

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Hautbarriereveränderungen nach wiederholter
Exposition mit verschiedenen Lecithin-Mischungen im
Vergleich mit einem konventionellen Tensid“

verfasst von / submitted by

Alexandra Popovic

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2021 / Vienna, 2021

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

UA 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

ao. Univ.-Prof. i.R. Mag. Dr. Claudia Valenta

Mitbetreut von / Co-Supervisor:

Mag. Dr. Victoria Klang

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Claudia Valenta bedanken, die mir einen Platz in der Arbeitsgruppe zur Verfügung gestellt hat und es mir somit ermöglicht hat, diese Diplomarbeit zu verfassen.

Außerdem möchte ich mich auch bei Mag. Dr. Victoria Klang bedanken, die meine Diplomarbeit betreut und begutachtet hat. Für die hilfreichen Denkanstöße bei der Erstellung dieser Arbeit und das stetige Verständnis für meine Fragestellungen möchte ich mich herzlich bedanken.

Besonderer Dank kommt Mag. Dr. Claudia Vater für die großartige Betreuung während des praktischen Teils meiner Arbeit zu. Auch für die Möglichkeit an einer in vivo-Studie mitzuarbeiten und einen wertvollen Einblick in diese Verfahrensweise zu erlangen, möchte ich mich bedanken.

Ebenfalls möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mir mein Studium durch ihre finanzielle Unterstützung ermöglicht haben und immerzu ein offenes Ohr für mich hatten. Außerdem richte ich einen besonderen Dank an meinen Bruder, der mich auch in schwierigen Zeiten stets zum Lachen bringen konnte. Ebenfalls danke ich meinem Ehemann für die unglaubliche Unterstützung in all den Jahren meines Studiums, aus der ich immer wieder neue Motivation schöpfen konnte.

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
2. ALLGEMEINES	2
2.1. DIE MENSCHLICHE HAUT	2
2.1.1. STRUKTUR UND PHYSIOLOGIE	2
2.1.2. STRATUM CORNEUM	4
2.2. TIERISCHE HAUTMODELLE	8
2.2.1. PORZINE HAUT	8
2.2.2. NAGETIERHAUT	9
2.3. HAUTPARAMETER	9
2.3.1. HAUTFEUCHTIGKEIT	9
2.3.2. NATURAL MOISTURIZING FACTOR	9
2.3.3. TRANSEPIDERMALER WASSERVERLUST	10
2.3.4. PH-WERT	11
2.3.5. CIRCULAR NANO-OBJECTS	11
3. METHODEN UND VERWENDETE MATERIALIEN	13
3.1. VERWENDETE MATERIALIEN	13
3.1.1. NATRIUMDODECYLSULFAT	13
3.1.2. LECITHINE	14
3.1.3. HERSTELLUNG DER TENSIDLÖSUNGEN	15
3.3. KLINISCHE STUDIE	16
3.3.1. STUDIENDESIGN	16
3.3.2. EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN	18
3.3.3. AQUAFLUX®	18
3.3.4. CORNEOMETER®	19
3.3.5. EPSILON®	21
3.3.6. SKIN-PH-METER®	23
3.3.7. KONFOKALE RAMAN-SPEKTROSKOPIE	24
3.3.8. TAPE STRIPPING	28
4. ERGEBNISSE	30
4.1. VORVERSUCHE AN TIERISCHEN HAUTMODELLEN	30
4.1.1. PORZINE HAUT	30
4.1.2. NAGETIERHAUT	34
4.2. KLINISCHE STUDIE AN GESUNDEN PROBANDEN	38
4.2.1. MESSSONDEN-AUSWERTUNG	38
4.2.2. KONFOKALE RAMAN-SPEKTROSKOPIE-AUSWERTUNG	42
4.2.3. RASTERKRAFTMIKROSKOPIE-AUSWERTUNG	45
5. DISKUSSION	48
6. ANHANG	51

6.1. AUSARBEITUNG ZUM THEMA KOSMETIKA.....	51
6.1.1. NACHTCREME	51
6.1.2. TAGESCREME	55
6.1.3. REINIGUNGSMILCH.....	57
6.1.4. BODY LOTION	58
6.1.5. GESICHTSWASSER	60
6.1.6. RASIERWASSER.....	61
6.1.7. DEO-ROLL-ON	63
 7. LITERATURVERZEICHNIS	 65
 8. ABSTRACT.....	 69
 8.1. DEUTSCH.....	 69
8.2. ENGLISCH	70

1. Einleitung

Die Haut ist unser größtes Organ und besitzt die wichtige Aufgabe uns vor äußeren Umwelteinflüssen zu schützen [1, 2]. Dabei spielt vor allem die Hornhaut (das Stratum corneum) durch ihren ausgesprochen stabilen Aufbau eine besondere Rolle. Mit ihrer einzigartigen Struktur, bestehend aus toten Hornzellen und interzellulären Lipiden, zeichnet sie sich durch eine begrenzte Durchlässigkeit besonders für polare Substanzen aus und stellt somit unsere Hauptbarriere gegen die Umwelt dar [1-4].

Allerdings kann diese Schutzbarriere durch Substanzen, die wir täglich auf unsere Haut auftragen, geschwächt werden. Diverse Reinigungsprodukte wie Shampoos oder Duschgele enthalten Tenside, die lipophile Substanzen wie Schmutz, Schweiß und Talg von der Haut lösen sollen. Jedoch interagieren diese Reinigungstenside mit Proteinen und Lipiden der Hornhaut und schädigen somit die Struktur dieser Barriere. Folglich kann es zu Trockenheit, Irritation, Juckreiz und Rötung der Haut kommen. Das Ausmaß der Schädigung hängt allerdings von der Natur der verwendeten Tenside und den Reinigungsbedingungen ab [5].

Vor allem das herkömmliche anionische Tensid Natriumlaurylsulfat (SDS) ist mit einem negativen Image behaftet. In wissenschaftlichen Untersuchungen wurde gezeigt, dass die Behandlung der Haut mit SDS zu einem erhöhten transepidermalen Wasserverlust (TEWL) führt und somit eine Schwächung der Hautbarriere anzeigt. Auch eine Senkung des Hydratationslevels der Haut und ein Auftreten von Erythemen wurden bei der Anwendung von SDS beobachtet [6], [7].

Infolgedessen steigt das Interesse an der Suche nach potentiell milderer Alternativen wie z.B. den natürlich vorkommenden amphoteren Lecithinen, die schon Jahrzehnte lang Anwendung in der Lebensmittelindustrie finden [8]. Lecithine sind Mischungen verschiedener Phospholipide, wobei wir in der vorliegenden klinischen Studie zwei verschiedene Mischungen in Hinblick auf die Beeinflussung der Hautbarriere untersucht haben, die entweder Phosphatidylcholin oder Lysophosphatidylcholin (Monoacyl-Phosphatidylcholin) als Hauptkomponenten enthielten.

Um die Effekte der zwei Phospholipid-Mischungen auf die Hautbarrierefunktion mit jenen von SDS zu vergleichen, wurden im Rahmen der *in-vivo* Studie Veränderungen diverser Hautparameter nach mehrmaliger Applikation dieser Tenside festgestellt. Dabei wurden der TEWL, der Feuchtigkeitsgehalt und der pH-

Wert der Haut mit klassischen biophysikalischen Methoden gemessen. Mit Hilfe konfokaler Raman-Spektroskopie wurden Änderungen des Natural Moisturizing Factor (NMF)-Gehalts und Harnstoff-Gehalts sowie der Wasserkonzentration festgestellt. Zuletzt wurde eine Untersuchung entnommener Korneozytenproben mittels Rasterkraftmikroskopie durchgeführt, um Veränderungen der Oberflächenmorphologie zu erfassen.

2. Allgemeines

2.1. Die menschliche Haut

Die Haut ist mit einer Fläche von etwa 1,5-2,0 m² unser größtes Organ und hat als Kontaktstelle zur Umwelt wichtige Aufgaben zu erfüllen. Einerseits bewahrt sie den Organismus vor dem Eindringen verschiedener Mikroorganismen und Fremdstoffe, andererseits schützt sie den Körper durch eine regulierte Verdunstung an der Hautoberfläche vor unkontrolliertem Verlust von Wasser [1, 2].

2.1.1. Struktur und Physiologie

Unter der Haut (Cutis) befindet sich das Unterhautfettgewebe (Subcutis). Es besteht aus lockerem Bindegewebe mit eingelagerten Fettzellen. Diese Fettschicht dient als Energiespeicher und als Schutz gegen Kälte [1, 3].

