

1. Einleitung

Der Mensch ist in seiner gesamten Körperoberfläche von Haut bedeckt. Mit einer ungefähren Fläche von 1,8 m² [1] und einem Gewicht zwischen 3,5 und 10 kg stellt die Haut damit das größte Organ des menschlichen Körpers dar [2]. Zugleich ist die Haut mit einer Dicke von nur wenigen Millimetern das dünnste Organ des Menschen und erfüllt viele lebenswichtige Funktionen, wie zum Beispiel die Sinneswahrnehmungen von Temperatur oder Berührungen, die Thermoregulation oder der Schutz vor UV-Strahlung und dem Eindringen von Mikroorganismen ins Körperinnere.

Als äußerste Schicht des Menschen ist die Haut zahlreichen Umwelteinflüssen ausgesetzt. So kann beispielsweise häufiges Händewaschen, der Kontakt mit irritativen und allergenen Substanzen und intensive Feuchtarbeit in vielen Berufen der Industrie, des Handwerks, im Gesundheitswesen und sogar im privaten Haushalt nicht vermieden werden [3]. Wird die Haut durch diese Einwirkungen zu stark beansprucht, können irritative, allergische und kumulativ-toxische Kontaktekzeme auftreten [3]. Zur Prävention solcher Dermatosen stehen eine Vielzahl von Strategien zur Verfügung. Ein Grundsatz ist die Vermeidung von unnötigem Kontakt mit irritativen Substanzen. Des Weiteren wird eine schonende Reinigung der Haut mit milden, der jeweiligen Verschmutzung angepassten Hautreinigungsmitteln empfohlen. Auch wird die regelmäßige Verwendung von Barrierecremes befürwortet, obwohl die Wirksamkeit von Barrierecremes bis heute heftig diskutiert wird [4]. Zur Vermeidung von Kontaktdermatosen ist es von großem Interesse, sichere effektive Barrierecremes zu entwickeln. Zur Evaluierung der Barrierecremes sind Methoden notwendig, die leicht zu handhaben und nicht invasiv sind, einen geringen Zeitaufwand erfordern und standardisiert und in-vivo erfolgen können.

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, die Laser-Scan-Mikroskopie, die Laser-Doppler-Blutflussmessung und die Abrissmethode zur Untersuchung der Effektivität von Barrierecremes zu evaluieren und miteinander zu vergleichen.

1.1 Der Aufbau der Haut

Grundvoraussetzung zum Verständnis der Physiologie der Haut ist die Kenntnis des Aufbaus und der Funktion dieses vielfältigen komplexen Organs.

Die eigentliche Haut (Integumentum commune) kann in zwei Schichten unterteilt werden. Wie aus der Abbildung 1 ersichtlich, besteht sie aus der Epidermis (Oberhaut) und der Dermis (Corium oder Lederhaut). An die Dermis schließt sich die Subkutis (Unterhaut) an. Zudem sind in der Haut unterschiedliche Hautanhangsgebilde wie die Haarfollikel und die Talg- und Schweißdrüsen zu finden. (Abb. 1)

