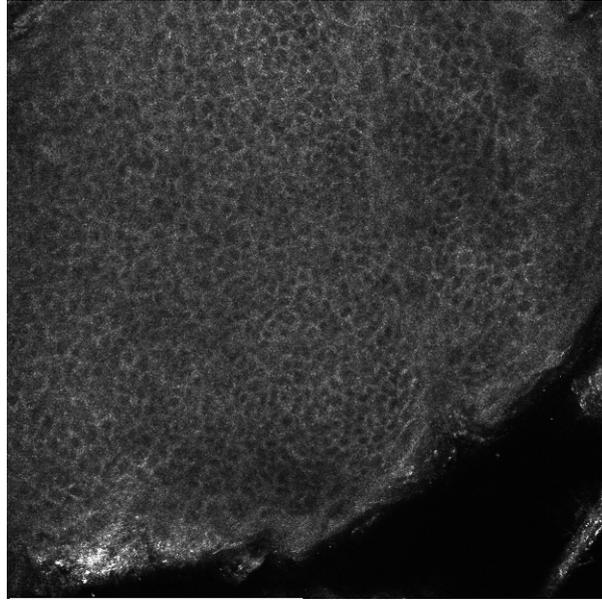


Abbildung 10: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – Stratum spinosum (Ulrich et al. 2009)
Charakteristisch für das Stratum spinosum sind kleine, regelmäßig angeordnete, polygonale Zellen (Honigwabenmuster) mit dunklen Zellkernen und leuchtendem Zytoplasma.

An der dermoepidermalen Junktionszone lag ein Muster aus Ringstrukturen (s. Abb. 11). Das Stratum basale leuchtete durch die dort lokalisierten pigmentbeladenen Basalzellen und Melanozyten hell. Die Zellen bildeten leuchtende Ringe um die dunklen dermalen Papillen (s. Abb. 11, rote Kreise). Im Zentrum der Papillen waren Hohlräume erkennbar, die als Kapillaren identifiziert wurden. Im Lumen der Gefäße waren die Erythrozyten als kleine leuchtende und bewegliche Zellen sichtbar.

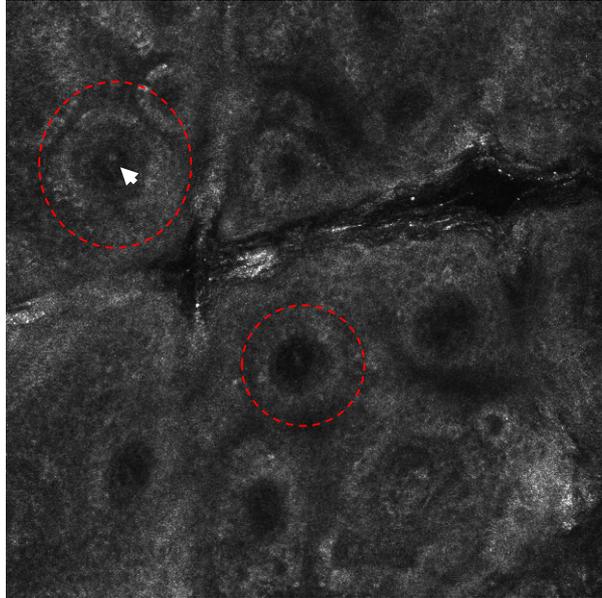


Abbildung 11: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des linken Unterarms vor der Bestrahlung mit UVB – dermoepidermale Junctionszone (Ulrich et al. 2009)

Dermoepidermale Junctionszone mit dunklen dermalen Papillen, die von Basalzellen in Form von leuchtenden Ringen umrandet werden (runde leuchtende Strukturen mit dunklem Zentrum; roter Kreis). Im Zentrum der dermalen Papillen sind kleine Hohlräume erkennbar, wobei es sich um Kapillargefäße mit Erythrozyten handelt (weißer Pfeil).

3.3 Konfokale Lasermikroskopie (KLM) – ungeschützte Haut

Bei den Studienteilnehmern wurden die beiden Hautareale am linken ventralen Unterarm untersucht, die entweder mit der MED oder mit der maximalen Dosis von 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm² bestrahlt wurden.

3.3.1 Spongiose

24 Stunden nach der Bestrahlung mit der MED war im Testareal auf epidermaler Ebene bei neun Studienteilnehmern eine Verbreiterung des hellen Interzellularraums zu beobachten. Hierbei handelt es sich um eine Spongiose. Abbildung 12 und 13 zeigen die Spongiose im Stratum granulosum und Stratum spinosum. Nach 48 Stunden war das interzelluläre Ödem noch bei sieben Studienteilnehmern nachweisbar und nach 72 Stunden bei fünf von neun Studienteilnehmern. Bei zwei der Studienteilnehmer nahm die Spongiose im Verlauf zu (s. Tab. 6).

Nach der Bestrahlung mit der höheren Dosis von 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm² zeigte sich nach 24 Stunden bei acht Studienteilnehmern eine Spongiose. Nach 48 Stunden war dieses Phänomen bei neun Studienteilnehmern nachweisbar und nach 72 Stunden bei sechs von neun Studienteilnehmern. Bei einem Studienteilnehmer trat eine Spongiose nach 72 Stunden erstmals auf.

Tabelle 6: Auftreten einer Spongiose am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis

Spongiose										
Zeitpunkt	Proband									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
minimale Erythemdosis (MED)										
24 h	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
48 h	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
72 h	++	++	-	+	+	+	-	-	-	k. A.
maximale Dosis 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm²										
24 h	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
48 h	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
72 h	+	+	-	+	+	+	+	-	-	k. A.

Legende: - = nicht vorhanden; (-) = nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung; + = vorhanden / schwach ausgeprägt; ++ = vorhanden / mäßig ausgeprägt; +++ = vorhanden / stark ausgeprägt; k. A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

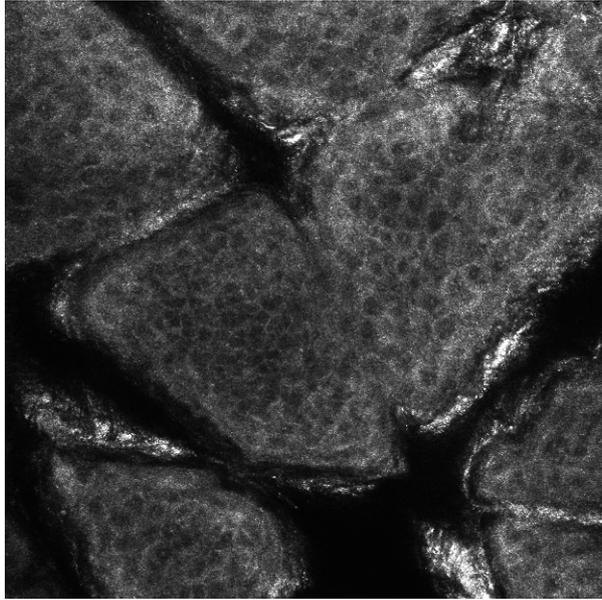


Abbildung 12: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Spongiose im Stratum granulosum (Ulrich et al. 2009)

Die Spongiose ist an der Erweiterung und Hervorhebung des Interzellularraums erkennbar.

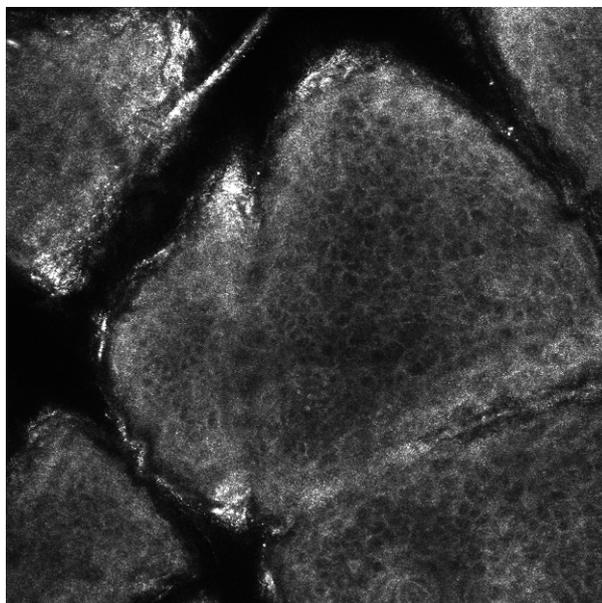


Abbildung 13: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Spongiose im Stratum spinosum (Ulrich et al. 2009)

Die Spongiose ist an der Erweiterung und Hervorhebung des Interzellularraums erkennbar.

3.3.2 Sunburn cells

Bei drei Studienteilnehmern waren 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der MED große Keratinozyten zu beobachten (s. Tab. 7). Diese Zellen stellten sich als große schwarze Hohlräume mit einem hellen runden, teilweise auch gezackten Zentrum dar (s. Abb. 14). Hierbei handelte es sich um apoptotische Zellen (SBC). Nach 48 Stunden waren diese Zellen bei sechs Studienteilnehmern nachweisbar (s. Abb. 15 und 16). Betroffene wiesen mehrheitlich einen Hauttyp von II oder III auf. 72 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der MED traten keine SBC mehr auf.

Bei fünf Studienteilnehmern waren 24 Stunden nach der Bestrahlung mit der maximalen UVB-Dosis SBC nachweisbar (s. Abb. 17). Nach 48 Stunden betraf dies ebenfalls fünf Studienteilnehmer, wobei im Vergleich zum 24-Stunden-Befund bei einem Studienteilnehmer die Zellen nicht mehr nachgewiesen werden konnten und bei einem anderen Probanden die Zellen erstmals auftraten. Nach 72 Stunden waren SBC bei zwei von neun Studienteilnehmern nachweisbar.

Bei einigen Studienteilnehmern konfluieren diese zu Mikrovesikel, worauf im folgenden Kapitel 3.3.3 eingegangen wird.

Tabelle 7: Auftreten von apoptotischen Zellen (Sunburn cells) am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis

Sunburn cells										
Zeitpunkt	Proband									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
minimale Erythemdosis (MED)										
24 h	-	++	-	-	+	+	-	-	-	-
48 h	++	+	-	+	+	+	+	-	-	-
72 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	k. A.
maximale Dosis 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm²										
24 h	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
48 h	++	+	-	-	+	+	+	-	-	-
72 h	+	-	-	-	-	+	-	-	-	k. A.

Legende: - = nicht vorhanden; (-) = nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung; + = vorhanden / schwach ausgeprägt; ++ = vorhanden / mäßig ausgeprägt; +++ = vorhanden / stark ausgeprägt; k. A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

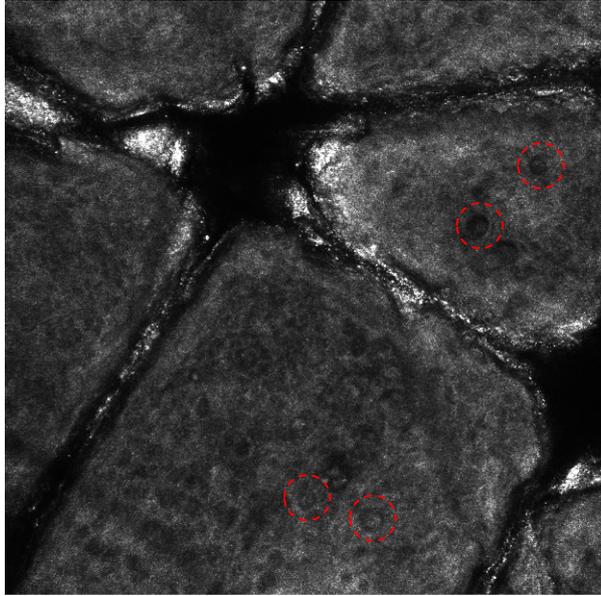


Abbildung 14: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum granulosum mit Sunburn cells (Ulrich et al. 2009)

Sunburn cells mit großem schwarzen Rand und hellem Zentrum (roter gestrichelter Kreis). Das Erscheinungsbild des hellen Zentrums variiert von zackig bis rund. Grund hierfür ist das unterschiedliche Apoptose-Stadium.

