



Diagnostik des malignen Melanoms

Hautkrebsvorsorge-Sprechstunde der Dermatologischen Klinik des Universitätsspitals Zürich

Von Ralph P. Braun, Isabel Kolm, Reinhard Dummer, Jürg Hafner, Lars French

Das maligne Melanom, auch «schwarzer Hautkrebs» genannt, gehört zu den bösartigen Tumoren und entsteht durch Entartung der melaninbildenden Zellen (Melanozyten). Es stellt bei Weitem nicht die häufigste Hautkrebsart dar, doch steigt die Inzidenz seit mehr als zwei Jahrzehnten deutlich schneller an als bei anderen Tumoren. Es handelt sich um die bösartigste Form von Hautkrebs, denn das Melanom kann Metastasen bilden und ist für über 90 Prozent der durch Hautkrebs verursachten Todesfälle verantwortlich. In der Schweiz werden etwa 1800 neue Melanomfälle pro Jahr diagnostiziert.

Die Frühdiagnose ist beim Melanom besonders wichtig. Erfolgt sie in einem frühen Stadium (Tumordicke nach Breslow unter 1 mm), liegt die Zehn-Jahres-Überlebensrate zwischen 90 und 97 Prozent. Wird die Diagnose jedoch in einem späteren Stadium gestellt, liegt die Fünf-Jahres-Überlebensrate nur noch bei 10 bis 15 Prozent (1, 2). Ein weiterer Grund für den hohen Stellenwert der Frühdiagnose beim Melanom ist die Tatsache, dass

dieses primär in fast 100 Prozent der Fälle an der Haut lokalisiert und somit einer einfachen klinischen Untersuchung zugänglich ist.

Zu den verbreitetsten Untersuchungsmethoden zählen die klinische und die dermoskopische Untersuchung sowie die Ganzkörperübersichtsfotografie. Zudem existieren weitere bildgebende Verfahren, die ebenfalls kurz vorgestellt werden.

Klinische Untersuchung

In den Sechziger- und Siebzigerjahren beruhte die klinische Diagnose des Melanoms auf Symptomen wie Blutung, Juckreiz oder Ulzeration. Zu jener Zeit erfolgte die Diagnose fast ausschliesslich in sehr fortgeschrittenen Tumorstadien, was die Symptomatik erklärt. Zur Verbesserung der Diagnosegenauigkeit haben diagnostische Hilfen wie die ABCD-Regel und das Zeichen des «hässlichen Entleins» (siehe weiter unten) massgeblich beigetragen. Als Grundregel gilt, dass die klinische Untersuchung stets unter guten Beleuchtungsverhältnissen und am entkleideten Patienten erfolgen sollte. Die Verwendung einer speziellen Lupenleuchte mit 8- bis 10-facher Vergrösserung ist hierbei sehr hilfreich, da diese eine starke Vergrösserung mit einer optimalen Ausleuchtung verbindet. Bei der klinischen Untersuchung ist es sehr wichtig, systematisch vorzugehen, um nichts zu übersehen. Besondere Sorgfalt sollte den Körperstellen gewidmet werden, die vom Patienten nicht selbst überwacht werden können, wie zum Beispiel Fusssohlen, Zehenzwischenräume oder Retroaurikularregionen.

Differenzialdiagnose von pigmentierten Läsionen der Haut

Um die Schwierigkeiten in der Diagnostik von pigmentierten Läsionen der Haut besser zu verstehen, ist es wichtig, die verschiedenen Differenzialdiagnosen genau zu kennen.

Hierzu zählt die Gruppe der Hauttumoren, zu welchen neben dem malignen Melanom auch die pigmentierten Basalzellkarzinome gehören. Innerhalb der Gruppe der Melanome unterscheidet man folgende Typen: das oberflächlich spreitende Melanom (SSM), das noduläre Melanom (NNM), das Lentigo-maligna-Melanom (LMM), das akrolentiginöse Melanom (ALM) sowie das amelanotische Melanom. Unter Letzterem versteht man ein Melanom, welches nicht pigmentiert und daher sehr schwierig zu diagnostizieren ist. Des Weiteren ist die grosse Gruppe der pigmentierten melanozytären Nävi (Compo und Nävus, Junctionsnävus etc.) zu erwähnen sowie eine Gruppe von benignen Läsionen wie zum Beispiel die pigmentierten seborrhoischen Keratosen und vasculäre Läsionen (Angiome, Angiokeratome).

