

Diplomarbeit

**Bildanalytische und visuelle Dignitätskriterien von
melanozytären Hauttumoren in der in-vivo konfokalen
Laserscanmikroskopie**

eingereicht von

Andrea Lorber

Mat.Nr.: 0210160

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinik für Dermatologie und Venerologie

unter der Anleitung von

Prof. Dr. Josef Smolle

Dr. Armin Gerger

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, Mai 2008

Um die Lesbarkeit der vorliegenden Arbeit zu erleichtern, wird das generische Maskulinum verwendet, das sowohl männliche als auch weibliche Personen beinhaltet.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen, die an der Durchführung und am Zustandekommen dieser Arbeit ihren Anteil hatten, bedanken.

Insbesondere Herrn Univ. Prof. Dr. Josef Smolle möchte ich für die Überlassung dieses interessanten Themas, für die Betreuung und für das Interesse am Fortgang der Forschungsarbeiten einen herzlichen Dank aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Armin Gerger für die hervorragende Betreuung, die umfassende Hilfestellung bei diversen Problemen und sein stets offenes Ohr, wann immer ich Fragen hatte.

Meinem Bruder, Gerhard Lorber, danke ich für die Unterstützung und Hilfe bei EDV-technischen Fragen.

Mein persönlicher Dank gilt meinen Eltern, Helmut und Elisabeth Lorber, die mir das Studium ermöglicht und mich in jeder Hinsicht unterstützt haben. Sie haben mir durch ihre liebevolle Art viel Mut und Kraft gegeben.

Weiters möchte ich mich bei meinen Freunden bedanken, die mir während meines ganzen Studiums liebevoll zur Seite standen und durch ihr „da sein“ immer eine große Stütze waren.

Zusammenfassung

Das Melanom ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, die nur durch frühe Diagnose und rechtzeitige operative Entfernung vollständig geheilt werden kann. Da die diagnostische Treffsicherheit mit dem bloßen Auge nicht überzeugend ist, sie liegt bei rund 60%, wurde die Auflichtmikroskopie (auch Dermatoskopie genannt), die bereits fixer Bestandteil der Routine Hautkrebsvorsorge ist, eingeführt. Sie zeigt eine Zunahme der Sensitivität um 10 – 27%.

Im letzten Jahrzehnt wurde großes Augenmerk auf die Entwicklung neuer, nicht invasiver Bildgebungstechniken in der Dermatologie gelegt, um die diagnostische Genauigkeit weiter zu verbessern. Neben dem Hochfrequenz-Ultraschall, der optischen Kohärenztomographie und der Spektralanalyse stellt sich die konfokale Laserscanmikroskopie in den Vordergrund. Sie besticht durch ihre hohe Auflösung auf zellulärem Level und ihre hohe Treffsicherheit; sie weist eine Sensitivität von 97,5% und eine Spezifität von 99% in der Melanomdiagnose auf.

Bisherige Studien befassten sich mit der Suche nach subjektiven visuellen Kriterien. Ziel dieser Diplomarbeit war es nun, die Korrelation von statistisch fassbaren mathematisch-bildanalytischen und somit objektivierbaren Kriterien mit visuellen Merkmalen zu untersuchen.

Dafür wurden 857 konfokale Laserscanmikroskopie Bilder, bestehend aus 408 Nävus- und 449 Melanombildern anhand bildanalytischer Kriterien, die auf der wavelet transform basieren, und subjektiver visueller Kriterien bewertet. Für Klassifikationszwecke wurde die CART (Classification and Regression Tree) Software verwendet. Mit Hilfe des gesamten Tumor-Sets wurde von CART ein Entscheidungsbaum gebaut, der 54 Endknoten enthält. Diese teilen sich in 24 Nävus- und 30 Melanomknoten. Anhand dieses Baumes wurden 97,55% der Melanom- und 96,32% der Nävusbilder richtig diagnostiziert. Eine anschließende Korrelationsanalyse konnte zeigen, dass die subjektiven visuellen Kriterien sehr gut mit mathematisch-bildanalytischen Entscheidungskriterien übereinstimmen.

Die hohe Treffsicherheit der CART Analyse lässt darauf schließen, dass das System als zweite Meinung dienen kann. Dies kann sich als sehr wertvoll in der Unterstützung von

klinischen Entscheidungen erweisen. Die subjektiven visuellen Kriterien können bildanalytisch und statistisch reproduziert werden. Darüber hinaus scheinen wichtige diagnostische sub-visuelle Kriterien vorhanden zu sein, die dem menschlichen Auge nicht zugänglich sind.

Abstract

Background:

In vivo confocal laser scanning microscopy (CLSM) represents a novel imaging tool that allows the non-invasive examination of skin cancer morphology at a quasi-histological resolution without biopsy. Previous studies dealt with the search for diagnostic, but subjective visual features. In this study we examined the correlation between image-analysis features and visual criteria.

Methods:

857 CLSM tumour images including 408 benign nevi and 449 melanoma images were evaluated. Image analysis was based on features of the wavelet transform and CART was used for classification purposes. In a second step a visual examination of selected classification tree nodes was performed and the correlation between image analysis features and visual criteria was evaluated statistically.

Results:

CART analysis of the whole set of CLSM images correctly classified 97,55% of all melanoma images and 96,32% of all nevi images. The visual examination of selected nodes demonstrated that monomorphic melanocytic cells and melanocytic cell nests are characteristic of benign nevi whereas polymorphic melanocytic cells, disarray of melanocytic architecture and poorly defined or absent keratinocyte cell borders are characteristic of melanoma. This correlation between image-analysis features and visual criteria could be proved statistically.

Conclusion:

Automated image analysis can be used as a second opinion. It can assist diagnostic decisions in this new imaging technique.

In this study, we could demonstrate that the image-analysis features represent the already known visual features. Our system could also find features that cannot be available to the human eye.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Nicht invasive Untersuchungstechniken in der Melanomdiagnostik..	3
2.1	Dermatoskopie	3
2.1.1	<i>Grundlagen.....</i>	3
2.1.2	<i>Diagnostische Algorithmen der Dermatoskopie</i>	4
2.1.2.1	Musteranalyse.....	4
2.1.2.2	ABCD Regel der Dermatoskopie	6
2.1.2.3	Menzies Methode	8
2.1.2.4	7 Punkte Checkliste	8
2.1.2.5	Vereinfachte ABC Regel (A(A)BCDE Regel).....	9
2.1.2.6	3 Punkte Checkliste	10
2.1.3	<i>Verlaufsdokumentation.....</i>	11
2.2	Neue Verfahren.....	12
2.2.1	<i>Hochfrequenz-Ultraschall</i>	12
2.2.1.1	Grundlagen	12
2.2.1.2	Hochfrequenz-Ultraschall bei melanozytären Hautläsionen	13
2.2.2	<i>Optische Kohärenztomographie.....</i>	15
2.2.2.1	Grundlagen	15
2.2.2.2	Optische Kohärenztomographie bei melanozytären Hautläsionen.....	16
2.2.3	<i>Spektralanalyse.....</i>	17
2.2.3.1	Grundlagen	17
2.2.3.2	Spektralanalyse bei melanozytären Hautläsionen	17
2.2.4	<i>Konfokale Laserscanmikroskopie</i>	20
2.2.4.1	Grundlagen	21
2.2.4.2	Konfokale Laserscanmikroskopie „normaler“ Haut.....	23
2.2.4.3	Konfokale Laserscanmikroskopie bei melanozytären Hautläsionen.....	24
2.2.4.4	Sensitivität und Spezifität der konfokalen Laserscanmikroskopie.....	25
3	Material und Methoden	28
4	Ergebnisse – Resultate	32
5	Diskussion.....	44
6	Literaturverzeichnis.....	47
7	Anhang: Lebenslauf	54

Glossar und Abkürzungen

CART	Classification and Regression Tree
CLSM	konfokale Laserscanmikroskopie
Tab	Tabelle
Abb	Abbildung
SIA.....	Spectrometric Intracutaneous Analysis
CT.....	Computertomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
et al.	et alii
DPW	Dermatoskopie-Punktewert
etc.	et cetera
USA	United States of America
MHz.....	Megahertz
mm	Millimeter
OCT	optische Kohärenztomographie
µm.....	Mikrometer
nm.....	Nanometer
BMP.....	Windows Bitmap
SPSS	Statistical Software Package
IDL Software Tool.....	Interactive Data Language Software Tool

Abbildungsverzeichnis

Abb 1.	SIAscans eines Melanoms	18
Abb 2.	Prinzip der konfokalen Laserscanmikroskopie	21
Abb 3.	Vivascope 3000	22
Abb 4.	Korrelation CLSM (a, c, e, g) und Histologie (b, d, f, h)	23
Abb 5.	CART Algorithmus	32
Abb 6.	Beispielbilder Knoten 4	33
Abb 7.	Beispielbilder Knoten 6 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)	34
Abb 8.	Beispielbilder Knoten 17 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)	34
Abb 9.	Beispielbilder Knoten 19	35
Abb 10.	Beispielbilder Knoten 29	35
Abb 11.	Beispielbilder Knoten 45 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)	36
Abb 12.	Beispielbilder Knoten 15	37
Abb 13.	Beispielbilder Knoten 25	37
Abb 14.	Beispielbilder Knoten 30 (links Nävuszellnävus, rechts Melanom)	38
Abb 15.	Beispielbilder Knoten 36	38
Abb 16.	Beispielbilder Knoten 40	39
Abb 17.	Beispielbilder Knoten 42	39
Abb 18.	Beispielbilder Knoten 51	40
Abb 19.	Beispielbilder Knoten 26 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)	41
Abb 20.	Beispielbilder Knoten 1 (links Nävuszellnävus, rechts Melanom)	41

Tabellenverzeichnis

Tab 1.	ABCD Regel der Dermatoskopie	7
Tab 2.	Menzies Methode	8
Tab 3.	7 Punkte Checkliste	9
Tab 4.	A(A)BCDE Regel (vereinfachte ABC Regel) der Dermatoskopie	10
Tab 5.	CLSM Kriterien zur Unterscheidung von melanozytären Hautläsionen.....	25
Tab 6.	Kriterien zur visuellen Beurteilung der CLSM Bilder	29
Tab 7.	sichere Melanomknoten.....	33
Tab 8.	sichere Nävusknötchen.....	36
Tab 9.	Mittelwerte aller 54 Knötchen (24 Nävus- und 30 Melanomknötchen)	42
Tab 10.	Mittelwerte der 13 sicheren Knötchen (7 Nävus- und 6 Melanomknötchen).....	43

1 Einleitung

Das Melanom ist eine lebensbedrohliche Erkrankung, die nur durch frühe Diagnose und rechtzeitige operative Entfernung vollständig geheilt werden kann (1). Untersuchungen zufolge betrug die jährliche Inzidenz in den Jahren 2001 bis 2003 in der Steiermark 28,6 pro 100.000 Einwohner (2). Im Vergleich dazu finden sich im Allgemeinen in Europa die höchsten Inzidenzen in den nördlichen Regionen (Skandinavien) mit 20,7 pro 100.000 Einwohner und die geringsten in den südlichen mit fünf bis zehn pro 100.000 Einwohner (3).

In den letzten Jahrzehnten wurde enormes Augenmerk auf die Entwicklung nicht invasiver Untersuchungsmethoden zur Tumordiagnose, wie zum Beispiel CT, MRT, PET, ect, um nur einige zu nennen, gelegt. Die Forschungen hinsichtlich nicht invasiver Methoden zur Hautkrebs-Früherkennung hinkten dabei stark hinterher. Grund dafür war, dass die Haut dem menschlichen Auge gut „zugänglich“ ist und auch leicht biopsiert werden kann (4). Nichts desto trotz ist es wichtig aufzuzeigen, dass die Biopsie mit hohen Kosten, Morbidität, Ängsten von Seiten des Patienten (5), aber auch Zeitverlust (die histologische Diagnosestellung dauert durchschnittlich sieben Tage) assoziiert ist.

Da die diagnostische Treffsicherheit mit dem bloßen Auge nicht überzeugend ist, sie liegt bei 60% (6), wurde die Dermatoskopie (auch Auflichtmikroskopie genannt), die zurzeit fixer Bestandteil der Hautkrebsvorsorge ist, eingeführt. Als nicht-invasive Untersuchungsmethode ermöglicht sie die Beurteilung morphologischer Strukturen, die dem freien Auge nicht zugänglich sind. Sie stellt somit die Verbindung zwischen makroskopischer klinischer Dermatologie und mikroskopischer Dermatopathologie dar (1). Mayer et al. (7) zeigten, dass die Auflichtmikroskopie eine 10 – 27% höhere Sensitivität im Vergleich zur Melanomdiagnose mit dem bloßen Auge erreicht.

Um die diagnostische Treffsicherheit jedoch noch weiter zu verbessern, wurde im letzten Jahrzehnt großes Augenmerk auf die Entwicklung und Anwendung neuer bildgebender Verfahren, wie zum Beispiel Hochfrequenz-Ultraschall, optische Kohärenztomographie, Spektralanalyse und konfokale Laserscanmikroskopie gelegt (8).

Unter diesen neuen bildgebenden Verfahren in der Dermatologie stellt sich die konfokale Laserscanmikroskopie (abgekürzt CLSM) in den Vordergrund, da sie mit einer Eindringtiefe von 350 μm (9) eine in-vivo Beurteilung der Epidermis und der papillären Dermis mit annähernd histologischer Auflösung ermöglicht (1). Sie weist eine Sensitivität von 97,5% und eine Spezifität von 99% in der Melanomdiagnose auf (9).

Bisherige Studien befassten sich mit der Suche nach diagnostischen, jedoch subjektiven visuellen Kriterien. In dieser Diplomarbeit wird die Korrelation von statistisch fassbaren mathematisch-bildanalytischen und somit objektivierbaren Kriterien mit visuellen Merkmalen untersucht. Darüber hinaus sollen diagnostische sub-visuelle Merkmale erfasst werden. Die Resultate können eine genauere diagnostische Unterscheidung von melanozytären Hautumoren ermöglichen.

2 Nicht invasive Untersuchungstechniken in der Melanomdiagnostik

2.1 Dermatoskopie

Die Auflichtmikroskopie (auch Dermatoskopie oder Epilumineszenz Mikroskopie genannt) ist bereits ein fixer Bestandteil der Routinediagnostik von Hauttumoren (10). Diese nicht-invasive Untersuchungsmethode ermöglicht die Beurteilung morphologischer Strukturen, die dem freien Auge nicht zugänglich sind und stellt somit eine Verbindung zwischen makroskopischer klinischer Dermatologie und mikroskopischer Dermatopathologie dar (1). Ihr Hauptaugenmerk liegt in der Diagnostik pigmentierter Hautläsionen, aber die Auflichtmikroskopie hat sich auch bei nicht pigmentierten Hautveränderungen, wie nicht-pigmentierten Hautumoren, entzündlichen und infektiösen Hauterkrankungen etabliert (11).

2.1.1 Grundlagen

Anwendung finden sowohl Handgeräte, die eine wesentliche Vereinfachung der Verwendung der Dermatoskopie in der Routinediagnostik gebracht haben (12), als auch digitale Geräte, welche die Möglichkeit zur Verlaufsdokumentation bieten, da die Bilder direkt archiviert und jederzeit wieder aufgerufen werden können. Diese Geräte können verschiedene Vergrößerungsmöglichkeiten (von 6-facher bis zu 100-facher Vergrößerung) aufweisen, wobei die üblichen und weit verbreiteten Auflichtmikroskope eine 10-fache Vergrößerung besitzen, welche sich für die Routinediagnostik pigmentierter Hautumoren als ausreichend darstellt. Zur besseren Beurteilbarkeit epidermaler und oberflächlicher dermaler Strukturen wird eine Flüssigkeit, entweder Öl, Alkohol oder Wasser auf die Läsion aufgebracht, welche die Oberflächenreflexion eliminiert. Mittlerweile sind jedoch auch schon Geräte auf dem Markt, die mit polarisiertem Licht und dafür ohne Flüssigkeitsfilm arbeiten (1).

Die Dermatoskopie zeigt eine deutliche Zunahme der diagnostischen Genauigkeit bei der Früherkennung von Melanomen im Gegensatz zur alleinigen Betrachtung mit dem bloßen

Auge (13;14). Mayer et al. (7) zeigten, dass die Auflichtmikroskopie eine 10 – 27% höhere Sensitivität im Vergleich zur Melanomdiagnose mit dem bloßen Auge erreicht. Dies wiederum führt zu einer signifikanten Reduktion der diagnostischen Biopsien (15).

Binder et al. (16) schrieben bereits 1995, dass die Auflichtmikroskopie ausreichend trainiert werden muss. Sie kann die diagnostische Sensitivität bei geschulten Dermatologen deutlich verbessern, jedoch bei in dieser Technik Unerfahrenen verschlechtern.

2.1.2 Diagnostische Algorithmen der Dermatoskopie

2.1.2.1 Musteranalyse

Die Musteranalyse von Pehamberger et al. (17) von 1987 ist das erste Modell zur auflichtmikroskopischen Diagnose von pigmentierten Hauttumoren, die auf einer qualitativen Bewertung der dermatoskopischen Kriterien beruht. Sie ist die Grundlage für die nachfolgend beschriebenen vereinfachten diagnostischen Algorithmen.