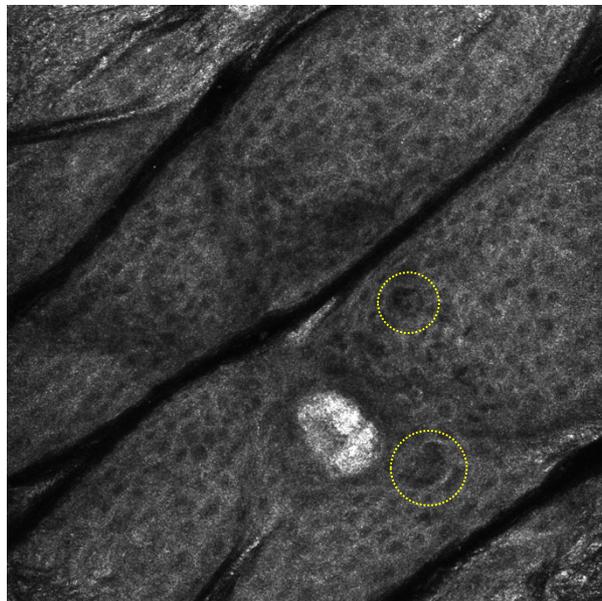


Abbildung 15: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum granulosum mit Sunburn cells (Ulrich et al. 2009)

Sunburn cells mit runden zentralen Zellkernen und einem ausgedehnten dunklen Zytoplasmarrand (gelbe gestrichelte Kreise)

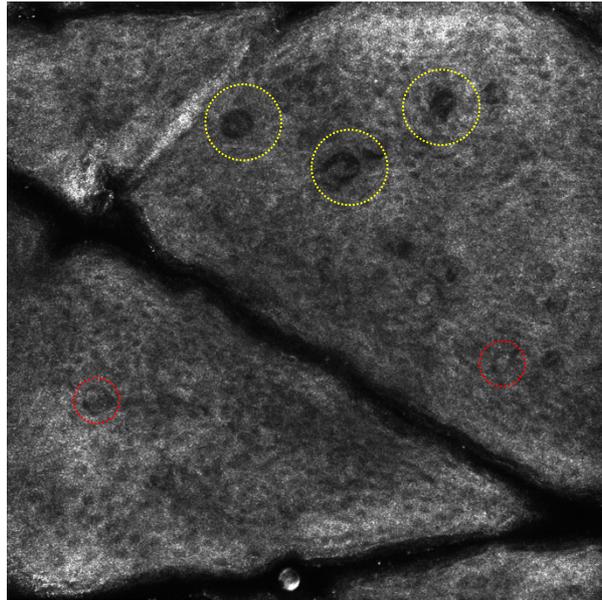


Abbildung 16: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum spinosum mit Sunburn cells (Ulrich et al. 2009)

Sunburn cells entweder mit gezacktem Kern und einem schmalen dunklen Rand (roter gestrichelter Kreis), oder mit runden zentralen Zellkernen und einem ausgedehnten dunklen Zytoplasmahalo (gelber gestrichelter Kreis)

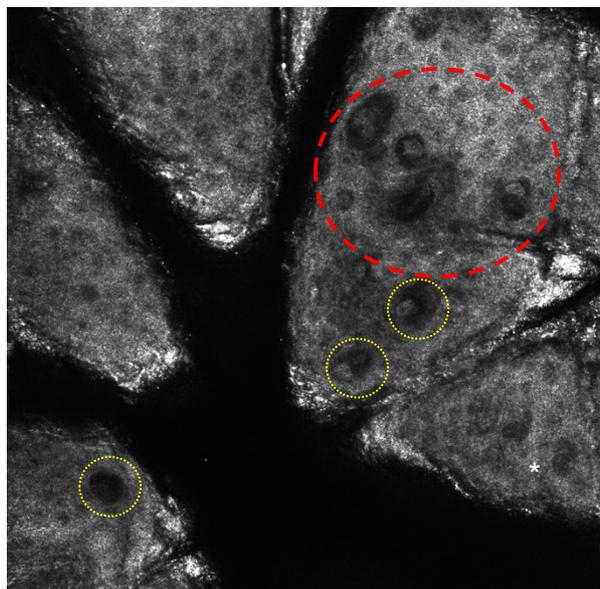


Abbildung 17: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 – Stratum granulosum mit Sunburn cells und Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009)

Sunburn cells (gestrichelte gelbe Kreise), die teilweise zu Mikrovesikel konfluieren (roter gestrichelter Kreis, s. Kap. 3.3.3)

3.3.3 Mikrovesikel

24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit MED konfluieren mehrere SBC bei einem Studienteilnehmer. In den Aufnahmen waren große schwarze Hohlräume mit teilweise gezackten Zentren erkennbar, die als Mikrovesikel identifiziert werden konnten (s. Tab. 8). Nach 48 Stunden waren diese Mikrovesikel bei zwei Studienteilnehmern nachweisbar (s. Abb. 18) und nach 72 Stunden bei einem von neun Studienteilnehmern.

Auch bei der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis traten nach 24 Stunden bei zwei Studienteilnehmern Mikrovesikel auf (s. Abb. 19–21); nach 48 Stunden war dies bei drei Studienteilnehmern und nach 72 Stunden bei zwei von neun Studienteilnehmern der Fall. Die Studienteilnehmer, bei denen die Veränderungen auftraten hatten einen Hauttyp von II oder III.

Tabelle 8: Auftreten von Mikrovesikel am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis

Mikrovesikel										
Zeitpunkt	Proband									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
minimale Erythemdosis (MED)										
24 h	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
48 h	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-
72 h	-	+	-	-	-	-	-	-	-	k. A.
maximale Dosis 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm²										
24 h	-	++	-	+	-	-	-	-	-	-
48 h	++	+++	-	+	-	-	-	-	-	-
72 h	+	+	-	-	-	-	-	-	-	k. A.

Legende: - = nicht vorhanden; (-) = nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung; + = vorhanden / schwach ausgeprägt; ++ = vorhanden / mäßig ausgeprägt; +++ = vorhanden / stark ausgeprägt; k.A. = keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

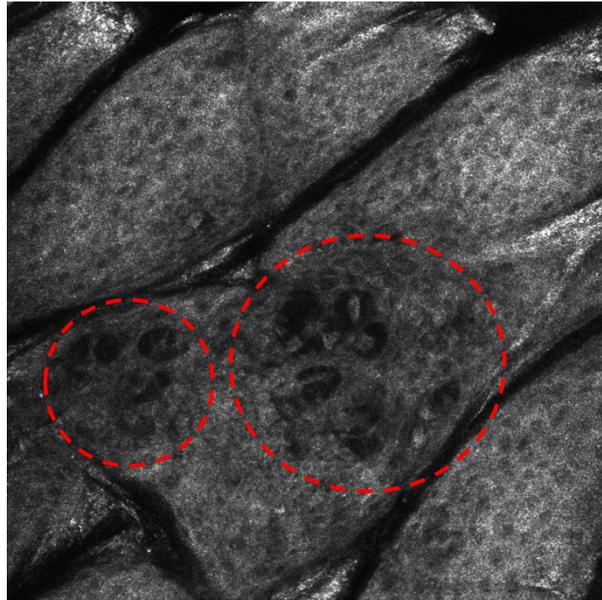


Abbildung 18: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – Stratum granulosum mit Mikrovesikel (Ulrich et al. 2009)

Mikrovesikel (runde gestrichelte Kreise) imponieren als große dunkle konfluierende Hohlräume mit hellen rundlichen Strukturen im Zentrum. Zusätzlich ist eine Spongiose durch Erweiterung des Interzellularraums erkennbar.

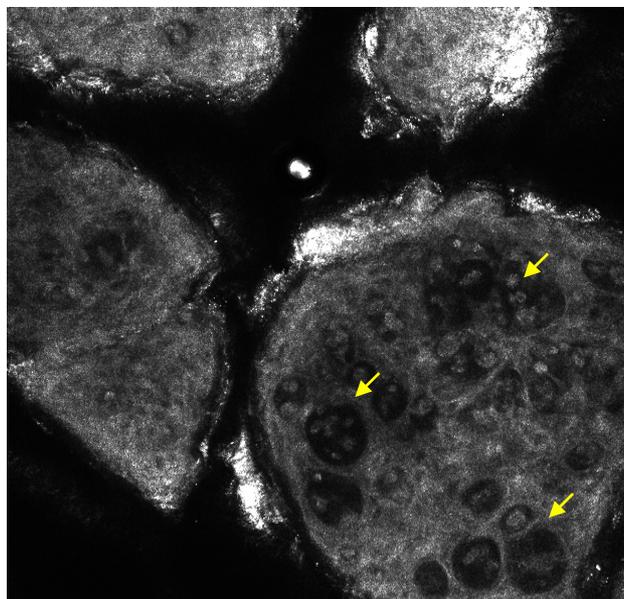


Abbildung 19: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 – Stratum granulosum mit ausgeprägten Mikrovesikel (gelbe Pfeile) (Ulrich et al. 2009)

Zusätzlich ist eine Spongiose erkennbar.

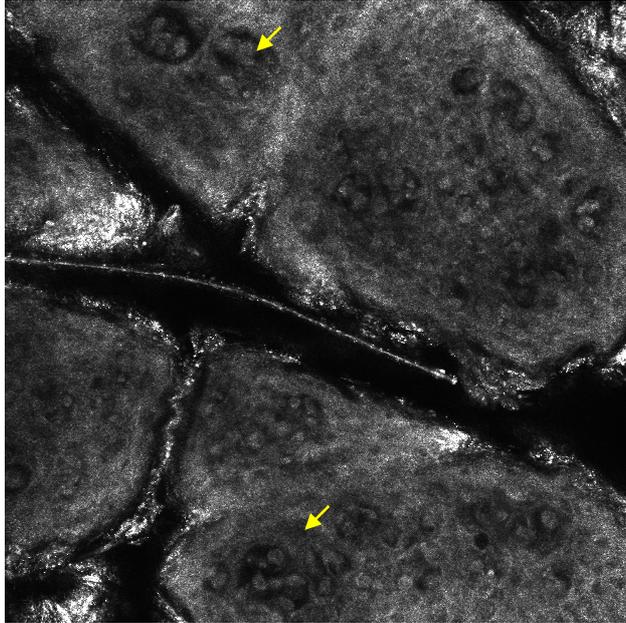


Abbildung 20: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 –Stratum spinosum mit ausgeprägten Mikrovesikel (gelbe Pfeile) (Ulrich et al. 2009)
Zusätzlich ist eine Spongiose erkennbar.

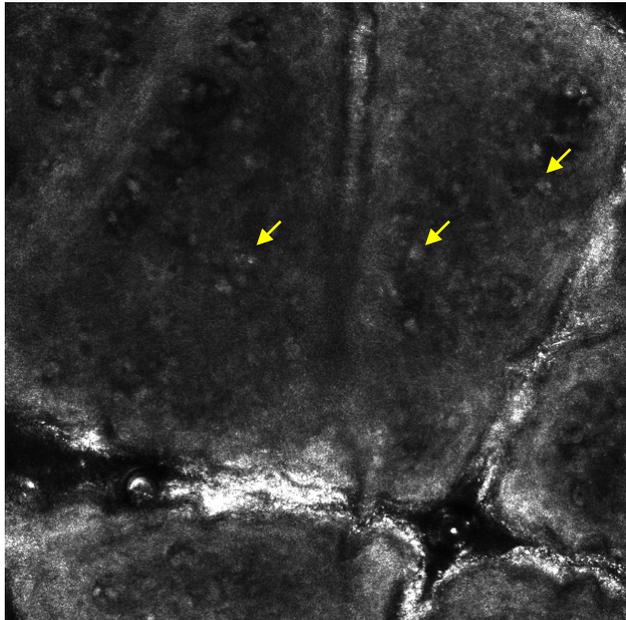


Abbildung 21: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 – Dermoepidermale Junctionszone mit ausgeprägten Mikrovesikel (gelbe Pfeile) (Ulrich et al. 2009)
Zusätzlich ist eine Spongiose erkennbar.

3.3.4 Verlust der Honigwabenstruktur

24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der MED war bei keinem Studienteilnehmer die Honigwabenstruktur verändert (s. Tab. 9). Nach 48 und 72 Stunden war bei fünf Studienteilnehmern die Honigwabenstruktur aufgehoben.

Bei der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis war nach 24 Stunden bei einem Studienteilnehmer die Epidermis durch den Verlust der Honigwabenstruktur strukturell-morphologisch verändert. Nach 48 Stunden waren sechs und nach 72 Stunden fünf von neun Studienteilnehmern betroffen.

Tabelle 9: Verlust der Honigwabenstruktur am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis

Verlust der Honigwabenstruktur										
Zeit-	Proband									
punkt	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
minimale Erythemdosis (MED)										
24 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48 h	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
72 h	+	+	-	+	+	+	-	-	-	k. A.
maximale Dosis 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm²										
24 h	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
48 h	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
72 h	++	+	-	+	+	+	-	-	-	k. A.

Legende: - = nicht vorhanden; (-) = nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung; + = vorhanden / schwach ausgeprägt; ++ = vorhanden / mäßig ausgeprägt; +++ = vorhanden / stark ausgeprägt; k. A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

Beim Verlust des Honigwabenmusters kommt es zu einer Aufhebung der architektonischen Struktur. Erkennbar ist dies an einer Aufhebung des regelmäßigen polygonalen Musters des Stratum granulosum und Stratum spinosum, das aus den dunklen Zellkernen der Keratinozyten und den refraktilen Zellgrenzen bzw. der interzellulären Substanz besteht (s. Abb. 22 und 23).