Die reine klinische Untersuchung mit dem blossen Auge hat eine eher geringe Sensitivität und Spezifität. Für die Praxis bedeutet dies, dass viele gutartige Läsionen fälschlicherweise als Melanom diagnostiziert werden, was zu unnötigen chirurgischen Eingriffen führt. Zudem werden maligne Melanome eventuell nicht rechtzeitig als solche erkannt und die Diagnose erst in späteren Stadien gestellt.

Die Diagnose eines Melanoms kann in einigen Fällen sehr schwierig sein, da diese gutartige Läsionen imitieren können. Glücklicherweise tritt dies sehr selten auf. Diese altbekannte Tatsache erklärt, warum es für das Melanom keine 100-prozentige Diagnosegenauigkeit geben kann.

Eine Lösung für dieses Dilemma wäre, bei Risikopatienten systematisch *alle* Muttermale chirurgisch zu entfernen. Da die meisten Risikopatienten jedoch eine grosse Anzahl von Muttermalen aufweisen, wäre dies unrealistisch und in der Praxis für das Gesundheitssystem sehr kostspielig. Man weiss heute aufgrund von Erfahrungen aus den USA, als noch bis in den Achtzigerjahre systematische Navektomien (Entfernung aller Muttermale) bei Risikopatienten durchgeführt worden sind, dass ein hoher Anteil dieser Patienten trotz chirurgischer Entfernung aller Muttermale im weiteren Verlauf ihres Lebens ein Melanom entwickelten. Dies kann dadurch erklärt werden, dass nur etwa 40 Prozent aller Melanome sich aus vorbestehenden Muttermalen entwickeln und 60 Prozent «de novo» in Haut ohne Male entstehen. Mittlerweile werden keine Navektomien mehr durchgeführt.

ABCD-Regel

Die klinische ABCD-Regel wurde in den Achtzigerjahren beschrieben. Sie beruht auf der Erkennung rein klinisch morphologischer Kriterien wie **A**symmetrie einer Läsion, unregelmässige **B**egrenzung, Anzahl der vorhandenen Farben (**C**olor) und einem **D**urchmesser von mehr als 5 mm.

Abbildung 1 zeigt die klinischen Bilder eines malignen Melanoms (Breslow 1 mm, Clark III) am rechten Oberschenkel eines 69-jährigen Patienten. Die Läsion ist in zwei Achsen asymmetrisch und weist eine unregelmässige Randbegrenzung auf. Es finden sich multiple Farbschattierungen (hell- und dunkelbraun, weiss, rot). Der Durchmesser beträgt mehr als 2 cm.

Die ABCD-Regel ist der bekannteste Algorithmus. Er weist eine akzeptable Sensibilität auf, (65–80% je nach Untersuchung), aber nur eine relativ geringe Spezifität, das heisst, dass auch eine grosse Anzahl von gutartigen Muttermalen falschpositiv als malignes Melanom diagnostiziert und ungerechtfertigterweise chirurgisch entfernt werden.

Als Weiterentwicklung ist die sogenannte ABCD-E-Regel beschrieben worden. Diese berücksichtigt auch noch etwaige Veränderungen eines Muttermals (**E**volution).

Aufgrund der geringen Bedeutung für die Diagnose wurde von einigen Autoren angeregt, das D für «Durchmesser» durch «Dynamik» zu ersetzen.



Abbildung 1: Klinisches Bild eines malignen Melanoms (Breslow 1 mm, Clark III) am rechten Oberschenkel eines 69-jährigen Patienten. Die Läsion ist asymmetrisch in zwei Achsen, hat eine unregelmässige Randbegrenzung. Es finden sich multiple Farbschattierungen (hell- und dunkelbraun, weiss, rot). Der Durchmesser ist deutlich grösser als 2 cm.