Kriterien zur Bewertung von melanozytären Hautläsionen sind:

- **Farbe:**

Die Farbe der melanozytären Läsion variiert je nach Lokalisation des Melanins in der Haut. Ist es in den oberen Schichten der Epidermis lokalisiert, erscheint es schwarz. In den unteren Epidermisschichten angeordnet, ist seine Farbe braun, in der papillären Dermis grau und in der retikulären Dermis stahlblau (17).

- **Pigmentnetz:**

Das Pigmentnetz ist ein sehr wichtiges Kriterium und spiegelt die pigmentierten Reteleisten wieder. Ein diskretes reguläres Pigmentnetz deutet auf eine benigne Läsion hin, wohingegen prominente irreguläre Netze eher für Malignität sprechen. Weiters zeigt sich ein engmaschiges Pigmentnetz bei gutartigen und ein weitmaschiges bei bösartigen Hautläsionen.

- **Braune Globuli:**

Diese braunen Globuli entsprechen unterschiedlich intensiv pigmentierten Nestern von Melanozyten in der oberen Dermis. Sind sie regelmäßig, pflastersteinartig angeordnet, spricht das für Benignität. Treten sie jedoch unregelmäßig auf, kann man von Malignität ausgehen (18).

- **Pseudopodien und radiäre Streifen:**

Pseudopodien und radiäre Streifen zeigen sich histologisch als Anhäufungen von Melanozyten in der oberen Dermis und präsentieren die strahlenförmige Wachstumsphase der Melanome. Trotz histologischer Übereinstimmung unterscheiden sich diese beiden Muster morphologisch. Pseudopodien erscheinen in der Dermatoskopie als schwarz-braune trommelschlegelartig verdickte, periphere Ausläufer (19), wohingegen radiäre Streifen als schwarz-braune lineare Strukturen imponieren (20).

Pseudopodien und asymmetrisch angeordnete radiäre Streifen sind Zeichen einer malignen pigmentierten Hautläsion.

- **Schwarze Punkte / black dots:**

Black dots werden durch Aggregate pigmentierter Melanozyten oder stark melaninhaltiger Keratinozyten im Stratum corneum gebildet (18). Findet man diese Strukturen im Zentrum einer melanozytären Hautläsion, so deutet das auf eine gutartige Läsion hin. Sind sie jedoch in der Peripherie angeordnet, so spricht das für eine dysplastische oder maligne Läsion (17).

- **Weißer Schleier:**

Ein weißer Schleier spricht für ein Melanom. Beurteilt man diese Struktur im histologischen Schnitt, zeigt sich eine Orthokeratose und Hypergranulose.

- **Weißer narbenartige Areale:**

Dieses Kriterium findet sich bei Melanomen mit Regression und geht histologisch gesehen mit einer Melaninverminderung und Fibrose einher.

○ **Grau-blaue Areale:**

Grau-blaue Areale, die sich histologisch als oberflächliche Fibrose mit Melanophagen zeigen, sind typisch für Melanome mit Regression oder sehr dicke Melanome.

○ **Hypopigmentierung:**

Hypopigmentierungen findet man sowohl bei gutartigen als auch bösartigen melanozytären Hautläsionen. Histologisch zeigt sich eine Verminderung von Melanin.

Folgendes kann Ursache dieser Hypopigmentierung sein:

- Normale Reifung eines dermalen Nävus
- Ostien der Haar- und Talgdrüsenfollikel
- Narben in Nävi und Melanomen
- Regressionszonen bei Melanomen

○ **Stahlblaue Areale:** finden sich bei blauen Nävi (18)

Wird die Musteranalyse von Dermatoskopie erfahrenen Dermatologen verwendet, ist sie die verlässlichste dermatoskopische Methode zur Differenzierung melanozytärer Hautläsionen (21).

Um aber die diagnostische Genauigkeit auch bei in der Dermatoskopie Unerfahrenen zu erhöhen, wurden neue, vereinfachte Algorithmen, die alle auf der Musteranalyse basieren, erforscht.

2.1.2.2 ABCD Regel der Dermatoskopie

Die ABCD Regel der Dermatoskopie wurde auf der Basis einer semiquantitativen Bestimmung der vier Merkmale Asymmetrie (A für asymmetry), Begrenzung (B für border), Farben (C für color) und dermatoskopische Differenzialstrukturen einer pigmentierten Hautläsion (D für different dermatoscopic structures) entwickelt. Mit Hilfe einer Formel lässt sich der Dermatoskopie-Punktwert (DPW) berechnen (siehe Tabelle 1). Er erlaubt die Unterscheidung zwischen benignen, verdächtigen und malignen Läsionen.

<i>Merkm</i> al	<i>Punktzahl</i>	<i>Formel</i>	<i>Punkte (min / max)</i>
Asymmetrie (in 0, 1 oder 2 Achsen)	0 – 2	x 1,3	0 / 2,6
Begrenzung (abrunder Abbruch des Pigmentmusters in 0 – 8 Segmenten)	0 – 8	x 0,1	0 / 0,8
Farbe (unterschiedliche Farben: weiß, rot, hell-, dunkelbraun, blaugrau, schwarz)	1 – 6	x 0,5	0,5 / 3
Differenzialstrukturen (Netzwerk, strukturlose Areale, Punkte, Schollen, Streifen)	1 – 5	x 0,5	0,5 / 2,5

Tab 1. ABCD Regel der Dermatoskopie

Ein DPW < 4,75 deutet mit hoher Wahrscheinlichkeit auf einen unauffälligen melanozytären Nävus hin. Bei einem Wert > 5,45 muss jedoch vom Vorliegen eines Melanoms ausgegangen werden. Dermatoskopie-Punktwerte dazwischen beschreiben verdächtige Herde, die entweder engmaschig klinisch kontrolliert oder exzidiert werden sollten. Nichts desto trotz gibt es auch gutartige Hautveränderungen, die einen DPW > 5,45 aufweisen können, wie zum Beispiel melanozytäre Nävi mit einer papillomatösen Komponente, kongentitale melanozytäre Nävi, etc. (22).

Das Ziel der ABCD Regel der Dermatoskopie ist, eine möglichst hohe diagnostische Genauigkeit auch für Dermatoskopie Unerfahrene zu erreichen. Diese Methode kann leicht erlernt und angewandt werden und ist sehr hilfreich für Unerfahrene, da sie deutlich einfacher ist als die Musteranalyse (21).

Nachbar et al. (23) überprüften 1994 die Verlässlichkeit der ABCD-Regel im klinischen Alltag und fanden heraus, dass bei einem Schwellenwert von 5,45 mehr als 90% der pigmentierten melanozytären Hautläsionen korrekt klassifiziert wurden. Dabei wiesen alle malignen Melanome einen DPW > 4,75 auf, welcher auf eine suspekthe Läsion hindeutet.

2.1.2.3 Menzies Methode

Die Menzies Methode, 1996 von Menzies et al. (24) veröffentlicht, ist eine vereinfachte Methode und basiert auf elf dermatoskopischen Merkmalen, die nach vorhanden und fehlend bewertet werden (25). Sie wählt Merkmale mit sehr niedriger Sensitivität (0%) für maligne Melanome als negative Kriterien und jene mit hoher Spezifität (> 85%) als positive Kriterien aus (20), wie Tabelle 2 zeigt.

<i>Negative Kriterien</i> (für die Diagnose malignes Melanom dürfen beide Kriterien nicht vorhanden sein)	<ul style="list-style-type: none">○ symmetrisches Pigmentierungsmuster○ Vorhandensein von nur einer Farbe (als Farben werden schwarz, grau, blau, rot, braun und dunkelbraun gewertet)
<i>Positive Kriterien</i> (für die Diagnose malignes Melanom muss mind. ein Kriterium vorhanden sein)	<ul style="list-style-type: none">○ blau-weißer Schleier○ mehrere braune Punkte○ Pseudopodien○ radiale Streifen○ narbige Depigmentierungen○ periphere schwarze Globuli○ mehrere (5-6) Farben○ mehrere blau-graue Punkte○ verbreitetes Pigmentnetz

Tab 2. *Menzies Methode*

Mit dieser Methode kann eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 71% für maligne Melanome erzielt werden (25).

2.1.2.4 7 Punkte Checkliste

Die 7 Punkte Checkliste stellt ebenfalls eine Vereinfachung der Musteranalyse dar. Sie besteht aus drei Hauptkriterien, für die je zwei Punkte vergeben werden und aus vier

Nebenkriterien, denen jeweils ein Punkt zugeteilt wird (siehe Tabelle 3). Durch einfache Addition bekommt man eine Gesamtpunktzahl. Ist diese größer als drei, muss mit einem malignen Melanom gerechnet werden.

<i>Hauptkriterien</i> (je 2 Punkte)	<ul style="list-style-type: none"> ○ atypisches Pigmentnetz ○ grau-blaue Bereiche ○ atypisches Gefäßmuster
<i>Nebenkriterien</i> (je 1 Punkt)	<ul style="list-style-type: none"> ○ radiale Streifen ○ unregelmäßige diffuse Pigmentierungen ○ unregelmäßige Punkte / Globuli ○ Regressionsmuster

Tab 3. 7 Punkte Checkliste

Diese 7 Punkte Checkliste kann ebenso wie die ABCD Regel der Dermatoskopie einfach erlernt und angewandt werden und ist daher für Dermatoskopie Unerfahrene geeignet.

Argenziano et al. (21) verglichen 1998 die 7 Punkte Checkliste mit der ABCD Regel der Dermatoskopie und fanden heraus, dass sie eine höhere Sensitivität (95% versus 85%), Spezifität (75% versus 66%) und diagnostische Genauigkeit (64% versus 51%) liefert. Auch Unerfahrene erzielten mit der 7 Punkte Checkliste eine höhere diagnostische Genauigkeit als mit der ABCD Regel der Dermatoskopie.

2.1.2.5 Vereinfachte ABC Regel (A(A)BCDE Regel)

Blum et al. (26) versuchten mit der ABC Regel einen neuen, leichter lernbaren und einfacher errechenbaren Algorithmus, der auf der ABCD Regel der Dermatoskopie basiert, zu erstellen. Für jedes Kriterium gibt es bei Vorhandensein einen Punkt. Es können also pro melanozytärer Hautläsion maximal sechs Punkte erreicht werden, wobei ab einer Punktzahl von vier Punkten von einer malignen Läsion ausgegangen werden sollte (siehe Tabelle 4).

<i>Kriterium</i>	<i>Punktwert</i>
A symmetrie (ab einer Achse)	1
(A) symmetrie innerhalb der Läsion	1
B egrenzungsabbruch	1
C olor (> 2)	1
D ifferentialstrukturen (> 2)	1
E volution (in den letzten 3 Monaten)	
vom Patienten bemerkt	1
unsichere Angaben	0
keine Veränderung bemerkt	-1

Tab 4. *A(A)BCDE Regel (vereinfachte ABC Regel) der Dermatoskopie*

Mit der vereinfachten ABC Regel werden ähnliche Werte bezüglich Sensitivität und Spezifität im Vergleich zur ABCD Regel der Dermatoskopie erreicht.

2.1.2.6 3 Punkte Checkliste

2000 fand ein virtuelles Consensus Meeting über das Internet statt. Klinische und dermatoskopische Bilder von 108 pigmentierten Hautläsionen wurden von 40 erfahrenen Dermatologen (aus Europa, den USA, Japan, Argentinien, Australien und Mexiko) mit verschiedenen diagnostischen Methoden beurteilt. Das Ziel bestand darin, eine standardisierte dermatologische Terminologie neu zu definieren. Es zeigte sich, dass es drei Kriterien gibt, welche für die Beurteilung melanozytärer Läsionen wichtig sind. Diese sind *Asymmetrie*, *atypisches Pigmentnetz* und *blau-weiße Strukturen*, genannt die 3 Punkte Checkliste (27). Wenn zwei dieser drei Kriterien erfüllt werden, liegt mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit ein malignes Melanom vor (28).

Basierend auf den Ergebnissen des oben genannten Consensus Meetings untersuchten Soyer et al. (28) 2004 die diagnostische Treffsicherheit bei Unerfahrenen und fanden

heraus, dass sie mit Hilfe der 3 Punkte Checkliste vergleichbare Ergebnisse bezüglich der Sensitivität erzielten wie Experten auf diesem Gebiet.

2.1.3 Verlaufsdocumentation

Neben der Vereinfachung der Algorithmen entwickelten sich auch die Dermatoskope technisch weiter, sodass eine sequenzielle Auflichtmikroskopie möglich wurde. Sie bietet die Option digitale Bilder zu speichern, die dann zu einem späteren Zeitpunkt als Vergleichsgrundlage dienen können. So kann der biologische Verlauf suspekter Läsionen über einem bestimmten Zeitraum beobachtet werden (29).

Der positive Effekt der sequenziellen Dermatoskopie wurde bereits 1998 von Braun et al. (30) beschrieben. Kittler et al. (31) stellten fest, dass Pigmentläsionen, die über einen bestimmten Zeitraum beobachtet werden und ein unregelmäßiges Wachstum, eine Veränderung der Form und Zunahme von dermatoskopischen Strukturen, wie zum Beispiel Pseudopodien, unregelmäßiges Pigmentnetz, etc. entwickeln, auf ein Melanom hinweisen. So konnten Kittler et al. beweisen, dass die sequenzielle Dermatoskopie eine hilfreiche Information zur Unterscheidung zwischen Melanomen und gutartigen melanozytären Läsionen bietet.

Eine weitere Studie über die sequenzielle Auflichtmikroskopie von Haenssle et al. (32), die 2006 veröffentlicht wurde, beschreibt ebenfalls den positiven Effekt dieser bei Patienten mit hohem Melanomrisiko. Sie berichtet, dass durch die zusätzliche Verwendung von Information aus der sequenziellen Dermatoskopie die Chance, ein Melanom zu entdecken, um 17 Prozent im Vergleich zur gewöhnlichen Dermatoskopie erhöht werden kann.

2.2 Neue Verfahren

2.2.1 Hochfrequenz-Ultraschall

2.2.1.1 Grundlagen

Als Hochfrequenz-Ultraschall gelten Frequenzen, die über 15 MHz liegen. Ein generelles Prinzip des Ultraschalls ist, dass je höher die Frequenz ist, umso besser ist die Auflösung, aber umso niedriger ist auch die Eindringtiefe. Der in der Dermatologie häufig verwendete 20-MHz-Ultraschall erreicht eine Eindringtiefe von rund sieben mm, mit dieser werden alle diagnostisch wichtigen Schichten mit guter Auflösung erreicht.

Weiters ist zu sagen, dass die Ultraschallwellen, die in die Haut eindringen, durch verschiedene physikalische Phänomene beeinflusst werden, wie Reflexion, Brechung, Streuung und Absorption, die dann das Bild ergeben.

„Entry Echo“:

Das „Entry Echo“ entspricht den oberen Anteilen der Epidermis und ist ein band-ähnliches Echo. Es wird durch die Impedanzunterschiede zwischen dem Stratum corneum und der Umgebung erzeugt und ist nicht ident mit der Breite der Epidermis. In Regionen mit einem breiten Stratum corneum, zum Beispiel an den Fußsohlen, findet sich ein stark reflektiertes Echo. Diese starke Reflexion führt zu einer Abschwächung der darunterliegenden Echos.

Dermis:

Die Dermis mit ihren Kollagenfasern bildet die echoreiche Struktur der Haut. Sie kann, abhängig von der Lokalisation, morphologisch unterschiedlich erscheinen. Meist zeigt sich eine gute Grenze zwischen dem „Entry Echo“ und der Dermis (33).

Der große Vorteil des Hochfrequenz-Ultraschalls besteht darin, dass seine Anwendung nicht-invasiv und relativ kostengünstig ist (34). Außerdem kann er schnell durchgeführt (35) und beliebig oft wiederholt werden, da er nebenwirkungsfrei ist (36).

Im Jahr 1979 veröffentlichten Alexander et al. (37) erstmals eine Arbeit über die Verwendung von A-Mode Ultraschall zur Hautdickemessung bei gesunden Probanden. Viel Entwicklungsarbeit wurde geleistet, sodass mit dem heutigen Equipment zwei- (B-Mode) und dreidimensionale (C-Mode) Bilder der Haut in vivo möglich sind. Gemeinsam mit der technischen Weiterentwicklung wurden auch die Anwendungsgebiete des Ultraschalls in der Dermatologie erweitert (34). So finden sich Studien über die Verwendung der Sonographie bei der Untersuchung von Haarfollikeln (38), zur Messung der chronologischen und lichtbedingten Hautalterung (39), zur Evaluation der Behandlung der Psoriasis vulgaris (40) und zur Diagnose der Sklerodermie (41), um nur einige Beispiele zu nennen.

2.2.1.2 Hochfrequenz-Ultraschall bei melanozytären Hautläsionen

Der Hochfrequenz-Ultraschall bei melanozytären Hautläsionen ist charakterisiert durch Frequenzen von 20 MHz und höher (34).