Die Haut (Abbildung 1) besteht aus zwei scharf voneinander abgrenzbaren Schichten: der außen liegenden Oberhaut (Epidermis), die die Oberfläche unseres Körpers bildet, und der darunter liegenden Lederhaut (Dermis, Corium). Da die Epidermis selbst keine Blutgefäße enthält, ist sie auf die Versorgung mit Nährstoffen durch Diffusion aus der darunterliegenden Dermis angewiesen. Um einen ausreichenden Stofftransport zu gewährleisten, ist die Grenze zwischen den beiden Schichten der Cutis keine ebene Fläche, sondern ragen kegelförmige Ausstülpungen (Papillen) der Dermis in die Epidermis hinein. Somit wird eine Vergrößerung der Grenzfläche erzielt und die in den Papillen befindlichen Blutkapillaren versorgen die Epidermis mit Nährstoffen [1, 2].

Zwischen der Dermis und der darunterliegenden Subcutis hingegen befindet sich keine klare Abgrenzung. In den tieferen Bereichen der Dermis finden sich von außen nach innen immer mehr Fettzellen, sodass es sich hier um einen fließenden

Übergang zwischen diesen beiden Schichten handelt [2].

Die Dermis (Corium) besteht aus festem Bindegewebe. Hierbei handelt es sich um ein Netz aus unlöslichen Proteinfasern, wie Kollagen und Elastin, die in eine gelartige Grundsubstanz, auch extrazelluläre Matrix (EZM) genannt, eingebettet sind. Die EZM besteht aus Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen wie der Hyaluronsäure, die ein hohes Wasserbindungsvermögen besitzen und daher auch für den Hautturgor (Gewebeinnendruck) verantwortlich sind. Außerdem befinden sich auch Einzelzellen verschiedenen Typs, Blutkapillaren, Nerven sowie Schweißdrüsen, Haarwurzeln und Talgdrüsen in diesem Netzwerk. Der am häufigsten vorkommende Zelltyp in der Dermis ist der Fibroblast, der für die Synthese von Kollagenvorstufen verantwortlich ist. Als weitere Zelltypen sind vor allem Mastzellen und Makrophagen zu nennen, die zum Immunsystem gehören [1-3].

Die Oberhaut (Epidermis) besteht im Gegensatz zur Dermis und Subcutis nicht aus Bindegewebe, sondern lassen sich bei einem Blick auf den Querschnitt mehrere Zellschichten erkennen, die alle hauptsächlich Keratinozyten enthalten. Jedoch unterscheiden sich diese Zellen in ihrer Funktion, ihrem Aussehen und ihrem Zellinhalt je nachdem in welcher der Schichten sie sich gerade befinden. Diese Tatsache kommt dadurch zustande, dass die Keratinozyten während einer Wanderung von der innersten zur äußersten Schicht der Epidermis eine Differenzierung durchlaufen. Ausgehend von der Basalschicht, die an die Dermis grenzt und von ihr durch eine Basalmembran abgetrennt ist, durchlaufen die Keratinozyten von innen nach außen die Stachelzellschicht (Stratum spinosum), die Körnerschicht (Stratum granulosum), die Glanzschicht (Stratum lucidum) und landen letztendlich in der Hornschicht (Stratum corneum) [1, 2].

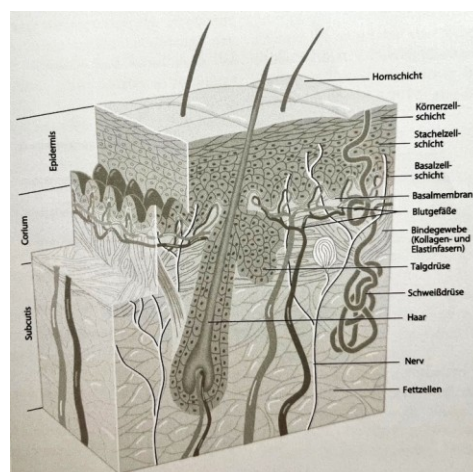


Abbildung 1: Struktur der Haut [1]

Die Basalschicht, auch Keimschicht genannt, enthält sehr stoffwechselaktive Keratinozyten, die sich alle 200-400 Stunden teilen. Eine der beiden Tochterzellen wandert dann in Richtung Hornschicht, füllt sich dabei mehr und mehr mit Keratin und verändert ihre Form. Somit werden die Zellen immer flacher und keratinhaltiger, je weiter sie nach außen gelangen [1, 2].

In der Hornschicht, der letzten Station der Differenzierung, befinden sich dann nur mehr noch kernlose, tote Zellen, die sogenannten Hornzellen (Korneozyten). Der Prozess der Wanderung von der Basalschicht bis zur Unterkante der Hornschicht nimmt etwa 14 Tage in Anspruch. Nach etwa weiteren 14 Tagen gelangen die bereits ausdifferenzierten Korneozyten von der Unterkante der Hornschicht bis zur Hautoberfläche und werden bald mechanisch abgestreift. Somit handelt es sich hierbei um einen ständigen, dynamischen Erneuerungsprozess, bei dem immer wieder leblose Hornschüppchen abgeschilfert werden, während aus Richtung Keimschicht neue Zellen nachrücken [1-3].

Neben den Keratinozyten kommen aber auch noch andere Zelltypen in der Epidermis vor. Melanozyten finden sich in der Basalschicht und produzieren den braunen Hautfarbstoff Melanin. Langerhans-Zellen, als Bestandteil des Immunsystems, befinden sich vor allem im Stratum spinosum. Merkelzellen, die auch in der Basalschicht vorkommen, sind Mechanorezeptoren und können somit Druckreize aufnehmen [1, 2].

2.1.2. Stratum corneum

Als Hauptbarriere zur Außenwelt hat die Hornhaut die wichtige Funktion, uns gegen irritierende Einflüsse von außen effektiv zu schützen. Dies wird durch einen außerordentlich stabilen Aufbau dieser Zellschicht der Epidermis ermöglicht [1].

Die Korneozyten enthalten weder einen Zellkern noch Zytoplasma. Sie bestehen aus dicht gepackten Bündeln von Keratinfasern, einer Vielfalt an Enzymen und Wasser. Auch die Zellmembran wurde im Verlauf der Differenzierung durch eine dünne Hülle aus unlöslichem Protein ersetzt (Hornhülle). Im Interzellularraum befindet sich ein spezieller „Lipidkitt“, der einerseits eine übermäßige Wasserverdunstung von innen nach außen als auch einen Durchtritt hydrophiler Substanzen in den Organismus verhindert [1-4]. Eine Veranschaulichung des Aufbaus der Hornschicht bietet das sogenannte Ziegelstein-Mörtel-Modell (Abbildung 2). Dabei werden die Korneozyten als Ziegelsteine und der interzelluläre „Lipidkitt“ als Mörtel dargestellt [9].

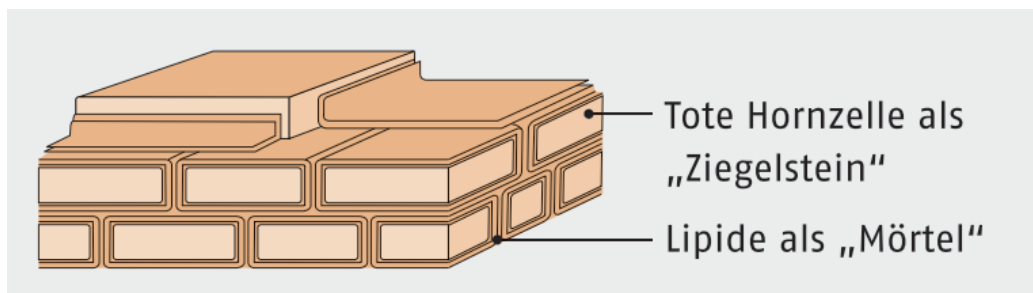


Abbildung 2: Ziegelstein-Mörtel-Modell [9]

Diese interzellulären Lipide sind etwa 40% Ceramide, 25% Cholesterol, 25% Fettsäuren und 10% Cholesterolester [1-3].

Allerdings ist es nicht dieser spezielle Lipidkitt allein der für die außerordentliche mechanische Stabilität des Stratum corneum sorgt. Die Korneozyten besitzen hakenähnliche Strukturen, die zu einer Verzahnung der Nachbarzellen miteinander führen. Diese sogenannten Desmosomen gewährleisten einen festen Halt zwischen den Zellen, aber bevor es zu einem Abstreifen der Korneozyten von der Hautoberfläche kommt, muss eine Auflösung dieser Strukturen vorausgehen [1, 2].