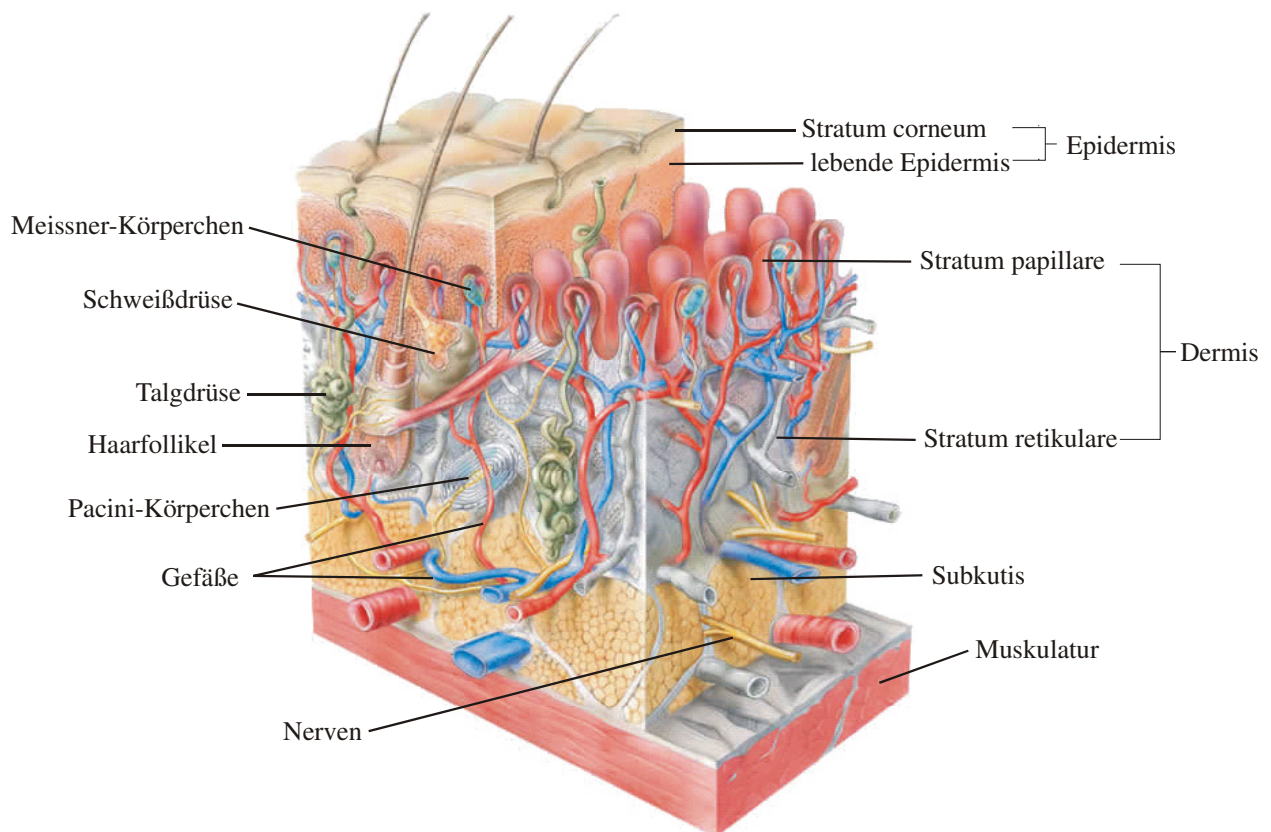


Abb. 1: Der Aufbau der Haut (Quelle: www.scf-online.com, Ausgabe 27, Cognis Deutschland GmbH & Co KG.)

1.1.1 Epidermis

Die Epidermis als äußerste Schicht der Haut stellt sich als ein mehrschichtiges, verhornendes Plattenepithel dar und ist hauptsächlich aus Keratinozyten aufgebaut [5, 6]. Histologisch lässt sich die Epidermis in unterschiedliche Schichten aufteilen, in denen die Keratinozyten in verschiedenen Differenzierungsstadien vorliegen (Abb. 2). Ausgangspunkt dieser Differenzierung ist das Stratum basale, die unterste Schicht der Epidermis. Ihr schließt sich das Stratum spinosum an. Beide Schichten bilden zusammen das Stratum germinativum, an welche sich das Stratum granulosum und als äußerste Schicht das Stratum corneum angliedern. Ferner befindet sich in Zonen stark beanspruchter Haut (Fußsohle und Handfläche) zwischen dem Stratum granulosum und dem Stratum corneum das Stratum lucidum [5, 6].

Das **Stratum basale** besteht aus einem einschichtigen hochprismatischen Epithel, welches die Stammzellen der Keratinozyten enthält (Abb. 2 Nr. 1). Diese sind über Hemidesmosomen fest mit der darunter liegenden Basalmembran verbunden. Die Keratinozyten weisen intermediäre keratinhaltige Filamente auf, die lichtmikroskopisch in Bündeln als Tonofibrillen sichtbar sind [6]. Untereinander sind die Zellen durch zahlreiche Desmosomen verknüpft, die den Zusammenhalt der Zellen unterstützen [6]. Die Stammzellen weisen eine hohe mitotische Aktivität auf und sind der Ausgangspunkt für die später stattfindende Differenzierung der Keratinozyten in die kernlosen Korneozyten des Stratum corneum. Im Laufe ihrer Veränderung durchwandern die Keratinozyten die verschiedenen Schichten der Epidermis, bis sie letztendlich nach etwa 28 Tagen [1] als tote Zellen abgeschuppt werden.

Zusätzlich finden sich in der basalen Schicht Melanozyten und Merkelzellen. Melanozyten weisen die melaninhaltigen Melanosomen auf, die durch Exozytose an umliegende Keratinozyten abgegeben werden. Innerhalb der Keratinozyten lagern sich diese Vesikel oberhalb des Zellkerns ab und schützen so das Genom vor den schädlichen Wirkungen der UV-Strahlung. Die Merkelzellen sind synaptisch mit einer Nervenendigung verbunden und fungieren als Mechanosensoren [6].

Im Anschluss an die Teilung einer Stammzelle verbleibt eine Tochterzelle in der basalen Schicht als Stammzelle, während die andere in die nächste Schicht, das **Stratum spinosum** aufsteigt (Abb. 2 Nr. 2). Die Keratinozyten nehmen hier eine kubische Form an und flachen nach außen leicht ab. Durch die Fixierung während der histologischen Aufarbeitung der Präparate erhalten sie ihr typisches stacheliges Aussehen [6]. In dieser Schicht lassen sich zudem die antigenpräsentierenden Langerhans-Zellen finden, die eine wichtige Rolle in Immunreaktionen der Haut spielen [5].

