

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

DISSERTATION

Systematische Beurteilung der Optischen Kohärenztomographie in der
Dermatologie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von

Monika Kuck

aus Schweinfurt

Datum der Promotion: 30.05.2015

Inhaltsverzeichnis

I Zusammenfassung	3
1. Einleitung	4
2. Zielsetzung	5
3. Methodik	5
3.1 Studienteilnehmer	5
3.2 Messmethoden	5
3.2.1 Optische Kohärenztomographie (OCT)	6
3.2.2 Trichoscan®	6
3.2.3 Konfokale Lasermikroskopie (RCM)	7
3.2.4 Lichtmikroskopie von Gewebeschnitten	7
3.3 Studiendesign	7
3.3.1 Studie 1: Bestimmung des Haarwachstums nach mechanischer Entfernung im Vergleich zu Trichoscan® und RCM (n=6)	7
3.3.2 Studie 2: Untersuchung der Wundheilungsphasen von chronischen Wunden im Vergleich zu histologischen Schnitten (n=6)	8
3.3.3 Studie 3: Ermittlung der Tumorgrenzen vor operativer Entfernung bei nicht melanozytären Tumoren (n=18)	8
4. Ergebnisse	9
4.1 Studie 1: Bestimmung des Haarwachstums nach mechanischer Entfernung im Vergleich zu Trichoscan® und RCM	9
4.2 Studie 2: Untersuchung der Wundheilungsphasen von chronischen Wunden im Vergleich zu histologischen Schnitten	10
4.3 Studie 3: Ermittlung der Tumorgrenzen vor operativen Entfernung bei nicht melanozytären Tumoren	10
5. Diskussion	13
II Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen	14
III Publikationen	17
IV Lebenslauf	18
V Publikationsliste	19
VI Eidesstattliche Versicherung	20
VII Danksagung	21

I Zusammenfassung

Das klinische Erscheinungsbild und die histologische Untersuchung sind von essentieller Bedeutung für die Differenzierung und Diagnose unterschiedlicher Hauterkrankungen. Dabei stellt die Biopsie als Voraussetzung zur histologischen Untersuchung eine invasive Diagnostikmethode dar, die zu verschiedenen Nebenwirkungen wie Nachblutungen, Wundinfektionen und Heilungsstörungen führen kann. In den letzten Jahren wurden verschiedene nicht-invasive diagnostische Verfahren entwickelt, die eine Untersuchung von Hautveränderungen in vivo ermöglichen. Die Optische Kohärenztomographie (OCT) ist eine nicht-invasive Untersuchungsmethode in Realzeit, mit der epidermale und dermale Strukturen durch zwei- oder dreidimensionale Bildgebung dargestellt werden können.

Ziel dieser Arbeit ist die systematische Darstellung von Hautveränderungen mit Hilfe der OCT im Vergleich zu etablierten Diagnostikmethoden. Hierzu wurden drei Studien durchgeführt:

Studie 1: Zur Darstellung des Haarwachstums wurde bei sechs weiblichen Probandinnen über einen Zeitraum von fünf Tagen die Veränderung der Haarlänge nach Rasur am Unterschenkel gemessen. Dabei konnten vergleichbare Werte von Trichoscan®, Konfokaler Lasermikroskopie (RCM) und OCT nachgewiesen werden.

Studie 2: Die Wundheilungsphasen bei chronischen Wunden wurden bei sechs Patienten über einen Zeitraum von zwei Wochen dargestellt. Mittels OCT konnten je nach Wundheilungsphase Vasokonstriktion, -dilatation, Verlust und Neubildung von Epidermis und dermo-epidermaler Junktionszone aufgezeigt werden. Die aufgezeigten Phasen stimmen mit den histologischen Untersuchungen überein.

Studie 3: Bei 18 Patienten wurden vor geplanter Exzision nicht melanozytärer Hauttumore die Tumorgrenzen bestimmt. Nach histologischer Aufarbeitung der entfernten Tumore, ergab die statistische Analyse in 84% der Tumore, deren laterale Grenzen mittels OCT festgelegt wurden, eine Exzision in sano.

Die OCT ermöglicht eine nicht-invasive Differenzierung unterschiedlicher Hautveränderungen und stellt eine wichtige ergänzende Methode zur Diagnostik von Hauterkrankungen dar. Zelluläre Details können aktuell noch nicht visualisiert

werden. Dies ist weiterhin der Histologie als Goldstandard vorbehalten. Dafür ist die Bestimmung von dynamischen Prozessen über einen definierten Zeitraum gegeben. Mit dem gegenwärtigen technischen Stand eignet sich die OCT zur Verlaufsbeurteilung von strukturellen Veränderungen der Epidermis und einem Teil der Dermis. Die Anwendung im klinischen Alltag könnte durch die Kombination verschiedener optischer Techniken vereinfacht werden und somit eine verbesserte Bildgebung gewährleisten. Die Verbindung dieser Messmethoden zu einer Einheit würde ein vielversprechendes Diagnostikverfahren darstellen, das mit einer geringeren Belastung als die Biopsie für Patienten einhergeht und könnte ökonomisch betrachtet, die Zeit und Kosten der aufwendigen Untersuchungsmethoden in der Klinik minimieren.