Zeichen des «hässlichen Entleins»

Eine ebenfalls weitverbreitete Form der klinischen Diagnostik ist das Zeichen des «hässlichen Entleins». Dieses Zeichen wurde von einer französischen



Abbildung 2: Illustration des Zeichens des «hässlichen Entleins»: Die Läsion ähnelt zwar ihren Brüdern und Schwestern, unterscheidet sich jedoch deutlich von diesen durch ihre Grösse und Form.

Gruppe um J.J. Grob beschrieben (3). In Analogie zum Märchen von Hans Christian Andersen handelt es sich um ein Muttermal, welches nicht seinen Brüder/Schwestern-Läsionen gleicht und deshalb (unabhängig von den ABCD-Kriterien) die Aufmerksamkeit des Untersuchers erregt (Abbildung 2). Als Beispiel wird bei einem Patienten mit eher grossen und hellen Muttermalen ein kleines und dunkles Muttermal besonders auffallen. Bei einem Patienten mit zahlreichen kleinen und stark pigmentierten Muttermalen wird ein relativ helles und grösseres Muttermal die Aufmerksamkeit des Untersuchers auf sich ziehen. Diese Methode hat den Vorteil, dass die Untersuchung sehr schnell vonstattengeht und keinerlei Vorkenntnisse erfordert. Zwar gibt es keine präzisen Untersuchungen zur Diagnosegenauigkeit dieser Methode, doch haben wir den Eindruck, dass frühe Melanome auf diese Weise leicht übersehen werden können.

Innovative bildgebende Verfahren

Die ABCD-Regel sowie das Zeichen des «hässlichen Entleins» haben ihre Schwächen vor allem in frühen Tumorstadien sowie bei Patienten mit einer grossen Anzahl von atypischen Muttermalen (dysplastisches Nävusyndrom) (Abbildung 3). Frühe Melanome



Abbildung 3: Übersichtsaufnahme des Rückens eines Patienten mit dysplastischem Nävusyndrom



Abbildung 4: Bildschirmausschnitt eines Systems für digitale Ganzkörperübersichtsfotografie, wie es in der Zürcher Spezialprechstunde verwendet wird

können symmetrisch sein, eine regelmässige Form und eine homogene Farbe besitzen, einen Durchmesser von unter 5 mm haben und sich klinisch nicht von den anderen Muttermalen des Patienten unterscheiden lassen. Melanome in diesen Frühstadien können lediglich durch deren Veränderung diagnostiziert werden. Sie haben (noch) keinerlei morphologische Kriterien, welche die Diagnose ermöglichen würden, verändern sich aber zwischen zwei Kontrolluntersuchungen. Vor allem bei jungen Patienten findet man viele Muttermale, die sich physiologischerweise verändern. Dann ist es besonders schwierig, Hautkrebs in sehr frühen Stadien zu diagnostizieren.

Aus diesem Grund setzen wir bei Risikopatienten zwei innovative bildgebende Verfahren ein:

Ganzkörperübersichtsfotografie (Total body photography)

Die Ganzkörperübersichtsfotografie ist eine Methode aus den USA und wird dort als Standard bereits seit mehreren Jahrzehnten neben der klinischen Untersuchung eingesetzt (8–11). In Zürich setzen wir diese Technik seit zwei Jahren routinemässig ein. Es wird eine Serie von standardisierten und reproduzierbaren Übersichtsfotografien des Patienten angefertigt. Hierzu wird der Patient in definierte Positionen gebracht, welche die Inspektion der grösstmöglichen Hautoberfläche zulassen (Abbildung 4). Diese hochauflösenden Fotos werden dann in ein spezielles Computerprogramm eingefügt. Bei der nächsten Kontrolluntersuchung können diese Fotos mit einem speziellen Betrachter angesehen werden und der jüngste Befund mit dem Ausgangsbefund auf dem Bildschirm verglichen werden. Auf diese Weise können diejenigen Muttermale identifiziert werden, welche sich in Form, Farbe