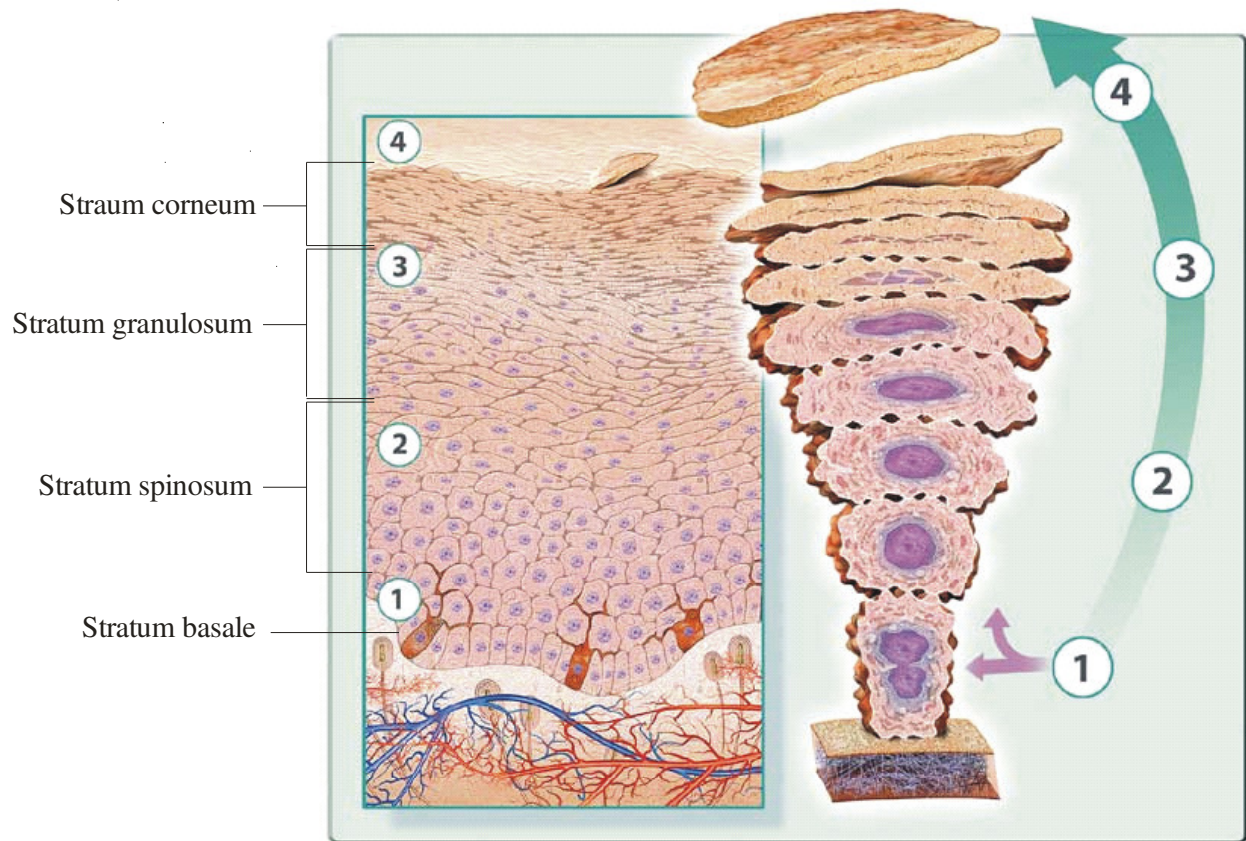


Abb. 2: Der Zellzyklus der Epidermis (Quelle: www.scf-online.com, Ausgabe 35, Cognis Deutschland GmbH & Co KG.)

Im **Stratum granulosum** finden die Enddifferenzierung und die Apoptose der Keratinozyten statt (Abb. 2 Nr. 3). Die Migration der Keratinozyten vom Stratum basale bis zu dieser Schicht beträgt etwa 2-4 Wochen [7]. Die polygonalen Zellen sind mit membranlosen Keratohyalin granula gefüllt, die für die Verhornung der Keratinozyten verantwortlich sind. In den Keratinozyten ist eine weitere Struktur zu finden, die membranumschlossenen Lamellargranula, welche ihren lipidhaltigen Inhalt durch Exozytose in den Interzellulärspalt abgeben, diesen kontinuierlich ausfüllen und abdichten. Ferner lösen sich die Zellorganellen der stoffwechsellinaktiven Zellen durch lysosomale Einwirkung auf [5, 6, 7, 8].

Die aus dem Stratum granulosum hervorgehenden Korneozyten (Hornzellen) bilden das durchschnittlich aus 15 Lagen bestehende und 10-20µm dicke **Stratum corneum** (Hornschrift) (Abb. 2 Nr. 4) [7]. Die flachen, lang gestreckten Zellen weisen einen ungefähren Durchmesser von 40 µm und eine Dicke von 0,5 µm auf und sind vollständig mit Keratin gefüllt. Die Korneozyten sind in dieser epidermalen Schicht so angeordnet, dass sie einander überlappen.

Zwischen den Hornzellen befindet sich die von den Lamellargranula abgegebene Kittsubstanz, welche die Zellen untrennbar verbindet [5, 6] und so unter anderem für die Barrierefunktion der Haut zuständig ist [7]. Die von den Lamellargranula gebildete Substanz besteht vor allem aus Ceramiden und Cholesterin [7, 9]. Die Korneozyten der unteren drei Lagen des Stratum corneum (Stratum corneum conjunctum) weisen histologisch einen größeren Zusammenhalt auf als in den darüber befindlichen oberflächlichen Lagen (Stratum corneum disjunctum). Dieses Phänomen wird durch eine Verringerung des Gehalts an Desmosomen in den oberflächlichen Schichten der Hornschicht hervorgerufen, wodurch die Abschuppung der Hornzellen eingeleitet wird [7].