Abstract

The clinical appearance and the histological examination are essential for the differentiation and diagnosis of certain skin diseases. The biopsy as prerequisite for the histological examination is an invasive diagnostic method that can lead to different side effects like secondary bleeding, wound infections and disorders of wound healing. During the last years different non-invasive diagnostic procedures were developed which allow an investigation of skin lesions in vivo. The optical coherence tomography (OCT) is a non-invasive real time investigation method that allows a visualization of epidermal and dermal structures in two-dimensional or three-dimensional imaging.

The aim of this study is the systematic representation of skin changes with OCT in comparison to established diagnostics methods. Moreover three studies were carried out:

Study 1: The hair growth was demonstrated by measuring the change of the hair length for a defined period of five days by six female volunteers after shaving on the longer leg. Besides, comparable values could be proved between Trichoscan®, confocal laser microscopy (RCM) and OCT.

Study 2: The wound healing phases were shown by six patients with chronic wounds during a period of 2 weeks. OCT demonstrated vasoconstriction, -dilatation, damage and regeneration of the epidermis and dermo-epidermal junction zone. The indicated phases agree with the histologic investigations.

Study 3: The tumor borders were determined before planned excision of melanocytic lesions by 18 patients. After histological examinations of the distant tumor the statistical analysis showed in 84% of the tumors, which lateral borders were determined by OCT, the removal in healthy tissue.

OCT allows a non-invasive differentiation of skin lesions and can be an important additional method for the diagnosis of skin diseases. Cellular details cannot be visualized yet, so that it is reserved by histological sections as golden standard. But rather the determination of dynamic processes of a defined period is given. With the current technology status OCT is suited to evaluate the progress of structural changes of the epidermis and parts of the dermis. The use in daily clinical practice could be simplified by the combination of different optical technologies and guarantee therefore an improved imaging.

The connection of these measuring methods would provide a promising diagnostic technology which is a less burden on the patient, like a biopsy and in economic terms a minimization of time and cost of the demanding testing methods.

1. Einleitung

Die Diagnose einer bestimmten Krankheit kann nur anhand spezifischer Symptome und erhobener Befunde gestellt werden. Dabei sind die wichtigsten diagnostischen Methoden die Anamnese, die körperliche Untersuchung, die Labor- und Gewebsdiagnostik sowie bildgebende Verfahren und Funktionsuntersuchungen. Nur mit zielgerichteten Diagnoseverfahren kann das genaue Krankheitsbild erfasst und mit einer adäquaten Therapie begonnen werden. Dabei sollten umfassende, zeitsparende und möglichst schonende Methoden für den Patienten gewählt werden.

Der Einsatz des richtigen Diagnoseverfahrens erscheint in der Dermatologie durch die komplexe Anatomie und Physiologie der Haut sehr kompliziert. Die Haut ist in die drei wesentlichen Schichten Epidermis, Dermis und Subcutis gegliedert, die jeweils unterschiedliche Zellstrukturen beinhalten. Zudem befinden sich Hautanhangsgebilde, wie Haare, Nägel, Schweißdrüsen und Talgdrüsen in den verschiedenen Schichten. Somit ist sie nicht nur das Grenzorgan des menschlichen Organismus zur Umwelt, sondern auch ein wichtiges Sinnes-, Speicher- und Stoffwechselorgan.

Die meisten Dermatosen lassen sich durch die Effloreszenzenlehre ätiologisch einordnen, wobei die genaue Diagnose häufig durch invasive Methoden ergänzt wird.

Momentan ist der Goldstandard in der Diagnostik die histologische Untersuchung, die eine genaue Differenzierung und sichere Diagnosestellung bei den meisten Hauterkrankungen garantiert. Diese ist jedoch ein invasives Verfahren, da zur histologischen Aufarbeitung zunächst eine Hautprobe entnommen werden muss. Die Probeentnahme führt zu Gewebsuntergang, teilweise zu Schmerzen, Nachblutungen, Wundheilungsstörungen und Narbenbildungen. Zudem ist durch die Färbung und Fixierung nicht immer die Strukturhaltung des Gewebepreparates möglich und führt häufig zu Artefakten.

Bei Befunden, die sich im zeitlichen Verlauf verändern, kommen durch die derzeitige Entwicklung immer häufiger optische, nicht-invasive Diagnostikmethoden zum Einsatz, wie etwa hochfrequente Ultraschalluntersuchungen, digitale Dermatoskopie, Optische Kohärenztomographie, Konfokale Lasermikroskopie und Multiphotonentomographie.