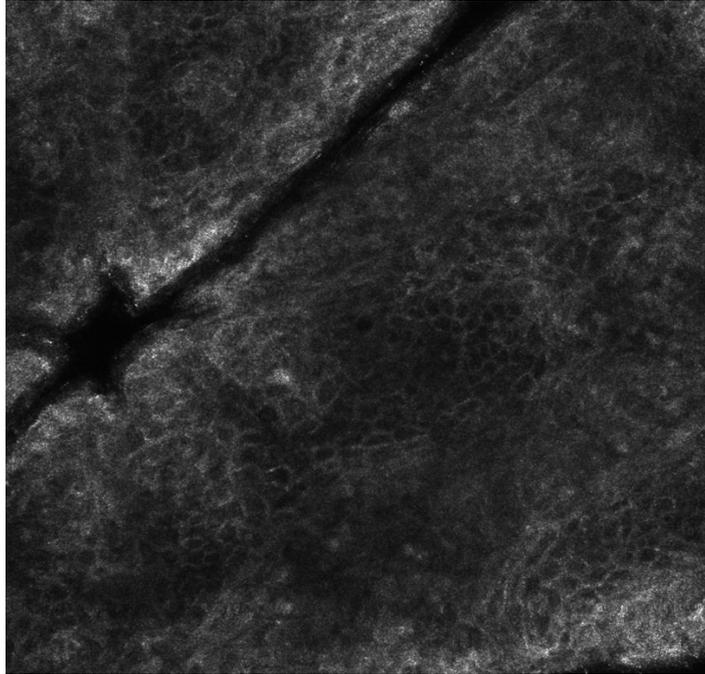


Abbildung 22: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis von 240 mJ/cm^2 – Stratum granulosum/ Stratum spinosum mit Aufhebung der Honigwabenstruktur. Beim Verlust der Honigwabenstruktur sind irreguläre Zellgrenzen und eine große Variabilität der Keratinozyten erkennbar.

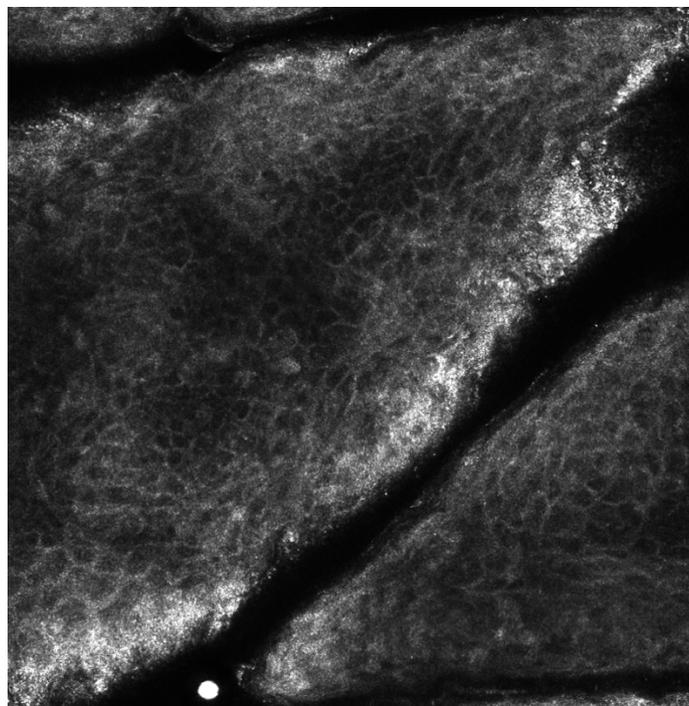


Abbildung 23: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis von 240 mJ/cm^2 – Stratum granulosum/ Stratum spinosum mit Aufhebung der Honigwabenstruktur. Beim Verlust der Honigwabenstruktur sind irreguläre Zellgrenzen und eine große Variabilität der Keratinozyten erkennbar.

3.3.5 Vasodilatation

Auf dermalen Ebene war 24 Stunden nach der Bestrahlung mit einer MED bei sechs Studienteilnehmern eine Blutgefäßdilataion sichtbar, die mit einem schnelleren Blutfluss verbunden war (s. Tab. 10 und Abb. 24). Nach 48 Stunden war die Vasodilatation noch bei vier Studienteilnehmern nachweisbar (s. Abb. 25). Das Gleiche galt für den 72 Stunden Untersuchungszeitpunkt, wobei bei einem Studienteilnehmer die Vasodilatation erstmals nach 72 Stunden auftrat und bei einem weiteren nicht mehr nachzuweisen war.

Eine Vasodilatation nach der Bestrahlung mit der maximalen Dosis war nach 24 Stunden bei sieben Studienteilnehmern und nach 48 bzw. 72 Stunden bei sechs Studienteilnehmern erkennbar.

Tabelle 10: Auftreten einer Vasodilatation am linken ungeschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) bzw. mit der maximalen Dosis

Vasodilatation										
Zeitpunkt	Proband									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
minimale Erythemdosis (MED)										
24 h	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-
48 h	+	(-)	-	+	+	-	-	-	+	-
72 h	++	(-)	-	+	+	+	-	-	-	k. A.
maximale Dosis 204 mJ/cm² oder 240 mJ/cm²										
24 h	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
48 h	+	(-)	+	+	+	+	-	-	(-)	+
72 h	+	+	-	+	+	+	-	-	+	k. A.

Legende: - = nicht vorhanden; (-) = nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung; + = vorhanden / schwach ausgeprägt; ++ = vorhanden / mäßig ausgeprägt; +++ = vorhanden / stark ausgeprägt; k. A.= keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

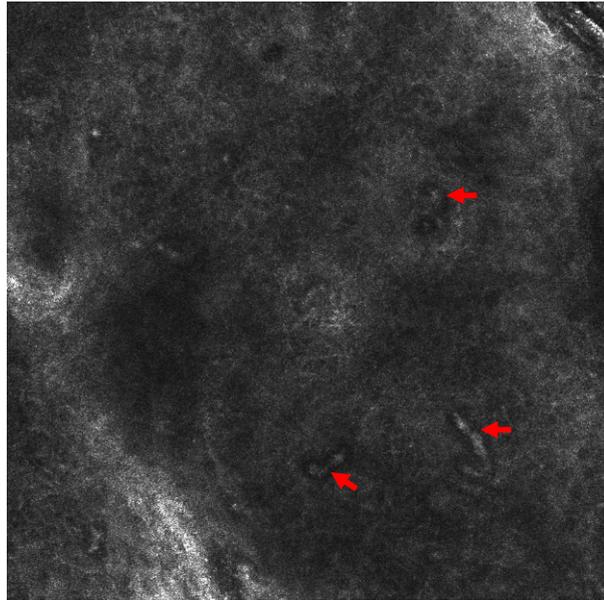


Abbildung 24: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – papilläre Dermis mit dilatierten Blutgefäßen (Ulrich et al. 2009)

Die roten Pfeile kennzeichnen längliche, leuchtende Strukturen, die dilatierten Blutgefäßen entsprechen. Bei der in-vivo Untersuchung konnten sich bewegende Zellen detektiert werden.

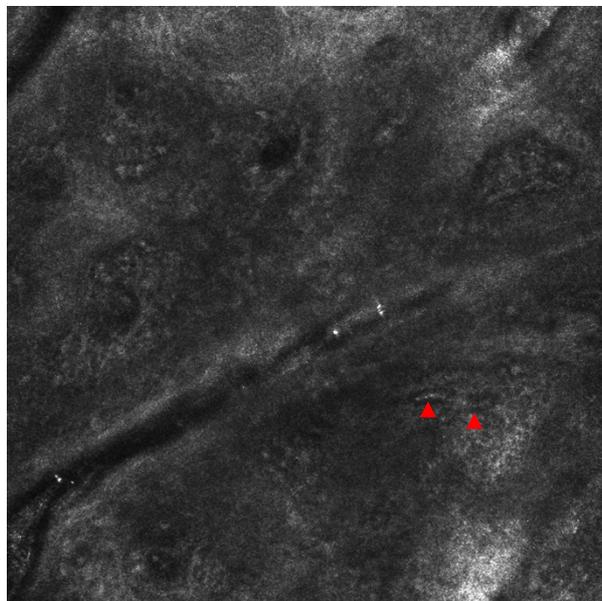


Abbildung 25: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der minimalen Erythemdosis (MED) – papilläre Dermis mit dilatierten Blutgefäßen (Ulrich et al. 2009)

Die roten Pfeile kennzeichnen längliche, leuchtende Strukturen, die dilatierten Blutgefäßen entsprechen. Bei der in-vivo Untersuchung konnten sich bewegende Zellen detektiert werden.

3.4 Histologie der ungeschützten Seite nach der Bestrahlung

Das histologische Präparat, das 48 Stunden nach der Bestrahlung mit 240 mJ/cm^2 von Proband 1 entnommen wurde, diente der Validierung der konfokalmikroskopisch beschriebenen Merkmale. SBC und Mikrovesikel waren konfokalmikroskopisch bei diesem Probanden besonders ausgeprägt darstellbar, so dass ein Vergleich gut möglich war.

In der Histologie zeigten sich epidermal einzelne apoptotische Keratinozyten, sowie multiple Mikrovesikel mit zentralen Zellen mit akantolytischem und runden Erscheinungsbild. Dermal war zudem die Vasodilatation gut sichtbar (s. Abb. 26).

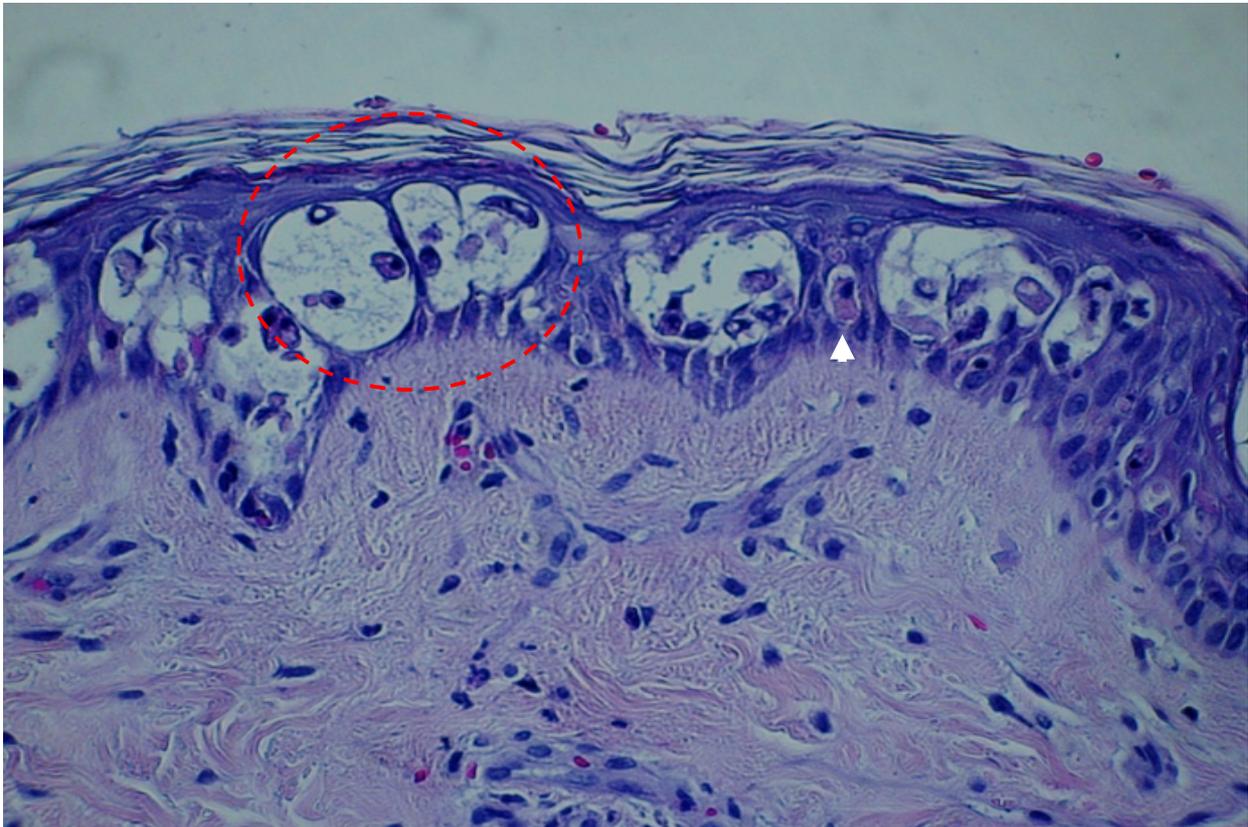


Abbildung 26: Histologischer Schnitt (Hämatoxylin-Eosin-Färbung) des ungeschützten linken Unterarms 48 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit 240 mJ/cm^2 (Ulrich et al. 2009)
Erkennbar sind multiple Mikrovesikel mit zentralen Zellen mit akantolytischem und rundem Erscheinungsbild (roter gestrichelter Kreis), einzelne apoptotische Keratinozyten (weißer Pfeil) und eine Blutgefäßerweiterung in der oberen Dermis.