Außerdem wird auch der Lipidkitt in Richtung Körperoberfläche immer brüchiger, wodurch die Zellen ihren Zusammenhalt verlieren. Somit kommt es dazu, dass sich täglich einzelne Zellen lösen und unbemerkt abgeschilfert werden [9].

2.1.2.1. Lipide des Stratum corneum

Die Hauptlipide des Stratum Corneum sind Ceramide, Cholesterol und langkettige, gesättigte Fettsäuren. Bei den Ceramiden handelt es sich um eine strukturell heterogene Gruppe. Der Mensch besitzt insgesamt 9 Strukturtypen von Ceramiden (Abbildung 3). Drei von ihnen sind sogenannte Acylceramide, die eine ω -Hydroxyfettsäure als Bestandteil des Moleküls enthalten. Diese Fettsäure ist über eine Amidbindung an eine langkettige Base gebunden, während die ω -Hydroxylgruppe über eine Esterbindung mit einer Linolsäure verknüpft ist. Die basische Komponente kann aus Sphingosin, Phytosphingosin oder 6-Hydroxysphingosin bestehen [10].

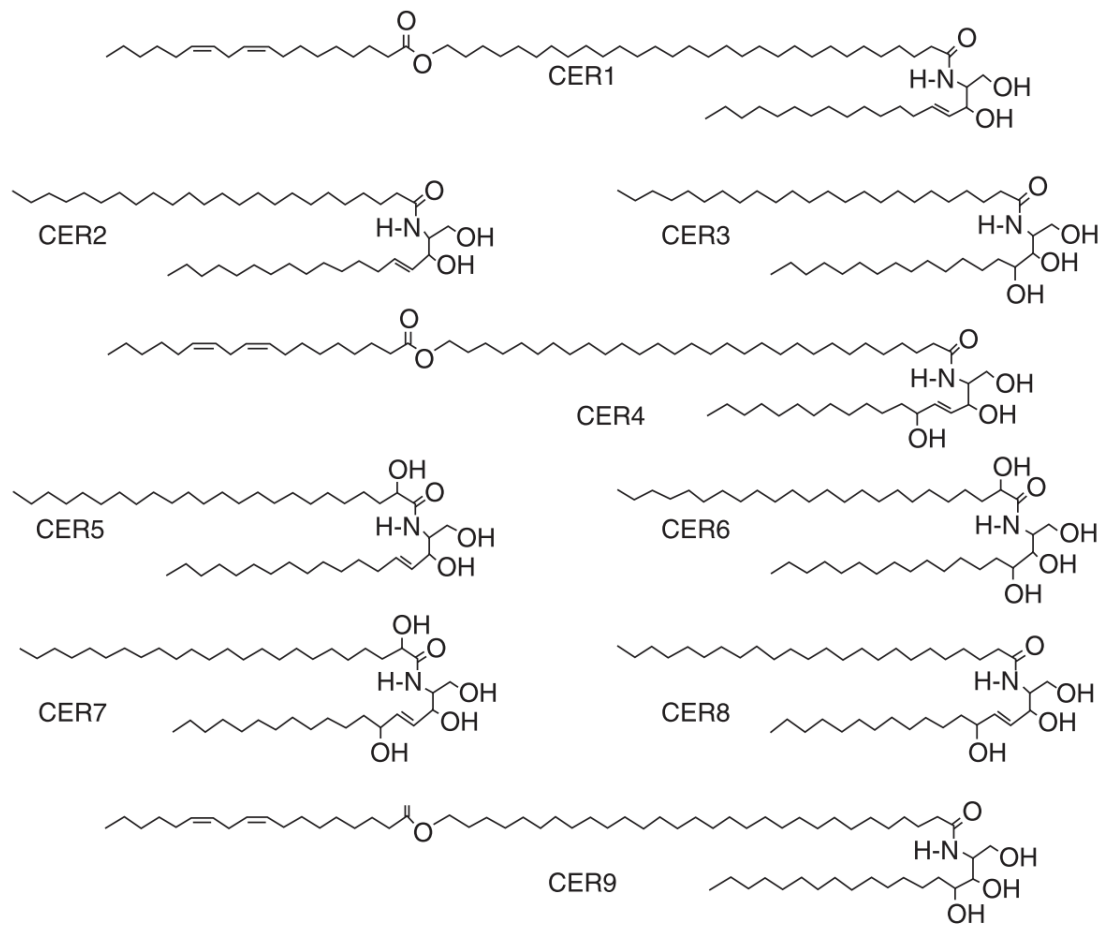


Abbildung 3: 9 Strukturtypen von Ceramiden. CER1, CER4 und CER9 enthalten eine ω -Hydroxyfettsäure, die mit einer Linolsäure verknüpft ist [11].

Im Gegensatz zu den anderen Lipiden, die das SC selbst synthetisieren kann, muss die Linolsäure als essenzielle Fettsäure der Hornhaut angeliefert werden. Die Bereitstellung erfolgt über Nahrungsaufnahme und Blutkreislauf. Es besteht aber auch die Möglichkeit, die Haut von außen in Form von Kosmetika mit Linolsäure zu versorgen, da das Stratum Corneum zwar nicht für wasserlösliche, aber für amphiphile Stoffe in geringem Maße permeabel ist [2].

Die interzellulären Lipide des SC sind in multilamellaren Strukturen organisiert (Abbildung 4). Die Wassermoleküle werden über Wasserstoffbrückenbindungen an die polaren Kopfgruppen der Lamellen gebunden und somit befinden sich keine freien Moleküle zwischen den Lamellen. Der Großteil des Wassers ist jedoch innerhalb der Korneozyten zu finden [10].

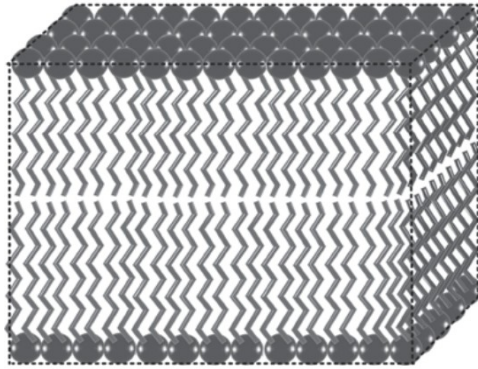


Abbildung 4: Schema der lamellaren Organisation der interzellulären Lipide des SC [4]

Diese komplexe Organisation macht die nur etwa 10 bis 50 μm dicke Hornhaut fast undurchlässig für Wasser und bietet somit optimalen Schutz vor Wasserverlust. Hingegen kann es aber unter verschiedenen pathologischen Bedingungen zu einer Veränderung der Lipidzusammensetzung und -organisation kommen, die die Fähigkeit der Barriere zur Wasserretention abschwächen und somit zu einem erhöhten transepidermalen Wasserverlust führen würden [2, 10].

2.1.2.2. Permeation durch das Stratum corneum

Im Wesentlichen wird zwischen einer transzellulären und einer interzellulären Route durch das SC unterschieden. Der transzelluläre Weg bezeichnet eine Permeation durch die Zellen der Hornhaut. Innerhalb der Korneozyten befinden sich dicht gepackte Keratinbündel, die über Wasserstoffbrücken Wasser binden. Somit erfordert der transzelluläre Weg eine wiederholte Aufteilung der Permeanten zwischen dieser polaren Umgebung im Inneren der Korneozyten und der lipophilen Umgebung außerhalb [11].

Auf Grund dessen hat die interzelluläre Route als einziger durchgehender Weg die größte Bedeutung. Somit ist es durchaus verständlich, dass vor allem die Lipide des SC einen wesentlichen Beitrag zu den Barriereeigenschaften der Haut leisten [11].

Neben diesen beiden transepidermalen Transportrouten kann die Permeation auch entlang der Hautanhangsgebilde erfolgen. Eine Möglichkeit ist die Beförderung durch die Schweißdrüsen (transglandulärer Weg) oder eine weitere durch die Haarfollikel und den damit assoziierten Talgdrüsen (transfollikulärer Weg). Insbesondere für Ionen und große polare Moleküle, die über die transepidermalen Routen kaum permeieren können, sind diese zwei Wege von gewisser Wichtigkeit [3].