Die OCT hat in der Dermatologie zunehmend an Bedeutung gewonnen und ist auch in vielen anderen Fachrichtungen eine etablierte Diagnostikmethode. Ursprünglich wurde sie als Untersuchungsmethode zu klinischen und wissenschaftlichen Versuchen in der Ophthalmologie verwendet. Dort ist sie seit einigen Jahren ein fester Bestandteil in der Diagnostik zur Darstellung des Augenvorder- und -hintergrunds. Dieses bildgebende Verfahren ist mit der Technik eines Ultraschallgerätes vergleichbar, nur dass bei der Messung mittels OCT breitbandiges Licht anstatt Schallwellen verwendet und die Lichtreflexion als eine Funktion der Scantiefe abgebildet wird. Das Grundprinzip ist die Michelson Interferometrie, die den zurückgestreuten Lichtanteil aus der Haut mit einem Referenzlicht vergleicht. Das dabei entstehende Muster wird als zwei- bzw. dreidimensionales Bild in Realzeit wiedergegeben. Zur Darstellung kommen epidermale und dermale Strukturen entsprechend der vertikalen Schnittführung eines histologischen Präparates.

Ein Vergleich mit den erwähnten in vivo Techniken und der histologischen Darstellung kann den aktuellen Stand der OCT aufzeigen, diagnostische Perspektiven eröffnen und das mögliche Potential für den klinischen Alltag verdeutlichen. Diese Arbeit befasst sich mit den Grundlagen zur Darstellung von unterschiedlichen Hautveränderungen mit der OCT und zugleich weitere Forschungen und Untersuchungen zu unterstützen.

2. Zielsetzung

Ziel der hier beschriebenen Untersuchungen war es, systematisch die Anwendbarkeit der OCT bei verschiedenen Fragestellungen im Vergleich zu etablierten Diagnoseverfahren zu prüfen. Konkret betraf das die drei folgenden Aufgabenstellungen:

Studie 1: Bestimmung des Haarwachstums nach mechanischer Haarentfernung mittels OCT im Vergleich zu Trichoscan® und Konfokaler Lasermikroskopie.

Studie 2: Untersuchung der Wundheilungsphasen von chronischen Wunden im Vergleich zu histologischen Schnitten.

Studie 3: Ermittlung der Tumorgrenzen vor operativer Entfernung bei nicht melanozytären Tumoren.

3. Methodik

3.1 Studienteilnehmer

Insgesamt wurden 30 Studienteilnehmer und -teilnehmerinnen im Alter von 26 bis 86 Jahren (Durchschnittsalter 58 Jahre), davon 15 weiblich und 15 männlich Probanden, mit einem Hauttyp I-III nach Fitzpatrick in die klinischen Studien eingeschlossen. Die Rekrutierung der Patientinnen und Patienten erfolgte in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie – Charité-Universitätsmedizin Berlin. Alle Studienteilnehmer und -teilnehmerinnen haben vor Studienbeginn eine schriftliche Einwilligungserklärung unterzeichnet und die Studien wurden von der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin bewilligt (EA1/061/09).

3.2 Messmethoden

3.2.1 Optische Kohärenztomographie (OCT)

Die Messung mittels OCT wurde mit zwei unterschiedlichen Geräten durchgeführt. Bei beiden Geräten basiert die Messmethode auf dem Grundprinzip der Michelson-Interferometrie, mit dessen Hilfe die Darstellung einzelner Hautschichten, die als

streuende Medien bekannt sind, ermöglicht wird. Als Lichtquelle wurden breitbandige Superlumineszenzdiolen oder Laserlicht im nahinfraroten Wellenlängenbereich zwischen 600-1700 nm verwendet. Mit der entsprechenden Lichtquelle wurde kohärentes Licht in das zu untersuchende Gewebe eingestrahlt und das zurückgestreute Licht mit einem Referenzwert verglichen. Die Interferenz der beiden Signale ergibt ein Muster und wird durch eine Fourier-Transformation in Raumkoordinaten umgerechnet, so dass ein Tiefenstreuprofil entsteht, das als A-Scan bezeichnet wird. Durch Ablenkung der Lichtquelle kann eine Sequenz benachbarter A-Scans aufgenommen werden, dass als B-Scan bezeichnet wird und ein Querschnittbild entstehen lässt. Durch die Kombination mehrerer B-Scans entsteht eine dreidimensionale Darstellung.