3.5 Konfokale Lasermikroskopie (KLM) – geschützte Haut

Spongiose

Bei der Untersuchung der sonnengeschützten Haut des rechten Unterarms nach der Bestrahlung mit einer maximalen Dosis von 204 oder 240 mJ/cm² zeigte sich nach 24 Stunden bzw. 72 Stunden bei keinem Studienteilnehmer eine Spongiose. Nach 48 Stunden war diese bei einem Studienteilnehmer nachweisbar (s. Tab. 11).

Tabelle 11: Auftreten einer Spongiose am rechten geschützten Unterarm nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis

Spongiose										
Zeit- punkt	Proband									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
maximale Dosis 204 mJ/cm ² oder 240 mJ/cm ²										
24 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
72 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	k.A.

Legende: - = nicht vorhanden; (-) = nicht sichtbar aufgrund von beeinträchtigter Auflösung; + = vorhanden / schwach ausgeprägt; ++ = vorhanden / mäßig ausgeprägt; +++ = vorhanden / stark ausgeprägt; k.A. = keine Angabe (Proband hat den Termin nicht wahrgenommen)

Sunburn cells

Nach der Bestrahlung des rechten geschützten Unterarmes mit der maximalen UVB-Dosis traten bei keinem der Studienteilnehmer zu den drei Messzeitpunkten SBC auf.

Mikrovesikel

Nach der Bestrahlung des rechten geschützten Unterarmes mit der maximalen UVB-Dosis traten bei keinem der Studienteilnehmer zu den drei Messzeitpunkten Mikrovesikel auf.

Verlust der Honigwabenstruktur

Nach der Bestrahlung des rechten geschützten Unterarmes mit der maximalen UVB-Dosis zeigte keiner der Studienteilnehmer zu den drei Messzeitpunkten einen Verlust der Honigwabenstruktur der Epidermis.

Vasodilatation

Nach der Bestrahlung des rechten geschützten Unterarmes mit der maximalen UVB-Dosis trat zu keinem der drei Messzeitpunkte eine Vasodilatation auf.

Die Intaktheit der Strukturen der Haut 24 Stunden nach der Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis wird auch in den Aufnahmen in Abbildungen 27 deutlich. Anzeichen einer UVB-bedingten Schädigungen (Spongiose, SBC, Mikrovesikel, Verlust der Honigwabenstruktur, Vasodilatation) waren nicht bzw. nur einmalig erkennbar.

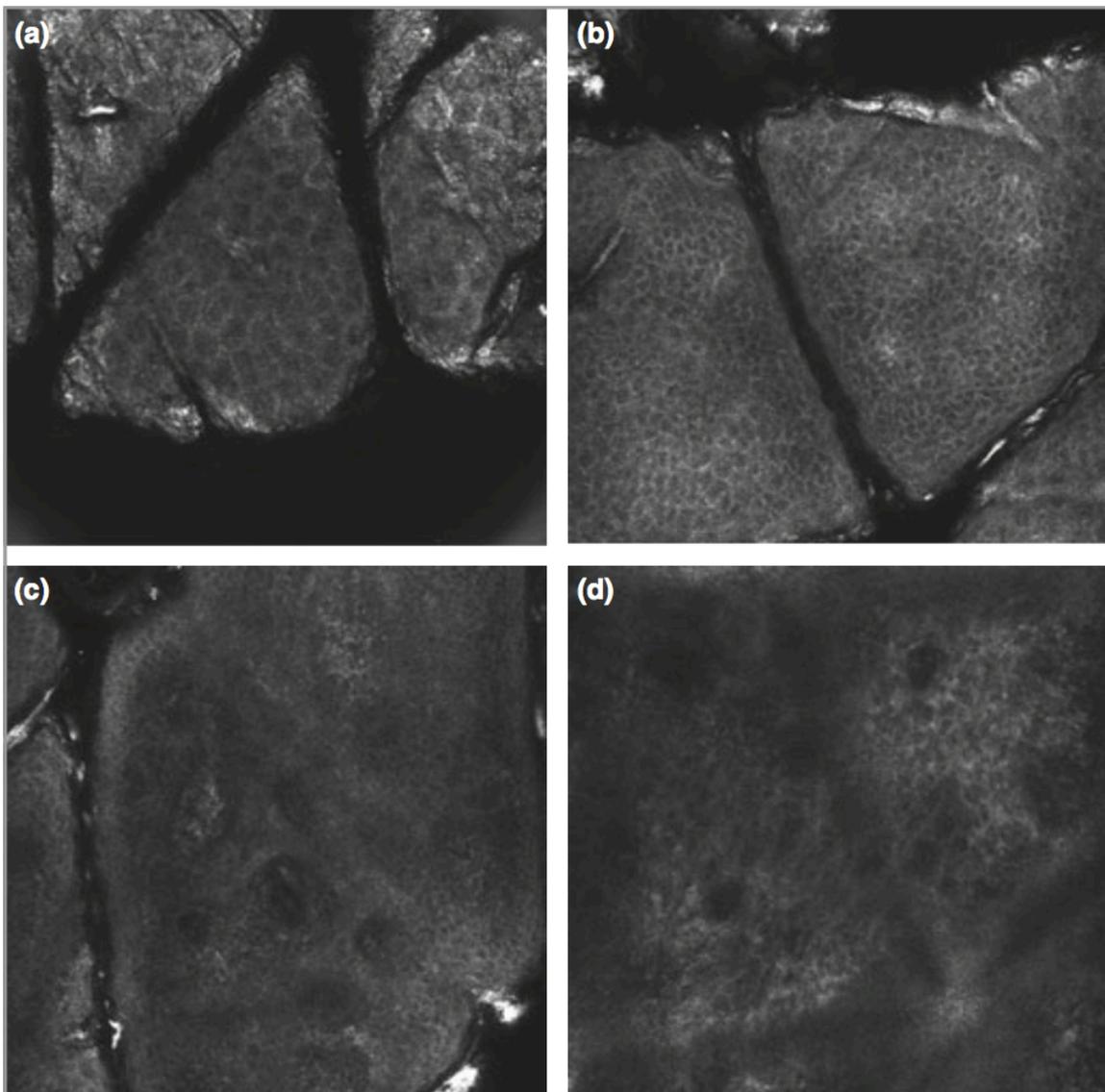


Abbildung 27: Konfokale Lasermikroskopie (KLM) Aufnahme des geschützten rechten Unterarms 24 Stunden nach der UVB-Bestrahlung mit der maximalen Dosis von 240 mJ/cm^2 (Ulrich et al. 2009)
a: Stratum corneum, b: Stratum granulosum, c: dermoepidermale Junctionszone, d: papilläre Dermis
Alle Schichten präsentieren sich homogen mit polygonalen Zellen, die in einem Honigwabenmuster angeordnet sind. Es liegen kein Anzeichen für eine UV-Schädigung vor.

3.6 Zusammenfassung der Ergebnisse der Konfokalen Lasermikroskopie (KLM) – ungeschützte Haut vs. geschützte Haut

In den folgenden Abbildungen 28 und 29 sind die Ergebnisse der KLM-Analysen zusammengefasst. Es wird deutlich, dass sich die Ausprägung der untersuchten Parameter bei beiden UV-Dosierungen in der ungeschützten Haut und der geschützten Haut deutlich unterscheidet. In der geschützten Haut kam eine Spongiose nur einmalig vor (s. Abb. 28).

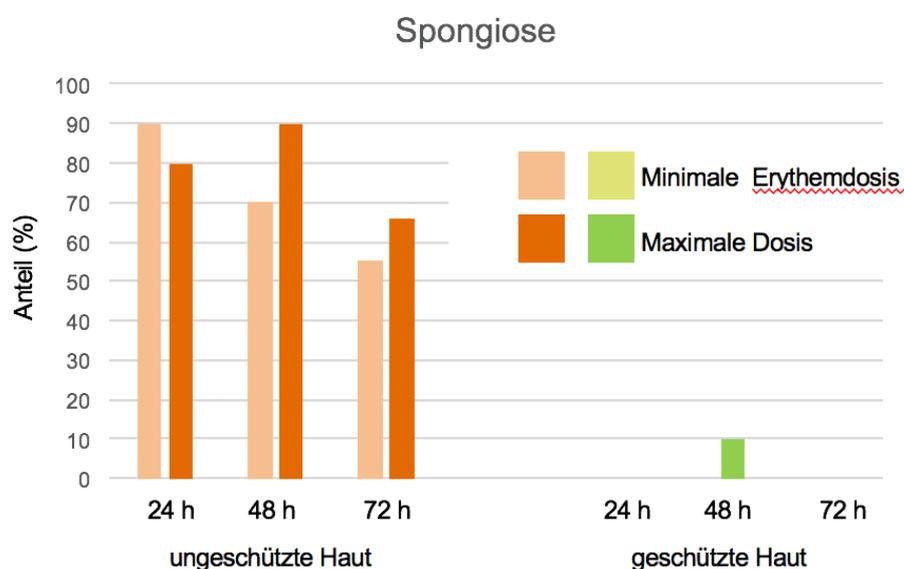


Abbildung 28: Vorkommen der Spongiose in ungeschützter (links) und geschützter Haut (rechts) 24, 48 und 72 Stunden nach der UV-Exposition (minimale Erythemdosis (MED) bzw. maximale Dosis: 204 oder 240 mJ/cm²)
Angaben in Prozent (24 und 48 h: n = 10; 72 h: n = 9)

Die anderen Merkmale wurden nur auf der ungeschützten Seite detektiert (s. Abb. 29). Am häufigsten trat eine Vasodilatation auf. Aber auch der Verlust der Honigwabenstruktur war nach 48 Stunden in etwa der Hälfte der Probanden präsent. SBC und insbesondere Mikrovesikel traten dagegen deutlich seltener auf.

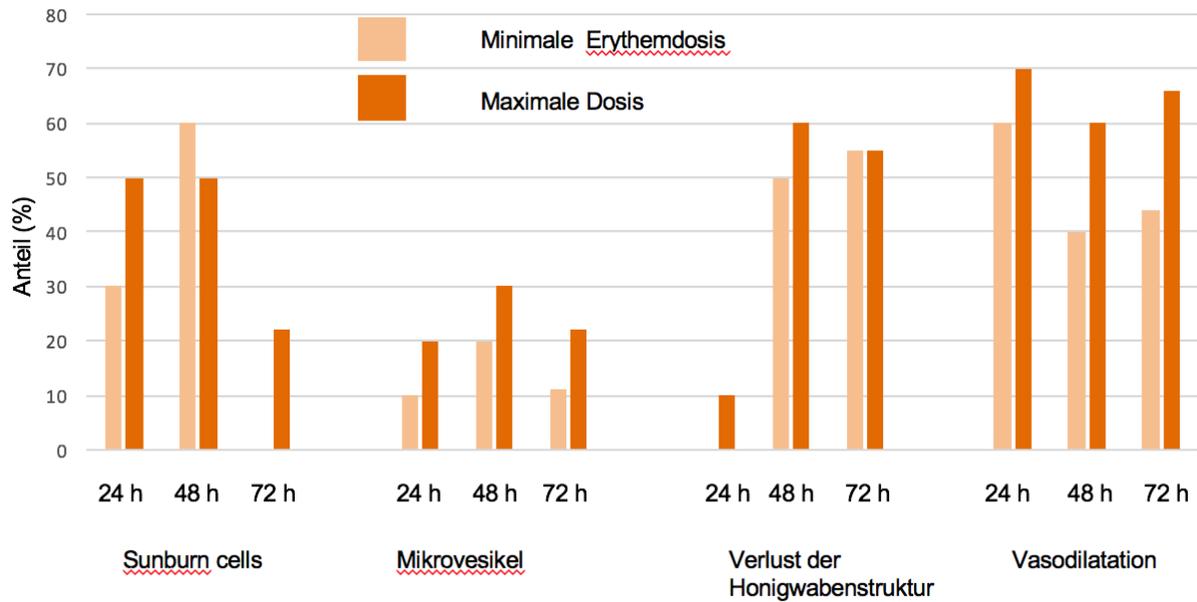


Abbildung 29: Vorkommen von Sunburn cells, Mikrovesikel, Verlust der Honigwabenstruktur und Vasodilatation in ungeschützter Haut 24, 48 und 72 Stunden nach der UV-Exposition (minimale Erythemdosis (MED) bzw. maximale Dosis: 204 oder 240 mJ/cm²)
Angaben in Prozent (24 und 48 h: n = 10; 72 h: n = 9)

4 Diskussion

Die Bedeutung der UV-Bestrahlung als Risikofaktor bei der Entstehung von Hautkrebs ist unstrittig (Brash et al. 1996). Die bei einer übermäßigen UV-Bestrahlung entstehenden DNA-Schäden spielen eine ausschlaggebende Rolle bei der Karzinogenese. Durch die Exposition von Zellen gegenüber kurzwelligem UVB-Licht (290–320 nm) kommt es zur Bildung von Pyrimidin-Dimeren. Neben dem UVB-Licht ist aber auch UVA-Licht über die Auslösung der Bildung freier Radikale und über die Generierung von oxidativem Stress an der Karzinogenese beteiligt. Diese Phänomene führen unter anderem in den Zellen zu DNA-Einzelstrangbrüchen und Quervernetzungen von Proteinen (Mullenders 2018).