Mit Hilfe der B-Mode Hochfrequenz-Sonographie lassen sich gut die Größe und die Eindringtiefe von Hautläsionen bestimmen. Hoffmann et al. (42) zeigten, dass eine signifikante Korrelation zwischen der sonographisch und histologisch ermittelten Tumordicke besteht. Aus diesem Grund eignet sich der Hochfrequenz-Ultraschall gut zur nicht invasiven, präoperativen Darstellung der Tumordicke bei malignen Melanomen (43). Bezüglich der Echogenität ist jedoch zu sagen, dass sich benigne Nävi und maligne Melanome sonographisch als homogene echoarme Areale darstellen, die von echoreicher Dermis umgeben werden (44). Bei Melanomen ist die Echogenität zwar tendenziell, aber nicht signifikant höher als bei benignen Nävi (42). Weiters ist zu bemerken, dass sich kein Zusammenhang zwischen Echogenität und Melanomdicke zeigen lässt (44). Neben der Hypoechogenität fehlen weitere spezifische Charakteristika, die ein malignes Melanom beweisen können (43).

Mit Hilfe der C-Mode Hochfrequenz-Sonographie (dreidimensionale Rekonstruktion) lässt sich das Tumolvolumen bei malignen Melanomen berechnen (36).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass der Nutzen des Hochfrequenz-Ultraschalls vor allem in der nicht invasiven präoperativen Abschätzung der Tumorgröße liegt, da mit dieser Technik keine wirklich zufrieden stellende Unterscheidung zwischen benignen und malignen Hauttumoren erreicht werden kann (10).

2.2.2 Optische Kohärenztomographie

2.2.2.1 Grundlagen

Die optische Kohärenztomographie (abgekürzt OCT) wurde ursprünglich zur nicht-invasiven Untersuchung des menschlichen Auge entwickelt (45).

Die OCT ist auch eine nicht-invasive Technik, die die Erstellung von Hautschnittbildern in Echtzeit ermöglicht. Sie kann mit dem Hochfrequenz-Ultraschall verglichen werden, es werden jedoch anstatt Schallwellen Lichtpulse niederkohärenter Superlumineszenzdiode verwendet (46). Ein Interferometer spaltet diese Lichtpulse in zwei Teile. Der eine Strahl geht in das zu untersuchende Gewebe und der zweite Strahl wird auf einen Referenzspiegel geschickt. Die beiden zurückreflektierten Strahlen werden dann wieder kombiniert und bilden ein Interferenz-Signal, das von einer Photodiode detektiert wird. So können zweidimensionale „cross-sectional“ Bilder des menschlichen Gewebes entstehen (47).

Dabei kann mit den neueren Geräten eine mikroskopische Auflösung von 15 µm mal 12 µm und eine Eindringtiefe von bis zu 2,6 mm erreicht werden (46). Mit dieser Auflösung, welche deutlich höher ist als die, die mit dem Hochfrequenz-Ultraschall erreicht werden kann, kann die Architektur der zu beurteilenden Hautläsion dargestellt werden. Die Beurteilung einzelner Zellen ist jedoch nicht möglich (48).

1997 beschrieben Welzel et al. (49) Untersuchungen zur Anwendung der optischen Kohärenztomographie für in vivo Untersuchungen der Haut und stellten fest, dass es mit dieser Methode möglich ist, die unterschiedlichen Hautschichten nicht-invasiv darzustellen. Außerdem formulierten sie bereits den möglichen potenziellen Nutzen der OCT zur Früherkennung von malignen Melanomen.

Die Vorteile dieser Technik sind, dass sie schnell und einfach anwendbar, relativ kostengünstig ist und keine Nebenwirkungen hat. Daher kann sie zur Beurteilung von Hauttumoren, von entzündlichen Hauterkrankungen und zur Evaluation von Behandlungseffekten verwendet werden (48). Außerdem gibt diese Methode, da sie real-time Bilder ermöglicht, Auskunft über die funktionellen Vorgänge in der Haut (47).

2.2.2.2 Optische Kohärenztomographie bei melanozytären Hautläsionen

Die optische Kohärenztomographie stellt eine relativ neue Methode in der nicht invasiven Diagnostik von Hauttumoren dar (10). Sie ermöglicht zwar die Beurteilung der Architektur einer Hautveränderung, doch die Auflösung ist zu gering, um die Morphologie einzelner Zellen erfassen zu können (50).

Es finden sich einige Artikel, in denen Forscher versuchten, Merkmale, die in der optischen Kohärenztomographie sichtbar sind, auch im histologischen Schnitt nachzuweisen, zum Beispiel von Bechara et al. (51) und de Giorgi et al. (50). Das Problem besteht aber darin, dass beide Studien nur sehr geringe und ausgewählte Fälle untersuchten.

Weiters fehlen, da dies eine relativ neue Methode darstellt, noch Sensitivitäts- und Spezifitätsstudien zu diesem Thema (52).

2.2.3 Spektralanalyse

2.2.3.1 Grundlagen

Ein SIAskop (SIA = Spectrometric Intracutaneous Analysis) ist ein portables Gerät mit einer tragbaren Bildgebungseinheit, die auf die zu betrachtende Hautläsion aufgesetzt wird. Es werden Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlänge (400 bis 1000 nm) ausgestrahlt, die von den verschiedenen Hautbestandteilen absorbiert oder reflektiert werden. Anhand bekannter Interaktionen der Lichtstrahlen mit der menschlichen Haut kann ein in das Gerät integrierter Computer durch aufwendige mathematische Kalkulationen innerhalb von Sekunden horizontale Bilder der Läsion, so genannte SIAscans entstehen lassen (53).

Mit einer Eindringtiefe bis in die papilläre Dermis zeigen diese SIAscans die Menge an Hämoglobin, Melanin und Kollagen, die die untersuchte Hautstelle enthält. Außerdem kann unterschieden werden, ob sich das Melanin in der Epidermis oder Dermis befindet.

Es gibt zwei Arten von SIAskopen. Kontakt-SIAskopie verwenden eine spezielle Kamera, die die Haut berührt und dadurch ein besonders hochauflösendes Bild ermöglicht. Die Nicht-Kontakt-SIAskopie hingegen erzeugen Bilder aus der Ferne (54).

Neben dem Einsatz der SIAskopie zur Differentialdiagnose zwischen gutartigen Nävi und Melanomen finden sich auch Studien über die Verwendung dieser Technik zur Unterstützung der in vivo Diagnose nicht-melanozytärer Hauttumoren (55).

2.2.3.2 Spektralanalyse bei melanozytären Hautläsionen

Moncrieff et al. (56) veröffentlichten 2002 die erste große Arbeit über die SIAskopie bei melanozytären Hauttumoren, die viel versprechende Ergebnisse lieferte. Sie fanden einfache, aber signifikante Muster, wie „blood displacement mit erythematous blush“, Kollagenlöcher („collagen holes“) und unregelmäßig angeordnetes dermales Melanin, die hoch spezifisch (80,1%) und sensitiv (82,7%) für Melanome in einem Datensatz von 348 pigmentierten Läsionen waren.

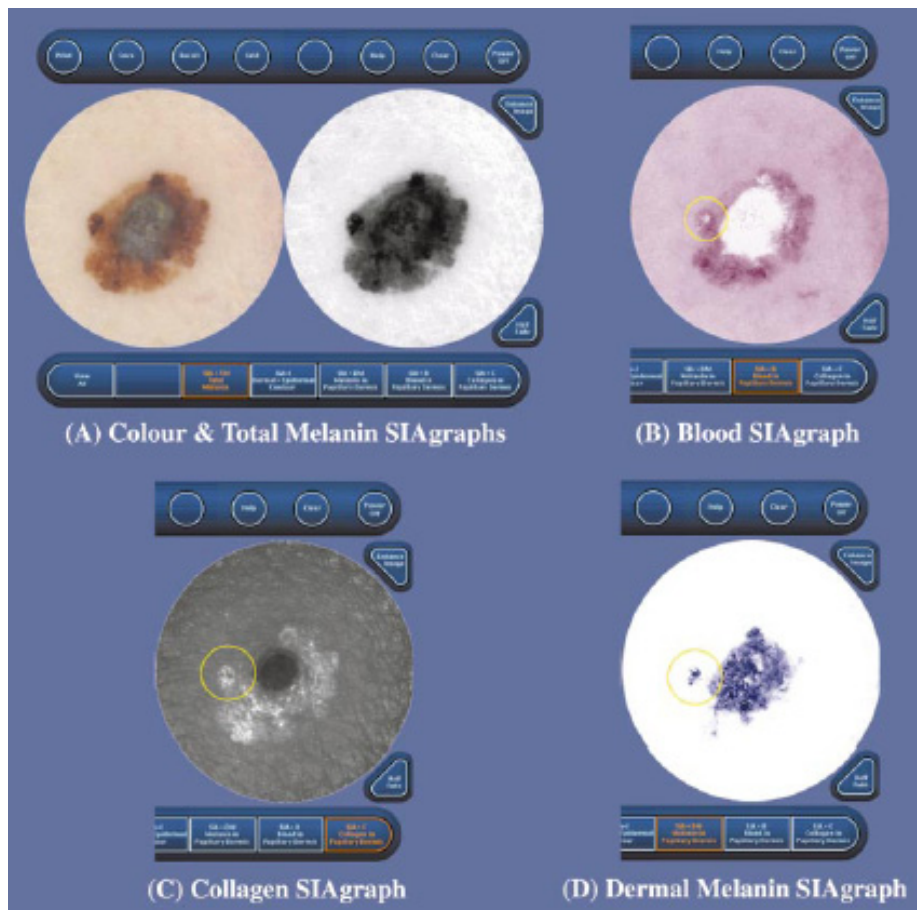


Abb 1. *SIAscans eines Melanoms (56)*

Das in Abbildung 1 gezeigte Bild eines Melanoms (2,5 mm Breslow Dicke und Clark's Level IV) soll diese Technik veranschaulichen.

„**Blood displacement**“, das sich unter (B) als weißes Areal darstellt, kann dadurch erklärt werden, dass invasive Melanomnester das Blut aus der papillären Dermis verdrängen, der „**erythematous blush**“ hingegen dadurch, dass die frühe dermale Invasion zu einer starken Immunreaktion führt, die sich als Vasodilatation und Fibrose zeigt.

Kollagen zeigt sich im SIAscans weiß (C), **Kollagenlöcher** hingegen als schwarze Areale. Diese entstehen dort, wo die papilläre Dermis durch Invasion ersetzt wird (56).

Außerdem zeigt sich das **dermale Melanin** bei malignen Melanomen unregelmäßig angeordnet, wohingegen gutartige Nävi regelmäßig angeordnetes Melanin in der Epidermis und Dermis aufweisen (57). Wichtig zu erwähnen ist, dass nicht ein Merkmal entscheidend ist, sondern vielmehr die Kombination dieser (56).

Im Gegensatz zu den schwierig erlernbaren Mustern in der Dermatoskopie, die viel Erfahrung brauchen, sind diese der SIAskopie leicht zu erlernen und zu verwenden (58).

Die SIAskopie weist eine Sensitivität von 82,7% und eine Spezifität von 80,1% für die Diagnose von Melanomen auf (56). Allerdings ist zu sagen, dass diese Werte bei relativ wenigen Fällen erzielt wurden. Haniffa et al. (59) erforschten hingegen die Anwendung dieser Methode bei 881 Läsionen von 860 Patienten einer Melanom-Screening-Klinik und fanden keine Evidenz für die Erhöhung der diagnostischen Treffsicherheit durch die SIAskopie.

2.2.4 Konfokale Laserscanmikroskopie

Die konfokale Laserscanmikroskopie (abgekürzt CLSM) ist die vielversprechendste dieser neuen Techniken, da sie eine in vivo Beurteilung der Epidermis und der Dermis mit annähernd histologischer Auflösung ermöglicht. Sie bietet ein so genanntes „Fenster in lebendes Gewebe“ (1).

Die Vorteile dieser neuen Untersuchungstechnik sind:

- Der große Vorteil der konfokalen Laserscanmikroskopie liegt darin, dass sie eine Auflösung auf zellulärem Level ermöglicht.
- Diese Methode ist nicht invasiv, was dem Patienten Schmerzen und Stress erspart, denn üblicherweise wird zur sicheren Diagnosestellung eine Probeexzision mit histologischer Beurteilung durchgeführt.
- Da die konfokale Laserscanmikroskopie eine „real-time“ Methode darstellt, kann die Diagnose „at bedside“ gestellt werden und das Warten auf die histologischen Ergebnisse fällt weg.
- Die angefertigten Bilder können leicht archiviert werden und somit als Vergleichsgrundlage für Folgeuntersuchungen dienen (60).
- Außerdem weist die konfokale Laserscanmikroskopie eine ausgezeichnete diagnostische Treffsicherheit auf (9).

Im Gegensatz zu den vertikalen Schnitten in der konventionellen Histologie werden bei der CLSM horizontale Bilder der Haut erzeugt (1). Ein weiterer Vorteil der CLSM ist, dass bei dieser Methode das zu untersuchende Gewebe nativ, das heißt ohne Fixation, wie es jedoch für die konventionelle Histologie notwendig ist, untersucht werden kann (61).

In den letzten Jahren wurde viel Entwicklungsarbeit geleistet, sodass mit den heutigen Geräten eine Eindringtiefe von 350 µm erreicht werden kann, was der papillären Dermis entspricht. Ein negativer Aspekt der CLSM ist jedoch, dass zum derzeitigen Stand der

Technik Prozesse in der retikulären Dermis und die Eindringtiefe von Tumoren nicht genau beurteilt werden können (9).

2.2.4.1 Grundlagen

Bei der konfokalen Laserscannmikroskopie wird ein Laserstrahl durch eine Objektivlinse auf einen „Punkt“ des zu untersuchende Gewebes fokussiert. Das von dem betrachteten „Punkt“ emittierte Licht wird von derselben Objektivlinse gesammelt und auf einen Detektor gelenkt. Vor diesem Detektor befindet sich eine Lochblende, das so genannte „Pinhole“, das versichert, dass nur das Licht der fokussierten Ebene auf den Detektor gelangt (10).

Um mehr als die Information eines „Punktes“ zu bekommen, können der gesamte zu untersuchende Bereich einer Ebene, aber auch verschiedene Ebenen (nach oben und unten) gescannt werden. Danach besteht die Möglichkeit einer dreidimensionalen Rekonstruktion mit dem Computer (62).

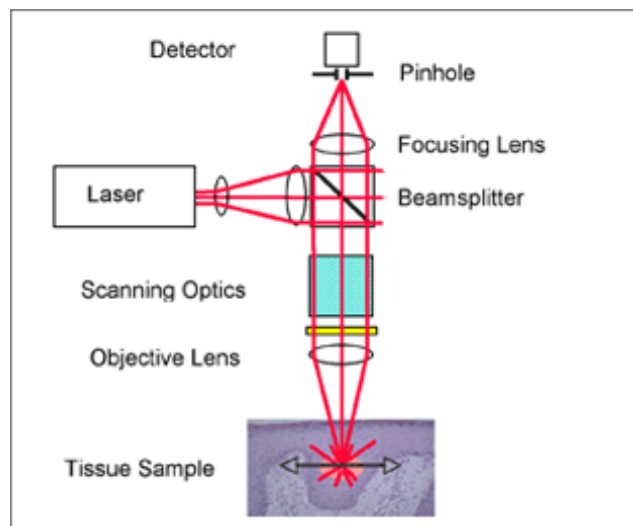


Abb 2. *Prinzip der konfokalen Laserscannmikroskopie (63)*

Der Kontrast der Bilder wird durch die verschiedenen Brechungsindices der Organellen und Mikrostrukturen innerhalb der Haut erzeugt. Der Farbstoff Melanin verursacht einen starken Kontrast. Der Grund dafür ist, dass der Großteil des auf ihn gestrahlten Lichtes

wieder reflektiert wird. Somit erscheint das Zytoplasma stark pigmentierter Zellen sehr hell. Was man mit dem freien Auge als braun oder schwarz wahrnimmt, ist in den Bildern des konfokalen Laserscanmikroskops hell oder weiß (64). Dies ist auch die Tatsache, warum sich melanozytäre Hautläsionen gut von der umgebenden normalen Haut abgrenzen lassen (65).

Im Jahr 1995 entwickelten Rajadhyaksha et al. (64) ein konfokales Laserscanmikroskop zur in vivo Betrachtung der menschlichen Haut und publizierten erstmals in vivo Untersuchungen der menschlichen Haut. Bereits zwei Jahre später kam das erste kommerziell erhältliche konfokale Laserscanmikroskop für Forschungszwecke auf den Markt (Vivascope 1000, Lucid Inc., Rochester, NY, USA) (66). Weiterentwicklungen sind das Vivascope 1500 und das erste handliche Laserscanmikroskop, das Vivascope 3000 (siehe Abbildung 3), das die gleiche Bildqualität wie das Vivascope 1500 aufweist, aber leicht und daher ideal für den Routinegebrauch ist (67).