Die Bestimmung des Haarwachstums und die Untersuchung der Wundheilung in Studie 1 und 2 wurden mit dem Spectral Domain OCT System Callisto® (Thorlabs GmbH, Lübeck, Germany) durchgeführt. Dieses System bedient sich eines Breitband-Lichts mit geringer Kohärenzlänge mittels 930 nm Superlumineszenzdiode und einem linearen Charge-coupled Device (CCD) array-basierten Spektrometer. Dieses Gerät ist imstande eine Bildgebung mit maximaler Penetrationstiefe bis zu 1,2-1,3 mm wiederzugeben. Die laterale Auflösung kann bis zu 8 µm und die axiale Auflösung bis zu 5 µm betragen, abhängig vom Refraktionsindex (Grad der Lichtbrechung) der Haut. Zur Ermittlung der Tumorgrenzen bei Studie 3 wurde das Swept Source OCT System VivoSight® (Michelson Diagnostik, Kent, UK) verwendet. Als Lichtquelle dient ein Laser im Bereich von 1305 nm Wellenlänge, die laterale Auflösung beträgt bis zu 7,5 µm und die axiale Auflösung bis zu 10 µm. Die maximale Tastweite beträgt 6x6 mm mit einer Penetrationstiefe bis zu 2 mm.

3.2.2 *Trichoscan*®

Bei den Messungen zu Studie 1 wurde der Trichoscan® Professional (Tricholog GmbH, Freiburg, Germany) mit der Kamera FotoFinder® (FotoFinder Systems GmbH, Bad Birnbach, Germany) verwendet. Dies ist eine computergestützte Methode zur Bestimmung des Haarwachstums. Dabei wird die Standard-Auflichtmikroskopie mit einer automatischen digitalen Bildanalyse kombiniert. Dies ermöglicht die Bestimmung von biologischen Parametern, wie Haarzahl, Anagen bis Telogenrate und Haarwachstumsrate im Bereich von 0,6 cm², die durch mathematische Näherungsverfahren berechnet werden.

3.2.3 Konfokale Lasermikroskopie (RCM)

Das RCM Vivascope 1500 (Lucid Inc. Rochester, NY, USA und MAVIG GmbH, München, Germany) wurde zur Darstellung des Haarfollikels und des Haarschafts direkt nach Rasur in Studie 1 verwendet. Diese Methode basiert auf der Reflektion, Streuung und Absorption von monochromatischem Licht durch die körpereigenen Chromophore der Zelle, wie Hämoglobin, Melanin und Wasser. Das Gerät ist mit einem Diodenlaser im Bereich von 830 nm, einer Objektivlinse mit 30fach Vergrößerung und einer numerischen Apertur von 0.9 ausgestattet. Dabei wird das reflektierte Licht durch eine Lochblende auf den Detektor geleitet und über diesen das aufgenommene Gewebe als horizontales Schnittbild optisch wiedergegeben.

3.2.4 Lichtmikroskopie von Gewebeschnitten

Bei den Gewebeproben wurde die Routinefärbemethode Hämatoxylin-Eosin-Färbung in Studie 2 und 3 angewandt. Die Proben wurden in Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und dann in Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Zur Beurteilung der Präparate wurde das Lichtmikroskop OlympusBX60® (Hamburg, Germany) verwendet.

3.3 Studiendesign

3.3.1 Studie 1: Bestimmung des Haarwachstums nach mechanischer Entfernung mittels OCT im Vergleich zu Trichoscan® und RCM (n=6)

Bei sechs Studienteilnehmerinnen wurden vor Entfernung der Beinhaare diese mit einem schwarzen Haarfärbemittel coloriert. Danach wurden die Unterschenkel bei 37°C warmen Wasser gereinigt. Nach Auftragen des Rasierschaums am Unterschenkel, wurden die Beinhaare entfernt. Anschließend wurden diese wieder mit Wasser gereinigt und abgetrocknet. Unmittelbar nach der Haarentfernung wurden die Länge der gekürzten Haare mit der Trichoscan®, der RCM und der OCT Methode bestimmt. Weiterhin wurde drei und fünf Tage später die Länge der nachwachsenden Haare mit Hilfe der Trichoscan® und der OCT Methode gemessen.

3.3.2 Studie 2: Untersuchung der Wundheilungsphase von chronischen Wunden im Vergleich zu histologischen Schnitten (n=6)

In einem Zeitraum von zwei Wochen wurden sechs Patienten und Patientinnen mit chronischen Wunden, die durch chronische Veneninsuffizienz (n=3), Pyoderma gangraenosum (n=1) und Vaskulitis (n=2) verursacht wurden, untersucht. Dabei wurden zunächst die Wunden klinisch untersucht und täglich die Wundheilung durch Wechsel des Wundverbandes kontrolliert. Alle drei Tage wurde der Wundverlauf mittels optischer Bildgebung durch digitale Fotografien und der OCT festgehalten. Das Kopfstück des Sensors wurde hierfür im Bereich der Wunde positioniert, während der Sensor selbst keinen direkten Kontakt zur Haut hatte, so dass eine berührungsfreie Messung erfolgen konnte. Die Wundheilungsphasen wurden nach den standardisierten histologischen Kriterien festgelegt und mittels OCT-Bildgebung dargestellt.