Der Organismus ist in der Lage solche geschädigten Zellen zu erkennen und zu reparieren. Falls keine Reparatur möglich ist, leitet die Zelle die Apoptose ein, um eine maligne Entartung zu verhindern (Mohania et al. 2017; Van Laethem et al. 2005).

Zum Schutz der Haut vor UV-Licht werden häufig Sonnencremes verwendet. Dabei sollen sie nicht nur akute UV-Schäden in Form von Sonnenbränden verhindern, sondern die Haut auch vor chronischen UV-Schäden bewahren. Daher kommen Sonnencremes auch vermehrt zur Prävention von Hautkrebs zum Einsatz.

Der angegebene LSF bei Sonnencremes bezieht sich auf den Schutz vor UVB Strahlen. Aktuelle Untersuchungen zur Schutzwirkung von Sonnencremes konzentrieren sich lediglich auf die Erythementstehung und auf die Ermittlung der MED. Die Beurteilung der Schutzwirkung erfolgt demnach anhand klinischer Parameter. Die Auswirkung der Sonnencreme auf durch UV-Licht verursachte strukturelle oder zelluläre Veränderungen wird nicht analysiert. An dieser Stelle setzt die vorliegende Untersuchung ein.

Lange Zeit konnten UV-assoziierte, zelluläre Veränderungen der Haut nur durch invasive histologische Untersuchungen analysiert werden. Mit dem KLM steht jedoch seit einiger Zeit ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren zur Verfügung, dessen Auflösung mit der Routinehistologie vergleichbar ist und mit dessen Hilfe es möglich ist, die Haut auf zellulärer Ebene in vivo und in Echtzeit darzustellen (Rajadhyakasha et al. 1999a; 1999b). Bislang wurde die KLM insbesondere bei der Beurteilung von entzündlichen und neoplastischen Pathologien eingesetzt, wo sie sich durch eine hohe Sensitivität und Spezifität auszeichnet (Ardigo et al. 2009; Astner et al. 2006; Horn et al. 2008; Nori et al. 2004; Pellacani et al. 2007; Ulrich et al. 2008).

In der vorliegenden Studie wurde die KLM verwendet, um akut sonnengeschädigte Haut in vivo auf zellulärer Ebene zu untersuchen. Dazu wurden die linken und rechten Unterarme von Probanden mit einem UVB-Bestrahlungsgerät mit unterschiedlichen UV-Dosen (Lichttreppe) bestrahlt. Die Haut auf dem rechten Unterarm war dabei durch eine hochpotente Sonnencreme geschützt. Anschließend wurden in regelmäßigen Abständen (24, 48 und 72 Stunden) die klinische Symptomatik (Erythementwicklung) und die morphologischen Veränderungen der akut UV-geschädigten Haut bei Applikation der MED bzw. einer maximalen Dosis von bis zu 240 mJ/cm^2 in vivo untersucht. Zu den mittels KLM erhobenen morphologischen Parametern zählten das Auftreten einer Spongiose, von SBC (apoptotische Zellen), Mikrovesikel und die Zerstörung der Honigwabenstruktur sowie eine potenzielle Vasodilatation.

4.1 Geschützte versus ungeschützte Haut

Die klinischen und morphologischen Veränderungen liefen parallel ab. An der sonnengeschützten Haut entwickelte sich klinisch auch bei der Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis bei keinem Probanden ein Erythem. Diskrete morphologische Veränderungen zeigten sich lediglich einmalig in Form einer Spongiose.

Wie erwartet, war die Erythementwicklung der ungeschützten Haut deutlich ausgeprägter, insbesondere nach der Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis. Die klinischen Veränderungen korrelierten mit dem Auftreten und der Ausprägung der morphologischen Veränderungen. Auch der Zeitverlauf der Erythementwicklung verlief parallel zu der Entwicklung der morphologischen Veränderungen. Lediglich der Verlust der Honigwabenstruktur nahm im Zeitverlauf trotz Abnahme der Erytheme zu.

Das Erythem war bei einem Probanden besonders stark ausgeprägt und nahm im Zeitverlauf noch deutlich zu. Diese Befunde korrelierten mit der Entwicklung und Schwere der morphologischen Veränderungen. SBC und Mikrovesikel waren bei diesem Studienteilnehmer besonders ausgeprägt und verdeutlichten die starke Schädigung auf zellulärer Ebene.

4.2 Spongiöse

Bei der Spongiöse handelt es sich um ein Ödem der Epidermis, das histomorphologisch zur Erweiterung des Interzellularraums führt. Bei ausgeprägter Spongiöse kann es zur Auflösung des Zellverbands und zur Bildung intraepithelialer Bläschen kommen. Dieser Vorgang ist Ausdruck eines durch Entzündungszellen vermittelten inflammatorischen Prozesses. Diese Zellen sind in der Epidermis und in der oberen Dermis nachweisbar und können zur Schädigung von Keratinozyten führen, im Extremfall auch zu einem Zelluntergang im Stratum spinosum. Bei spongiotischen Dermatiden kommt es zur raschen Phagozytose der apoptotischen Keratinozyten (Weyers o. J.).

Bei der Spongiöse stellt sich konfokalmikroskopisch der Interzellularraum des Stratum granulosum und Stratum spinosum heller und verbreitert zwischen den dunklen Keratinozyten dar (Ardigo et al. 2012, pp. 349-365; Astner und Ulrich 2012, pp. 381-389).

In der vorliegenden Studie wurde die Spongiöse häufig an der ungeschützten Haut beobachtet. Alle Studienteilnehmer, wenn auch teilweise zu unterschiedlichen Zeitpunkten, waren betroffen. Die Spongiöse trat etwas häufiger bei der Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis auf. Der Höhepunkt der Spongiöseentwicklung lag bei 24–48 Stunden. In der geschützten Haut trat die Spongiöse lediglich einmalig bei einem Probanden auf.

In verschiedenen Arbeiten konnte in histologischen Präparaten bereits eine Spongiöse nach UV-Exposition dargestellt werden (Gilchrest et al. 1981; 1983; Hruza und Pentland 1993; Koller et al. 2014).

Auch konfokalmikroskopisch wurde eine Spongiöse nach UV-Bestrahlung bereits beschrieben (Koller et al. 2014). In dieser Studie trat eine leichte Spongiöse nach UV-Bestrahlung (UVA und UVB) mit der dreifachen MED als Zeichen einer beginnenden Entzündungsreaktion zusammen mit Entzündungszellen und Vasodilatation bereits nach einer Stunde auf. Der Höhepunkt wurde nach 72 Stunden erreicht; nach einer Woche war der Befund rückläufig. Die Autoren beschrieben die Spongiöse als wolkigen, dunklen Schleier mit einer Unschärfe in den tieferen Schichten. In der vorliegenden Studie traten dagegen im Rahmen der Spongiöse helle verbreiterte Interzellularräume im Stratum spinosum und Stratum granulosum auf.

Die Datenlage lässt vermuten, dass die Spongiöse ein häufiges konfokalmikroskopisches Merkmal der akut sonnengeschädigten Haut ist. Dieser Parameter ist jedoch

wenig spezifisch, da eine Spongiose auch im Rahmen unterschiedlicher inflammatorischer Dermatosen auftritt.

Laut Astner et al. (2005) zählt die Spongiose neben Mikrovesikel und Exozytose zu den morphologischen Veränderungen bei allergischen Kontaktekzemen. Auch Samhaber et al. (2016) identifizierten die Spongiose neben Mikrovesikel und entzündlichen Infiltraten im Stratum granulosum und Stratum spinosum als morphologisches Merkmal der allergischen Kontaktdermatitis.

Laut der Multicenter-Studie von Ardigo et al. (2016) ist eine mittelschwere bis schwere Spongiose neben einem unregelmäßigen Honigwabenmuster und einer Vasodilatation ein Hauptmerkmal der spongiotischen Dermatitis.

Bei entzündlichen Erkrankungen aus der Gruppe der Interface-Dermatitiden wurde eine Spongiose beim Lupus erythematoses (Moscarella et al. 2012, pp. 391-400) und beim Lichen planus beschrieben (Ianosì et al. 2019). Eine moderate Spongiose war konfokalmikroskopisch bei der Psoriasis vulgaris (Ardigo et al. 2009) und prominenter bei der seborrhoischen Dermatitis nachweisbar (Agozzino et al. 2012, pp. 367-379).

Im Rahmen maligner Erkrankungen wurde eine Spongiose konfokalmikroskopisch bei der Mycosis fungoides nachgewiesen (Agero et al. 2007; Lange-Asschenfeldt et al. 2012).

4.3 Sunburn cells

SBC entsprechen durch UV-Licht stark geschädigten Keratinozyten, die einen programmierten Zelltod (Apoptose) eingegangen sind (Berking 2005; Van Laethem et al. 2005).

Mit der Darstellung von SBC an der ungeschützten Haut wurde in der vorliegenden Untersuchung ein neues konfokalmikroskopisches Merkmal definiert, über das die UV-bedingte Schädigung auf zellulärer Ebene visualisiert werden kann. Die SBC präsentierten sich als große schwarze Hohlräume mit hellem Zentrum, das je nach Apoptose-Stadium rund bis zackig geformt war.

24 und 48 Stunden nach der Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis waren diese apoptotischen Zellen bei der Hälfte der Probanden an dem ungeschützten Unterarm nachweisbar. Nach 72 Stunden waren SBC bei weniger als einem Viertel der Pro-

banden noch vorhanden.

In der Vergangenheit wurden SBC bereits in histologischen Arbeiten dargestellt (Gilchrest et al. 1981; Hruza und Pentland 1993). Gilchrest et al. (1981) beschrieben die Zellen als dyskeratotische, vakuolisierte Keratinozyten, die bereits 30 Minuten nach der Bestrahlung auftreten und nach 24 Stunden ein Maximum zeigen.

Lediglich Koller et al. (2014) haben bisher SBC mittels KLM nachgewiesen. Dabei basierten die Experimente auf die der vorliegenden Analyse zugrundeliegenden Veröffentlichung (Ulrich et al. 2009). Die Autoren nahmen zusätzlich eine quantitative Auswertung der SBC-Anzahl vor. Eine morphologische Beschreibung fehlte jedoch, so dass kein Vergleich mit den vorliegenden Daten möglich ist.

Nach der UV-Bestrahlung (UVA und UVB) mit der dreifachen MED wiesen Koller et al. (2014) schon nach einer Stunde bei der Hälfte der Probanden SBC nach, nach 24 Stunden zeigten alle Probanden diese Zellen. Auch nach 72 Stunden waren die Zellen bei allen Probanden nachweisbar, jedoch in einer geringeren Anzahl. Nach einer Woche waren SBC nur noch bei zwei Probanden auffindbar.

Das Maximum der Schädigung bzw. das maximale Auftreten der SBC lag in der vorliegenden Arbeit bei 24-48 Stunden. Bei Koller et al. (2014) war der Höhepunkt ebenfalls nach 24 Stunden erreicht (nach 48 Stunden erfolgte keine Messung). Nach 72 Stunden waren bei Koller et al. noch bei allen untersuchten Probanden SBC nachweisbar, während in der vorliegenden Studie bereits ein deutlicher Rückgang stattgefunden hatte.

Insgesamt traten SBC bei Koller et al. (2014) häufiger als in der vorliegenden Studie auf, was wahrscheinlich auf die deutlich höhere UV-Dosis (dreifache MED) zurückzuführen ist. Die zusätzlich applizierte UVA-Strahlung ist für die Schädigung kaum relevant, da die energiereichere UVB-Strahlen beim Sonnenbrand eine größere Rolle spielt (Berking 2005; Van Laethem et al. 2005).