Abb 3. *Vivascope 3000* (67)

2.2.4.2 Konfokale Laserscanmikroskopie „normaler“ Haut

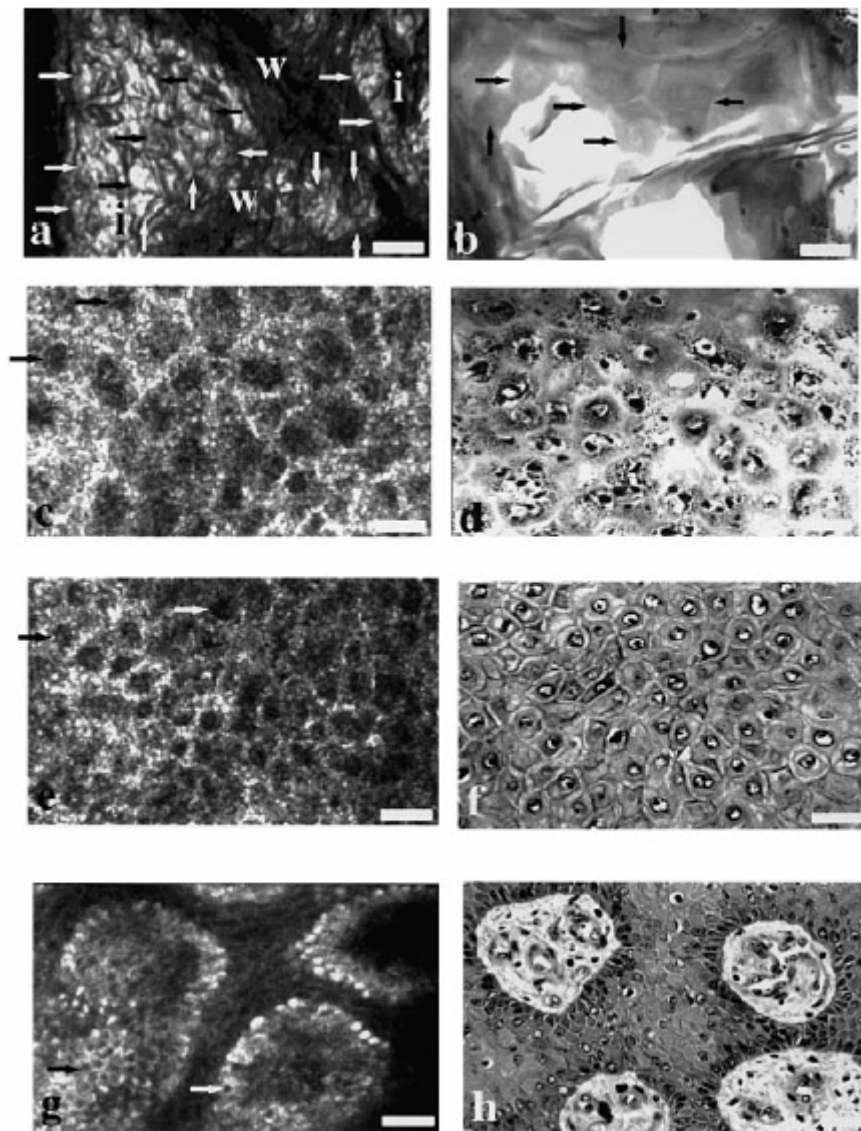


Abb 4. Korrelation CLSM (a, c, e, g) und Histologie (b, d, f, h) (61)

Abbildung 4 zeigt die gute Korrelation zwischen der konfokalen Laserscanmikroskopie und der korrespondierenden (horizontalen) Histologie.

Das Stratum corneum (a) wird von großen, polygonalen, kernlosen Korneozyten gebildet. Diese weisen in der CLSM eine Größe von 10 – 30 μm auf und stellen sich als helle, polygonale Gebilde mit dunkler Umrandung dar. Unter (i) zeigen sich Inseln von Korneozyten, die durch Hautfalten (w) voneinander getrennt werden.

Rund 15 – 20 µm unter dem Stratum corneum zeigt sich die nächste Schicht der Epidermis, das Stratum granulare (c), dessen Zellen eine Größe von 25 – 35 µm aufweisen. Sie haben ein helles, körniges Zytoplasma und einen dunklen Kern.

Die Zellen des Stratum spinosum (e), das 100 µm unter dem Stratum corneum liegt, sind kleiner (15 – 25 µm). Sie haben eine polygonale Form, sind honigwabenmusterartig („honeycomb pattern“) angeordnet und besitzen klare Zellgrenzen.

Darunter findet sich eine einzelne Zellreihe von Basalzellen. Die Zellen haben eine Größe von 7 – 12 µm, erscheinen aufgrund des Melaningehaltes sehr hell und sind in Clustern angeordnet. Das kommt dadurch zustande, dass die horizontalen Bilder die dermalen Papillen durchschneiden.

Unter der dermo-epidermalen Junktionszone, 100 – 350 µm unter dem Stratum corneum finden sich Kollagenfaserbündel. Aber auch andere Strukturen wie Blutgefäße, Talgdrüsen, Anteile von Haarfollikeln und Schweißdrüsen lassen sich differenzieren (61).

Wie oben schon beschrieben, besteht eine sehr gute Korrelation zwischen der konfokalen Laserscanmikroskopie und der Histologie. Scope et al. (68) bewiesen, dass auch eine gute Übereinstimmung der CLSM mit der Dermatoskopie bei Melanomen besteht.

2.2.4.3 Konfokale Laserscanmikroskopie bei melanozytären Hautläsionen

Langley et al. (65) erforschten 2001 erstmals systematisch die konfokale Laserscanmikroskopie bei melanozytären Hautläsionen und beschrieben morphologische Kriterien zur Unterscheidung gutartig versus bösartig. Sie untersuchten 40 pigmentierte Läsionen von 29 Patienten, wovon 38 nach den Untersuchungen exzidiert und histopathologisch untersucht wurden. Die in Tabelle 5 beschriebenen Merkmale wurden gefunden.

<i>Kriterium</i>	<i>Nävus</i>	<i>Melanom</i>
Zellmorphologie	runde bis ovale, helle monomorphe Zellen	helle polymorphe (in Form und Größe) Zellen
Architektur	regelmäßige Nävuszellnester	unregelmäßige Architektur
Dendritische Strukturen	selten und wenig verzweigt	häufig und komplex verzweigt
Keratinozyten-zellgrenzen	klar definiert	unklar definiert bis fehlend
Helligkeit der Melanozyten	homogen	inhomogen

Tab 5. *CLSM Kriterien zur Unterscheidung von melanozytären Hautläsionen*

Langley et al. (65) konstatierten, dass monomorphe Strukturen typischerweise bei benignen Nävi und zunehmende Polymorphie und architektonische Unordnung bei malignen Melanomen vorkommen.

2.2.4.4 Sensitivität und Spezifität der konfokalen Laserscanmikroskopie

Gerger et al. (69) veröffentlichten 2005 die erste Sensitivitäts- und Spezifitätsstudie zu diesem Thema. Drei klinische Dermatologen und zwei Dermatopathologen, die keine Vorerfahrungen mit der konfokalen Laserscanmikroskopie hatten, beurteilten je 117 melanozytäre Hautläsionen (90 Nävi und 27 Melanome) und erreichten dabei eine Sensitivität von 88,15% und eine Spezifität von 97,60%.

Außerdem definierten sie die **Melanozyten-Morphologie**, die **melanozytäre Architektur** und die **Keratinozyten-Zellgrenzen** als diagnostisch wertvolle Kriterien.

Pellacani et al. (70) meinten sogar, dass die zelluläre Atypie das Kriterium mit der höchsten Sensitivität für die Melanomdiagnose und das Vorhandensein von kernhaltigen Zellen, welche die dermalen Papillen infiltrieren, das mit der höchsten Spezifität sind.

In einer weiteren Studie dieser Forschungsgruppe wurde gezeigt, dass durch die Anwendung eines Algorithmus die diagnostische Genauigkeit verbessert werden kann. Es gibt zwei Hauptkriterien, die je zwei Punkte wert sind und vier Nebenkriterien mit je einem Punkt. Für die Melanomdiagnose sind das Vorhandensein von jeweils einem Haupt- und einem Nebenkriterium erforderlich. Mit diesem Algorithmus konnten 36 von 37 Melanomen und 47 von 65 benignen Läsionen richtig diagnostiziert werden (71).

Das Problem besteht jedoch darin, dass diese hohen Sensitivitäts- und Spezifitätswerte immer bei wenigen und ausgewählten Fällen erreicht wurden. Nun stellt sich aber die wichtige Frage, ob sich diese ausgezeichneten Ergebnisse auch auf den klinischen Alltag umlegen lassen. Um dieser auf den Grund zu gehen, wurden Untersuchungen mit deutlich größeren Fallzahlen durchgeführt, wie zum Beispiel die von Pellacani et al. (72).

Der derzeit aktuellste Artikel diesbezüglich verwendet 3709 unselektionierte CLSM Bilder von 70 melanozytären Hautläsionen, die von vier klinischen Dermatoonkologen mit moderater Erfahrung bezüglich der konfokalen Laserscanmikroskopie beurteilt wurden. Sie erreichten dabei eine Sensitivität von 97,5% und eine Spezifität von 99%. Somit zeigt diese Studie, dass die konfokale Laserscanmikroskopie auch eine hervorragende Treffsicherheit in „real-world“ Material liefert (9).

Neben der Verwendung der konfokalen Laserscanmikroskopie bei melanozytären Hauttumoren, finden sich Studien über die Anwendung dieser Methode bei Aktinischer Keratose (73), Follikulitis (74), allergischer Kontaktdermatitis (75), Onychomykosen (76), Basalzellkarzinomen (77) und Plattenepithelkarzinomen (78), um nur einige zu nennen.

Im Jahr 2007 wurde von einigen der aktivsten Forscher im Bereich der konfokalen Laserscanmikroskopie bei melanozytären Hautläsionen (aus den USA, Kanada und Europa) ein Konsensus Artikel veröffentlicht, um eine einheitliche Nomenklatur diagnostischer Merkmale festzulegen. Diese ist von großer Bedeutung im Bezug auf die Einführung der CLSM in den klinischen Alltag (79).

Nichts desto trotz stellen diese diagnostischen Kriterien subjektive visuelle Eindrücke einzelner Untersucher dar. Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war es nun eine mögliche Korrelation zu statistisch fassbaren bildanalytischen Kriterien herzustellen. Darüber hinaus wurden sub-visuelle, also dem Betrachter nicht zugängliche diagnostische Kriterien evaluiert.

3 Material und Methoden

CLSM Bilder:

Über einen Zeitraum von zehn Monaten wurden 60 Patienten an der Universitätsklinik für Dermatologie rekrutiert. Die 32 Männer und 28 Frauen wurden über die konfokale Laserscanmikroskopie und deren Anwendung zur Diagnose pigmentierter Hautläsionen aufgeklärt und stimmten der Untersuchung zu. Alle Regeln bezüglich klinischer Forschung an menschlichem Gewebe wurden strikt eingehalten.

70 melanozytäre Hautläsionen dieser Patienten wurden mit einem kommerziell erhältlichen konfokalen Laserscanmikroskop, dem Vivascop 1000 untersucht.

Diese 70 untersuchten Hauttumore gliedern sich in 20 maligne Melanome und 50 benigne Nävi. Alle Melanome wurden nach der Untersuchung exzidiert und von einem ausgebildeten und erfahrenen Dermatopathologen histologisch verifiziert. Sie weisen eine mittlere Tumordicke von 1,48 mm auf (Standardabweichung 1,60; Eindringtiefe für Melanome in-situ bis 6 mm). Von diesen 20 malignen Melanomen zeigen sich histologisch vier Melanome in-situ, fünf mit Regressionsstrukturen (Fibrose mit Melanophagen), drei mit Ulzeration und fünf sind vom nodulären Typ, jedoch keines der Melanome ist amelanozytär. Die 50 benignen Nävi teilen sich in 19 dysplastische Nävi, von denen 14 exzidiert und histologisch verifiziert wurden, und 31 gewöhnliche Nävi.

Das bedeutet, dass 48,57% der untersuchten Hauttumore nach klinischer, dermatoskopischer und konfokaler Begutachtung exzidiert wurden. Die verbleibenden nicht entfernten Hautläsionen wurden mittels bekannter klinischer und dermatoskopischer Kriterien (17) diagnostiziert.

In-vivo CLSM:

Die Bilder wurden mit einem kommerziell erhältlichen konfokalen Laserscanmikroskop, dem Vivascop 1000 (Lucid Inc., Rochester, New York, USA) aufgenommen. Dieses

besitzt einen Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 830 nm und eine Leistung von weniger als 35 mW.

Eine x 30 Objektivlinse mit einer numerischen Öffnung von 0,9 wurde auf einen Adapterring, der auf der zu untersuchenden Hautläsion fixiert wurde, gesetzt. Als Immersionsmedium wurde Wasser (Brechungsindex von 1,33) verwendet. So konnten real-time Bilder der zu untersuchenden Region in x, y und z-Achse in kurzer Zeit „at bedside“ entstehen. Pro untersuchter Hautläsion wurden mindestens 17 bis maximal 170 horizontale Bilder aufgenommen, die dann im BMP Format abgespeichert wurden.

Von den insgesamt 3709 Untersuchungsbildern wurden 857 diagnostisch wertvolle Bilder von vier Dermatologen mit moderater Erfahrung bezüglich der konfokalen Laserscanmikroskopie ausgewählt. Diese wurden schließlich für weitere Analysen verwendet.

Kriterien der konfokalen Laserscanmikroskopie:

Visuelle Kriterien:

Zur visuellen Beurteilung der CLSM Bilder wurden folgende Kriterien, die bereits unter anderem von Langley et al. (65) und Gerger et al. (69) beschrieben wurden, verwendet:

<i>Kriterium</i>	<i>Nävus</i>	<i>Melanom</i>
Zellmorphologie	monomorphe Zellen	polymorphe Zellen
Architektur	regelmäßige Zellnester	architektonische Unordnung
Kerantinozytenzellgrenzen	gut definiert	schlecht definiert bis fehlend

Tab 6. *Kriterien zur visuellen Beurteilung der CLSM Bilder*

Die Beurteilung dieser sechs Kriterien erfolgte durch einen klinischen Dermatologen. Für jedes Bild wurde eine binäre visuelle Klassifikation getroffen (0 für Kriterium fehlend und 1 für Kriterium vorhanden) und in einer SPSS Datei vermerkt.

Bildanalytische Kriterien:

Zur Bildanalyse wurde das „Interactive Data Language“ Software Tool (IDL 5.4, Research Systems, Boulder, CO, USA) verwendet.

Die verwendeten bildanalytischen Kriterien basieren auf der wavelet transform, welche erst kürzlich von Wiltgen et al. (80) ausführlich beschrieben wurde. Jedes der 857 CLSM Bilder wird dabei anhand von 39 Analyseparametern bewertet. Die Zahlenwerte wurden ebenfalls in der SPSS Datei vermerkt.

Statistik:

Für statistische Basisanalysen wurde das SPSS (Statistical Software Package for Windows Version 14.0) verwendet.

Für Klassifikationszwecke wurde die CART 5.0 Software (Classification and Regression Tree, Salford Systems, San Diego, USA), ein Entscheidungsbaum-Werkzeug zur Auswertung großer Datenmengen, herangezogen.

Die Software sucht automatisch wichtige Muster und Beziehungen in hoch komplexen Datensätzen. Der große Wert von CART besteht darin, dass die Software hoch komplexe Interaktionen zwischen Prädiktor-Variablen erfassen und homogene Subgruppen formen kann. Die Klassifikationsbäume suchen Trennkriterien (Bildanalyseparameter), die eine optimale Klassifikation der Bilder im Bezug auf ein spezielles Zielkriterium (Diagnose) ermöglichen.

Eine 10-fache Kreuzvalidierung wurde durchgeführt um die Effizienz der Anwendung zu verbessern. 10-fach Kreuzvalidierung bedeutet, dass insgesamt zehn Bäume generiert werden. Dabei werden alle Bilder jedes Mal zufällig in 90% Lern-Set und 10% Test-Set aufgeteilt, wobei das Lern-Set zur Konstruktion des Baumes herangezogen wird und das Test-Set zur Überprüfung des generierten Baumes. Der beste Baum wird anschließend für weitere Analysen verwendet.

Der Ursprungsknoten eines Baumes ist der Knoten, der das erste Teilungskriterium enthält und zu zwei Tochterknoten führt. Wenn ein Knoten nicht mehr weiter aufgeteilt werden kann, wird er als Endknoten bezeichnet. Dieser enthält dann eine bestimmte homogene Gruppe von Fällen (81).

Ablauf der Datenanalyse:

Insgesamt wurden 857 konfokale Laserscanmikroskopie Bilder, davon 408 benigne Nävi und 449 maligne Melanome verwendet.

Im ersten Schritt wurde mittels CART ein Entscheidungsbaum aus den Daten (Diagnose und bildanalytische Parameter) aller CLSM Bilder generiert. Die 10-fach Kreuzvalidierung wurde verwendet, um die Effizienz der Methode zu verbessern. Danach wurde der Datensatz jedes einzelnen Bildes über den Algorithmus geschickt und der Knoten, in dem er landete, vermerkt.