3.3.3 Studie 3: Ermittlung der Tumorgrenzen vor operativer Entfernung bei nicht melanozytären Tumoren (n=18)

18 Patienten und Patientinnen mit 19 tumorverdächtigen Hautläsionen wurden in der Studie untersucht. Die Grenzen des Tumorgewebes wurden durch die Vorlage von Pflastermaterial (Steri-Strip®) im Grenzbereich der veränderten Gewebestruktur, die mittels OCT dargestellt wurde, festgelegt und mit einem wasserfesten Hautstift markiert. Bei 13 Patienten und Patientinnen wurden die Tumorgrenzen vor Exzision mit dem punktuellen Multi-Slice Modus gemessen, bei vier Patienten mit dem Free-Run Modus und bei zwei Patienten mit der Kombination der beiden Methoden. Danach wurde das tumorverdächtige Gewebe unter Lokalanästhesie entfernt. Nach der Exzision wurden die Grenzen, die zuvor mit der OCT ermittelt wurden, durch eine Markierung mittels einer Farbstoff-Tätowierung oder durch Nähte auf den Präparaten nachvollzogen. Diese Exzidate wurden zur histologischen Beurteilung aufgearbeitet.

4. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in drei Publikationen zusammengefasst.

4.1 Studie 1: Bestimmung des Haarwachstums nach mechanischer Entfernung im Vergleich zu Trichoscan® und RCM

"Analysis of the efficiency of hair removal by different optical methods: comparison of Trichoscan, reflectance confocal microscopy, and optical coherence tomography."

Kuck, M., Schanzer, S., et al (2012), J Biomed Opt 17(10): 101504.

Es konnte gezeigt werden, dass die OCT neben dem Trichoscan® und RCM-Verfahren für die Messung von Haarlängen geeignet ist. Nach der OCT-Messung wird die Aufnahme durch eine senkrechte Bildgebung dargestellt, die mit einem histologischen Schnitt vergleichbar ist, während bei den Methoden Trichoscan® und RCM das Bild horizontal wiedergegeben wird. Die OCT-Messung ermöglichte die Messung der Haarlänge von einzelnen Haaren direkt nach Rasur und im Verlauf der fünf Tage nach Entfernung. Es konnten sowohl das gekürzte Haar im Bereich der Epidermis sowie der Haarfollikel dargestellt werden. Im Vergleich dazu konnte die RCM-Methode mit der höchsten Auflösung nur direkt nach der Haarentfernung eingesetzt werden, da, sobald das Haar nachwächst und ein Niveau oberhalb des Stratum corneums erreicht wird, keine Messung mehr durchgeführt werden kann. Die Trichoscan® Methode ermöglichte die Messung im Verlauf der fünf Tage und führte zu vergleichbaren Werten. Beim Trichoscan® Verfahren können während einer Messung mehrere Haare aufgenommen werden. Voraussetzung ist ein Anfärben der Haare, da diese ansonsten nicht detektiert werden. Das Anfärben der Haare kann zu Artefakten führen, die teilweise mitgemessen werden. Zum Zeitpunkt direkt nach der Rasur und drei Tage danach konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der OCT und dem Trichscan® Verfahren nachgewiesen werden.

4.2 Studie 2: Untersuchung der Wundheilungsphasen von chronischen Wunden im Vergleich zu histologischen Schnitten

"Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing." Kuck, M., Strese, H., et al. (2013), Skin Res Technol Jun: 12077.

Die Ergebnisse der OCT Messungen und der histologischen Aufarbeitung wurden innerhalb der Wundheilungsphasen, Inflammations-, Proliferations- und Remodelingphase, sowie an gesunden Hautpartien miteinander verglichen. Der Vergleich der Messungen an intakter Haut zeigte übereinstimmende Ergebnisse von OCT und histologischem Schnitt. Während der Wundheilung konnten bei beiden Verfahren in der Inflammationsphase der Verlust der Epidermis, der dermo-epidermalen Junktionszone und die Auflagerung von Wundsekret beobachtet werden. In der Proliferationsphase wurden eine beginnende Epithelisierung der Wundränder, die Neubildung der epidermalen Junktionszone und eine gehäufte Anzahl von Gefäßen im Bereich des Stratum reticulare festgestellt. In der Remodelingphase konnte eine abgeschlossene Reepithelisierung mit einer durchgängigen dermo-epidermalen Junktionzone, Anlage von Kollagenfasern in orientierter Reihenfolge und einer ausgeprägten Gefäßverteilung aufgezeichnet werden. Der Verlauf dieser Phasen stimmt mit der histologischen Darstellung überein.