Einer der Probanden der vorliegenden Studie, bei dem sich keine SBC entwickelten, besaß eine pigmentierte Hautfarbe (Hauttyp IV, s. Tab. 1) und folglich einen höheren endogenen UV-Schutz. Die Bedeutung des Hauttyps wird in der kürzlich veröffentlichten Studie von Diffey et al. (2019) deutlich. Danach hatten zwei Drittel der im Vereinigten Königreich lebenden Befragten mit stark pigmentierter Hautfarbe (inklusive Hauttyp VI) noch nie einen Sonnenbrand gehabt. In Nigeria betrug der Anteil ein Drittel und in Südafrika fast die Hälfte der Befragten. Außerdem gaben zwei Drittel der im Vereinigten Königreich lebenden Studienteilnehmer mit stark pigmentierter Haut-

farbe an, noch nie Sonnenschutz verwendet zu haben, in den teilnehmenden afrikanischen Ländern betrug der Anteil dagegen nur ein Drittel (Diffey et al. 2019).

In einem Buchbeitrag von Moscarella et al. (2012, pp. 391-400) wurden nekrotische Keratinozyten konfokalmikroskopisch als leicht leuchtende polygonale Strukturen im Stratum spinosum beschrieben, die sich größer als die umgehenden Keratinozyten darstellen. Diese Strukturen traten im Zusammenhang mit Lichen planus, Lupus erythematosus und auch mit Sonnenbrand auf. Die Ursachen für die differente Beschreibung der Morphologie der Zellen bleibt Gegenstand weiterführender Studien.

4.4 Mikrovesikel

Mit der Darstellung von Mikrovesikel wurde in der vorliegenden Studie ein weiteres neues konfokalmikroskopisches Merkmal definiert. Mikrovesikel stellten sich als große schwarze Hohlräume mit teilweise gezackten Zentren dar. Sie entstanden aus konfluierenden SBC. In der vorliegenden Arbeit wurden sie als Anzeichen einer massiven Schädigung der Haut gewertet.

Bei der Bestrahlung mit der MED traten bereits nach 24 Stunden bei einem Studienteilnehmer auf der ungeschützten Seite Mikrovesikel auf, nach 48 Stunden bei zwei und nach 72 Stunden bei einem Teilnehmer. Bei der Bestrahlung mit der höheren UV-Dosis waren zu jedem Untersuchungszeitpunkt mehr Probanden betroffen und auch die Ausprägung war stärker. Der Höhepunkt des Auftretens zeigte sich bei beiden Bestrahlungsdosen nach 48 Stunden.

Im Gegensatz zu der vorliegenden Definition von Mikrovesikel als konfluierende SBC werteten Koller et al. (2014) Mikrovesikel als Folgeerscheinung eines Ödems. Weiter beschrieben die Autoren eine Stunde nach der Bestrahlung bei einem Probanden Mikrovesikel, die sich nach 24 Stunden in Blasen umgewandelt hatten. Zudem entwickelte dieser Proband nach 24 Stunden eine ausgedehnte Nekrose (Koller et al. 2014). Eventuell entsprachen diese Mikrovesikel den in der vorliegenden Arbeit als Mikrovesikel identifizierten Strukturen. Möglicherweise wäre es sinnvoll diese Form der Mikrovesikel in Zukunft als „Nekrosevesikel“ zu bezeichnen.

Gekammerte Mikrovesikel mit intravesikulären Entzündungszellen umgeben von intraepidermaler Spongiose und damit verbundenem unregelmäßigem Honigwabemuster wurden kürzlich mittels KLM bei der Shiitake-Dermatitis beschrieben (Cussigh

et al. 2019).

4.5 Verlust der Honigwabenstruktur

Beim Verlust des Honigwabenmusters kommt es zu einer Aufhebung der architektonischen Struktur. Dabei wird das regelmäßige polygonale Muster des Stratum granulosum und Stratum spinosum, das aus den dunklen Zellkernen der Keratinozyten und den refraktilen Zellgrenzen bzw. der interzellulären Substanz besteht, aufgelöst (Hofmann-Wellenhof et al. o. J.).

Ein Verlust der Honigwabenstruktur war nach der UVB-Bestrahlung mit der MED nach 48- und 72 Stunden bei der Hälfte der Probanden nachweisbar und nach der Bestrahlung mit der maximalen UV-Dosis nach 24 Stunden bei einem Studienteilnehmer, nach 48 Stunden bei sechs und nach 72 Stunden bei fünf Studienteilnehmern. Das Maximum war demnach nach 48–72 Stunden erreicht.

Eine Veränderung des charakteristischen Honigwabenmusters wurde nach UV-Bestrahlung bisher nur von Koller et al. (2014) untersucht. Die Autoren beschrieben nach der UV-Bestrahlung (UVA und UVB) mit der dreifachen MED nach 72 Stunden eine Vergrößerung des Honigwabenmusters bei fast allen Probanden und einen kompletten Verlust bei zwei Studienteilnehmern. Die Frage ob der Verlust der Honigwabenstruktur eine Folge der Spongiose ist, ließen die Autoren offen. Sie begründeten ihre Überlegung damit, dass die Spongiose bereits nach 24 Stunden und der Verlust der Honigwabenstruktur erst nach 72 Stunden auftrat (Koller et al. 2014).

Im Gegensatz zur vorliegenden Studie lag die maximale Ausprägung bei Koller et al. (2014) bei 72 Stunden. Zu diesem Zeitpunkt war die Zerstörung der architektonischen Struktur in der vorliegenden Studie bereits wieder rückläufig.

Ein Verlust der normalen Honigwabenstruktur lässt sich mittels KLM auch bei aktinischen Keratosen (Horn et al. 2008; Ulrich et al. 2008), bei malignen Melanomen (Pellicani et al. 2007) oder Basalzellkarzinomen (Nori et al. 2004) nachweisen (Astner und Ulrich 2010). Der Verlust der epidermalen Honigwabenstruktur stellt eines von fünf Hauptkriterien bei der KLM-Analyse von Basalzellkarzinomen dar (Nori et al. 2004).

4.6 Vasodilatation

Blutgefäße stellen sich bei der KLM als dunkle kanalikuläre oder röhrenförmige Strukturen in den dermalen Papillenspitzen dar. In ihrem dunklen Lumen sind bewegliche, leuchtende Zellen erkennbar, wobei es sich um Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten im Blutstrom handelt (Puig et al. 2012, pp. 23-31).

24 Stunden nach der Bestrahlung mit einer MED war bei sechs Studienteilnehmern der vorliegenden Untersuchung eine Blutgefäßdilataion erkennbar, nach 48 Stunden und 72 Stunden bei jeweils vier Probanden. Bei einem Studienteilnehmer trat die Vasodilatation erstmals nach 72 Stunden auf. Nach der Bestrahlung mit der maximalen Dosis war nach 24 Stunden bei sieben Studienteilnehmern die Vasodilatation sichtbar, nach 48 und 72 Stunden bei jeweils sechs Studienteilnehmern.

In der Vergangenheit wurde eine Gefäßerweiterung nach UV-Bestrahlung histologisch mehrfach beschrieben (Gilchrest et al. 1983; Hruza und Pentland 1993). Zudem wurde eine UV-assoziierte (Breitband-UV, UVA, UVB) Vasodilatation, verbunden mit einem verstärkten Blutfluss, auch mittels KLM nachgewiesen. Dazu reichte die Verabreichung der einfachen MED. Die Vasodilatation trat sofort nach der Bestrahlung, nach 24 und 72 Stunden und auch nach einer Woche auf. Keine der Vergleichsstudien führte eine Messung nach 48 Stunden durch. Wie auch bei der vorliegenden Studie war der Höhepunkt der Vasodilatation in diesen Studien nach 24 Stunden zu verzeichnen (Gambichler et al. 2006; Koller et al. 2014; Yamashita et al. 2007). Bei Koller et al. (2014) war die Beurteilung der Vasodilatation nach 72 Stunden und nach einer Woche aufgrund der Ödementwicklung nur eingeschränkt möglich. Die Autoren vermuteten einen Höhepunkt der Vasodilatation bei 72 Stunden, da die Ödementwicklung mit einer Vasodilatation einhergeht. In der Studie von Yamashita et al. (2007) kam es direkt nach der UVA-Bestrahlung mit 15 und 25 J/cm² dosisabhängig zu einem verstärkten Blutfluss bei den Hauttypen II-VI (s. Tab. 1), der auch nach einer Woche noch nachweisbar war. Auch im Rahmen entzündlicher Erkrankungen wurde eine Vasodilatation, z. B. beim Kontaktekzem, beschrieben (Koller et al. 2009). Ardigo et al. (2007a) berichteten bei der Untersuchung von Läsionen des Lupus erythematoses über prominente, rundliche oder lineare, dunkle kanalikuläre Strukturen innerhalb der dermalen Papillen, die in Korrelation zur Histologie als erweiterte Blutgefäße im Bereich der superfiziellen Dermis identifiziert wurden.

4.7 Limitationen des Studiendesigns und der KLM-Methodik

In der vorliegenden Studie ist die Probandenzahl mit zehn Studienteilnehmern recht klein. Kleine Probandenkollektive sind in der experimentellen Forschung nicht selten und liefern häufig wissenschaftliche Hinweise für die Konzeption größerer Studien. Auch in den zitierten KLM-Studien mit UV-bestrahlter Haut von Gambichler et al. (2004b) und Koller et al. (2014) wurden jeweils nur etwa zehn Studienteilnehmer eingeschlossen. Da jedoch einige der untersuchten Phänomene (z. B. SBC, Mikrovesikel) individuell verschieden auftraten, wäre ein größeres Probandenkollektiv aussagekräftiger gewesen.

Aufgrund der geringen Probandenzahl hat die Studie einen rein deskriptiven Charakter. Eine statistische Auswertung war nicht möglich. Zukünftige Untersuchungen mit einem größeren Studienkollektiv sind für die Validierung der vorliegenden Daten unverzichtbar.

Zudem waren die Studienteilnehmer mit einem Alter zwischen 24 und 34 Jahren (Mittelwert 28,5 Jahre) recht jung. Daher stellt sich die Frage, ob sich die Ergebnisse auch auf andere Altersgruppen übertragen lassen. Gilchrest et al. (1982) untersuchten die akut sonnengeschädigte Haut unterschiedlicher Altersgruppen. Sie schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass im Alter die Sonnenbrandreaktion geringer ist und sich außerdem langsamer entwickelt.

Einige Studien analysierten die alternde Haut auf epidermaler und dermaler Ebene auch mittels KLM (Kawasaki et al. 2015; Longo et al. 2013a; 2013b; Sauermann et al. 2002; Wurm et al. 2012;). Sauermann et al. (2002) hielten die KLM als geeignet zur Charakterisierung und Quantifizierung altersbedingter histologischer Veränderungen der Epidermis und papillären Dermis. Longo et al. (2013a) beschrieben eine Abnahme der Epidermisdicke, vermehrte Größenunterschiede und ein polymorpheres Aussehen der Keratinozyten bei zunehmendem Alter. In einer weiteren Studie entwickelten Longo et al. (2013b) ein aus drei Einzelscores bestehendes Scoringssystem zur Quantifizierung der Alterszeichen der Haut. In dem nach dem 65. Lebensjahr stark ansteigenden epidermalen Disarray-Score wird neben der Epidermisdicke und den Falten auch das irreguläre Honigwabenmuster berücksichtigt.

Die KLM ist folglich ein geeignetes nicht-invasives Untersuchungsverfahren zur Identifizierung von epidermalen und dermalen Veränderungen der alternden Haut. Weitere Untersuchungen sollten durchgeführt werden, in denen die in der vorliegenden Studie beschriebenen morphologischen Merkmale der akut sonnengeschädigten

Haut in allen Altersgruppen analysiert werden. Von besonderem Interesse wäre in diesem Kontext auch die Analyse der Regenerationsfähigkeit und Regenerationszeit reifer Haut. Wie sich das von Longo et al. (2013b) beschriebene irreguläre Honigwabenmuster älterer Haut bei einer akuten UV-Schädigung verhält, sollte ebenfalls analysiert werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde zwar der Hauttyp der Probanden bestimmt, bei der UV-Dosis und bei der weiteren Auswertung der Daten aber nicht berücksichtigt. In Folgestudien sollten die KLM-Parameter nach UV-Exposition in Abhängigkeit vom Hauttyp analysiert werden.

Weiter dominierten in der vorliegenden Untersuchung weibliche Probanden (8 vs. 2 Männer). Ein Einfluss des Geschlechts auf die KLM-Parameter der Haut nach UV-Exposition konnte bei geringer Patientenzahl nicht untersucht werden. Dieser Parameter sollte in zukünftigen Studien ebenfalls Berücksichtigung finden.

Als technische Limitation der KLM muss die begrenzte optische Eindringtiefe bis ins Stratum papillare der Dermis gewertet werden. Dadurch können tiefer liegende Veränderungen nicht dargestellt werden (Welzel et al. 2017). Da sich in der vorliegenden Arbeit die Merkmale der akut sonnengeschädigten Haut jedoch größtenteils auf die Epidermis beschränkten, spielte diese Einschränkung keine Rolle.