2.2. Tierische Hautmodelle

Die Nachfrage nach menschlicher Haut für bestimmte Forschungszwecke ist besonders hoch. Beispiele hierfür sind die Untersuchung der Absorption transdermaler Medikamente, die Analyse der Wundheilung sowie die Beurteilung der Toxizität verschiedener topisch applizierter Substanzen. Quellen für menschliche Haut sind z.B. plastisch-chirurgische Eingriffe. Dabei wird vor allem Haut aus der Bauch-, Brust- und Rückenregion gewonnen. Da dies aber nicht den hohen Bedarf decken kann, war die Suche nach Alternativen aus nichtmenschlichen Quellen wie Schweinen, Hunden, Katzen, Nagetieren, Kaninchen und Fischen im letzten Jahrzehnt von großer Bedeutung [12]. Zudem war nicht nur die begrenzte Verfügbarkeit humaner Haut Anstoß für die Suche nach Alternativen, sondern auch die Tatsache, dass einige Forscher ethische und kulturelle Beschränkungen für die Nutzung von Menschenhaut haben [13].

Je nachdem welche Tierspezies betrachtet wird, treten Unterschiede zur humanen Haut in diversen Parametern auf: Hornhautdicke, Anzahl an Korneozytenschichten, Behaarungsdichte, Wassergehalt, Lipidprofil, Morphologie und Permeabilität. Besonders Letztgenanntes ist bei tierischen Hautmodellen typischerweise erhöht [13].

2.2.1. Porzine Haut

Eine der offensichtlichsten Gemeinsamkeiten zwischen menschlicher und porziner Haut ist die spärliche Behaarung. Und da Haarfollikel sowie auch Talgdrüsen einen Einfluss auf die perkutane Penetration topisch applizierter Substanzen haben, spielte diese Tatsache bei der Suche nach alternativer Haut eine große Rolle [12]. Somit hat sich die Schweinehaut als bevorzugtes In-Vitro-Modell für humane Haut in Studien etabliert. Es darf jedoch nicht außer Acht gelassen werden, dass sich die Hautarchitektur verschiedener Körperregionen in diversen Parametern wie der Hornhautdicke und der Anzahl an Schweißdrüsen unterscheiden kann [12, 14].

Mehrere Untersuchungen zeigten, dass sich die Ohrhaut von Schweinen hinsichtlich qualitativer und quantitativer Ähnlichkeiten besonders als Modell für humane Haut eignet [14, 15].

2.2.2. Nagetierhaut

Im Zuge der vorliegenden Arbeit wurden auch Proben von Ratten- und Mäusehaut charakterisiert. Da dies nur ein Nebenaspekt der vorliegenden Arbeit war, wird nicht in größerem Ausmaß darauf eingegangen. Die Ergebnisse der Untersuchungen finden sich in Kapitel 4.1.2. Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass Nagetierhaut deutlich dünner ist als Humanhaut; insbesondere das Stratum Corneum besteht aus einer geringeren Anzahl an Korneozyten-Schichten und weist daher eine geringere Barrierefunktion als Humanhaut auf [46]. Zudem unterscheidet sich die Behaarungsdichte deutlich von der normalen menschlichen Felderhaut (mit Ausnahme der Kopfhaut).

2.3. Hautparameter

2.3.1. Hautfeuchtigkeit

Für eine normale Funktion der Haut und vor allem der Hornhaut spielt Wasser eine besonders essenzielle Rolle. Ein verminderter Wassergehalt führt nämlich zu einer beeinträchtigten Funktion von hydrolytischen Enzymen, die die Abschilferung lebloser Hornschüppchen von der Körperoberfläche bewirken, indem sie die Bindung zwischen den Desmosomen lockern. Infolge des gestörten natürlichen Gleichgewichts kommt zu einer Akkumulation von Korneozyten auf der Hautoberfläche und daraus resultiert ein trockenes und schuppiges Erscheinungsbild der Haut [2, 16].

Um dies zu verhindern, wird der Wasserverlust über die Haut an die Umgebung sorgfältig reguliert. Für diese Regulierung ist in erster Linie das Stratum corneum verantwortlich. Um eine Retention des Wassers zu gewährleisten, sind zwei Komponenten des SC besonders wichtig: einerseits die, innerhalb der Korneozyten natürlich vorkommenden hygroskopischen Substanzen (NMF) und andererseits die interzellulären Lipide [16].

2.3.2. Natural Moisturizing Factor

Der „Natural Moisturizing Factor“ (NMF) hat die Aufgabe einen adäquaten Feuchtigkeitsgehalt der Haut aufrechtzuerhalten. Ein ausreichender Gehalt an

Wasser gewährleistet den Erhalt verschiedener Hautfunktionen. Wie bereits erwähnt, sorgt er für eine ordnungsgemäß funktionierende Abschuppung von Korneozyten und verleiht der Haut eine angemessene Elastizität, um sie vor Schädigungen zu schützen.

Der NMF besteht hauptsächlich aus freien Aminosäuren und verschiedenen Derivaten dieser Aminosäuren wie der Pyrrolidoncarbonsäure und der Urocaninsäure. Weitere Komponenten sind anorganische Salze, Zucker sowie Milchsäure und Harnstoff. All diese Bestandteile befinden sich innerhalb der Korneozyten. Da es sich bei diesen Substanzen um hocheffiziente Feuchthaltemittel handelt, können sie Wasser aus der Atmosphäre binden und somit in die Korneozyten ziehen [17].

Die erwähnten freien Aminosäuren des NMF sind Abbauprodukte aus der Proteolyse des Filaggrin-Proteins. Filaggrine sind große, histidinreiche Proteine, die während der Differenzierung der Keratinozyten gebildet werden und für eine Vernetzung der Keratinfilamente über Disulfidbrücken sorgen. Der Zerfall der Filaggrine zu freien Aminosäuren erfolgt während sich die Keratinozyten zu den oberflächlicheren Schichten des SC bewegen [3, 17].

2.3.3. Transepidermaler Wasserverlust

Die Messung des transepidermalen Wasserverlusts (auch als TEWL für englisch Transepidermal Water Loss abgekürzt) ist die meistbenutzte Methode, um die Barrierefunktion der Haut zu beurteilen. Eine beeinträchtigte Hautbarriere führt zu einem erhöhten TEWL. Dabei wird die Menge an kondensiertem Wasser gemessen, die pro Zeiteinheit über eine bestimmte Fläche des SC zur Hautoberfläche diffundiert [18].

Je nachdem welche Körperstelle zur Messung herangezogen wird, kann der TEWL signifikant variieren. Außerdem nehmen auch die Aktivität der Schweißdrüsen, die Hauttemperatur und die Eigenschaften der Korneozyten Einfluss auf die gemessenen Werte. Eine erhöhte Anzahl an Korneozytenschichten und größere Oberflächenkorneozyten führen zu einer Reduktion des TEWL. Eine besonders wichtige Rolle spielen auch die interzellulären Lipide, die sich zwischen den Korneozyten befinden. Die molekulare Organisation dieser Lipide in multilamellare Strukturen nimmt bedeutenden Einfluss auf die Barrierefunktion des SC [18].

2.3.4. pH-Wert

Während der pH-Wert der inneren Umgebung des Körpers immer neutrale Werte zwischen 7-9 annimmt, liegt der pH-Wert der Haut mit niedrigeren Werten zwischen 4-6 im sauren Milieu. Dadurch kommt es zu einem steilen pH-Gradienten von 2-3 Einheiten zwischen der Hornhaut und den darunter liegenden Schichten der Epidermis und der Dermis [19].

Die Komponenten dieses sogenannten Säuremantels der Haut gehen aus folgenden Quellen hervor: dem Verhornungsprozess (Pyrrolidonsäure, Aminosäuren), dem Schweiß (Milchsäure) und dem Talg (freie Fettsäuren). Durch den sauren pH-Wert der Hautoberfläche wird sowohl ein direkter Schutz gegen die Einwirkung alkalischer Medien als auch ein indirekter Schutz gegen eindringende Mikroben und somit Infektionen erreicht. Denn indem für die normalen Keime gesunder Haut bei niedrigen pH-Werten optimale Lebensbedingungen herrschen, können sie durch Absonderung bestimmter Stoffwechselprodukte ein Wachstum pathogener Keime hemmen [3].