Im zweiten Schritt wurden alle Bilder (BMP Format) nach Knoten geordnet und es folgte eine subjektive Beurteilung der Bilder bestimmter Knoten. Als sichere Knoten wurden jene Knoten ausgewählt, die eine Trefferwahrscheinlichkeit von $> 90\%$ und eine Fallzahl von über 10 Fälle aufweisen. Aufgrund dieser Kriterien für die Knotenauswahl ergaben sich sechs sichere Melanomknoten und sieben sichere Nävusknöten. Anschließend wurden unsichere Knoten, das sind solche Knoten, die sowohl maligne Melanome als auch benigne Nävi in annähernd gleicher Menge beinhalten, ebenfalls einer subjektiven Beurteilung unterzogen.

Im dritten Schritt wurde mittels SPSS die Häufigkeit der visuellen Kriterien pro Knoten berechnet und anschließend der Mittelwert dieser Kriterien ermittelt um schlussendlich eine Korrelation zwischen statistisch fassbaren mathematisch bildanalytischen und somit objektiven Kriterien mit visuellen Merkmalen statistisch zu beweisen.

4 Ergebnisse – Resultate

Generelle Beobachtungen:

Die CART Analyse der gesamten CLSM Bilder erreichte ein korrekte Klassifikation von 97,55% der malignen Melanome und 96,32% der benignen Nävi. Das bedeutet, dass 438 der 449 bösartigen und 393 der 409 gutartigen Läsionen von CART richtig diagnostiziert wurden.

Wie man der Abbildung 5 entnehmen kann, erstellte die CART Analyse 54 Endknoten, wobei 24 davon Nävus- (blau) und 30 Melanomknoten (rot) darstellen. Pro Knoten finden sich mindestens ein Bild bis maximal 179 Bilder. Je kräftiger die Farbe des Knoten ist, desto höher ist die diagnostische Treffsicherheit. In grüner Farbe sind die Knoten gehalten, die noch in zwei Tochterknoten aufgeteilt werden können.

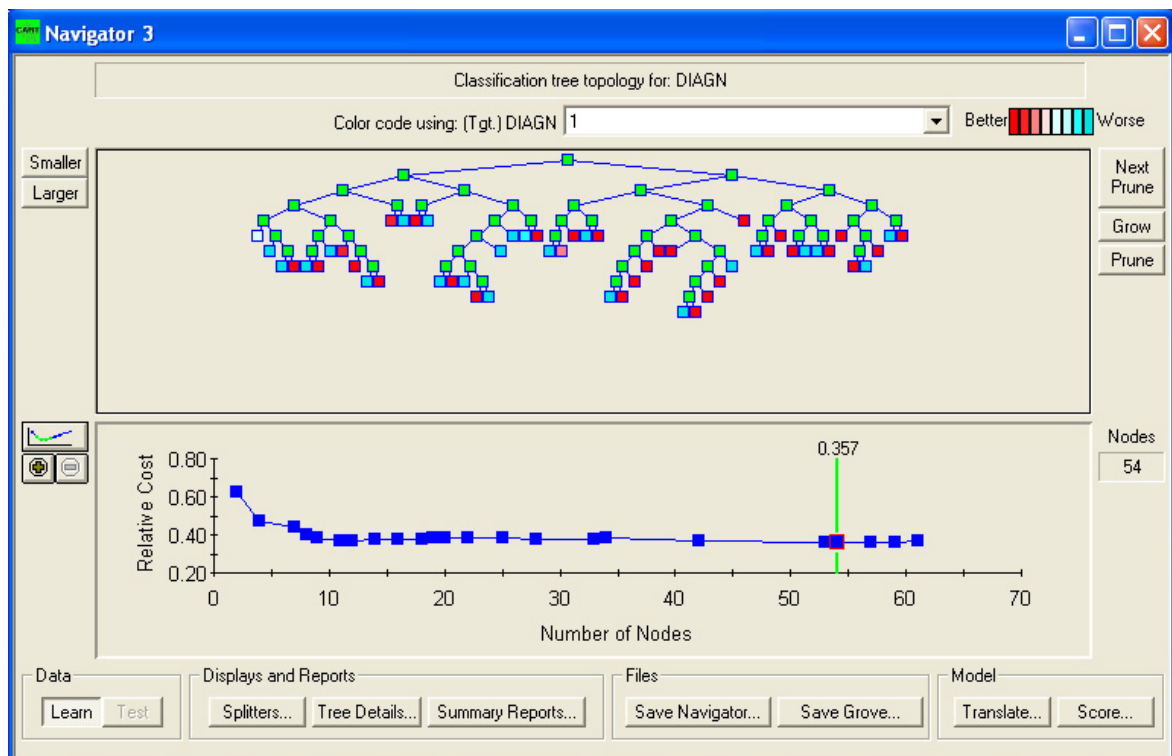


Abb 5. CART Algorithmus

Sichere Melanomknoten:

Kriterien für die Auswahl sicherer Knoten sind eine Trefferwahrscheinlichkeit von $> 90\%$ und eine Fallzahl von > 10 Fällen. Anhand dieser zeigten sich sechs sichere Melanomknoten, die Knoten 4, 6, 17, 19, 29 und 45.

<i>Knoten</i>	<i>Fallzahl</i>	<i>Trefferwahrscheinlichkeit</i>
29	17 Fälle	100%
19	14 Fälle	100%
17	76 Fälle	98,68%
45	69 Fälle	98,55%
6	26 Fälle	96,15%
4	179 Fälle	95,53%

Tab 7. *sichere Melanomknoten*

Der Knoten 4 ist mit 179 Bildern der größte aller Knoten. Obwohl sich der Knoten vielgestaltig präsentiert, besitzt der Großteil der Bilder neben architektonischer Unordnung und fehlenden Keratinozytenzellgrenzen vereinzelte, meist sehr helle und gut abgrenzbare polymorphe Zellen (siehe Abbildung 6).

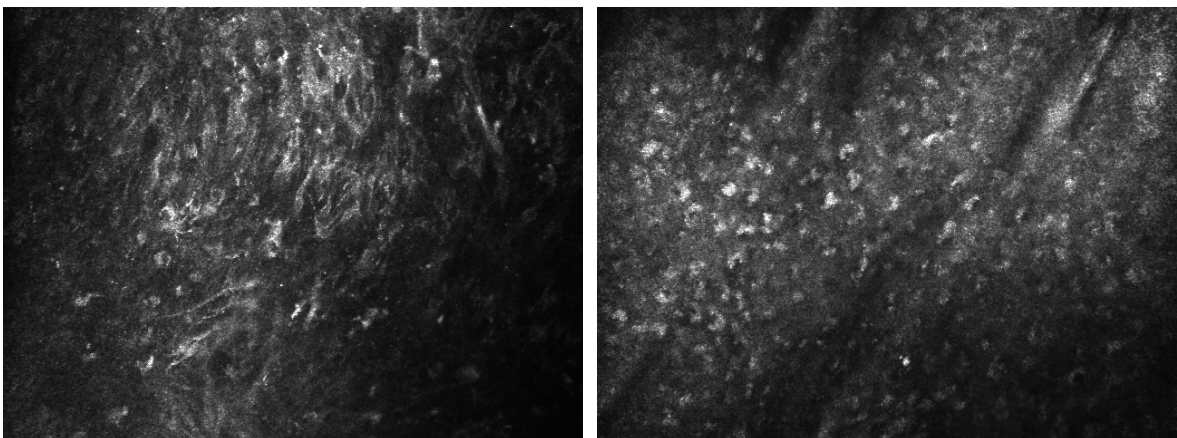


Abb 6. *Beispielbilder Knoten 4*

Die Bilder des Knoten 6 weisen ebenfalls vereinzelte sehr helle, großteils relativ klar abgrenzbare, polymorphe Zellen auf. Die einzige gutartige Läsion, die in diesem Knoten gelandet ist, weist zwar monomorphe Zellen auf, zeigt jedoch ein sehr ähnliches Grundmuster (siehe Abbildung 7).

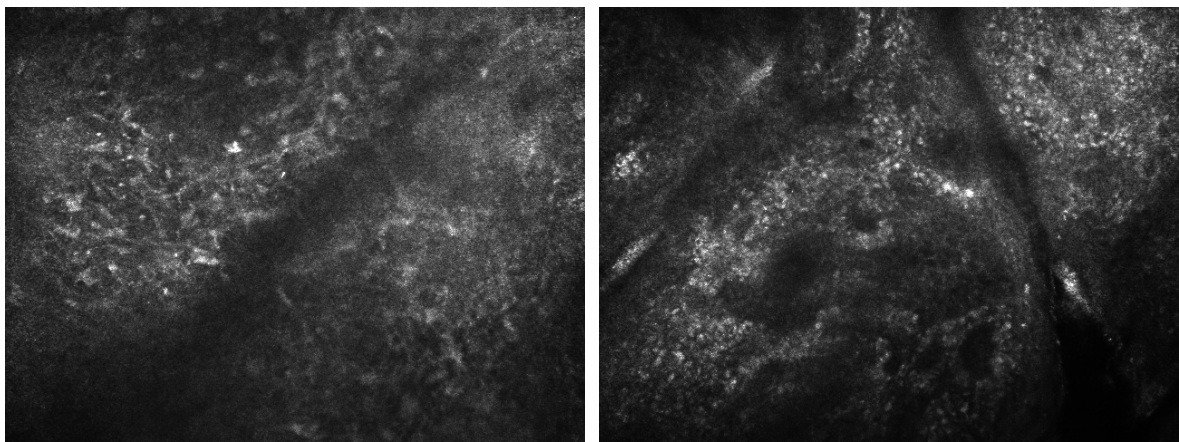


Abb 7. *Beispielbilder Knoten 6 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)*

Knoten 17 ist charakterisiert durch polymorphe Zellen mit fadenförmigen Ausläufern und starker architektonischer Unordnung. Außerdem besitzen die Bilder im Vergleich zu Knoten 6 deutlich mehr Melanin. Die falsch klassifizierte gutartige pigmentierte Hautläsion weist monomorphe Zellen, aber ebenfalls schlecht definierte Keratinozytenzellgrenzen auf (siehe Abbildung 8).

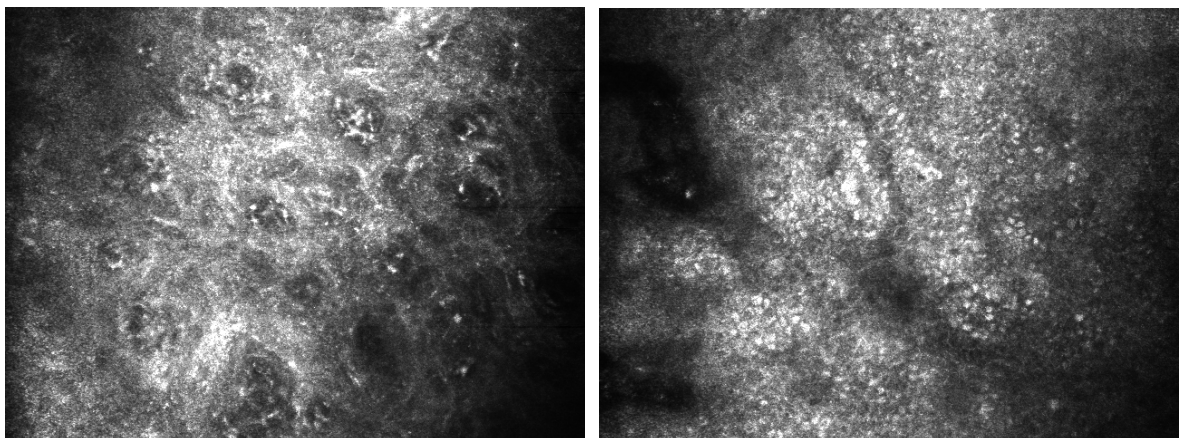


Abb 8. *Beispielbilder Knoten 17 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)*

Der Knoten 19 ist dem Knoten 17 sehr ähnlich. Er weist längliche polymorphe Zellen mit langen, fadenförmigen Ausläufern und starke architektonische Unordnung auf, wie es Abbildung 9 zeigt.

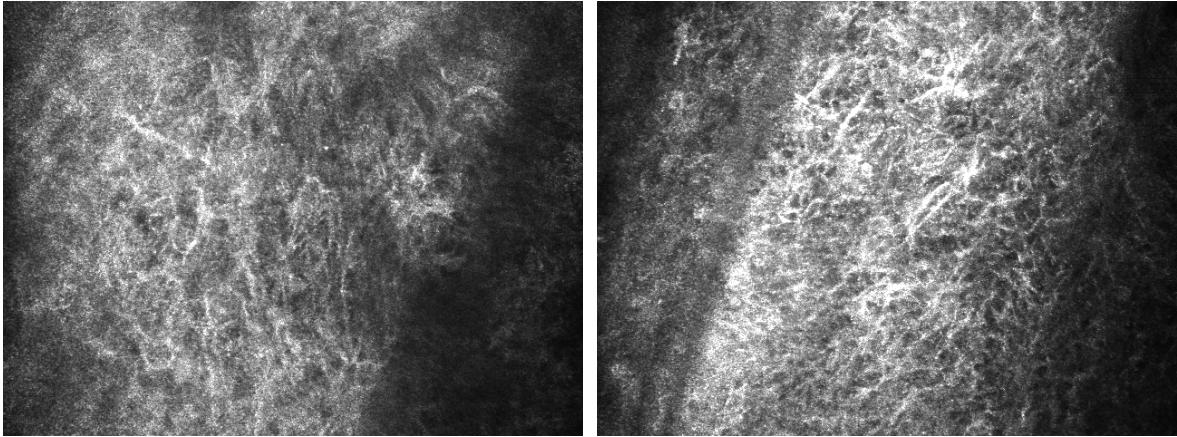


Abb 9. *Beispielbilder Knoten 19*

Knoten 29 besitzt ebenfalls längliche polymorphe Zellen mit fadenförmigen Ausläufern und starke architektonische Unordnung. Außerdem weisen alle der CLSM Bilder schlecht definierte Keratinozytenzellgrenzen auf (siehe Abbildung 10).

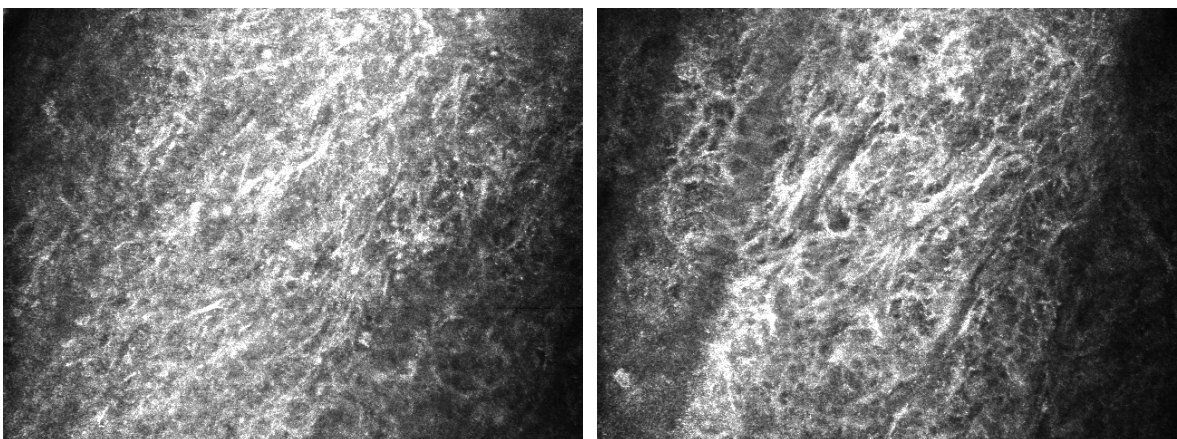


Abb 10. *Beispielbilder Knoten 29*

Die CLSM Bilder, die dem Knoten 45 zugeteilt wurden, sind vielgestaltig und zeigen auch deutlich polymorphe Zellen und starke architektonische Unordnung. Der falsch klassifizierte Nävuszellnävus hingegen besitzt monomorphe Zellen (siehe Abbildung 11).