4.3 Studie 3: Ermittlung der Tumorgrenzen vor operativer Entfernung bei nicht melanozytären Tumoren

“Optical coherence tomography for presurgical margin assessment of non melanoma skin cancer - a practical approach.” Alawi, S., Kuck, M., et al (2013), Exp Dermatol. Aug: 22(8):547-51.

Die nicht melanozytären Tumore befanden sich zu 80% im Kopf- und Halsbereich. Die weiteren 20% der Tumore wurden im Bereich des Oberarms, Bauches und Rückens festgestellt. Es wurden insgesamt 61 Grenzpunkte und fünf komplette Tumorgrenzen bei 19 Läsionen untersucht, bei denen histologisch in 63% der Fälle ein Basalzellkarzinom (n=12), in 16% ein Plattenepithelkarzinom (n=3) und in 21% Tumore anderer Entität (n=4) gesichert wurden. In 84% (n=16) der Fälle konnte die laterale Tumorgrenze mit der OCT definiert werden und bei 95% (n=18) war das Gewebe zur Tiefe hin tumorfrei. In 37% der Fälle (n=7) entschied sich der Operateur für den definierten Schnittrand, der zuvor mit der OCT festgelegt wurde, von denen 71% in sano entfernt wurden. Bei 63% der Tumore (n=12) wurden die Schnittränder außerhalb des makroskopisch sichtbaren und durch die OCT ermittelten Tumorgrenzen gewählt, wobei sich in 92% (n=11) die Grenzen mittels OCT bereits in sano befanden.

5. Diskussion

Die Differenzierung und Festlegung eines Krankheitsbildes erfolgt in der Dermatologie durch die klinische und histologische Untersuchung, die seit einiger Zeit durch nicht-invasive Messmethoden unterstützt wird. Die Histologie stellt immer noch den Goldstandard unter den diagnostischen Verfahren dar. Für die benötigte Biopsie ist jedoch ein chirurgischer Eingriff erforderlich, der mit Nebenwirkungen einhergehen kann und zumindest mit einer bleibenden Narbe sichtbar ist. Darüber hinaus stellt die histologische Sicherung von Befunden eine nicht zu vernachlässigende Belastung für die Patienten dar und schränkt wegen der Invasivität die Beobachtung des Krankheits- und Therapieverlaufs ein. Weiterhin kann eine entnommene Gewebeprobe nicht ein zweites Mal während des Krankheitsverlaufs analysiert werden. Dadurch sind kinetische Untersuchungen erschwert möglich.

Daher ist es ein besonderes Ziel, bereits etablierte nicht-invasive Untersuchungsmethoden zu optimieren und die derzeitige Standarddiagnostik damit zu ergänzen. Im Vergleich zur Routinehistologie besteht der große Vorteil der OCT darin, Gewebe *in vivo* darzustellen. Durch die Darstellung morphologischer Veränderungen in Echtzeit ist eine diagnostische Absicherung zu jedem beliebigen Zeitpunkt möglich. Dabei kann der Messbereich mit berührungsfreiem Sensorkopf im Mikrometer-Bereich, mit der Auflösung einer lichtmikroskopischen Untersuchung vergleichbar, variabel eingestellt werden. Die Aufnahmen sind ohne Artefakte und immer wieder im gleichen Untersuchungsareal reproduzierbar. Zudem entsteht ein Zeitgewinn im Vergleich zur Histologie bis zur Diagnosestellung, so dass sofort mit der geeigneten Therapie begonnen werden kann. Die Epidermis, das Stratum papillare und teilweise das Stratum reticulare können bildlich wiedergegeben werden. Neben der Darstellung von Gefäßen und Veränderung von Bindegewebe sind ferner die Hautanhangsgebilde wie Haare und Drüsen sehr detailliert zu erkennen.

In dieser Arbeit wurden Optionen zum Einsatz der OCT in klinisch-praktischen Anwendungen im Vergleich zu etablierten dermatologischen Diagnoseverfahren untersucht.

In einer Studie, in der zudem andere Diagnosemethoden, wie der Trichoscan®- und der RCM-Methode, die gleichfalls die optische Bildgebung von dynamischen Prozessen ermöglichen, konnte das Haarwachstum mittels OCT deutlich dargestellt werden. Durch die senkrechte Schnittführung durch das Haar und Teile des Haarfollikels entspricht die optische Darstellung der OCT einem Vertikalschnitt aus der Histologie und ist sofort erkennbar, während die horizontale Schnittdarstellung

durch das Trichoscan®- und RCM-Verfahren den Betrachter, der nicht regelmäßig mit den Messmethoden arbeitet, teilweise den Befund nicht erkennen und erschwert auswerten lässt. Zudem ist die RCM-Methode nur am Tag direkt nach der Rasur einsetzbar, da sobald das Haar das Niveau des Stratum corneum überschreitet, es sich dann nicht mehr in einer senkrechten Position zur Hautoberfläche befindet. Die Trichoscan®-Technik erlaubt zwar gleichzeitig die Messung mehrerer Haare und ermöglicht die Bestimmung einer höheren Anzahl an Haarwachstumsparametern als die OCT, führt aber teilweise bei den Messungen zu Artefakten, die durch die notwendige Anfärbung der Haare entsteht.