1.1.2 Dermis

Die Dermis besteht zum größten Teil aus Bindegewebe und ist für die mechanische Festigkeit und Elastizität der Haut verantwortlich [6, 8]. Sie kann in zwei Schichten, das Stratum papillare (Papillarschicht) und das Stratum reticulare (Geflechschicht) unterteilt werden.

Das **Stratum papillare** schließt sich unmittelbar an die Epidermis an und ist über ihre Papillarkörper (Papillen) fest mit ihr verzahnt. Durch die Papillen wird die für die nutritive Versorgung der Epidermis nötige Oberfläche stark vergrößert [5]. Zudem ist die Papillarschicht ein wichtiger Reaktionsraum für immunologische Vorgänge und weist die Meissner-Tastkörperchen auf [5, 6, 7]. Das **Stratum reticulare** besteht aus straffem Bindegewebe und einem Netzwerk aus elastischen Fasern [6]. Die Dermis wird von zahlreichen Blut und Lymphgefäßen durchzogen und enthält Haarfollikel, Schweiß- und Talgdrüsen. Ein weit verästeltes Netzwerk sensibler und vegetativer Nerven im Corium versorgt die verschiedenen Organe der Haut [5, 6].

1.1.3 Subkutis

Die Subkutis ist durch lockeres Bindegewebe und läppchenförmiges Fettgewebe charakterisiert [6, 8]. Sie verbindet die Haut verschieblich mit den unter ihr befindlichen Organen, enthält die zur Haut ziehenden Gefäße und Nerven [5] und die Pacini-Körperchen [6]. Die Unterhaut dient als Isolator, Druckpolster und Fettspeicher [5, 8].

1.1.4 Blutgefäßsystem der Haut

Die Blutgefäße der Haut befinden sich in der Dermis (Abb. 3). Die Epidermis weist keine Gefäße auf. Versorgt durch größere Arterien der Subkutis bildet sich zwischen der Subkutis und der Dermis ein weites Gefäßplexus, das Rete arteriosum dermidis (Plexus dermidis) aus, welches die Hautanhangsgebilde mit Blut versorgt [5, 10]. Von hier ziehen kleine Arterien weiter in die Dermis und bilden unterhalb des Stratum papillare das Rete arteriosum subpapillare (Plexus superficialis) [1, 5, 10]. Kapillarschlingen ziehen von diesem Geflecht in die Papillen und versorgen die Epidermis [5, 6]. Die Venen sind ähnlich der Arterien angeordnet. Sie bilden anschließend an die aus den Papillen absteigenden Kapillaren das Rete venosum subpapillare und zwischen Dermis und Subkutis das Rete venosum dermidis [5]. Von hier fließt das Blut in die Hautvenen der Subkutis ab [5]. Zusätzlich zur Ernährung der Haut sind die Blutgefäße zur Regulierung der Körpertemperatur von großer Bedeutung [5].

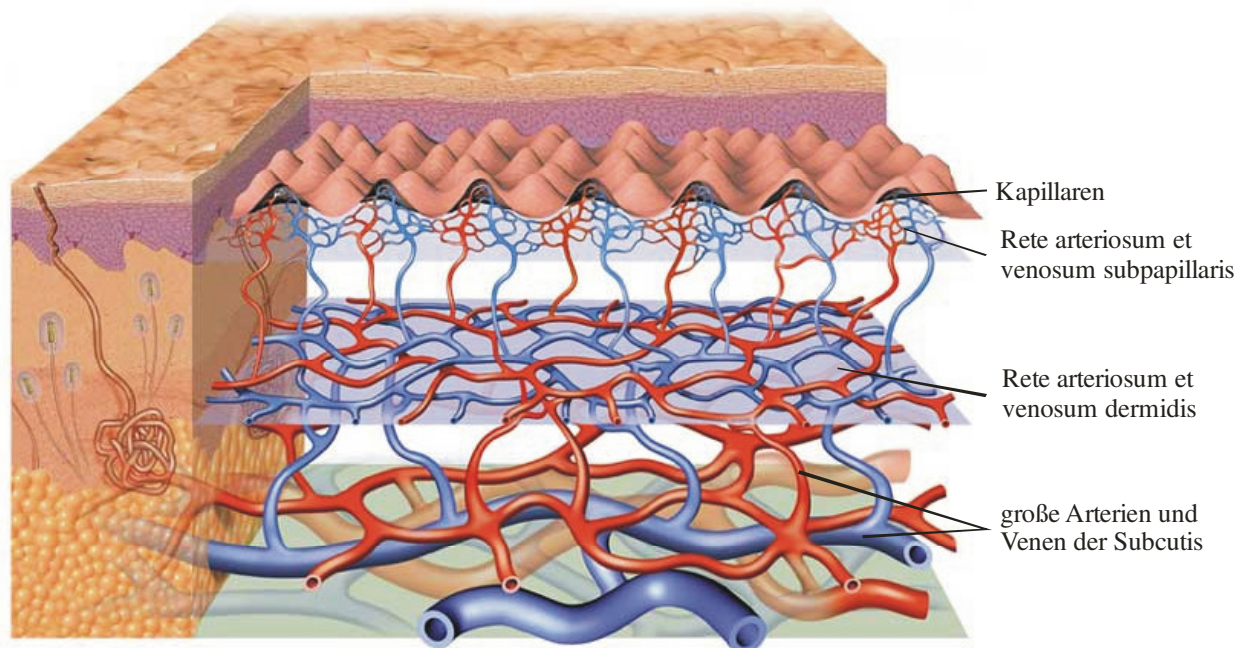


Abb. 3: Das Blutgefäßsystem der Haut (Quelle: www.scf-online.com, Ausgabe 40, Cognis Deutschland GmbH & Co KG.)