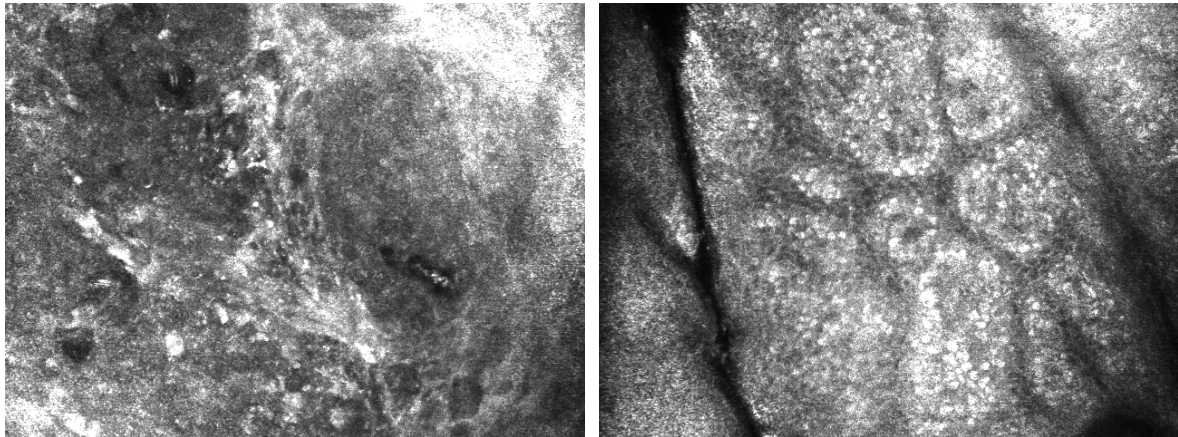


Abb 11. *Beispielbilder Knoten 45 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)*

Sichere Nävusknotten:

Mit Hilfe der gleichen Auswahlkriterien, die für die Auswahl sicherer Melanomknotten verwendet wurden, erwiesen sich die Knotten 15, 25, 30, 36, 40, 42 und 51 als sichere Nävusknotten.

<i>Knoten</i>	<i>Fallzahl</i>	<i>Trefferwahrscheinlichkeit</i>
40	148 Fälle	100%
51	35 Fälle	100%
36	32 Fälle	100%
15	28 Fälle	100%
42	14 Fälle	100%
25	11 Fälle	100%
30	41 Fälle	97,56%

Tab 8. *sichere Nävusknotten*

Die CLSM Bilder, die dem Knoten 15 zugeteilt wurden, zeigen deutlich monomorphe, runde bis ovale Zellen, die jedoch nicht immer in klar definierten Zellnestern angeordnet sind. Außerdem besitzen sie relativ wenig Melanin, was sie im Vergleich zu den Bildern der folgenden Knoten dunkel erscheinen lässt (siehe Abbildung 12).

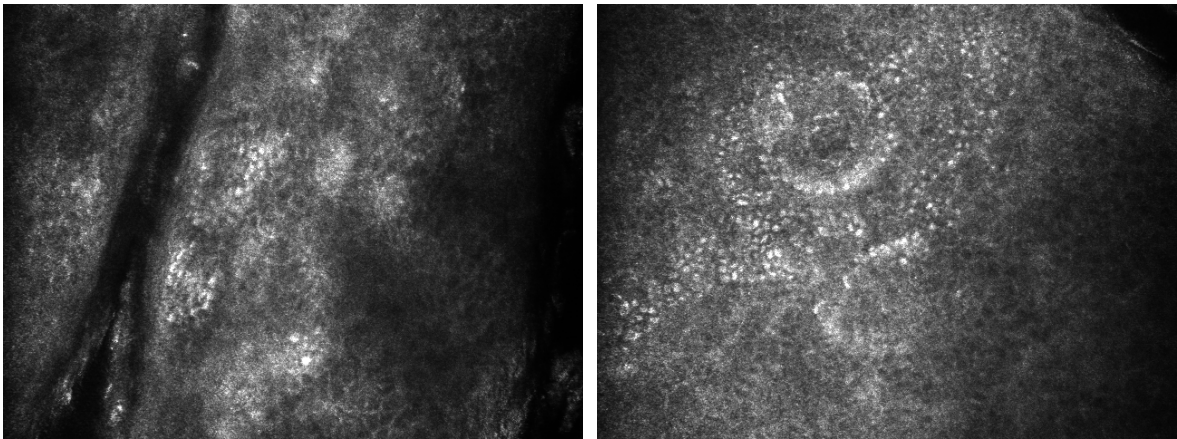


Abb 12. *Beispielbilder Knoten 15*

Der Knoten 25 ist ähnlich dem Knoten 15, jedoch bilden die monomorphen Zellen deutlich sichtbare Zellnester, wie es Abbildung 13 zeigt.

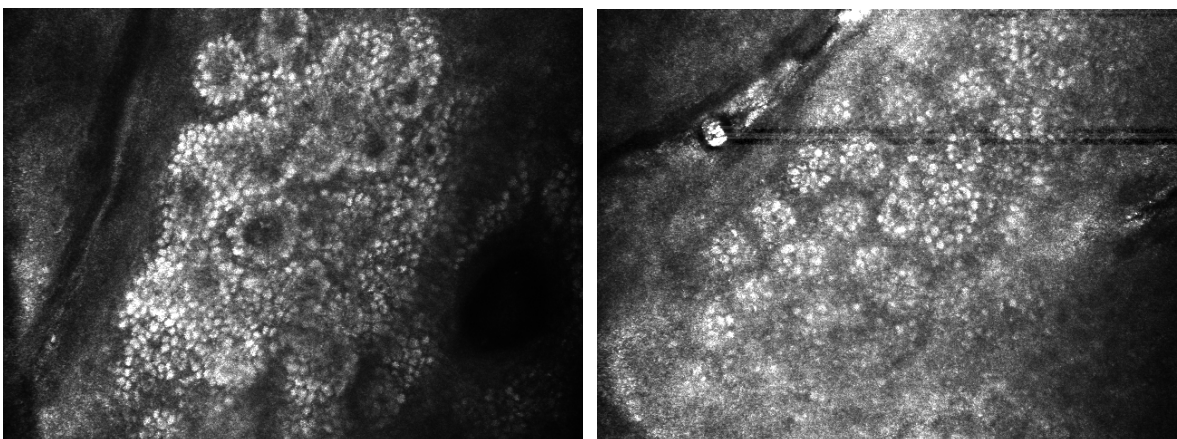


Abb 13. *Beispielbilder Knoten 25*

Obwohl die Bilder des Knoten 30 sehr inhomogen erscheinen, lässt sich das in Abbildung 14 sichtbare falsch klassifizierte Melanom deutlich von den Nävi abgrenzen. Es weist polymorphe Zellen und architektonische Unordnung auf.

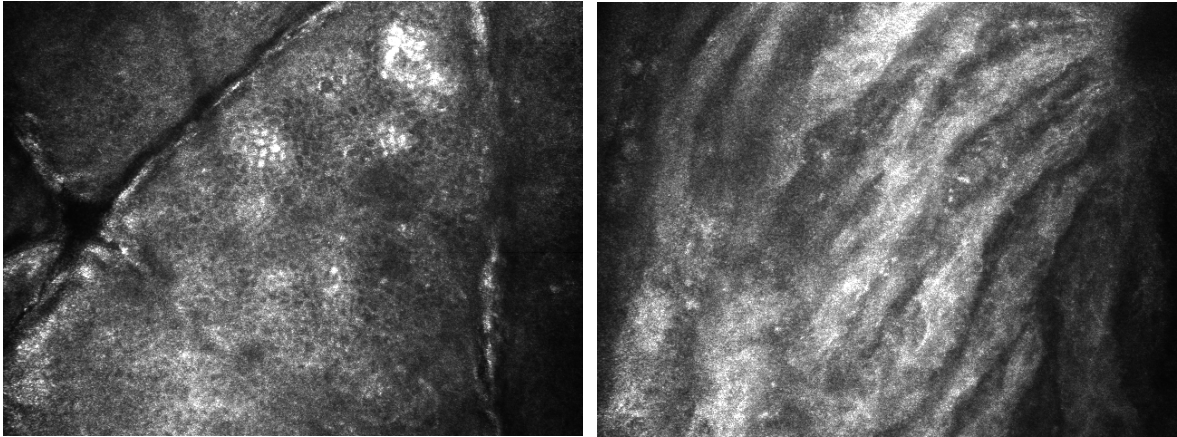


Abb 14. *Beispielbilder Knoten 30 (links Nävuszellnävus, rechts Melanom)*

Die Bilder des Knoten 36 zeigen ebenfalls monomorphe, runde bis leicht ovale Zellen, die in Zellnestern angeordnet sind und relativ viel Melanin besitzen. Weiters weisen sie klar definierte Keratinozytenzellgrenzen auf (siehe Abbildung 15). Polymorphe Zellen oder architektonische Unordnung kommen in keinem der CLSM Bilder vor.

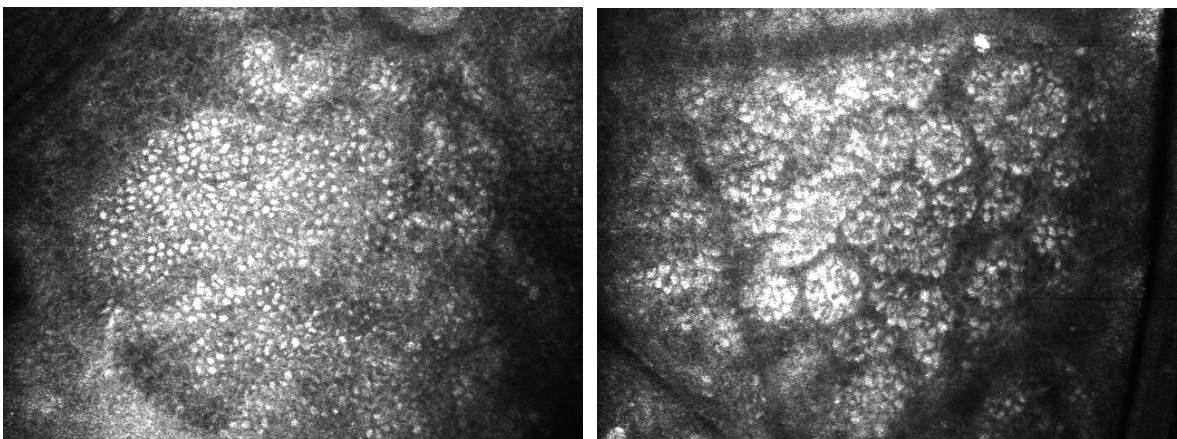


Abb 15. *Beispielbilder Knoten 36*

Der Knoten 40 ist mit 148 Bildern der größte Nävusknötchen. Er weist auch monomorphe, runde bis ovale Zellen auf, die zumeist in Zellnestern angeordnet sind. Im Gegensatz zu den vorhin beschriebenen Knoten sind die Keratinozytenzellgrenzen meist nicht gut definiert, wie es Abbildung 16 zeigt.

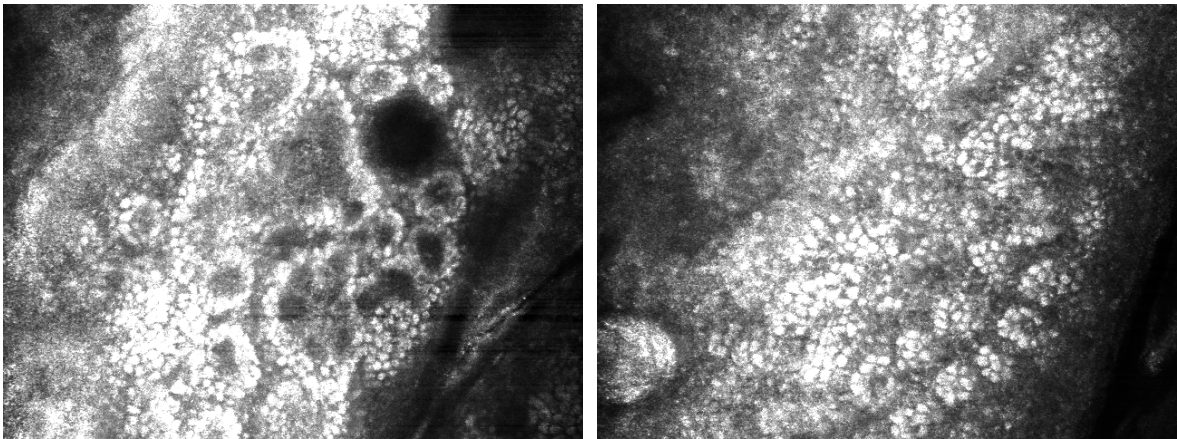


Abb 16. *Beispielbilder Knoten 40*

Typisch für die Bilder des Knoten 42 sind die Hautfalten (siehe Abbildung 17), beziehungsweise die Haarfollikel, die in den Bildern sichtbar sind. Sie weisen ebenfalls monomorphe Zellen und vorwiegend Zellnester auf, aber im Bezug auf gut definierte Keratinozytenzellgrenzen sind sie sich uneinig.

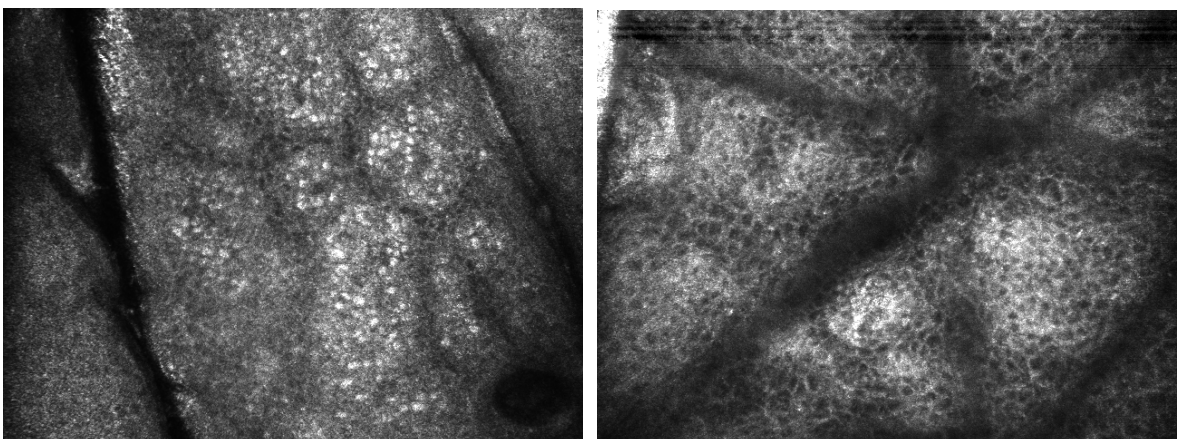


Abb 17. *Beispielbilder Knoten 42*

Knoten 51 ist der Knoten, dessen Bilder den größten Melaninanteil enthalten und daher am hellsten erscheinen. Typisch für die Bilder dieser Gruppe sind entweder dicht nebeneinander liegende Zellnester oder dicht nebeneinander liegende Papillen, die von monomorphen runden Zellen umgeben werden (siehe Abbildung 18).

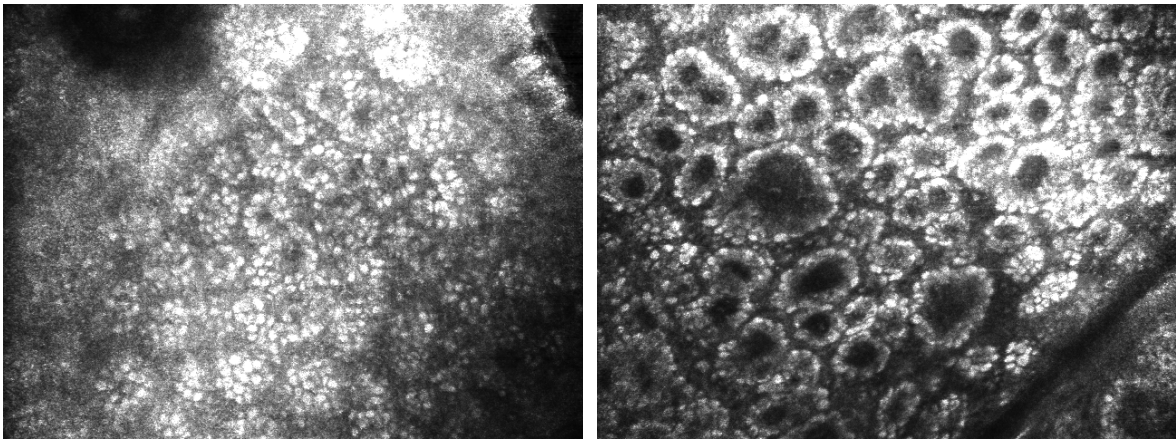


Abb 18. *Beispielbilder Knoten 51*

Unsichere Knoten:

Als unsichere Knoten erwiesen sich die Knoten 26 und 1 mit jeweils einer Trefferwahrscheinlichkeit von 66,67% beziehungsweise 60%.

Knoten 26 ist ein Melanomknoten und besteht aus zwei Melanombildern und einem Nävusbild, wobei allen gemeinsam ist, dass sie viel Melanin enthalten und daher sehr hell erscheinen. Die beiden Melanome sind durch schlecht definierte Keratinozytenzellgrenzen charakterisiert, wohingegen das Nävusbild durch monomorphe Zellen, die in Zellnestern angeordnet sind und durch klar definierte Keratinozytenzellgrenzen besticht (siehe Abbildung 19).