In jüngerer Zeit wurde jedoch gezeigt, dass dem Säuremantel der Haut neben der erwähnten Schutzfunktion auch noch eine weitere physiologische Rolle zukommt. Der pH-Wert beeinflusst nämlich mehrere Enzyme, die an der Synthese und Aufrechterhaltung einer kompetenten Hautbarriere beteiligt sind. Dabei handelt es sich um die β -Glucocerebrosidase und die Sphingomyelinase, die beide an der Synthese von Ceramiden mitarbeiten. Ceramide gehören zu den Lipiden der Hornhaut und haben somit einen ganz wesentlichen Anteil an der Funktion dieser äußersten Hautschicht als Permeabilitätsbarriere [2]. Diese Schlüsselenzyme haben ihre pH-Optima im sauren Bereich. Aber nicht nur die Verarbeitung der Lipide, sondern auch die Organisation dieser in einer Reihe von lamellaren Doppelschichten erfordern eine saure Umgebung. [19]

2.3.5. Circular Nano-Objects

Bei den sogenannten „Circular Nano-Objects“ (CNOs) handelt es sich um subzelluläre Strukturen auf Korneozyten, die zwar bereits vor einigen Jahrzehnten entdeckt wurden, denen jedoch keine besondere Beachtung geschenkt wurde. Vorerst wurden sie als zottenähnliche Projektionen (kurz VLPs aus dem Englischen für „villus-like projections“) bezeichnet. Da sich Zotten allerdings nur auf der apikalen

Seite von Epithelzellen befinden, die kreisförmigen Nanoobjekte aber auf der basolateralen Seite zu beobachten sind, wurde der Begriff geändert [20].

Erstmalige Beobachtungen der CNOs erfolgten mit dem Rasterelektronen-Mikroskop (englisch scanning electron microscope, SEM) [21]. Heute wird die Analyse der Ultrastruktur der Korneozyten mit dem Rasterkraftmikroskop (englisch atomic force microscope, AFM) durchgeführt [20].

Bei einer früheren Studie, die anhand der Kombination von Tape Stripping und AFM eine Strukturanalyse der Hornhaut durchführte, konnten topographische Unterschiede zwischen junger und alter Haut beobachtet werden. Dabei zeichnete sich die gealterte Haut durch eine erhöhte Rauheit der Korneozytenoberfläche aus [22].

Die Dichte dieser Nanostrukturen pro Flächeneinheit wird als DTI („dermal topographical index“) bezeichnet. Eine neuere Studie zeigte nach Aufzeichnung der Topographie der Korneozyten mittels AFM, dass die Dichte der CNOs bei gesunden Probanden nicht mit dem Alter korreliert, aber bei Patienten mit atopischer Dermatitis deutlich erhöht war. Somit könnte das Vorliegen der kreisförmigen Nanoobjekte als diagnostischer Parameter bei Hauterkrankungen genutzt werden [23].

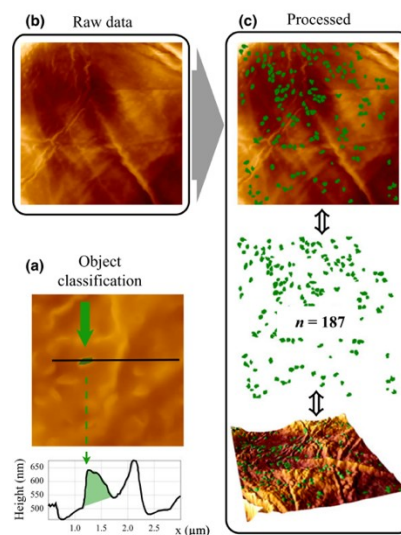


Abbildung 5: Computer-Vision-Verfahren [23]

Die Auszählung der Nanoobjekte erfolgte mittels Computer-Vision-Verfahren (Abbildung 5). Die CNOs wurden dabei nach ihrer Erhebung über dem durchschnittlichen Oberflächenniveau klassifiziert. Aus den Rohdaten wurden die Nanoobjekte dann anhand eines trainierten Software-Werkzeugs grün markiert [23].

3. Methoden und verwendete Materialien

3.1. Verwendete Materialien

Im Rahmen der klinischen Studie wurden drei verschiedene Tenside auf ihr Hautirritationspotenzial getestet. Tenside sind amphiphile Stoffe, d.h. sie haben sowohl einen hydrophilen als auch einen lipophilen Molekülteil. Somit lagern sie sich bevorzugt an die Grenzflächen verschiedener Phasen an und setzen die Grenzflächenspannung herab [24].

Als sogenannte Waschsubstanzen sind sie Hauptbestandteil vieler alltäglicher Reinigungsprodukte für die Haut, weil sie die Entfernung wasserunlöslicher Verschmutzungen wie Kosmetika und Talg ermöglichen. Mit ihrem lipophilen Molekülteil lagern sich die Tenside an die fettartigen Schmutzpartikel und bilden eine Tensidhülle um die Partikel (Abbildung 6). Die so entstandenen „Kugeln“ nennt man Mizellen. Die nach außen gerichteten hydrophilen Molekülteile der amphiphilen Stoffe erlauben, dass die Mizellen im Wasser gelöst vorliegen [1].

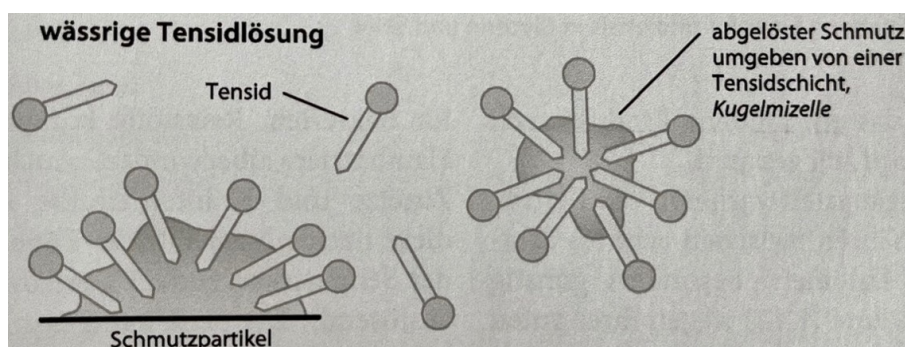


Abbildung 6: Ablösung eines Schmutzpartikels [1]

3.1.1. Natriumdodecylsulfat

Das Natriumdodecylsulfat (sodium dodecyl sulfat, SDS, Abbildung 7) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), auch Natriumlaurylsulfat genannt, ist ein weißes und gut wasserlösliches Pulver. Es gehört zur Gruppe der anionischen Tenside. Mit einer negativ geladenen Sulfatgruppe als hydrophilen Teil und einer Kohlenwasserstoffkette als lipophilen Teil zählt es zur Untergruppe der Fettalkoholsulfate. Diese zeichnen sich zwar durch eine gute Reinigungskraft und Schaumbildung aus, haben jedoch ein Allergiepotenzial und lösen Hautirritationen aus [1, 25].

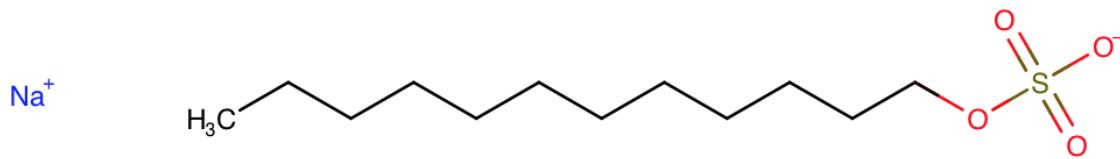


Abbildung 7: Natriumdodecylsulfat [26]

Die Gewinnung von SDS erfolgt auf natürliche Weise aus Kokos- oder Palmkernöl. SDS besitzt ein breites Anwendungsspektrum sowohl in Kosmetika und als auch in Pharmazeutika [26].

3.1.2. Lecithine

Lecithine sind gelbliche, wachsartige Substanzen, die zur Gruppe der Phospholipide gehören. Phospholipide setzen sich aus Phosphorsäure, verschiedenen Fettsäuren, einem Alkohol (meistens Glycerin) und einer stickstoffhaltigen Komponente zusammen [24]. Bei Lecithinen handelt es sich um Mischungen verschiedener Phospholipide wie z.B. Phosphatidylcholin, Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylinositol, Phosphatidylserin, Sphingomyelin, Lysophospholipide und andere Glycerinphospholipide komplexer Fettsäurezusammensetzung [27].