Abbildung 5: Bildschirmausschnitt eines Patienten mit einer digital vergrößerten Detailaufnahme eines Muttermals (rechts im Bild). Diese Abbildung verdeutlicht die Vorteile eines digitalen Systems zur Ganzkörperübersichtsfotografie.

und Grösse verändert haben. Fällt bei der klinischen Untersuchung ein Muttermal auf, so kann auf den Übersichtsfotografien nachgesehen werden, ob das Muttermal bereits zum Zeitpunkt der Aufnahme existierte oder sich seitdem verändert hat. Die Digitalfotografie bringt speziell auf diesem Gebiet deutliche Vorteile, da die Bilder einfach vom Computer abrufbar sind und Details beliebig auf dem Bildschirm vergrößert werden können (Abbildung 5). Eine CD-ROM mit den Bildern und dem Computerprogramm wird dem Patienten sofort nach der Konsultation mitgegeben und steht damit dem überweisenden Arzt für weitere Kontrolluntersuchungen zur Verfügung.

Dermskopie

Bei der Dermskopie handelt es sich um ein nicht-invasives Verfahren zur Differenzialdiagnostik von pigmentierten Läsionen der Haut sowie zur Frühdiagnostik des Melanoms (13, 14). Unter Normalbedingungen wird Licht an der Hautoberfläche reflektiert, wobei nur sehr wenig in die Haut penetriert. Verwendet man ein Immersionsmedium (Alkohol, Öl oder Wasser), so ermöglicht dies eine optische Ankopplung von Glasplatte und Haut. Das Licht kann nun in die Haut eindringen und die tieferen Hautschichten ausleuchten. Wird noch ein optisches System zur Vergrößerung hinzugefügt, können Strukturen bis hin in die retikuläre Dermis eingesehen werden.

Die meisten Dermatologen verwenden einfache Handlupen (Dermskope mit 10- bis 20-facher Vergrößerung) (Abbildung 6). Die dermskopischen Strukturen wurden zu Beginn der Achtzigerjahre hauptsächlich von Morphologen aus Deutschland



Abbildung 6: Einsatz eines Dermskops: Nach dem Auftragen eines Tropfens Immersionsflüssigkeit wird die Handlupe auf die Haut aufgesetzt und die Läsion durch die Optik untersucht.



Abbildung 7: Klinisches Bild eines superfiziell spreitenden Melanoms (Breslow 1,3 mm, Clark Level IV) am Rücken einer 57-jährigen Frau. Es handelt sich um eine 13 x 8 mm messende symmetrische Läsion mit einer regelmässigen Begrenzung und homogener dunkelbrauner Färbung. Die klinische Diagnose eines Melanoms ist nicht eindeutig.



Abbildung 8: Das dermskopische Bild der Läsion aus Abbildung 7. Man erkennt zahlreiche verschiedene dermskopische Strukturen (Multikomponenten-Muster) wie unter anderem einen blau-weißen Schleier im Zentrum, ein sogenanntes negatives Pigmentnetz, unregelmässige dunkelbraune Dots und Globuli in der Peripherie der Läsion.