1.2 Funktionen der Haut

Die Haut als größtes menschliches Organ erfüllt eine Vielzahl von Aufgaben und Funktionen. Die Haut bildet eine Grenze zur Außen- und Innenwelt des Körpers und schützt vor chemischen, mechanischen und thermischen Schäden [5, 11]. Eine der wichtigsten Rollen spielt hierbei das Stratum corneum [7], das durch seinen spezifischen Aufbau den Körper vor dem Austrocknen und dem Eindringen körperfremder Substanzen schützt [6, 11]. Zudem bildet die Lipidmatrix des Stratum corneum zusammen mit dem Sekret der Talg- und Schweißdrüsen den Säureschutzmantel der Haut, der einen pH-Wert von 5,5 aufrecht erhält und so vor vielen Krankheitserregern schützt [11]. Die Haut bietet zudem Schutz gegen manche Strahlenarten [5] und bildet z.B. Melanin zur Abschirmung von ultravioletter Strahlung [6]. Die Gefäßgeflechte innerhalb der Dermis sind, wie auch das Unterhautfettgewebe und die Schweißdrüsen, zum großen Teil an der Thermoregulation beteiligt [6, 11]. Eine weitere Funktion der Haut ist der immunologische Schutz, der durch die Langerhanszellen und Lymphozyten erreicht wird [6]. Als Kontaktorgan zur Umwelt nimmt die Haut zahlreiche Informationen über Sensoren auf, wie zum Beispiel die Umgebungstemperatur und Schmerz [6, 11]. Durch Sensoren für den Tastsinn können über die Haut verschiedene Formen und Strukturen wahrgenommen werden [6, 11]. Weitere Fähigkeiten der Haut sind die Bildung eines Reservoirs für verschiedenste Substanzen und perkutane Absorption von topisch applizierten Stoffen. Die Reservoirfunktion wird vor allem durch das Stratum corneum realisiert [12], aber auch für die Haarfollikel wird eine Existenz eines Langzeitreservoirs angenommen [13]. Die perkutane Absorption von oberflächlich aufgetragenen Substanzen kann transepidermal, d.h. transzellulär und interzellulär und über die verschiedenen Anhangsorgane wie Schweißdrüsen, Haarfollikel und Talgdrüsen erfolgen [14].

1.3 Schutz der Haut durch Barrierecreme

In vielen Berufsgruppen lässt sich der Kontakt mit Substanzen, die die Barrierefunktion der Haut beeinträchtigen, nicht immer vermeiden. Allein regelmäßiges Händewaschen kann zu einer Beeinträchtigung der Schutzfunktion der Haut führen [15] und sie anfälliger für weitere potenziell irritative Substanzen machen. Oft besteht zuerst eine nicht offensichtliche subklinische Schädigung der Hautbarriere und das Erscheinungsbild einer Kontaktdermatitis mit trockener, rauer, schuppender, geröteter und brennender Haut tritt erst später ein [15].

Zum Schutz der Haut vor irritativen Einwirkungen am Arbeitsplatz gibt es mehrere Ansatzpunkte. Einer der wichtigsten ist die natürliche Vermeidung der schädigenden Substanz, zum Beispiel durch die Verwendung von weniger aggressiven Materialien oder technische Schutzmaßnahmen, die den Kontakt zum schädlichen Stoff ausschließen oder verringern (Expositionsprophylaxe) [16]. Dies ist jedoch häufig nicht realisierbar, so dass persönliche Schutzmaßnahmen wie das Tragen von Schutzhandschuhen, eine milde Reinigung der Haut, die Verwendung von Barrierecremes und anderen pflegenden Produkten in den Vordergrund treten müssen. Die Verwendung von Handschuhen bietet einen guten Schutz vor hochgradig aggressiven Substanzen, wie zum Beispiel konzentrierten Säuren, birgt aber auch Nachteile. So können durch die Handschuhe nicht nur Allergien (z.B. Latexallergie), sondern auch Hautmazerationen durch den okklusiven Effekt der Handschuhe entstehen [16]. Zudem konnte in einigen Studien nachgewiesen werden, dass Schutzhandschuhe keinen 100%igen Schutz bieten. Zhai et al. [17] wiesen zum Beispiel nach, dass einige niedermolekulare Chemikalien die Membran der Handschuhe penetrieren können. Auch Mellström et al. [18] konnten einen 100%igen Schutz für solche Handschuhe nicht bestätigen. Sie zeigten in ihrer Studie, dass die Membran der Handschuhe durch Lösungsmittel in ihrer Struktur verändert werden kann, wodurch wiederum das Permeationsverhalten verändert wird.