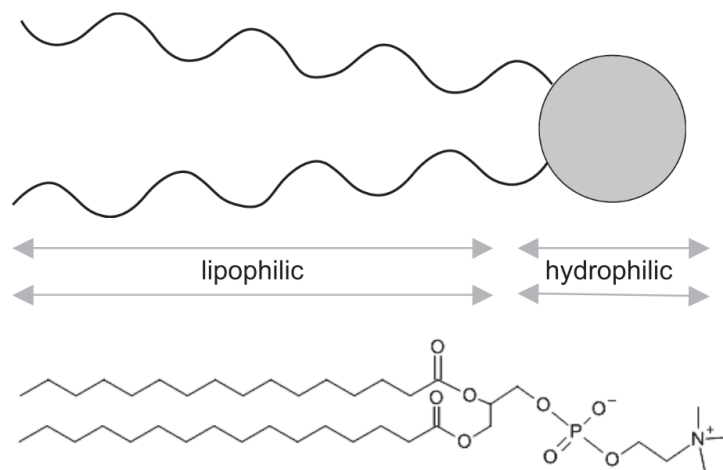


Abbildung 8: schematischer Aufbau von Phospholipiden und Struktur des Phosphatidylcholins [27]

Zwei benachbarte Hydroxylgruppen des Glycerinrests sind mit langkettigen Fettsäuren verestert. Dies können sowohl gesättigte als auch ungesättigte

Fettsäuren, wie z.B. Palmitinsäure sowie Ölsäure, sein. Die dritte Hydroxylgruppe ist über eine Phosphodiesterbindung mit einem Aminoalkohol verbunden. Im Falle von Phosphatidylcholin (Abbildung 8) ist es das Cholin. Andere Aminoalkohole, die in der Struktur enthalten sein können, sind Serin, Ethanolamin oder Inositol. Durch den hydrophilen Phosphatkopf und den hydrophoben Fettsäureschwänzen erhält die Struktur einen amphiphilen Charakter [28].

Weit verbreitet sind Lecithine als Strukturbestandteil von Zellmembranen tierischer und pflanzlicher Organismen. Die Hauptkomponente von Lecithinen aus Extrakten von Sojabohnen und Eiern ist das Phosphatidylcholin [24].

Die uns von Lipoid GmbH (Ludwigshafen, Deutschland) für die klinische Studie zur Verfügung gestellten Lecithine wurden aus Sojabohnen gewonnen und deren Zusammensetzung lautet wie folgt:

- Lipoid® S 75: 75,3% Phosphatidylcholin und 8% Phosphatidylethanolamin
- Lipoid® S LPC80: 83% Lysophosphatidylcholin (Monoacyl-Phosphatidylcholin) und 11% Phosphatidylcholin

3.1.3. Herstellung der Tensidlösungen

Zum Auftragen der verschiedenen Tenside auf die Haut des Unterarms der ProbandInnen wurden 1%-ige wässrige Lösungen (Abbildung 9) hergestellt. Das wasserlösliche SDS wurde dazu einfach im Wasser gelöst, während die wachsartigen Lecithine Lipoid S 75 und Lipoid S LPC80 mit Hilfe eines Magnetrührers und unter leichter Wärmezufuhr im Wasser dispergiert wurden. Zwischen den einzelnen Auftragerminen wurden die Tensidlösungen im Kühlschrank gelagert. Außerdem wurden jede Woche frische Lösungen für jeweils zwei ProbandInnen hergestellt.

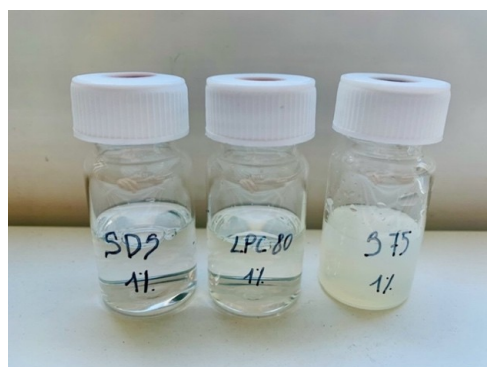


Abbildung 9: 1%-ige wässrige Tensidlösungen

3.3. Klinische Studie

Ziel dieser Studie ist es die Effekte von SDS auf diverse Hautparameter mit zwei natürlichen Tensiden, den Lecithinen, zu vergleichen. Folgende Parameter wurden mittels nicht-invasiver Messung der Haut bestimmt, um das Irritationspotenzial dieser drei waschaktiven Substanzen feststellen zu können: TEWL, Hautfeuchtigkeit, pH-Wert, NMF-, Harnstoff-Konzentration und Wassergehalt.

3.3.1. Studiendesign

Um den Einfluss der verschiedenen Tenside auf die erwähnten physiologischen Hautparameter zu bestimmen, haben acht gesunde Freiwillige an der Studie teilgenommen. Hierbei handelte es sich um vier Frauen und vier Männer, deren Alter zwischen 24 und 32 lag. Jede/r einzelne ProbandIn nahm dabei insgesamt vier Tage an der Studie teil. Vor Beginn wurden die TeilnehmerInnen mittels Fragebogen und Anamnese auf ihre Eignung untersucht.

Am ersten Tag wurden Blank-Messungen der diversen Hautparameter an beliebigen Stellen des nicht-dominanten Unterarms durchgeführt, um den Grundzustand der Haut zu bestimmen. Zuvor wurde eine Akklimatisierungszeit von 10 bis 15 Minuten abgewartet, um eventuelle Störfaktoren wie Schweiß zu vermeiden. Außerdem wurden alle ProbandInnen darauf hingewiesen auf eine morgendliche Dusche am Tag der Messungen zu verzichten sowie während der gesamten Dauer der Studie keine Hautpflegeprodukte am Unterarm zu verwenden.

Im Anschluss an die Blank-Messungen wurden die drei Tensidlösungen und Wasser als Kontrolle mithilfe von Finn Chambers® (12 mm Durchmesser; Smart Practice, Barsbüttel, Deutschland) auf vier definierte Hautareale aufgetragen (Abbildung 10).

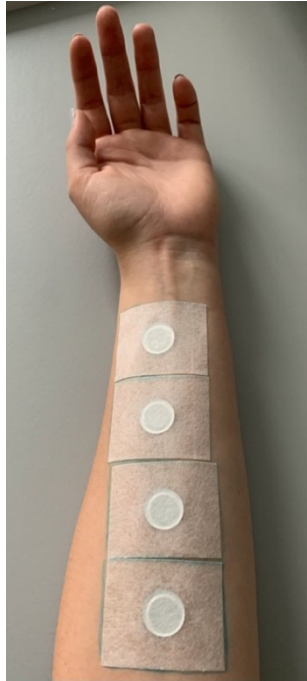


Abbildung 10: Finn Chambers[®] auf vier definierten Hautarealen

Finn Chambers[®] bestehen aus einem Pflaster mit eingelassener Aluminiumkammer. In diese Kammern wurden Filterpapierscheiben eingelegt und mittels Pipette wurden jeweils 50 μl der zu testenden Substanzen aufgetropft.

Nach einer Einwirkzeit von 30 Minuten wurden die Pflaster abgenommen. Anschließend wurde dieser Prozess des Auftragens nach einer vierstündigen Pause wiederholt. Insgesamt wurden die Substanzen somit an vier aufeinanderfolgenden Tagen zweimal täglich appliziert.

Am letzten Tag wurden im Anschluss an das zweite Auftragen die Messungen der verschiedenen Hautparameter für jede einzelne der vier behandelten Hautstellen durchgeführt, um die tensid-induzierten Hautveränderungen feststellen zu können. Für jeden Parameter erfolgten jeweils drei Messungen ($n=3$), mit Ausnahme der Raman-Messung im Fingerprint-Bereich, hier erfolgten fünf Messungen ($n=5$).

Zum Schluss wurden den Teilnehmern mittels Tape-Stripping-Verfahren Korneozyten von der Hautoberfläche abgenommen, die anschließend anhand von Rasterkraftmikroskopie auf strukturelle Veränderungen untersucht wurden. Dazu wurden jeweils fünf Klebestreifen pro behandelter Hautstelle hintereinander mit konstantem Druck aufgeklebt und nachfolgend zügig abgezogen.

3.3.2. Ein- und Ausschlusskriterien

Das Alter der gesuchten Freiwilligen sollte zwischen 18 und 65 Jahren liegen. Außerdem sollten keine bekannten klinisch relevanten Hauterkrankungen oder sichtbare Hautverletzungen an den Unterarmen vorliegen. Auch Tätowierungen oder Narben an den Unterarmen, die eine Messung nicht ermöglichen, führten zu einem Ausschluss. Weiters mussten die ProbandInnen eine Einwilligungserklärung unterschreiben, um an der Studie teilnehmen zu können. Ausgeschlossen wurden Schwangere und Stillende sowie Personen mit einer Soja-Unverträglichkeit. Eine Verwendung von lokalen Medikamenten an den Unterarmen war während der gesamten Studiendauer nicht erlaubt.