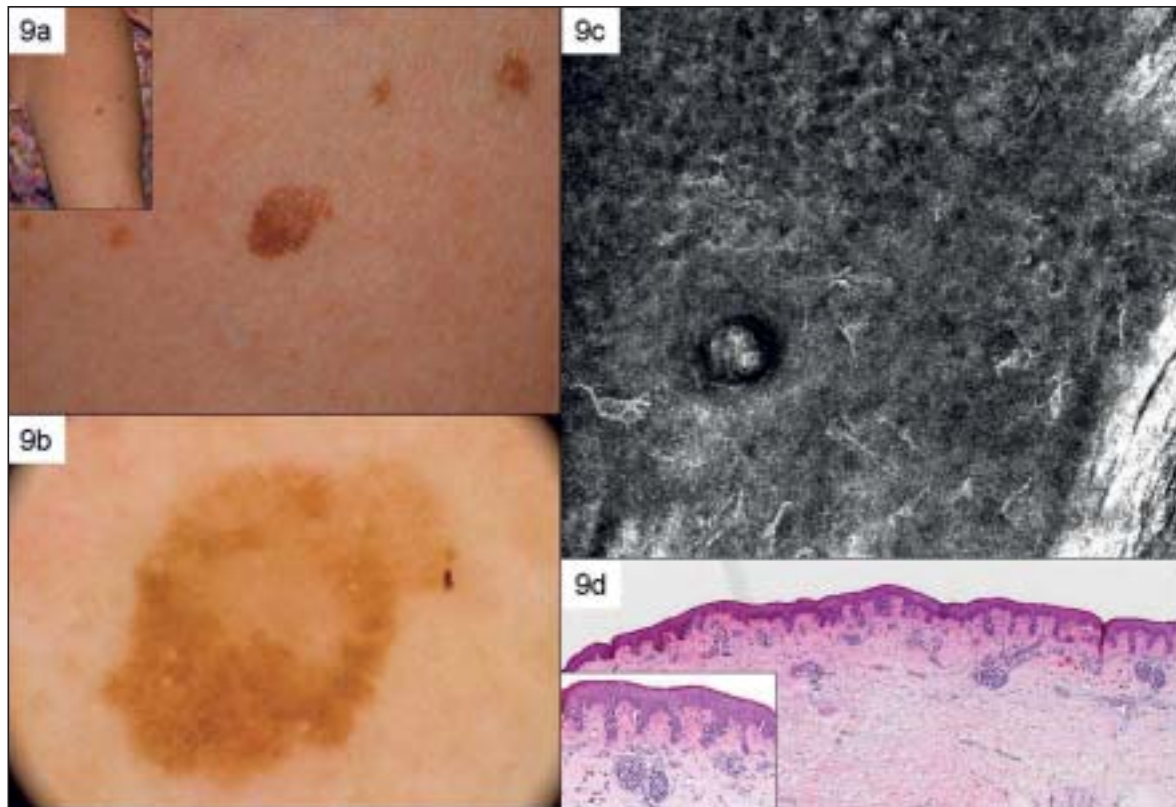


Abbildung 9a: Klinisches Bild eines malignen Melanoms mit Regression (Breslow-Index 0,35 mm, Clark-Level III) am rechten Oberarm einer 56-jährigen Frau. Es handelt sich um eine 8 × 6 mm messende, hellbraune Makula mit zentraler Hypopigmentierung. Die Patientin weist multiple ähnliche Läsionen auf.

Abbildung 9b: Das dermoskopische Bild der Läsion aus Abbildung 9a. Man erkennt ein hypopigmentiertes strukturloses Zentrum mit einzelnen grauen Dots und ein randständiges atypisches Pigmentnetz. Man könnte an eine Fibrose nach vorhergehendem Trauma denken (Anamnese unbekannt). Man findet keine hinreichenden Kriterien, um ein Melanom zu diagnostizieren.

Abbildung 9c: Konfokales Bild der Abbildung 9a. Die Bildgrösse entspricht 0,5 × 0,5 mm. Deutlich erkennt man multiple, weisse (refraktile) Zellen mit Dendriten (Ausläufern) in der Epidermis, welche aufsteigenden atypischen Melanozyten entsprechen.

Abbildung 9d: Histologisches Bild der Abbildung 9a (Hämatoxylin-Eosin-Färbung). Malignes Melanom vom nicht sicher klassifizierbaren Typ (in erster Linie superfiziell spreitender Typ), Breslow-Index 0,35 mm, Clark-Level III, ohne Ulzeration, mit Regression. Asymmetrische, unregelmässige melanozytäre Proliferation mit einer epidermalen und einer dermalen Komponente, bestehend aus Nestern verschiedener Grösse und einzeln gelegenen atypischen melanozytären Zellen mit deutlichem suprabasalem Aufsteigen in die Epidermis. In der Dermis finden sich verschieden grosse Nester aus atypischen melanozytären Zellen sowie Entzündungsinfiltrate und Fibrosierung im Sinne einer Regression.

und Österreich beschrieben und tragen Namen wie Pigmentnetzwerk, Globuli, Punkte, Pseudopodien, blau-weisser Schleier.