Barrierecremes werden zum Hautschutz vor und während der Arbeit aufgetragen und sollen die Penetration und Absorption von gering gradig hautirritierenden Substanzen wie Wasser, Reinigungsmitteln und organischen Lösungsmitteln [19] verhindern beziehungsweise reduzieren [20, 21]. Dies geschieht wahrscheinlich auf drei verschiedenen epidermalen Wegen. Ein unmittelbarer Effekt wird durch die Entstehung eines Lipidfilms auf der Hautoberfläche erzeugt (Okklusion) [22, 23]. Ein zweiter wird durch Zufügen einer Lipidmischung in den Interzellularspalt hervorgerufen [22]. Ein dritter verzögerter Effekt erfolgt durch die Bereitstellung von Lipiden für die epidermalen Zellen, wodurch diese dazu befähigt werden, vermehrt natürliche Lipide zu produzieren und freizusetzen [22]. Barrierecremes sollen theoretisch die Fähigkeit besitzen, eine physikalische Barriere zwischen der Haut und der irritierenden Substanzen zu bilden [16]. Treffel et al. [24] stellten zusätzlich die Hypothese auf, dass die irritativen Substanzen oder Allergene durch Barrierecremes abgekapselt werden und so die Aufnahme in das Stratum corneum verhindert wird. Einige Autoren gehen davon aus, dass bestimmte Barrierecremeinhaltsstoffe, wie zum Beispiel Dimethicone oder Perfluoropolyether, für die Schutzfunktion verantwortlich sind [25, 26, 27]. Allerdings wird die Effektivität von Barrierecremes bis heute heftig diskutiert, da in verschiedenen Studien auch gegenteilige Effekte

aufgezeigt [28] oder kein Unterschied in der Wirksamkeit der Barrierecreme und ihrer Cremegrundlage festgestellt werden konnte [4, 24, 29].

1.4 Methoden zur Evaluation der Effektivität von Barrierecremes

Bis heute wurden verschiedenste in-vitro und in-vivo Methoden zur Untersuchung der Wirksamkeit von Barrierecremes entwickelt.

Ein häufig verwendetes in-vivo Verfahren ist der Repetitive Irritation Test (RIT). Hier wird die Effektivität von Barrierecremes durch wiederholtes Auftragen unterschiedlicher irritativer Modellschubstanzen untersucht [23, 25, 28, 30, 31]. Natriumlaurylsulfat, Natriumhydroxid, Toluol und Milchsäure sind häufig verwendete Standardschubstanzen [23, 25, 31]. Frosch et al. [23] entwickelten mit Hilfe eines Tiermodells eine auch für den Menschen verträgliche Methode des Repetitive Irritation Tests. In den Untersuchungen wurden in einem Zeitraum von 12 Tagen 30 Minuten vor der Applikation eines Reizstoffes verschiedene Barrierecremes aufgetragen. Am 1., 5. und 12. Tag wurde das Blutflussvolumen, der transepidermale Wasserverlust und mittels eines Corneometers die Hydratation des Stratum corneum bestimmt. Zusätzlich erfolgte eine subjektive Einschätzung des entstandenen Erythems durch einen Arzt.

Eine ähnliche Methode stellt der in-vivo oder in-vitro angewendete Repeated Short-Time Occlusive Irritation Test (ROIT) dar. Auch hier werden künstlich Hautirritationen durch Reizstoffe erzeugt, allerdings unter okklusiven Bedingungen und anschließend die Haut mit Hilfe von verschiedenen Parametern untersucht [32, 33].

Eine weitere Methode zur Bestimmung der Wirksamkeit von Barrierecremes ist deren Auftragen und nachfolgend die Applikation einer Schubstanz, die zu einem späteren Zeitpunkt im Stratum corneum nachgewiesen wird. De Fine Olivarius et al. [34] applizierten im Anschluss an die Barrierecreme in Wasser gelöstes Kristall Violet und untersuchten daraufhin die oberflächliche Reflexion der Haut mit Hilfe eines Reflexionsspektrometers. Zhai et al. [19] haben ebenfalls Farbstofflösungen nach Applikation von einer Barrierecreme aufgetragen, anschließend Cyanacrylatabschabe entnommen und auf diesen die Farbstoffmenge durch Colorimetrie nachgewiesen. Sun et al. [21] applizierten im Anschluss an eine Barrierecreme eine Zinkchloridlösung und entnahmen anschließend vier aufeinander folgende Oberflächenbiopsien. Mittels Laser-induzierter Spektroskopie wurden dann die Zinkionen im Stratum corneum nachgewiesen.

Zusätzlich können Barrierecremes in-vitro mit Hilfe von Diffusionszellen untersucht werden. So kann die Wirksamkeit von Barrierecremes auch durch stärker irritativ wirkende Stoffe an tierischer und menschlicher Haut untersucht werden [35, 36].

Darüber hinaus stehen weitere Methoden zur Verfügung, die theoretisch gut geeignet sind, um die Effektivität von Barrierecremes zu untersuchen.