Auch der Verlauf der Wundheilung bedarf einer Messmethode, die über eine längere Zeitperiode die Veränderungen einschätzt und möglicherweise das Therapiekonzept beeinflusst. Insgesamt konnten einige Kriterien für die Inflammations-, Proliferations- und Remodelingphase mit der OCT durch den Verlust und Entstehung von Epidermis, dermo-epidermaler Junctionszone, Vasokonstriktion und -dilatation sowie Veränderungen des Bindegewebes aufgezeigt werden.

Bei der Untersuchung der Hauttumore konnten die lateralen Tumorgrenzen bei 84% der nicht melanozytären Hauttumore richtig identifiziert werden. Dies könnte in Zukunft die Schnittführung bei komplizierten Hautarealen optimieren. Besonders im Bereich der Akren, wie Nase und Ohren, kann μm -genau das tumorverdächtige Areal ausgemessen und somit exzidiert werden. Besonders in diesen Bereichen stehen der ästhetische und funktionelle Wundverschluss und der Erhalt von möglichst viel gesundem Gewebe an erster Stelle.

Zwar können mittels OCT dynamische Prozesse an jeder Stelle der menschlichen Haut erfolgreich visuell dargestellt werden, limitierende Faktoren der OCT sind allerdings, dass sich Strukturen, die sich nicht mehr im Bereich der Epidermis und Teilen der Dermis befinden, für den Betrachter nicht sichtbar sind. Tiefere Strukturen wie Teile des Stratum reticulare und der Subcutis, die für die dermatologische Diagnosestellung oft wegweisend sind, liegen außerhalb des Aufnahmebereichs. Zudem ist die Beurteilung von zellulären Details derzeit nicht möglich, da nur eine Auflösung von bis zu 5 μm erreichbar ist. Die exakte Differenzialdiagnostik von Hauttumoren ist damit erschwert und mit dem OCT Verfahren derzeit nicht sicher zu beurteilen.

Zusammenfassend konnte in den dargestellten Studien gezeigt werden, dass die OCT in der präoperativen dermatologischen Diagnostik, sowie auch bei kosmetischen Fragestellungen, sehr gut einsetzbar ist und insbesondere bei der Bestimmung von

Tumorgrenzen und Beurteilung von Heilungserfolgen als objektives Diagnoseverfahren das klinische Assessment sinnvoll erweitern kann. Die OCT könnte schon jetzt ein fester Bestandteil im klinischen Alltag sein. Die Anwendbarkeit der OCT kann durch die Kombination verschiedener Techniken, wie Auflichtmikroskopie, RCM und Multiphotonentomographie hinsichtlich Übersicht, Auflösung und Scantiefe optimiert werden.

II Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Monika Kuck hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Kuck, M., S. Schanzer, et al. „Analysis of the efficiency of hair removal by different optical methods: comparison of Trichoscan, reflectance confocal microscopy, and optical coherence tomography.” *Journal of Biomedical Optics* 17(10):101504 (2012).

Beitrag im Einzelnen: Erstellung des wissenschaftlichen Konzepts. Alleinige Erstellung des Manuskripts auf der Basis eigener Daten beziehungsweise selbstständiger Literatursuche, Anfertigung graphischer Darstellungen und Tabellen soweit im Text nicht anderweitige Quellen angegeben sind. Diskussionsleitung mit Koautoren und Durchführung von Korrekturarbeiten.

Publikation 2: Kuck, M., Strese, et al. „Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing.” *Skin Research and Technology*, Jun 19.doi: 10-1111/srt.12077 (2013).

Beitrag im Einzelnen: Erstellung des wissenschaftlichen Konzepts. Alleinige Erstellung des Manuskripts auf der Basis eigener Daten beziehungsweise selbstständiger Literatursuche, Anfertigung graphischer Darstellungen und Tabellen soweit im Text nicht anderweitige Quellen angegeben sind. Diskussionsleitung mit Koautoren und Durchführung von Korrekturarbeiten.

Publikation 3: Alawi, S., M. Kuck, et al. „Optical coherence tomography for presurgical margin assessment of non melanoma skin cancer - a practical approach.” *Journal of Experimental Dermatology* Aug: 22(8):547-51 (2013).