3.3.3. Aquaflux®

Der TEWL wurde mittels Aquaflux® AF200 (Abbildung 11) (Biox Ltd., London, UK) bestimmt. Die Messsonde besitzt eine geschlossene Messkammer, um Störungen durch Außenluftbewegungen zu vermeiden. [29]



Abbildung 11: Aquaflux®

Die Kammer (Abbildung 12) hat eine zylindrische Form, wobei das untere Ende als Messöffnung dient und in Kontakt mit der Haut gebracht wird. Das obere Ende ist durch einen Kondensator verschlossen, der unter die Gefriertemperatur von Wasser gekühlt wird. Somit wird der Wasserdampf laufend aus der Kammer entfernt, indem er in Eis umgewandelt wird und dadurch kann eine kontinuierliche Messung

gewährleistet werden. Außerdem regelt der Kondensator die Luftfeuchtigkeit in der Kammer unabhängig von den Umgebungsbedingungen. Die Messung der Wasserdampfdichte erfolgt durch Sensoren, die sich separat in der Kammer befinden und wird in $\text{g/m}^2/\text{h}$ angegeben [18, 29].

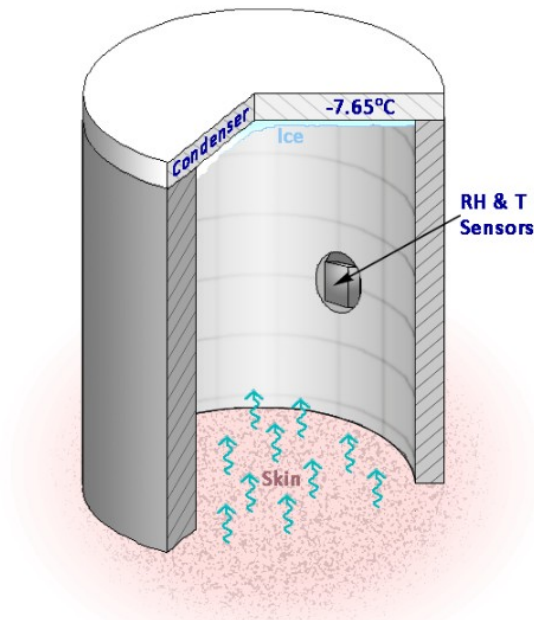


Abbildung 12: Aufbau der Messkammer des Aquaflux® [29]

Um eine Messung durchzuführen, wurde die untere Messöffnung der Kammer auf die markierten Stellen am Unterarm mit leichtem Druck aufgelegt. Die Messung wurde mittels Betätigung des roten Knopfs am Handteil gestartet. Die Software Aquaflux® V9.3 bestätigte eine erfolgreiche Messung mit einem akustischen Signal. Jede der insgesamt vier behandelten Stellen wurde jeweils drei Mal vermessen.

3.3.4. Corneometer®

Die Hautfeuchtigkeit der ProbandInnen wurde mit dem Corneometer® CM825 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) gemessen. Die Messsonde ist auf dem Kombigerät Derma Unit SSC3 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) montiert.

Die Corneometrie ist eine nicht-invasive Messung zur Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts des Stratum corneum. Mit einer maximalen Eindringtiefe des elektrischen Streufeldes von $30\text{ }\mu\text{m}$ wird sichergestellt, dass nur die obersten Hautschichten bei der Messung erfasst werden [30].

Das elektrische Feld wird zwischen zwei metallischen Leiterbahnen aus Gold auf dem Sondenkopf erzeugt (Abbildung 13). Die Bahnen sind von der Hautoberfläche durch ein Glasplättchen getrennt. Indem auf der einen Metallbahn ein Elektronenüberschuss (negative Ladung) entsteht und auf der anderen ein Elektronenmangel (positive Ladung), wird ein elektrisches Feld mit wechselseitiger Anziehungskraft aufgebaut. Bei einer Messung durchdringt dieses elektrische Streufeld dann die oberste Hautschicht [31].

Da es sich bei der Haut um ein dielektrisches Medium handelt, ändern sich bei unterschiedlichem Wassergehalt die dielektrischen Eigenschaften. Die Messung beruht auf der Tatsache, dass Wasser eine von anderen Stoffen sehr unterschiedliche Dielektrizitätskonstante hat [30]. Das Corneometer® erfasst mit Hilfe eines speziellen Messkondensators kleinste Kapazitätsänderungen, die auf Veränderungen des Wassergehalts des Stratum corneum beruhen [31].

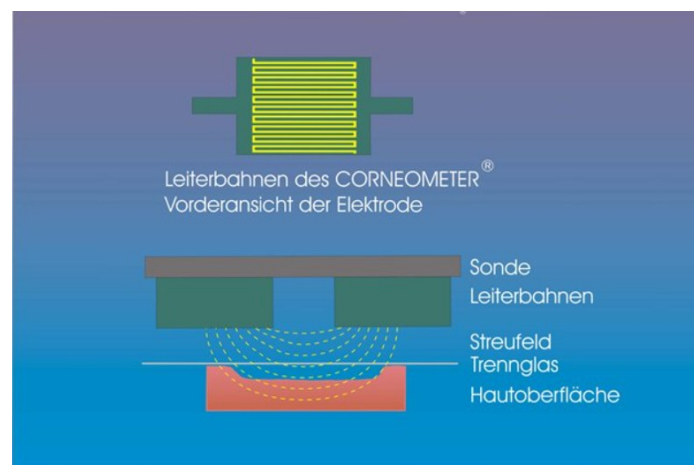


Abbildung 13: Messprinzip des Corneometers® [31]

Ein großer Vorteil der Corneometrie ist, dass z.B. Salze, chemische Verbindungen sowie Rückstände von aufgetragenen Produkten nur einen relativ geringen Einfluss auf die kapazitive Messung haben. Außerdem kann durch die sehr kurze Messdauer von einer Sekunde der Entstehung von Okklusionseffekten auf der Haut entgegengewirkt werden. Jedoch sollte die Sonde bei Mehrfachmessungen zwischendurch trotzdem kurz angehoben und etwas versetzt werden. Weiters wird durch die geringe Eindringtiefe des elektrischen Feldes gewährleistet, dass Einflüsse durch tiefere Hautschichten (z.B. Blutgefäße) die Messungen nicht verfälschen [30, 31].

Für die Messung der Hautfeuchtigkeit der verschiedenen Hautstellen wird die Messsonde senkrecht auf die Hautoberfläche aufgesetzt und leicht angedrückt (Abbildung 14). Eine Feder im Sondenkopf sorgt für einen gleichmäßigen und konstanten Druck, um reproduzierbare Messungen zu erhalten [30]. Innerhalb einer Sekunde ertönt ein Piepston und der gemessene Wert wird auf dem Display der Derma Unit SSC3 angezeigt.



Abbildung 14: Messung mit dem Corneometer®

3.3.5. Epsilon®

Der Wassergehalt des Stratum corneum wurde auch mit dem Epsilon® (Biox Ltd., London, England) vermessen. Dieses Corneometer® misst die kalibrierte dielektrische Permittivität (Dielektrizitätskonstante ϵ) durch das SC und besteht aus einer Sonde mit 76 800 Sensoren mit einer Erfassungsfläche von 12,8 x 15 mm [32]. Die dielektrische Permittivität ist eine Eigenschaft isolierender Stoffe (Dielektrika). Sie liefert ein Maß dafür wie diese Stoffe mit einem elektrischen Feld interagieren. Für eine gegebene Geometrie ist die Kapazität direkt proportional zu ϵ . Daher wird die Dielektrizitätskonstante gemessen indem, wie beim Einzelsensor-Corneometer®, die Kapazität bestimmt wird. Für die Messung der Kapazität wird jedoch kein herkömmlicher Kondensator verwendet. Hierbei handelt es sich um einen Kondensator mit Elektroden, die in einer Ebene liegen und somit ein elektrisches Streufeld erzeugen (Abbildung 15). Die Eindringtiefe des Streufeldes hängt von der Sensorgeometrie ab und beträgt beim Epsilon®-Sensor 20 μm [33].

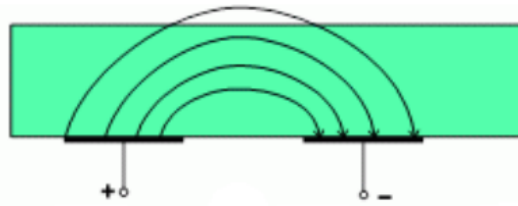


Abbildung 15: Elektroden in einer Ebene, die elektrisches Streufeld für *in-vivo* Messungen erzeugen [33]

Das Corneometer[®] verwendet einen einzigen Streufeldsensor, um die Kapazität des SC zu bestimmen. Dem Fingerabdrucksensor Epsilon[®] stehen hingegen eine Reihe solcher Streufeldsensoren (s.o.) für Kapazitätsmessungen zur Verfügung [33].