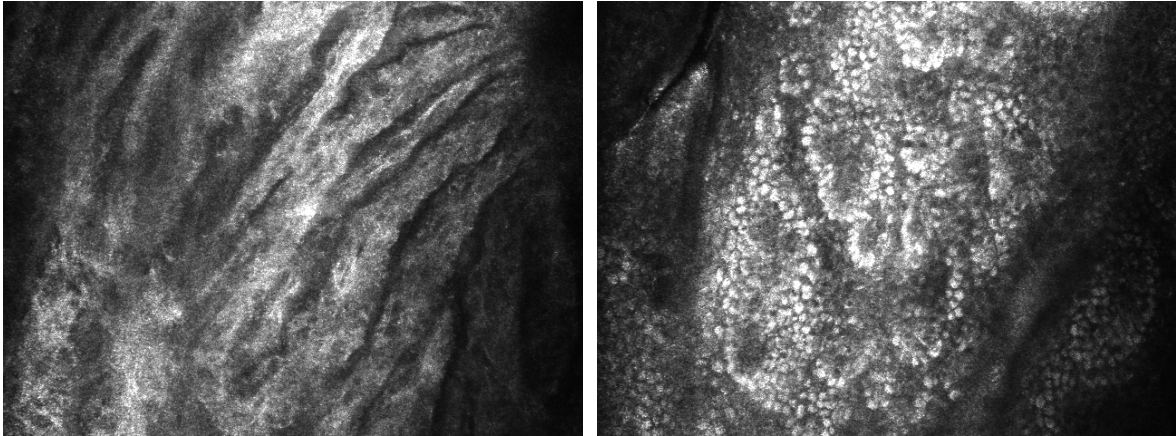


Abb 19. *Beispielbilder Knoten 26 (links Melanom, rechts Nävuszellnävus)*

Der Knoten 1 ist ein Nävusknötchen und beinhaltet drei Nävus- und zwei Melanombilder. Charakteristisch für diese Gruppe ist, dass die Bilder wenig Melanin enthalten und daher sehr dunkel erscheinen. Außerdem weisen sie vereinzelte, großteils monomorphe und sehr helle Zellen auf, wie es Abbildung 20 zeigt.

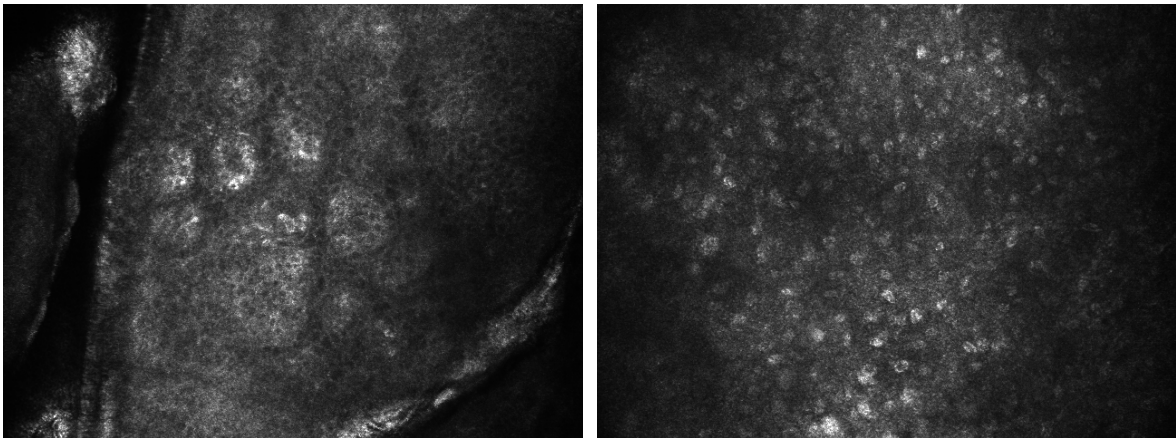


Abb 20. *Beispielbilder Knoten 1 (links Nävuszellnävus, rechts Melanom)*

Korrelation von statistisch fassbaren mathematisch-bildanalytischen Kriterien mit visuellen Merkmalen:

Bisherige Studien (65;69;71) befassten sich mit der Suche nach diagnostischen, jedoch subjektiven visuellen Kriterien. Sie alle konstatierten, dass monomorphe Zellen, regelmäßige Zellnester und gut definierte Keratinozytenzellgrenzen bei Nävi und polymorphe Zellen, architektonische Unordnung und schlecht definierte bis fehlende Keratinozytenzellgrenzen bei Melanomen vorkommen.

Die visuelle Erfassung der mathematisch-bildanalytischen Kriterien ergab ebenfalls, dass monomorphe Zellen und Zellnester bei gutartigen und polymorphe Zellen, architektonische Unordnung und das Fehlen von gut definierten Keratinozytenzellgrenzen bei bösartigen melanozytären Hautläsionen sichtbar sind.

Die Tabellen 9 (anhand aller Endknoten) und 10 (anhand der 13 ausgewählten, sicheren Knoten) zeigen nun die statistische Prüfung dieser subjektiven Beurteilung.

<i>Kriterium</i>	<i>Nävus</i>	<i>Melanom</i>
monomorphe Zellen	94,47%	2,92%
regelmäßige Zellnester	78,68%	10,33%
gut definierte Keratinozytenzellgrenzen	52,29%	3,00%
polymorphe Zellen	1,41%	81,15%
architektonische Unordnung	17,20%	73,73%
schlecht definierte bis fehlende Keratinozytenzellgrenzen	47,72%	96,73%

Tab 9. Mittelwerte aller 54 Knoten (24 Nävus- und 30 Melanomknoten)

<i>Kriterium</i>	<i>Nävus</i>	<i>Melanom</i>
monomorphe Zellen	90,33%	3,84%
regelmäßige Zellnester	88,70%	2,97%
gut definierte Keratinozytenzellgrenzen	45,04%	4,03%
polymorphe Zellen	0,35%	79,67%
architektonische Unordnung	1,98%	80,54%
schlecht definierte bis fehlende Keratinozytenzellgrenzen	54,96%	94,60%

Tab 10. Mittelwerte der 13 sicheren Knoten (7 Nävus- und 6 Melanomknoten)

5 Diskussion

Die in-vivo konfokale Laserscanmikroskopie stellt eine viel versprechende neue und nicht-invasive Untersuchungstechnik dar, da sie „at bedside“ ein so genanntes „Fenster in lebendes Gewebe“ ermöglicht. Im Vergleich zum derzeitigen Standard in der Routinediagnostik von Melanomen, der Dermatoskopie, die üblicherweise eine 10-fache Vergrößerung aufweist, bietet sie die Möglichkeit Hauttumoren mit annähernd histologischer Auflösung zu beurteilen (1;10).

Bisherige Studien befassten sich mit der Suche nach diagnostischen, jedoch subjektiven visuellen Kriterien (65;69;71). Ziel dieser Studie war es, die Korrelation von statistisch fassbaren mathematisch-bildanalytischen und somit objektivierbaren Kriterien mit visuellen Merkmalen zu untersuchen.

Dafür wurden 857 konfokale Laserscanmikroskopie Bilder, bestehend aus 408 Nävus- und 449 Melanombildern anhand bildanalytischer Kriterien, die auf der wavlet transform basieren, und subjektiver visueller Kriterien bewertet. Für die diagnostische Klassifikation wurde die CART (Classification and Regression Tree) Software verwendet. Mit Hilfe des gesamten Tumor-Sets wurde von CART ein Entscheidungsbaum gebaut, der 54 Endknoten enthält, wovon sich 24 als Nävus- und 30 als Melanomknoten darstellen. Anhand dieses Baumes wurden 97,55% der Melanom- und 96,32% der Nävusbilder richtig klassifiziert.

Digitale Bildanalyseysteme, die auf dermatoskopischen Mustern basieren, haben sich bereits etabliert. In der Literatur finden sich Erfolgsraten von bis zu 90% für melanozytäre Hauttumore (82-84).

Vergleicht man nun die Werte dieser Studie mit jenen, die mit digitalen Bildanalyseystemen, die auf dermatoskopischen Mustern basieren, erreicht wurden, so stellt sich heraus, dass die diagnostische Genauigkeit bei der konfokalen Laserscanmikroskopie besser ist, was die Überlegenheit der CLSM gegenüber der Dermatoskopie unterstreicht.

Die hohe Treffsicherheit der CART Analyse lässt darauf schließen, dass das System als zweite Meinung dienen kann. Dies kann sich als sehr wertvoll in der Unterstützung von klinischen Entscheidungen erweisen.

Außerdem erfüllt das System die Kriterien der Automation, da keine weiteren Änderungen durch den Benutzer notwendig sind.

Die visuelle Erfassung der mathematisch-bildanalytischen Kriterien ergab, dass alle CLSM Bilder der untersuchten Nävusknötchen (Knötchen 15, 25, 30, 36, 40, 42 und 51) runde bis ovale monomorphe Zellen zeigen, die zum Großteil in Zellnestern angeordnet sind. Diese morphologischen Merkmale stimmen mit denen, die bereits in der visuellen Betrachtung zur Diagnose von Nävi angewandt werden, überein (65;69).

Die CLSM Bilder des Knötchen 15 weisen runde bis ovale monomorphe Zellen auf, jedoch keine gut definierten Zellnester. Typisch für Knötchen 30 ist seine Inhomogenität. Das falsch klassifizierte Melanombild lässt sich deutlich abgrenzen und zeigt polymorphe Zellen und architektonische Unordnung. Die Knötchen 25 und 40 besitzen neben den monomorphen Zellen, die in deutlich sichtbaren Zellnestern angeordnet sind, klar definierte Keratinozytenzellgrenzen. Eine genaue morphologische Unterscheidung der beiden Knötchen ist mit dem menschlichen Auge nicht möglich. Die Bilder, die in Knötchen 36 gelandet sind, sind ebenfalls sehr ähnlich, weisen jedoch keine klar definierten Keratinozytenzellgrenzen auf. Charakteristisch für den Knötchen 42 sind die Hautfalten beziehungsweise Haarfollikel, die in den Bildern sichtbar sind. Knötchen 51 zeigt dicht nebeneinander liegende Zellnester beziehungsweise Papillen.

Melanomknötchen (Knötchen 4, 6, 17, 19, 29 und 45) beinhalten im Gegensatz dazu CLSM Bilder, die charakterisiert sind durch polymorphe Zellen, architektonische Unordnung und das Fehlen von gut definierten Keratinozytenzellgrenzen. Diese morphologischen Kriterien stimmen ebenfalls mit den bereits beschriebenen visuellen Kriterien zur Unterscheidung zwischen Nävi und Melanomen überein (65;69).

Die CLSM Bilder des Knötchen 4 und Knötchen 6 zeigen neben architektonischer Unordnung und fehlenden Keratinozytenzellgrenzen vereinzelte sehr helle, großteils klar begrenzbare, polymorphe Zellen. Knötchen 17, 19 und 29 sind sehr ähnlich und charakterisiert durch polymorphe Zellen mit langen fadenförmigen Ausläufern. Außerdem besitzen sie deutlich mehr Melanin als die vorhin beschriebenen Knötchen. Eine genaue morphologische

Unterscheidung der Knoten ist mit dem menschlichen Auge nicht möglich. Knoten 45 besticht durch starke architektonische Unordnung.

Die fehlklassifizierten Nävibilder dieser Melanomknoten unterscheiden sich von den Melanombildern dadurch, dass sie monomorphe Zellen aufweisen, jedoch besitzen sie zumeist ein ähnliches Grundmuster.

Zusammenfassend lässt sich daher sagen, dass die mathematisch-bildanalytischen Kriterien, die bereits bekannten visuellen Merkmale repräsentieren. Da aber eine genaue Unterscheidung zwischen den einzelnen Knoten nicht immer möglich ist, deutet dies darauf hin, dass das System auch in der Lage ist, Merkmale zu finden, die dem menschlichen Auge nicht zugänglich sind.

Weiters konnten wir eine eindeutige statistische Korrelation zwischen den mathematisch-bildanalytischen und den visuellen Kriterien beweisen (siehe Tabelle 9 und 10).

Diese Studie zeigt auch einige Limitationen. Die Tatsache, dass wir nur ausgewählte, diagnostisch wertvolle Bilder für die Auswertungen verwendeten, hat einen Selektionsbias zur Folge. Außerdem wurden einzelne CLSM Bilder statistisch evaluiert ohne zu beachten, welche Bilder einem bestimmten Tumor angehören.

Eine weitere Limitation besteht von Seiten der konfokalen Laserscanmikroskopie selbst, da die CLSM zum derzeitigen Stand der Technik lediglich eine Eindringtiefe von 350 µm erreichen kann (9). Somit können pathologische Prozesse in der retikulären Dermis und die Tumordinvasionstiefe nicht zuverlässig beurteilt werden.

In Zukunft sollte diese Studie mit einer größeren Anzahl und nicht selektionierten Bildern durchgeführt werden, um „real-world“ Ergebnisse zu erlangen. Des weitern sollten auch nicht nur einzelne, sondern immer die zusammengehörenden CLSM Bilder statistisch evaluiert werden. Bringen diese Studien die gleich guten Ergebnisse, so könnte neben der routinemäßigen Anwendung der konfokalen Laserscanmikroskopie auch die CART Software ins Routine-Hautkrebs-Screening aufgenommen werden. Zusätzlich zur subjektiven Bewertung der Bilder durch den untersuchenden Arzt würde CART auch gleich eine Bestätigung der gefällten Diagnose bringen, womit sich die diagnostische Treffsicherheit nochmals verbessern würde.

6 Literaturverzeichnis

- (1) Ruocco E, Argenziano G, Pellacani G, Seidenari S. Noninvasive imaging of skin tumors. *Dermatol Surg* 2004 Feb;30(2 Pt 2):301-10.
- (2) Richtig E, Gerger A, Berghold A, Schwantzer G, Ott A, Kerl H, et al. Natural history of invasive cutaneous melanoma in Styria, Austria 2001-2003. *J Dtsch Dermatol Ges* 2007 Apr;5(4):293-9.
- (3) de VE, Bray FI, Coebergh JW, Parkin DM. Changing epidemiology of malignant cutaneous melanoma in Europe 1953-1997: rising trends in incidence and mortality but recent stabilizations in western Europe and decreases in Scandinavia. *Int J Cancer* 2003 Oct 20;107(1):119-26.
- (4) Halpern AC, Rajadhyaksha M, Toledo-Crow R. Bringing histology to the bedside. *J Invest Dermatol* 2005 Mar;124(3):viii-viix.
- (5) Busam KJ, Marghoob AA, Halpern A. Melanoma diagnosis by confocal microscopy: promise and pitfalls. *J Invest Dermatol* 2005 Sep;125(3):vii.
- (6) Grin CM, Kopf AW, Welkovich B, Bart RS, Levenstein MJ. Accuracy in the clinical diagnosis of malignant melanoma. *Arch Dermatol* 1990 Jun;126(6):763-6.
- (7) Mayer J. Systematic review of the diagnostic accuracy of dermatoscopy in detecting malignant melanoma. *Med J Aust* 1997 Aug 18;167(4):206-10.
- (8) Aspres N, Egerton IB, Lim AC, Shumack SP. Imaging the skin. *Australas J Dermatol* 2003 Feb;44(1):19-27.
- (9) Gerger A, Hofmann-Wellenhof R, Langsenlehner U, Richtig E, Koller S, Weger W, et al. In vivo confocal laser scanning microscopy of melanocytic skin tumours: diagnostic applicability using unselected tumour images. *Br J Dermatol* 2008 Feb;158(2):329-33.
- (10) Gerger A, Kerl H, Smolle J. Neue Untersuchungstechniken in der Melanomdiagnostik [Internet]. Österreichische Krebshilfe 2004 [cited 2007 Sep 25]; Available from: URL: http://www.krebshilfe.net/pdf/krebshilfe/KH_03_2004.pdf
- (11) Zalaudek I, Argenziano G, Di SA, Ferrara G, Marghoob AA, Hofmann-Wellenhof R, et al. Dermoscopy in general dermatology. *Dermatology* 2006;212(1):7-18.
- (12) Braun-Falco O, Stolz W, Bilek P, Merkle T, Landthaler M. [The dermatoscope. A simplification of epiluminescent microscopy of pigmented skin changes]. *Hautarzt* 1990 Mar;41(3):131-6.