1.4.1 Laser-Scan-Mikroskopie

Die Laser-Scan-Mikroskopie ist eine inzwischen verbreitete Methode zur Untersuchung von verschiedenen Geweben. Sie erlaubt nicht nur einen fast „histologischen“ Blick in-vitro, sondern auch in-vivo. Die Laser-Scan-Mikroskopie bietet somit eine nicht invasive Betrachtung von lebenden Zellstrukturen in *real time* [37] ohne Anwendung von Biopsien und Fixierungsmethoden. Zudem ist es durch ein fasergekoppeltes Laser-Scan-Mikroskop mit einem flexiblen Handstück heute möglich in-vivo Untersuchungen am Menschen durchzuführen [43].

Zurzeit kann zwischen der Reflexion- und der Fluoreszenz-Laser-Scan-Mikroskopie unterschieden werden. Das Licht einer punktförmigen Lichtquelle eines Lasers wird in beiden Verfahren auf das zu untersuchende Gewebe fokussiert [38]. Während bei der reflexierenden Laser-Scan-Mikroskopie Licht des beleuchteten Gebiets reflektiert und vom Messsystem registriert wird, basiert die Fluoreszenz-Laser-Scan-Mikroskopie auf der Applikation von fluoreszierenden Farbstoffen, welche das zu untersuchende Gewebe kontrastieren und an die Messsonde Licht reflektieren [39].

Die Reflexions-Laser-Scan-Mikroskopie wurde bis heute für verschiedenste Studien eingesetzt. So zum Beispiel zur Untersuchung von gesundem Zungenepithel [40] oder der Cornea für ophthalmologische Fragestellungen [38]. In dermatologischen Studien wurde das Verfahren der reflexierenden Laser-Scan-Mikroskopie zur Analyse von normaler Haut, proliferativen Hautläsionen, Basalzellkarzinomen, Melanomen, Aktinischen Keratosen und zur Studie von dynamischen Prozessen wie inflammatorischen Geschehen in der Haut oder allergischer Kontaktdermatitis angewendet [41].

Die Fluoreszenz-Laser-Scan-Mikroskopie kann ähnlich der reflexierenden Methode verwendet werden [39]. Zusätzlich bietet sich durch die notwendige Applikation von fluoreszierenden Farbstoffen die Möglichkeit der Untersuchung der Penetration von topisch applizierten Substanzen. Jacobi et al. [42] verglichen qualitativ die Penetration von Natriumfluoreszein in-vivo in menschliche Lippenhaut und in-vitro in Schweineschnauzenhaut. Lademann et al. [43] applizierten mit Curcumin und Natriumfluoreszein angereicherte Sonnenschutzmittel auf die

Unterarminnenseite von Probanden und prüften anschließend die Penetration und Verteilung der Sonnenschutzmittel im Stratum corneum.

Durch ihren nicht invasiven Charakter, den hoch auflösenden Bildern mit der Möglichkeit zum Nachweis fluoreszierender Substanzen [37] und der leichten und schnellen Handhabung [44] bietet die Laser-Scan-Mikroskopie gute Voraussetzungen zur in-vivo Untersuchung der Effektivität von Barrierecremes in Kombination mit einem fluoreszierenden Farbstoff als penetrierende Substanz.

1.4.2 Laser-Doppler-Blutflussmessung

Der Blutfluss der Haut kann durch verschiedene äußere und innere Faktoren beeinflusst werden. Nicht nur durch lokale Wärme- oder Kälteeinwirkung, sondern auch durch die topische Applikation von Medikamenten kann die Hautdurchblutung verändert werden. Diese Einflüsse wurden in der Vergangenheit für Untersuchungen der Hautmikrozirkulation mit Hilfe der Laser-Doppler-Blutflussmessung genutzt. Als Voraussetzung für solche Untersuchungen wiesen Saumet et al. [45] in einer Studie nach, dass die mit der Laser-Doppler-Blutflussmessung ermittelten Werte hautspezifisch sind und nicht durch die darunter liegende Muskulatur beeinflusst werden.

Die Laser-Doppler-Blutflussmessung findet aktuell in physiologischen und pathophysiologischen Studien ihre Anwendung. So untersuchten Kellogg et al. [46] zum Beispiel durch welche Mechanismen Acetylcholin seine vasodilatatorischen Effekte ausübt. Des Weiteren konnte die Laser-Doppler-Blutflussmessung zur Untersuchung der Hautmikrozirkulation während einer reaktiven Hyperämie beispielsweise bei Diabetes mellitus, essentieller Hypertonie, Atherosklerose und Sepsis angewandt werden [47]. Ein weiteres Anwendungsgebiet dieser Technik ist die Betrachtung des Blutflusses der Haut bei unterschiedlichen dermatologischen Erkrankungen und auch nach Hauttransplantation [48].

Lodén et al. [49] evaluierten die Wirksamkeit einer Creme, welche die Reparatur irritierter Haut unterstützen soll mit Hilfe der Laser-Doppler-Blutflussmessung. Mittels Sodiumlaurylsulfate und der Abrissmethode wurden künstlich Hautirritationen gesetzt und nachfolgend über 2 Wochen eine Barrierecreme zweimal täglich appliziert. Während der Studie wurde in regelmäßigen Abständen die Wiederherstellung der Hautbarriere und Erholung der Haut durch Laser-Doppler-Blutflussmessung und Messung des transepidermalen Wasserverlustes bestimmt.