Die korrekte Auswertung der KLM-Bilder erfordert zudem weitreichende histologische Erkenntnisse und muss erlernt werden. Auch erfahrenen Histopathologen kann die Interpretation der Bilder Schwierigkeiten bereiten, da für die horizontale optische Schnittbildung ein Umdenken erfordert ist (Welzel et al. 2017).

4.8 Fazit und Ausblick

In der vorliegenden Studie kam es zu einer dosisabhängigen Schädigung der ungeschützten Haut durch die UVB-Bestrahlung. Durch die Verwendung einer Sonnencreme konnte dieser wirksam vorgebeugt werden. Die mittels KLM ermittelten morphologischen Parameter, die die Schädigung der Epidermis abbildeten, verliefen parallel zur Erythembildung.

Die vorliegenden Befunde belegen die Eignung der KLM zur Beurteilung von dynamischen durch UV-Licht ausgelösten Veränderungen der Haut. Ähnlich wie die Histopathologie ist die KLM in der Lage akute UV-Schäden durch den Nachweis von

SBC und Mikrovesikel abzubilden.

Im Gegensatz zur Histopathologie erfolgt die Beurteilung bei der KLM in vivo und bedarf keiner invasiven Biopsien. Zudem vermeidet die KLM die bei der Histopathologie notwendigen Fixationen und Färbungen und damit eine Quelle möglicher Artefakte.

Die KLM könnte daher zukünftig verwendet werden, um Sonnenbrandreaktionen genauer zu klassifizieren und um die Effektivität von Sonnenschutzmitteln auf zellulärer Ebene zu testen.

Weiter eignet sich die KLM zur Beurteilung des Nutzens topischer Rezepturen bei dermatologischen Fragestellungen (Segurado-Miravalles et al. 2018). Ein weiteres vielversprechendes Einsatzgebiet für die KLM ist die Antiaging-Forschung. Es ließe sich mit dieser Methode beispielsweise auch die Wirksamkeit von Antioxidantien zum Schutz vor zellulären Schäden analysieren, sowie der Nutzen von topischen Antiaging-Produkten untersuchen. Hierzu wurden bereits erste Analysen durchgeführt (Campione et al. 2020; Sauer mann et al. 2004).

An der Weiterentwicklung der KLM wird fortlaufend gearbeitet, beispielsweise sind die Darstellung einer vertikalen Bildgebung, eine automatische Analyse und eine tele dermatologische Anwendung geplant. Zudem wird vermutlich in Zukunft eine Darstellung tieferer Schichten möglich sein (Hofmann-Wellenhof et al. o. J.).

Weiterführende Studien sollten ergänzend zur KLM weitere nicht-invasive optische Untersuchungstechnik anwenden, um die Aussagekraft der Ergebnisse zu erhöhen und die Sonnenbrandklassifikation zu verbessern.

Die Multiphotonentomografie (MPT) liefert optische in vivo Biopsien in Form von horizontalen Schnittbildern. Die Auflösung im subzellulären Bereich ist erheblich höher als die der KLM. Jedoch erfordert die Untersuchung mehr Zeit und ist anfälliger für Bildartefakte (Sies et al. 2020). In einer Studie wurde die MPT bereits zur Analyse der Entzündungsreaktion auf zellulärer Ebene beim atopischen Ekzem genutzt (Huck et al. 2016).

5 Literaturverzeichnis

Agero ALC, Gill M, Ardigo M, Myskowski P, Halpern AC, Gonzalez S (2007): In vivo reflectance confocal microscopy of Mycosis fungoides: a preliminary study. *J Am Acad Dermatol* 57: 435-41.

Agozzino M, Moscarella E, Trincone S, Ardigo M (2012): Hyperkeratotic Dermatitis, in: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Melvehy J, Soyer HP (Hrsg.), *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Disease*. Berlin Heidelberg: Springer, pp. 367-79.

Altmeyer P (o. J.): Altmeyers Enzyklopädie, [online] <https://www.enzyklopaedie-dermatologie.de> [21.06.2020]

Altmeyer P, Barth J (2020): Vierzehntausend Tonnen oder wer liebt das Meer? *hautnah dermatologie* 36: 14-7.

Altintas MA, Altintas AA, Guggenheim M, Busch KH, Niederbichler AD, Aust MC, Vogt PM (2009): Is superficial burn caused by ultraviolet radiation (sunburn) comparable to superficial burn caused by heat – a histomorphological comparison by in vivo Reflectance-Mode-Confocal Microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 23: 1389-93.

Ardigo M, Maliszewski I, Cota C, Scope A, Sacerdoti G, Gonzalez S, Berardesca E (2007a) Preliminary evaluation of in vivo reflectance confocal microscopy features of discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 156: 1196-203.

Ardigo M, Malizewsky I, Dell'anna ML, Berardesca E, Picardo M (2007b): Preliminary evaluation of vitiligo using in vivo reflectanceconfocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 21: 1344-50.

Ardigo M, Cota C, Berardesca E, González S (2009): Concordance between in vivo reflectance confocal microscopy and histology in the evaluation of plaque psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 23: 660-7.

Ardigo M, Agozzino M (2012): Hyperkeratotic Dermatitis, in: Hofmann-Wellenhof R,

Pellacani G, Melvehy J, Soyer HP (Hrsg.), *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Disease*. Berlin Heidelberg: Springer, pp. 349-65.

Ardigo M, Longo C, Gonzalez S (2016): Multicentre study on inflammatory skin diseases from The International Confocal Working Group: specific confocal microscopy features and an algorithmic method of diagnosis. *Br J Dermatol* 175: 364-74

Astner S, González S, Gonzalez E (2006): Noninvasive evaluation of allergic and irritant contact dermatitis by in vivo reflectance confocal microscopy. *Dermatitis* 17: 182-91.

Astner S, Gonzalez E, Cheung AC, Rius-Diaz F, González S (2005): Pilot study on the sensitivity and specificity of in-vivo reflectance confocal microscopy in the diagnosis of allergic contact dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 53: 986-92.

Astner S, Ulrich M (2010): [Confocal laser scanning microscopy]. *Hautarzt* 61: 421-8.

Astner S., Ulrich M (2012): Hyperkeratotic Dermatitis, in: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Melvehy J, Soyer HP (Hrsg.), *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Disease*. Berlin Heidelberg: Springer, pp. 381-9.

Bagci IS, Aoki R, Krammer S, Ruzicka T, Sárdy M, French LE, Hartmann D (2019): Ex vivo confocal laser scanning microscopy for bullous pemphigoid diagnostics: new era in direct immunofluorescence? *J Eur Acad Dermatol Venereol* 33: 2123-30.

Berking C (2005): [The role of ultraviolet irradiation in malignant melanoma] *Hautarzt* 56: 687-96.

Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ (1996): Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1: 136-42

Bundesamt für Risikobewertung (2019): Sonnencreme und Co. – gibt es gesundheitliche Risiken, [online] <https://www.bfr.bund.de/cm/343/sonnencreme-und-co-gibt-es-gesundheitliche-risiken.pdf> [23.07.2020]

Bundesamt für Strahlenschutz (2020): UV-Schutz für die Haut, [online] <https://www.bfs.de/DE/themen/opt/uv/schutz/sonnencreme/sonnencreme.html> [23.07.2020]

Calzavara-Pinton P, Longo C, Venturini M, Sala R, Pellacani G (2008): Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging. *Photochem Photobiol* 84: 1421-30.

Campione E, Cosio T, Lanna C, Mazzilli S, Dika E, Bianchi L (2020): Clinical efficacy and reflectance confocal microscopy monitoring in moderate-severe skin aging treated with a polyvinyl gel containing retinoic and glycolic acid: An assessor-blinded 1-month study proof-of-concept trial. *J Cosmet Dermatol* DOI: 10.1111/jocd.13463

Cussigh CS, Fink C, Winkler JK, Toberer F, Enk A, Sattler EC, Haenssle HA (2019): [Reflectance Confocal Microscopy in Shiitake Dermatitis.] *Hautarzt* 70: 811-14.

Diffey BL, Fajuyigbe D, Wright C (2019): Sunburn and sun protection in black skin. *Int J Dermatol* 58: 1053-5.

Dirschka T, Hartwig R, Oster-Schmidt C (2010): *Klinikleitfaden Dermatologie*, 3. Aufl., München, Jena: Urban & Fischer.

Faurschou A, Wulf HC (2008): Topical corticosteroids in the treatment of acute sunburn: a randomized, double-blind clinical trial. *Arch Dermatol* 144: 620-4.

Fritsch P (2009): *Dermatologie & Venerologie für das Studium*, Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 84-85, 85-86, 89-91.

Gambichler T, Sauermann K, Altintas MA, Altmeyer P, Hoffmann K (2004a) Acute effect of solar-simulated radiation on epidermal thickness assessed by confocal laser scanning microscopy in vivo. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 18: 638-9.

Gambichler T, Sauermann K, Altintas MA, Paech V, Kreuter A, Altmeyer P, Hoffmann K (2004b): Effects of repeated sunbed exposures on the human skin. In vivo measurements with confocal microscopy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 20: 27-32.

Gambichler T, Boms S, Stücker M, Moussa G, Kreuter A, Sand M, Sand D, Altmeyer P, Hoffmann K (2005a): Acute skin alterations following ultraviolet radiation investigated by optical coherence tomography and histology. *Arch Dermatol Res* 297: 218-25.

Gambichler T, Künzelberger B, Peach V, Kreuter A, Boms S, Bader A, Moussa G, Sand M, Altmeyer P, Hoffmann K (2005b): UVA1 and UVB irradiated skin investigated by optical coherence tomography in vivo: a preliminary study. *Clin Exp Dermatol* 30: 79-82.

Gambichler T, Huyn J, Tomi NS, Moussa G, Moll C, Sommer A, Altmeyer P, Hoffmann K (2006): A comparative pilot study on ultraviolet-induced skin changes assessed by noninvasive imaging techniques in vivo. *Photochem Photobiol* 82: 1103-7.

Gareau DS, Patel YG, Rajadhyaksha M (2008): Basic principles of reflectance confocal microscopy, in: Gonzalez S, Gill M, Halpern AC (Hrsg.), *Reflectance confocal microscopy of cutaneous tumors: an atlas with clinical, dermoscopic and histological correlations*, 1 ed. London, England: Informa Healthcare, pp. 1-6.

Gilchrest BA, Soter NA, Hawk JL, Barr RM, Black AK, Hensby CN, Mallet AI, Greaves MW, Parrish JA (1983): Histologic changes associated with ultraviolet A-induced erythema in normal human skin. *J American Acad Dermatol* 9: 213-9.

Gilchrest BA, Soter NA, Stoff JS, Mihm MC (1981): The human sunburn reaction: histologic and biochemical studies. *J AM Acad Dermatol* 5: 411-22.

Gilchrest BA, Stoff JS, Soter NA (1982): Chronologic aging alters the response to ultraviolet-induced inflammation in human skin. *J Invest Dermatol* 79: 11-5.

Hall HI, Saraiya M, Thompson T, Harman A, Glanz K, Rimer B (2003): Correlates of sunburn experiences among U.S. adults: results of the 2000 National Health Interview Survey. *Public Health Rep* 118: 540-9.

Hofmann-Wellenhof R, Ahlgrimm-Siess V, Arzberger E (o. J.): e.Medpedia, Springer Medizin, Konfokale Laser Scanning Mikroskopie und Histopathologie, [online] https://www.springermedizin.de/emedpedia/histopathologie-der-haut/konfokale-laser-scanning-mikroskopie-und-histopathologie?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-44367-5_7 [20.06.2020]

Horn M, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, Weger W, Koller S, Kerl H, Samonigg H, Smolle J, Hofmann-Wellenhof R (2008): Discrimination of actinic keratoses from normal skin with reflectance mode confocal microscopy. *Dermatol Surg* 34: 620-5.

Hruza LL, Pentland AP (1993): Mechanisms of UV-induced inflammation. *J Invest Dermatol* 100: 35S-41S.

Huck V, Gorzelanny C, Thomas K, Getova V, Niemeyer V, Zens K, Unnerstall TR, Feger JS, Fallah MA, Metze D, Ständer S, Luger TA, Koenig K, Mess C, Schneider SW (2016): From morphology of biochemical state-intravital multiphoton fluorescence lifetime imaging of inflamed human skin. *Sci Rep* 6: 22789.

Ianosı SL, Forsea AM, Lupu M, Ilie MA, Zurac S, Boda D, Ianosı G, Neagoe D, Tutunaru C, Popa CM, Caruntu C (2019): Role of modern imaging techniques for the in vivo diagnosis of lichen planus. *Exp Ther Med* 17: 1052-60.

Kawasaki K, Yamanishi K, Yamada H (2015): Age-related morphometric changes of inner structures of the skin assessed by in vivo reflectance confocal microscopy. *Int J Dermatol* 54: 295-301.