- (13) Ascierto PA, Palmieri G, Celentano E, Parasole R, Caraco C, Daponte A, et al. Sensitivity and specificity of epiluminescence microscopy: evaluation on a sample of 2731 excised cutaneous pigmented lesions. The Melanoma Cooperative Study. *Br J Dermatol* 2000 May;142(5):893-8.
- (14) Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Diagnostic accuracy of dermoscopy. *Lancet Oncol* 2002 Mar;3(3):159-65.
- (15) Carli P, De G, V, Chiarugi A, Nardini P, Weinstock MA, Crocetti E, et al. Addition of dermoscopy to conventional naked-eye examination in melanoma screening: a randomized study. *J Am Acad Dermatol* 2004 May;50(5):683-9.
- (16) Binder M, Schwarz M, Winkler A, Steiner A, Kaider A, Wolff K, et al. Epiluminescence microscopy. A useful tool for the diagnosis of pigmented skin lesions for formally trained dermatologists. *Arch Dermatol* 1995 Mar;131(3):286-91.
- (17) Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1987 Oct;17(4):571-83.
- (18) Blum A, Kreusch JF. Grundlagen. In: Blum A, Kreusch JF, Bauer J, Garbe C, editors. *Dermatoskopie von Hauttumoren. Auflichtmikroskopie - Dermoskopie - Digitale Bildanalyse*. Darmstadt: Steinkopff Verlag; 2003. p. 15-22.
- (19) Menzies SW, Crotty KA, McCarthy WH. The morphologic criteria of the pseudopod in surface microscopy. *Arch Dermatol* 1995 Apr;131(4):436-40.
- (20) Menzies SW, Ingvar C, Crotty KA, McCarthy WH. Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking specific surface microscopic features. *Arch Dermatol* 1996 Oct;132(10):1178-82.
- (21) Argenziano G, Fabbrocini G, Carli P, De G, V, Sammarco E, Delfino M. Epiluminescence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. Comparison of the ABCD rule of dermoscopy and a new 7-point checklist based on pattern analysis. *Arch Dermatol* 1998 Dec;134(12):1563-70.
- (22) Stolz W. Die ABCD-Regel für melanozytäre Hauttumoren. In: Blum A, Kreusch JF, Bauer J, Garbe C, editors. *Dermatoskopie von Hauttumoren. Auflichtmikroskopie - Dermoskopie - Digitale Bildanalyse*. Darmstadt: Steinkopff Verlag; 2003. p. 103-6.
- (23) Nachbar F, Stolz W, Merkle T, Cognetta AB, Vogt T, Landthaler M, et al. The ABCD rule of dermoscopy. High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *J Am Acad Dermatol* 1994 Apr;30(4):551-9.
- (24) Menzies SW, Ingvar C, McCarthy WH. A sensitivity and specificity analysis of the surface microscopy features of invasive melanoma. *Melanoma Res* 1996 Feb;6(1):55-62.
- (25) Menzies S. Menzies-Score für pigmentierte Hauttumoren. In: Blum A, Kreusch JF, Bauer J, Garbe C, editors. *Dermatoskopie von Hauttumoren*.

Auflichtmikroskopie - Dermoskopie - Digitale Bildanalyse. Darmstadt: Steinkopff Verlag; 2003. p. 107-9.

- (26) Blum A. Vereinfachte ABC-Regel für melanozytäre Hauttumoren. In: Blum A, Kreusch JF, Bauer J, Garbe C, editors. Dermatoskopie von Hauttumoren. Auflichtmikroskopie - Dermoskopie - Digitale Bildanalyse. Darmstadt: Steinkopff Verlag; 2003. p. 117-24.
- (27) Argenziano G, Soyer HP, Chimenti S, Talamini R, Corona R, Sera F, et al. Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. *J Am Acad Dermatol* 2003 May;48(5):679-93.
- (28) Soyer HP, Argenziano G, Zalaudek I, Corona R, Sera F, Talamini R, et al. Three-point checklist of dermoscopy. A new screening method for early detection of melanoma. *Dermatology* 2004;208(1):27-31.
- (29) Binder M. Chancen und Risiken der Dermatoskopie [Internet]. *Ärzte Woche Online* 2007 [cited 2007 Oct 28]; Available from: URL: <http://www.aerztewoche.at/viewArticleDetails.do?articleId=6110>
- (30) Braun RP, Lemonnier E, Guillod J, Skaria A, Salomon D, Saurat JH. Two types of pattern modification detected on the follow-up of benign melanocytic skin lesions by digitized epiluminescence microscopy. *Melanoma Res* 1998 Oct;8(5):431-7.
- (31) Kittler H, Pehamberger H, Wolff K, Binder M. Follow-up of melanocytic skin lesions with digital epiluminescence microscopy: patterns of modifications observed in early melanoma, atypical nevi, and common nevi. *J Am Acad Dermatol* 2000 Sep;43(3):467-76.
- (32) Haenssle HA, Krueger U, Vente C, Thoms KM, Bertsch HP, Zutt M, et al. Results from an observational trial: digital epiluminescence microscopy follow-up of atypical nevi increases the sensitivity and the chance of success of conventional dermoscopy in detecting melanoma. *J Invest Dermatol* 2006 May;126(5):980-5.
- (33) Altmeyer P, Hoffmann K, Stücker M, Goertz S, el-Gammal S. General Phenomena of Ultrasound in Dermatology. In: Altmeyer P, el-Gammal S, Hoffmann K, editors. *Ultrasound in Dermatology*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag; 1992. p. 55-79.
- (34) Jemec GB, Gniadecka M, Ulrich J. Ultrasound in dermatology. Part I. High frequency ultrasound. *Eur J Dermatol* 2000 Aug;10(6):492-7.
- (35) Rallan D, Harland CC. Ultrasound in dermatology--basic principles and applications. *Clin Exp Dermatol* 2003 Nov;28(6):632-8.
- (36) Hoffmann K, Dirting K, Stucker M, el-Gammal S, Wilmert M, Altmeyer WP. [History of high frequency sonography]. *Ultraschall Med* 1994 Aug;15(4):192-7.
- (37) Alexander H, Miller DL. Determining skin thickness with pulsed ultra sound. *J Invest Dermatol* 1979 Jan;72(1):17-9.

- (38) Jemec GB, Gniadecka M. Ultrasound examination of hair follicles in hidradenitis suppurativa. *Arch Dermatol* 1997 Aug;133(8):967-70.
- (39) Gniadecka M, Jemec GB. Quantitative evaluation of chronological ageing and photoageing in vivo: studies on skin echogenicity and thickness. *Br J Dermatol* 1998 Nov;139(5):815-21.
- (40) Hoffmann K, Dirschka T, Schwarze H, el-Gammal S, Matthes U, Hoffmann A, et al. 20 MHz sonography, colorimetry and image analysis in the evaluation of psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 1995 Mar;9(2):103-10.
- (41) Cosnes A, Anglade MC, Revuz J, Radier C. Thirteen-megahertz ultrasound probe: its role in diagnosing localized scleroderma. *Br J Dermatol* 2003 Apr;148(4):724-9.
- (42) Hoffmann K, Happe M, Schuller S, Stucker M, Wiesner M, Gottlober P, et al. [Ranking of 20 MHz sonography of malignant melanoma and pigmented lesions in routine diagnosis]. *Ultraschall Med* 1999 Jun;20(3):104-9.
- (43) Hoffmann K, Jung J, El GS, Altmeyer P. Malignant melanoma in 20-MHz B scan sonography. *Dermatology* 1992;185(1):49-55.
- (44) Harland CC, Kale SG, Jackson P, Mortimer PS, Bamber JC. Differentiation of common benign pigmented skin lesions from melanoma by high-resolution ultrasound. *Br J Dermatol* 2000 Aug;143(2):281-9.
- (45) Fercher AF, Hitzenberger CK, Drexler W, Kamp G, Sattmann H. In vivo optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 1993 Jul 15;116(1):113-4.
- (46) Abuzahra F, Baron JM. [Optical coherence tomography of the skin: a diagnostic light look]. *Hautarzt* 2006 Jul;57(7):646-7.
- (47) Gladkova ND, Petrova GA, Nikulin NK, Radenska-Lopovok SG, Snopova LB, Chumakov YP, et al. In vivo optical coherence tomography imaging of human skin: norm and pathology. *Skin Res Technol* 2000 Feb;6(1):6-16.
- (48) Welzel J. Optical coherence tomography in dermatology: a review. *Skin Res Technol* 2001 Feb;7(1):1-9.
- (49) Welzel J, Lankenau E, Birngruber R, Engelhardt R. Optical coherence tomography of the human skin. *J Am Acad Dermatol* 1997 Dec;37(6):958-63.
- (50) De G, V, Stante M, Massi D, Mavilia L, Cappugi P, Carli P. Possible histopathologic correlates of dermoscopic features in pigmented melanocytic lesions identified by means of optical coherence tomography. *Exp Dermatol* 2005 Jan;14(1):56-9.
- (51) Bechara FG, Gambichler T, Stucker M, Orlikov A, Rotterdam S, Altmeyer P, et al. Histomorphologic correlation with routine histology and optical coherence tomography. *Skin Res Technol* 2004 Aug;10(3):169-73.

- (52) Gambichler T, Regeniter P, Bechara FG, Orlikov A, Vasa R, Moussa G, et al. Characterization of benign and malignant melanocytic skin lesions using optical coherence tomography in vivo. *J Am Acad Dermatol* 2007 Oct;57(4):629-37.
- (53) Tehrani H, Walls J, Cotton S, Sassoon E, Hall P. Spectrophotometric intracutaneous analysis in the diagnosis of basal cell carcinoma: a pilot study. *Int J Dermatol* 2007 Apr;46(4):371-5.
- (54) Astron Clinica. What is SIAscopy? [Internet]. Astron Clinica 2008 [cited 2007 Dec 15]; Available from: URL: <http://www.astronclinica.com/technology/siascopy-explained.htm>
- (55) Tehrani H, Walls J, Price G, Cotton S, Sassoon E, Hall P. A novel imaging technique as an adjunct to the in vivo diagnosis of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 2006 Dec;155(6):1177-83.
- (56) Moncrieff M, Cotton S, Claridge E, Hall P. Spectrophotometric intracutaneous analysis: a new technique for imaging pigmented skin lesions. *Br J Dermatol* 2002 Mar;146(3):448-57.
- (57) Moncrieff M, Cotton S, Hall P, Schiffner R, Lepski U, Claridge E. SIAscopy assists in the diagnosis of melanoma by utilizing computer vision techniques to visualise the internal structure of the skin [Internet]. MIUA 2006 [cited 2007 Dec 15]; Available from: URL: <http://www2.wiau.man.ac.uk/caaws/Conferences/46/>
- (58) Michalska M, Chodorowska G, Krasowska D. SIAscopy--a new non-invasive technique of melanoma diagnosis. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska [Med]* 2004;59(2):421-31.
- (59) Haniffa MA, Lloyd JJ, Lawrence CM. The use of a spectrophotometric intracutaneous analysis device in the real-time diagnosis of melanoma in the setting of a melanoma screening clinic. *Br J Dermatol* 2007 Jun;156(6):1350-2.
- (60) Gerger A, Hofmann-Wellenhoff R, Smolle J. Konfokale Laserscanmikroskopie - zukunftsweisende Technologie in der Früherkennung von Hautkrebs [Internet]. Medizinische Universität Graz 2006 [cited 2008 Mar 5]; Available from: URL: http://www.meduni-graz.at/presse/pdf/presse_melanom0705gs.pdf
- (61) Rajadhyaksha M, Gonzalez S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol* 1999 Sep;113(3):293-303.
- (62) Roderfeld M, Matern S, Roeb E. [Confocal laser scanning microscopy: a deep look into the cell]. *Dtsch Med Wochenschr* 2003 Nov 28;128(48):2539-42.
- (63) Lucid Inc. Confocal microscopy [Internet]. Lucid-tech com 2008 [cited 2008 Mar 5]; Available from: URL: <http://www.lucid-tech.com/medical-imagers/confocal-microscopy.asp>

- (64) Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol* 1995 Jun;104(6):946-52.
- (65) Langley RG, Rajadhyaksha M, Dwyer PJ, Sober AJ, Flotte TJ, Anderson RR. Confocal scanning laser microscopy of benign and malignant melanocytic skin lesions in vivo. *J Am Acad Dermatol* 2001 Sep;45(3):365-76.
- (66) Lucid Inc. Vivascope 1500 - for rapid detection and analysis of skin cancer and other skin lesions [Internet]. Lucid-tech com 2008 [cited 2008 Mar 6]; Available from: URL: <http://www.lucid-tech.com/medical-imagers/vivascope-1500.asp>
- (67) Lucid Inc. Vivascopy - for rapid detection and analysis of skin cancer and other skin lesions [Internet]. Lucid-tech com 2008 [cited 2008 Feb 14]; Available from: URL: <http://www.lucid-tech.com/medical-imagers/>
- (68) Scope A, Gill M, veuto-Andrade C, Halpern AC, Gonzalez S, Marghoob AA. Correlation of dermoscopy with in vivo reflectance confocal microscopy of streaks in melanocytic lesions. *Arch Dermatol* 2007 Jun;143(6):727-34.
- (69) Gerger A, Koller S, Kern T, Massone C, Steiger K, Richtig E, et al. Diagnostic applicability of in vivo confocal laser scanning microscopy in melanocytic skin tumors. *J Invest Dermatol* 2005 Mar;124(3):493-8.
- (70) Pellacani G, Cesinaro AM, Longo C, Grana C, Seidenari S. Microscopic in vivo description of cellular architecture of dermoscopic pigment network in nevi and melanomas. *Arch Dermatol* 2005 Feb;141(2):147-54.
- (71) Pellacani G, Cesinaro AM, Seidenari S. Reflectance-mode confocal microscopy of pigmented skin lesions--improvement in melanoma diagnostic specificity. *J Am Acad Dermatol* 2005 Dec;53(6):979-85.
- (72) Pellacani G, Guitera P, Longo C, Avramidis M, Seidenari S, Menzies S. The impact of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnostic accuracy of melanoma and equivocal melanocytic lesions. *J Invest Dermatol* 2007 Dec;127(12):2759-65.
- (73) Aghassi D, Anderson RR, Gonzalez S. Confocal laser microscopic imaging of actinic keratoses in vivo: a preliminary report. *J Am Acad Dermatol* 2000 Jul;43(1 Pt 1):42-8.
- (74) Gonzalez S, Rajadhyaksha M, Gonzalez-Serva A, White WM, Anderson RR. Confocal reflectance imaging of folliculitis in vivo: correlation with routine histology. *J Cutan Pathol* 1999 Apr;26(4):201-5.
- (75) Gonzalez S, Gonzalez E, White WM, Rajadhyaksha M, Anderson RR. Allergic contact dermatitis: correlation of in vivo confocal imaging to routine histology. *J Am Acad Dermatol* 1999 May;40(5 Pt 1):708-13.
- (76) Hongcharu W, Dwyer P, Gonzalez S, Anderson RR. Confirmation of onychomycosis by in vivo confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2000 Feb;42(2 Pt 1):214-6.

- (77) Gerger A, Horn M, Koller S, Weger W, Massone C, Leinweber B, et al. Confocal examination of untreated fresh specimens from basal cell carcinoma: implications for microscopically guided surgery. *Arch Dermatol* 2005 Oct;141(10):1269-74.
- (78) Horn M, Gerger A, Koller S, Weger W, Langsenlehner U, Krippel P, et al. The use of confocal laser-scanning microscopy in microsurgery for invasive squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2007 Jan;156(1):81-4.
- (79) Scope A, venuto-Andrade C, Agero AL, Malvey J, Puig S, Rajadhyaksha M, et al. In vivo reflectance confocal microscopy imaging of melanocytic skin lesions: consensus terminology glossary and illustrative images. *J Am Acad Dermatol* 2007 Oct;57(4):644-58.
- (80) Wiltgen M, Gerger A, Wagner C, Smolle J. Automatic identification of diagnostic significant regions in confocal laser scanning microscopy of melanocytic skin tumors. *Methods Inf Med* 2008;47(1):14-25.
- (81) Gerger A, Langsenlehner U, Renner W, Weitzer W, Eder T, Yazdani-Biuki B, et al. A multigenic approach to predict breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 2007 Aug;104(2):159-64.
- (82) Menzies SW, Bischof L, Talbot H, Gutenev A, Avramidis M, Wong L, et al. The performance of SolarScan: an automated dermoscopy image analysis instrument for the diagnosis of primary melanoma. *Arch Dermatol* 2005 Nov;141(11):1388-96.
- (83) Erkol B, Moss RH, Stanley RJ, Stoecker WV, Hvatum E. Automatic lesion boundary detection in dermoscopy images using gradient vector flow snakes. *Skin Res Technol* 2005 Feb;11(1):17-26.
- (84) Stanley RJ, Stoecker WV, Moss RH. A relative color approach to color discrimination for malignant melanoma detection in dermoscopy images. *Skin Res Technol* 2007 Feb;13(1):62-72.

7 Anhang: Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Andrea Lorber
Geburtsdatum: 29.03.1984

Schulbildung

1994 – 2002 Bundesgymnasium Bruck / Mur; Reifeprüfung mit gutem Erfolg
1990 – 1994 Volksschule in Frohnleiten

Hochschulausbildung

seit Oktober 2002 Studium der Humanmedizin an der Medizinischen Universität Graz
September 2003: Abschluss des 1. Studienabschnitts
September 2007: Abschluss des 2. Studienabschnitts
seit Oktober 2007: 3. Studienschritt

Famulaturen

05.02.2007 – 23.02.2007 Innere Medizin im Krankenhaus der Barmherzigen Brüder Graz – Eggenberg
11.09.2006 – 29.09.2006 Anästhesie im Krankenhaus der Elisabethinen Graz
06.02.2006 – 24.02.2006 Unfallchirurgie im Unfallkrankenhaus der AUVA Graz
07.02.2005 – 25.02.2005 Allgemein Chirurgie im LKH Bruck / Mur
30.08.2004 – 01.10.2004 Innere Medizin im LKH Bruck / Mur