Die histopathologische Korrelation der dermoskopischen Kriterien ist sehr genau bekannt, sodass die dermoskopische Untersuchung einer Pigmentläsion direkte Rückschlüsse auf deren Histopathologie zulässt (15, 16).

Die Analyse von Farben ist ebenfalls sehr wichtig für die dermoskopische Diagnostik, denn eine präzise Analyse der Farben liefert nicht nur Informationen über die Natur der Struktur, sondern auch über die Lokalisation. Melanin ist eines der wichtigsten Pigmente in der Haut. Befindet sich Melanin in den obersten Hautschichten (Stratum corneum), erscheint es bei der dermoskopischen Untersu-

chung schwarz. Befindet sich dasselbe Pigment im Bereich der dermo-epidermalen Junctionszone, erscheint es hell- bis dunkelbraun. Dermales Melaninpigment erscheint blau. Dies hängt mit den optischen Eigenschaften der Haut und der Tatsache zusammen, dass Licht unterschiedlicher Wellenlängen unterschiedlich tief in die Haut eindringt.

Abbildung 7 zeigt eine pigmentierte Läsion der Haut, wie sie sich in der klinischen Untersuchung bei hoher Vergrößerung präsentieren kann. Abbildung 8 zeigt das dermoskopische Bild der Läsion aus Abbildung 7. Es lassen sich zahlreiche verschiedene dermoskopische Strukturen (Multikomponenten-Muster) erkennen. Die dermoskopische Untersuchung gilt unter Dermatologen als der Standard in der Melanomdiagnostik und wird routinemässig eingesetzt. Diese

Methode erfordert spezifische Kenntnisse im Bereich der Histopathologie der Haut und ein grosses Mass an Erfahrung. Die Verwendung der Dermoskopie durch einen erfahrenen Untersucher führt zu einer grossen Zunahme der Diagnosegenauigkeit. Pehamberger et al. fanden in einer Studie zum oberflächlich spreitenden Melanom eine Zunahme der Diagnosegenauigkeit von 54 Prozent (klinische Untersuchung) auf 91 Prozent (dermoskopische Untersuchung).

«Optische Biopsie» (konfokale Mikroskopie)

Als eines von drei Zentren in Europa und als einziges Zentrum in der Schweiz setzen wir im Rahmen der Hautkrebsvorsorge-Sprechstunde an der Dermatologischen Klinik des Universitätsspitals Zürich routinemässig die konfokale Mikroskopie (18, 19) ein. Diese Technik erlaubt eine horizontale Beurteilung einer Läsion bis in die Dermis, was ihr auch den Spitznamen «optische Biopsie» verliehen hat. Sie eignet sich hervorragend für die Diagnostik von verdächtigen Pigmentläsionen, da man sehr deutlich das Vorhandensein von atypischen Melanozyten in der Epidermis («pagetoide melanozytäre Migration») oder architektonische Veränderungen der Junktionszone erkennen kann (19). Die pagetoide melanozytäre Migration ist typisch für das Melanom. Die Abbildungen 9a und 9b zeigen eine klinisch unauffällige, dermatoskopisch diskret verdächtige melanozytäre Läsion, welche aber erst mithilfe der konfokalen Mikroskopie als maligne diagnostiziert werden konnte (pagetoide melanozytäre Migration, Abbildung 9c). Abbildung 9d zeigt die Histologie derselben Läsion, in der ein regressives Melanom bestätigt werden konnte. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Frühdiagnose gerade beim Melanom eine sehr wichtige Rolle zukommt, da zum einen die Haut leicht untersucht werden kann und zum anderen frühe Tumorstadien beim Melanom durch einen einfachen chirurgischen Eingriff «geheilt» werden können. ●

Korrespondenzadresse:

PD Dr. med. Ralph P. Braun

Leitender Arzt

Dermatologische Klinik, Universitätsspital

Gloriastrasse 31

8091 Zürich

Tel. 044-255 35 86, Fax 044-255 89 88

E-Mail: ralph.braun@usz.ch

Interessenkonflikte: keine

Literatur:

- Balch C.M., Buzaid A.C., Soong S.J., Atkins M.B., Cascinelli N., Coit D.G. et al.: Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(16): 3635–3648.
- Balch C.M., Soong S.J., Gershenwald J.E., Thompson J.F., Reintgen D.S., Cascinelli N. et al.: Prognostic factors analysis of 17600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. *J Clin Oncol* 2001; 19(16): 3622–3634.
- Grob J.J., Bonerandi J.J.: The «ugly duckling» sign: identification of the common characteristics of nevi in an individual as a basis for melanoma screening [letter; comment]. *Arch Dermatol* 1998; 134(1): 103–104.
- Seab J.A.: Dysplastic nevi and the dysplastic nevus syndrome. *Dermatol Clin* 1992; 10(1): 189–201.
- Elder D.E., Green M.H., Guerry D., Kraemer K.H., Clark W.H.: The dysplastic nevus syndrome: our definition. *Am J Dermatopathol* 1982; 4(5): 455–460.
- Elder D.E., Murphy G.F., Lavker R.L., Wallace H. Clark, Jr., MD: a biography and annotated bibliography. *Hum Pathol* 1999; 30(5): 491–497.
- English D.R., Menz J., Heenan P.J., Elder D.E., Watt J.D., Armstrong B.K.: The dysplastic naevus syndrome in patients with cutaneous malignant melanoma in Western Australia. *Med J Aust* 1986; 145(5): 194–198.
- Kopf A.W., Salopek T.G., Slade J., Marghoob A.A., Bart R.S.: Techniques of cutaneous examination for the detection of skin cancer. *Cancer* 1995; 75(2 Suppl): 684–690.
- Nehal K.S., Oliveria S.A., Marghoob A.A., Christos P.J., Dusza S., Tromberg J.S. et al.: Use of and beliefs about baseline photography in the management of patients with pigmented lesions: a survey of dermatology residency programmes in the United States. *Melanoma Res* 2002; 12(2): 161–167.
- Slue W., Kopf A.W., Rivers J.K.: Total-body photographs of dysplastic nevi. *Arch Dermatol* 1988; 124(8): 1239–1243.
- Slue W.E.: Total body photography for melanoma surveillance. *N Y State J Med* 1992; 92(11): 494–495.
- Malvey J., Puig S.: Follow-up of melanocytic skin lesions with digital total-body photography and digital dermoscopy: a two-step method. *Clin Dermatol* 2002; 20(3): 297–304.
- Braun R.P., Rabinovitz H., Oliviero M., Kopf A.W., Saurat J.H., Thomas L.: Dermatoscopie des lésions pigmentées. *Ann Dermatol Venerol* 2002; 129(2): 187–202.
- Braun R.P., Saurat J.H., French L.E.: Dermoscopy of pigmented lesions: a valuable tool in the diagnosis of melanoma. *Swiss Med Wkly* 2004; 134(7–8): 85–90.
- Braun R.P., Kaya G., Masouye I., Krischer J., Saurat J.H.: Histopathologic correlation in dermoscopy: a micropunch technique. *Arch Dermatol* 2003; 139(3): 349–351.
- Yadav S., Vossaert K.A., Kopf A.W., Silverman M., Grin-Jorgensen C.: Histopathologic correlates of structures seen on dermoscopy (epiluminescence microscopy). *Am J Dermatopathol* 1993; 15(4): 297–305.
- Happe M., Freitag M., Stucker M., Altmeyer P., Hoffmann K. [High resolution 20 MHz ultrasound diagnosis in dermatology for noninvasive imaging of malignant melanomas]. *Z Arztl Fortbild Qualitatssich* 1997; 91(4): 347–353.
- Ruocco E., Argenziano G., Pellacani G., Seidenari S.: Noninvasive imaging of skin tumors. *Dermatol Surg* 2004; 30(2 Pt 2): 301–310.
- Charles C.A., Marghoob A.A., Busam K.J., Clark-Loeser L., Halpern A.C.: Melanoma or pigmented basal cell carcinoma: a clinical-pathologic correlation with dermoscopy, in vivo confocal scanning laser microscopy, and routine histology. *Skin Res Technol* 2002; 8(4): 282–287.