Beitrag im Einzelnen: Anfertigung einiger Textabschnitte, Tabellen oder Graphiken. Bereitstellung von Teilen der verwendeten Daten. Mitarbeit bei der Korrektur.

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

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

III Publikationen

Analysis of the efficiency of hair removal by different optical methods: comparison of Trichoscan, reflectance confocal microscopy, and optical coherence tomography.

Authors: Monika Kuck, Sabine Schanzer, Martina Ulrich, Natalie Garcia Bartels, Martina C. Meinke, Joachim Fluhr, Martin Krah, Ulrike Blume-Peytavi, Eggert Stockfleth, Jürgen Lademann.

Journal of Biomedical Optics 17(10), 101504. doi: 10.1117/1.JBO.17.10.101504., Impact Factor: 2.752, 5-Year Impact Factor: 2,945 (Year 2013), Journal Rank in Categories 2013.

<http://dx.doi.org/10.1117/1.JBO.17.10.101504>

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

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

Skin Res Technol. 2013 Jun 19. Impact Factor: 1.409, 5-Year Impact Factor: 1.687 (Year 2012), Eigenfaktor Score: 0.00242, Category

Dermatology Ranking 2012: 32/59

<http://dx.doi.org/10.1111/srt.12077>

Optical coherence tomography for presurgical margin assessment of nonmelanoma skin cancer - a practical approach.

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

Exp Dermatol. 2013 Aug;22(8):547-51. doi: 10.1111/exd.12196., Impact Factor: 3.578, 5- Year Impact Factor: 3.613 (Year 2012), Category Dermatology Ranking 2012: 6/59 International führende Fachzeitschrift mit Eigenfaktor Score: 0.01187, Charité Definition „Topjournal”

<http://dx.doi.org/10.1111/exd.12196>

IV Lebenslauf

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

V Publikationsliste

1. Strese, H., M. Kuck, et al. (2011). "Application of optical methods to characterize textile materials and their influence on the human skin." *Journal of Biomedical Optics* 16(4): 046013.
2. Kuck, M., S. Schanzer, et al. (2012). "Analysis of the efficiency of hair removal by different optical methods: comparison of Trichoscan, reflectance confocal microscopy, and optical coherence tomography." *Journal of Biomedical Optics* 17(10): 101504.
3. Strese, H., M. Kuck, et al. (2013). "Influence of finishing textile materials on the reduction of skin irritations." *Skin Research and Technology* 19(1): e409-416.
4. Kuck, M., H. Strese, et al. (2013). "Evaluation of optical coherence tomography as a non-invasive diagnostic tool in cutaneous wound healing." *Skin Research and Technology* Jun 19. doi: 10.1111/srt.12077.
5. Alawi, S., M. Kuck, et al. (2013). "Optical coherence tomography for presurgical margin assessment of non melanoma skin cancer - a practical approach." *Journal of Experimental Dermatology* Aug: 22(8):547-51.
6. Kuck, M., Alawi, S., et al. (2013). „In vivo Enhancement of Imaging Depth for Optical Coherence Tomography by Eudermic Agents on Ridged and Meshed Human Skin." Submitted to *Journal Laser Physics*.

VI Eidesstattliche Versicherung

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Monika Kuck, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Systematische Beurteilung der Optischen Kohärenztomographie in der Dermatologie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

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

Datum

Unterschrift

VII Danksagung

Mein ausdrücklicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr.-Ing. Jürgen Lademann, Leiter des Bereiches Hautphysiologie an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin. Ich möchte mich für die Überlassung des interessanten Dissertationsthemas und die außergewöhnlich engagierte Betreuung bedanken. Er hatte stets ein offenes Ohr für mich und stand mir mit Rat und Tat hilfreich zur Seite. Zudem möchte ich mich für den internationalen Austausch, der mir während der Dissertationsarbeit ermöglicht wurde, ganz besonders bedanken.

Für die Möglichkeit an der dermatologischen Klinik der Charité zu promovieren, möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Wolfram Sterry und Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Zuberbier bedanken.

Zudem möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Bereiches Hautphysiologie an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und die technische sowie praktische Hilfestellung bedanken. Ich wurde sehr herzlich aufgenommen. Es war eine großartige Zusammenarbeit, die mir viele Anregungen und Ideen verschafft hat.

Weiterhin möchte ich mich bei den vielen freiwilligen Probanden und Patienten bedanken, die sich im Dienste der Wissenschaft bereit erklärt haben, für die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit zur Verfügung zu stehen. Ganz besonderen Dank für die Geduld und Hilfsbereitschaft bei den Untersuchungen und Messungen.

Bei meinen Eltern, meinem Bruder und seiner Familie, die mich stets in meinen Bestrebungen unterstützt haben und mir mein Medizinstudium und die vorliegende Dissertation ermöglicht haben, möchte ich mich ausdrücklich bedanken.