Knuschke P, Lehmann B, Püschel A, Rönsch H (2012): UV-abhängige Vitamin D Synthese - Bilanzierung der Expositionszeit durch UV zur Produktion des optimalen Vitamin D3-Bedarfs im menschlichen Körper - Vorhaben 3607S04538, [online] <https://doris.bfs.de/jspui/handle/urn:nbn:de:0221-201210029658> [10.02.2020]

Koller S, Inzinger M, Rothmund M, Ahlgrimm-Siess V, Massone C, Arzberger E, Wolf P, Hofmann-Wellenhof R (2014): UV-induced alterations of the skin evaluated over time by reflectance confocal microscopy *J Eur Acad Dermatol Venereol* 28: 1061-8.

Koller S, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, Weger W, Smolle J, Hofmann-Wellenhof R (2009): In vivo reflectance confocal microscopy of erythematosquamous skin diseases. *Exp Dermatol* 18: 536-40.

Lange-Asschenfeldt S, Babilli J, Beyer M, Beyer M, Rius-Diaz F, Gonzalez S, Stockfleth E, Ulrich M (2012): Consistency and distribution of reflectance confocal microscopy features for diagnosis of cutaneous T cell lymphoma. *J Biomed Opt* 17: 016001.

Lavker RM, Gerberick GF, Verses D, Irwin CJ, Kaidbey KH (1995). Cumulative effects from repeated exposures to suberythemal doses of UVB and UVA in human skin. *J Am Acad Dermatol* 32: 53-62.

Lee JH, An HT, Chung JH, Kim KH, Eun HC, Cho KH (2002): Acute effects of UVB radiation on the proliferation and differentiation of keratinocytes. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 18: 253-61.

Lehmann P, Schwarz T (2011): Lichtdermatosen, Diagnostik und Therapie. *Dtsch Arztebl Int* 108: 135-41.

Linse R, Richard G (1990): [Histology of UV-induced epidermis reactions. 1. A contribution to the differentiation of sunburn cells.] *Dermatol Monatsschr* 176: 345-8.

Longo C, Casari A, Beretti F, Cesinaro AM, Pellacani G (2013a): Skin aging: in vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 68: e73-82.

Longo C, Casari A, De Pace B, Simonazzi S, Mazzaglia G, Pellacani G (2013b): Proposal for an in vivo histopathologic scoring system for skin aging by means of

confocal microscopy. *Skin Res Technol* 19: e167-3

Matta MK, Florian J, Zusterzeel R, Pilli NR, Patel V, Volpe DA, Yang Y, Oh L, Bas-haw E, Zineh I, Sanabria C, Kemp S, Godfrey A, Adah S, Coelho S, Wang J, Furlong LA, Ganley C, Michele T, Strauss DG (2020): Effect of Sunscreen Application on Plasma Concentration of Sunscreen Active Ingredients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 323: 256-67.

Maarouf M, Costello CM, Gonzalez S, Angulo I, Curiel-Lewandrowski CN, Shi VY (2019): In Vivo Reflectance Confocal Microscopy: Role in Noninvasive Diagnosis and Monitoring of Eczematous Dermatoses. *Actas Dermosifiliogr* 110: 626-36.

Mavig GmbH (2020): Vivascope, [online] <https://www.vivascope.de/> [22.06.2020]

McStay CM (2018): Sunburn [online] <https://emedicine.medscape.com> [23.06.2020]

Megahed M, Schaller J (2006): [Histopathology of photodermatoses] *Hautarzt* 57: 1083-8.

Middelkamp-Hup MA, Park HY, Lee J, Gilchrest BA, Gonzales S (2006): Detection of UV-induced pigmentary and epidermal changes over time using in vivo reflectance confocal microscopy. *J Invest Dermatol* 126: 402-7.

Mohania D, Chandel S, Kumar P, Verma V, Digvijay K, Tripathi D, Choudhury K, Mittten SK, Shah D (2017): Ultraviolet Radiations: Skin Defense-Damage Mechanism. *Adv Exp Med Biol* 996: 71-87.

Moscarella E, Agozzino M, Cavallotti C, Ardigo M (2012): Hyperkeratotic Dermatitis, in: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Melvehy J, Soyer HP (Hrsg.), *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Disease*. Berlin Heidelberg: Springer, pp. 391-400.

Mullenders LHF (2018): Solar UV Damage to Cellular DNA: From Mechanisms to Biologic Effects. *Photochem Photobiol Sci* 17: 1842-52.

Nehal KS, Gareau D, Rajadhyaksha M (2008): Skin imaging with reflectance confocal microscopy. *Semin Cutan Med Surg* 27: 37-43.

Neumann NJ, Lehmann P (2003): [Photodermatosis during Childhood]. *Hautarzt* 54: 25-32.

Nori S, Rius-Diaz F, Cuevas J, Cuevas J, Goldgeier M, Jaen P, Torres A, González S (2004): Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J Am Acad Dermatol* 51: 923-30.

Pearse AD, Gaskell SA, Marks R (1987): Epidermal changes in human skin following irradiation with either UVB or UVA. *J Invest Dermatol* 88: 83-7.

Pellacani G, Pepe P, Casari A, Longo C (2014): Reflectance confocal microscopy as a second-level examination in skin oncology improves diagnostic accuracy and saves unnecessary excisions: a longitudinal prospective study. *Br J Dermatol* 171: 1044-51.

Pellacani G, Guitera P, Longo C, Avramidis M, Seidenari S, Menzies S (2007): The impact of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 127: 2759–65.

Plewig G, Landthaler M, Burgdorf WHC, Hertl M, Ruzicka TH (2012) Braun-Falco's *Dermatologie, Venerologie und Allergologie*, 6. Aufl., Berlin Heidelberg: Springer, 698-701, 704, 715-716, 722.

Proksch E, Jensen JM, Crichton-Smith A, Fowler A, Clitherow J (2007): [Rational treatment of first-degree burns]. *Hautarzt* 58: 604-10.

Puig S, Carrera C, Salerni G, Rocha-Portela J (2012): Hyperkeratotic Dermatitis, in: Hofmann-Wellenhof R, Pellacani G, Melvehy J, Soyer HP (Hrsg.), *Reflectance Confocal Microscopy for Skin Disease*. Berlin Heidelberg: Springer, pp. 23-31.

Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR (1995): In

vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 104: 946-52.

Rajadhyaksha M, Anderson RR, Webb RH (1999a): Video-rate confocal scanning laser microscopy for imaging human tissues in vivo. *Appl Opt* 38: 2105-15.

Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH (1999b): In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol* 113: 293-303.

Rueter L, Ramadori P, Ulrich M, Jung S, Kardorff B, Lademann J. (2019): Reflectance confocal microscopy for noninvasive examination of nonmelanocytic tumors and virus-associated skin lesions in organ transplant recipients. *Skin Res Technol* 26: 376-89.

Sanclemente G, Zapata JF, Garcia JJ, Gaviria A, Gomez LF, Barrera M (2008): Lack of correlation between minimal erythema dose and skin phototype in Colombian scholar population. *Skin Res Technol* 14: 403-9.

Samhaber KT, Buhl T, Brauns B, Hofmann L, Mitteldorf C, Seitz CS, Schön MP, Rosenberger A, Haenssle HA (2016): Morphologic criteria of vesiculobullous skin disorders by in vivo reflectance confocal microscopy. *J Dtsch Dermatol Ges* 14: 797-806.

Sauermann K, Clemann S, Jaspers S, Gambichler T, Altmeyer P, Hoffmann K, Ennen J (2002): Age related changes of human skin investigated with histometric measurements by confocal laser scanning microscopy in vivo. *Skin Res Technol* 8: 52-6.

Sauermann K, Jaspers S, Koop U, Wenck H (2004): Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin. *BMC Dermatol* 4: 13.

Schmitz L, Reinhold U, Bierhoff E, Dirschka T (2013): [Optic coherence tomography: its role in daily dermatological practice]. *J Dtsch Dermatol Ges* 11: 499-508.

Segurado-Miravalles G, Jiménez-Gómez N, Muñoz Moreno-Arrones O, Alarcón-Salazar I, Alegre-Sánchez A, Saceda-Corralo D, Jáen-Olasolo P, González-Rodríguez S (2018): Assessment of the Effect of 3% Diclofenac Sodium on Photo-damaged Skin by Means of Reflectance Confocal Microscopy. *Acta Derm Venereol.* 98: 963-9.

Sies K, Winkler JK, Ziegler M, Kaatz M, Haenssle HA (2020): [New optical examination procedures for the diagnosis of skin disease]. *Hautarzt* 71: 101-8.

Springer Medizin (2020): Mängel beim Sonnenschutz, Beine meist vernachlässigt *MMW Fortschr Med* 162:3.

Teichmann A, Pissavini M, Ferrero L, Dehais A, Zastrow L, Richter H, Lademann J (2006): et al. Investigation of the homogeneity of distribution of sunscreen formulations on the human skin: Characterization and comparison of two different methods. *J Biomed Opt* 11: 064005.

Terhorst D (2009): *Dermatologie Basics*, 2. Aufl., München, Jena: Urban & Fischer, p. 76.

Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz R, Röwert-Huber J, González S, Sterry W, Stockfleth E, Astner S (2008): Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg* 34: 610-9.

Ulrich M, Rüter C, Astner S, Sterry W, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Röwert-Huber J (2009): Comparison of UV-induced skin changes in sun-exposed vs. sun-protected skin- preliminary evaluation by reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 161 Suppl 3:46-53.

Ulrich M, Kanitakis J, González S, Lange-Asschenfeldt S, Stockfleth E, Röwert-Huber J (2012): Evaluation of Bowen disease by in vivo reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 166: 451-3.

Van Laethem A, Claerhout S, Garmyn M, Agostinis P (2005): The sunburn cell: regu-

lation of death and survival of the keratinocyte. *Int J Biochem Cell Biol* 37: 1547-53.

Welzel J, Ulrich M, Lange-Asschenfeldt S, Stolz W, Sattler E (2017): S-1 Leitlinie 013-076: Konfokale Lasermikroskopie in der Dermatologie, [online] <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/013-076.html> [10.02.2020]

Weyers W (o. J.) Entzündliche Dermatosen mit Spongiose, [online] https://www.springermedizin.de/emedpedia/histopathologie-der-haut/entzuendliche-dermatosen-mit-spongiose?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-44367-5_8 [19.06.2020]

Winston PH (2016): Marvin L. Minsky (1927-2016). *Nature* 530: 282.

Wurm EMT, Longo, Curchin C, Soyer HP, Prow TW, Pellacani G (2012): In vivo assessment of chronological ageing and photoageing in forearm skin using reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 167: 270-9.

Yamashita T, Akita H, Astner S, Miyakawa M, Lerner EA, Gonzalez S (2007): In vivo assessment of pigmentary and vascular compartments changes in UVA exposed skin by reflectance-mode confocal microscopy. *Exp. Dermatol* 16: 905-11.

6 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Cathrin Wiggins-Davies, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Gegenüberstellung UV-induzierter Hautveränderungen in sonnenexponierter versus sonnen geschützter Haut mittels in vivo konfokaler Laserscanmikroskopie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/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

7 Anteilserklärung

Cathrin Wiggins-Davies hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Ulrich M, **Rüter C***, Astner S, Sterry W, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Röver-Huber J (2009): Comparison of UV-induced skin changes in sun-exposed vs. sun-protected skin- preliminary evaluation by reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 161 Suppl 3:46-53.

* Promovendin

Die folgenden Arbeitsschritte wurden in Zusammenarbeit mit Dr. med. Martina Ulrich durchgeführt:

- Erstellung des wissenschaftlichen Konzepts
- Planung und Durchführung der Studie
- Durchführung der Messung mittels KLM
- Auswertung des Bildmaterials
- Literaturrecherche

Die folgenden Arbeitsschritte wurden von der Promovendin selbstständig und eigenverantwortlich durchgeführt:

- Rekrutierung der Probanden
- Festlegung des Hauttyps
- Durchführung der Bestrahlung
- Studiendokumentation

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

8 Lebenslauf

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

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

9 Publikationsliste

Ulrich M, **Rüter C***, Astner S, Sterry W, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Röver-Huber J (2009): Comparison of UV-induced skin changes in sun-exposed vs. sun-protected skin- preliminary evaluation by reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol* 161 Suppl 3:46-53.

*Promovendin

10 Danksagung

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

Ich danke Frau Dr. med. Martina Ulrich für die äußerst produktive Kooperation. Ihre freundliche und lehrreiche Unterstützung, sowie ihre fachliche Kompetenz haben entscheidend zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen.

Darüber hinaus danke ich insbesondere den freiwilligen Studienteilnehmern, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Von Herzen danke ich meinem Mann, meinen Kindern, meinen Eltern und meinen Geschwistern, die mir stets liebevoll und unterstützend zur Seite stehen. Ihnen widme ich diese Arbeit.