Zur Untersuchung der Effektivität von Barrierecremes applizierten Duval et al. [50] Hexylnicotinat und analysierten anschließend den Blutfluss mittels Laser-Doppler-

Blutflussmessung. Hierfür wurden die Probanden angewiesen zweimal täglich über 3 Wochen eine Barrierecreme auf die Unterarminnenseiten aufzutragen. Am Untersuchungstag wurde Hexylnicotinat mittels Filterpapier für 20 Sekunden appliziert und ein vorhandener Überstand entfernt. Im Anschluss wurde der Blutfluss über 1 Stunde und 15 Minuten kontinuierlich gemessen.

1.4.3 Abrissmethode

Eine häufig verwendete Methode für dermatopharmakologische und Penetrationsstudien ist die Abrissmethode (Tape Stripping) [51]. Durch diese Technik kann die äußerste Schicht der Haut, das Stratum corneum, Schicht für Schicht mittels eines Klebefilms entfernt werden und mit ihr topisch applizierte Substanzen und Medikamente, die sich in dieser Ebene befinden [52]. Zur Entfernung des gesamten Stratum corneum werden bis zu 100 Abrisse benötigt [53]. Jacobi et al. [12] konnten zeigen, dass die gesamte Entfernung der Hornschicht für Penetrationsuntersuchungen nicht zwingend nötig ist, da die höchsten Konzentrationen an topisch applizierten Substanzen auf und in den obersten Schichten des Stratum corneum wieder gefunden werden können.

Mittels unterschiedlicher Verfahren kann nach dem Abrissverfahren die Menge an Korneozyten und der Substanz auf den Abrissen ermittelt werden. Kalia et al. [54] kalkulierten die Hornschichtdicke durch Wiegen der gewonnenen Abrisse. Weigmann et al. [52] hingegen bestimmten die Menge an Korneozyten auf den einzelnen Abrissen mittels UV/VIS Spektroskopie.

Zur Ermittlung der Substanzmenge auf den einzelnen Abrissen können abhängig von der aufgetragenen Substanz ebenfalls die UV/VIS Spektroskopie oder auch die Röntgenfluoreszenzmessung verwendet werden [52]. In einer weiteren Studie untersuchten Weigmann et al. [55] die Bioverfügbarkeit von Clobetasolpropionat und bestimmten die Menge des applizierten Stoffes durch *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Teichmann et al. [20] benutzten die oben beschriebenen Techniken zur Untersuchung der Effektivität von Barrierecremes. Nach dem Auftragen der Barrierecremes applizierten sie den Indikatorfarbstoff Patent Blau V und bestimmten nachfolgend die wiedergefundene Menge des Farbstoffes mittels der Abrissmethode und der UV/VIS Spektroskopie.

Eine in-vitro Methode zum Nachweis der aufgetragenen Substanz im Stratum corneum beschrieben Treffel et al. [24]. Sie applizierten nach dem Auftragen verschiedener Barrierecremes 3 unterschiedliche Farbstoffe und entnahmen anschließend 20 Abrisse, die auf

weißem Papier fixiert wurden. Mit Hilfe eines Chromameters bestimmten sie den totalen Farbwechsel der einzelnen Abrisse.

1.5 Zielsetzung und Problemstellung der Arbeit

Da nicht alle als Barrierecremes gekennzeichneten Hautpflegeprodukte eine unterstützende Wirkung zum Schutz der Haut besitzen, ist es von besonderer Wichtigkeit, standardisierte Methoden zur Bestimmung ihrer Effektivität zu finden, um diesbezüglich objektive Aussagen treffen zu können. Viele der bereits aufgezeigten Verfahren zur Untersuchung der Effektivität von Barrierecremes weisen zwar Vorteile, jedoch teilweise auch bedeutsame Nachteile auf. So wurden einige Studien in-vitro oder tierexperimentell durchgeführt, wobei hier die gewonnenen Daten nicht ohne weiteres auf die menschliche Haut übertragen werden können. Ein weiteres Problem stellen die für Probanden unangenehmen Versuchsdurchführungen bei der Erzeugung von Hautirritationen durch irritierende Substanzen dar.

Ziel dieser Arbeit war es, drei verschiedene Methoden zur Bestimmung der Wirksamkeit von Barrierecremes zu evaluieren und miteinander zu vergleichen. Die Abrissmethode und die Laser-Doppler-Blutflussmessung wurden in früheren Studien bereits erfolgreich zur Untersuchung von Barrierecremes eingesetzt, die Laser-Scan-Mikroskopie soll im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmals hierfür eingesetzt werden.

Für die vorliegende Arbeit ergaben sich folgende Aufgabenstellungen:

- Entwicklung von vergleichbaren Studiendesigns zur Untersuchung der Effektivität von Barrierecremes in vivo mittels Laser-Scan-Mikroskopie, Laser-Doppler-Blutflussmessung und der Abrissmethode
- Auswahl von drei kommerziell erhältlichen Barrierecremes, die anhand der drei Methoden auf ihre Wirksamkeit getestet werden sollen
- Durchführung der Untersuchungen zur Effektivität der drei ausgewählten Barrierecremes an sechs Probanden
- Vergleich und Evaluierung der drei Methoden