Die gemessene dielektrische Permittivität wird in hochauflösenden Echtzeitbildern (Abbildung 16) angezeigt [8]. Schwarze Bereiche im Bild bedeuten, dass keine Permittivität gemessen wurde ($\epsilon=0$) und es sich somit um Hautstellen mit geringer Feuchtigkeit (z.B. Furchen) handelt. Bereiche mit hoher Hautfeuchtigkeit werden hell dargestellt, während ein maximaler Wert von $\epsilon=85$ erreicht werden kann. Je heller die vermessene Hautstelle am Bild angezeigt wird, desto höher ist der Feuchtigkeitsgehalt dieser [8, 34].

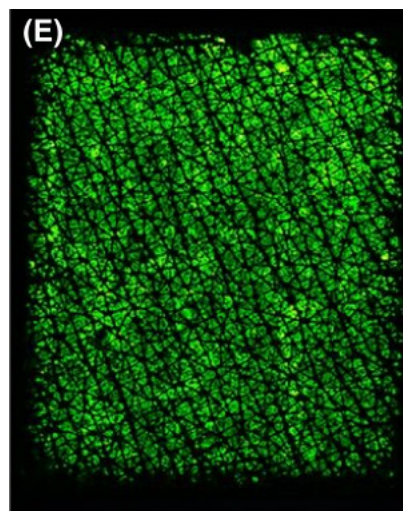


Abbildung 16: typisches Kontaktbild der Haut des inneren Unterarms [32]

Jede der vier behandelten Hautstellen wurde jeweils dreimal mit dem Epsilon[®] (Abbildung 17) gemessen und dabei wurde der durchschnittliche ϵ -Wert eines

definierten interessierenden Bereichs (Region of Interest, Rol) verwendet, um Fehler aufgrund eines begrenzten Kontakts in den äußeren Grenzen der Sensoren zu vermeiden [34]. Für die Einstellung des Rol wurden folgende Parameter gewählt: $x=125$, $y=160$ und $\varnothing=160$. Die Bilder wurden im Snapshot Mode mit einem aktivierten Event Trigger ($\Delta=0,5$) aufgenommen. Eine Messung wurde durch Drücken des Startknopfes in der BioX Epsilon[®] Software gestartet. Gleich danach wurde die Messsonde mit leichtem Druck auf die zu vermessende Hautstelle aufgesetzt.



Abbildung 17: Epsilon[®] [32]

3.3.6. Skin-pH-Meter[®]

Die Messungen der Haut-pH-Werte wurden mit dem Skin-pH-Meter[®] PH905 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) durchgeführt, der Bestandteil des Kombigeräts Derma Unit SSC3 (Courage+Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) ist.

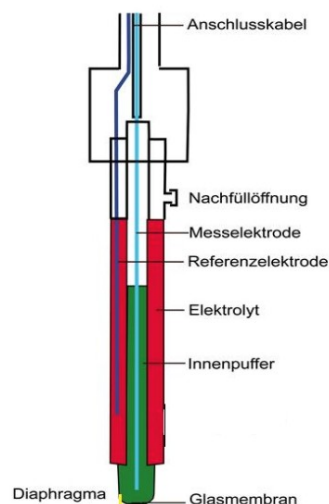


Abbildung 18: Aufbau des Skin-pH-Meter[®] [35]

Die Messsonde besteht aus einem Glasstab und einem Sondengriff. In diesem Griff befindet sich die moderne Messelektronik, die eine schnelle und zuverlässige Messung innerhalb einer Sekunde erlaubt. Der Glasstab vereinigt zwei hochwertige Elektroden: die H^+ -Ionen-sensitive Elektrode und die Referenzelektrode (Abbildung 18) [35].

Um den pH-Wert der verschiedenen Hautstellen der ProbandInnen zu vermessen, wurde die Sonde aus der KCl-Lösung genommen und mit destilliertem Wasser gespült. Ein kurzes Abschütteln überschüssiger Wassertröpfchen war notwendig, denn größere Mengen von verbleibendem Wasser könnten die Messergebnisse beeinflussen. Danach wurde der flache Sondenkopf mit mäßigem Druck auf die zu Hautstelle gesetzt und die Messung wurde mittels eines Knopfes am Sondengriff gestartet (Abbildung 19). Der gemessene pH-Wert erschien nach einer Sekunde auf dem Display des Kombigeräts Derma Unit SSC3.

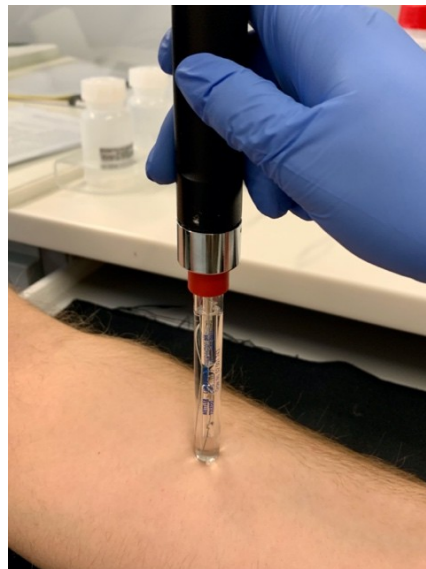


Abbildung 19: Messung mit dem Skin-pH-Meter®

3.3.7. Konfokale Raman-Spektroskopie

Da es sich bei der Raman-Spektroskopie um eine nicht-destruktive und nicht-invasive Technik handelt, erlangt sie in der Hautforschung besonders großes Interesse und liefert ein breites Anwendungsspektrum. Die Raman-Spektren einzelner Hautschichten liefern Informationen über die molekulare Struktur und Zusammensetzung der Haut. Da den klinischen Symptomen diverser Erkrankungen

molekulare Veränderungen vorausgehen, ist die Raman-Spektroskopie eine Möglichkeit zur frühen *in-vivo* Diagnose einer großen Klasse von Hauterkrankungen. Ein weiteres Interessensgebiet ist die Hautpermeabilität. Unsere Hornhaut bietet durch ihren Aufbau eine hochwirksame Barriere gegen Wasser, Chemikalien und Mikroben und begrenzt somit auch die transdermale Verabreichung von Arzneimitteln. Hierbei spielen vor allem die molekulare Struktur und Zusammensetzung der Hornhautlipide eine große Rolle. Techniken wie die Raman-Spektroskopie spielen eine große Rolle in der Aufklärung dieser für die Barrierefunktion wichtigen Mechanismen [36].

3.3.7.1. Raman-Spektren

Ein Raman-Spektrum entsteht durch die Streuung von monochromatischem Laserlicht durch eine Probe. Dabei kommt es zu inelastischen Stößen (Raman-Effekt) zwischen den Photonen des Lichts und den Molekülen der Probe. Diese inelastischen Stöße erzeugen die verschiedenen Signale in einem Spektrum. Dabei gibt es zwei Arten von Signalen: die Stokes-Linien und die Anti-Stokes-Linien. Bei einem inelastischen Stoß findet immer eine Übertragung von Energie statt, die sowohl vom Photon in Richtung Molekül als auch vom Molekül in Richtung Photon gehen kann [37].

Stokes-Linien entstehen, indem Energie vom Photon auf das Molekül übertragen wird. Das Molekül gelangt somit von einem niedrigen in einen höheren Schwingungszustand, während die Energie des gestreuten Photons um die Energiedifferenz zwischen den beiden Schwingungszuständen sinkt. Anti-Stokes-Linien resultieren hingegen, wenn das Photon auf ein bereits angeregtes Molekül trifft, das sich im höheren Schwingungszustand befindet. Durch den inelastischen Stoß wird die Energie vom angeregten Molekül auf das Photon übertragen und das Molekül kehrt somit in seinen Grundzustand zurück. Die Energie des gestreuten Photons dagegen steigt um die Energiedifferenz zwischen den Schwingungszuständen.

Die Positionen der Peaks in einem Raman-Spektrum zeigen somit die Differenz zwischen der Frequenz des zur Anregung eingestrahlten Laserlichts und der Frequenz der gestreuten Photonen an [37].

Neben den erwähnten inelastischen Stößen finden auch elastische Stöße (Rayleigh-Streuung) zwischen den Laserphotonen und den Molekülen der Probe statt. Im Zuge

dieser elastischen Stöße läuft keine Übertragung von Energie ab und die gestreuten Photonen besitzen also noch die gleiche Frequenz wie das eingestrahle Laserlicht [37].

3.3.7.2. Aufbau des Raman-Spektrometers

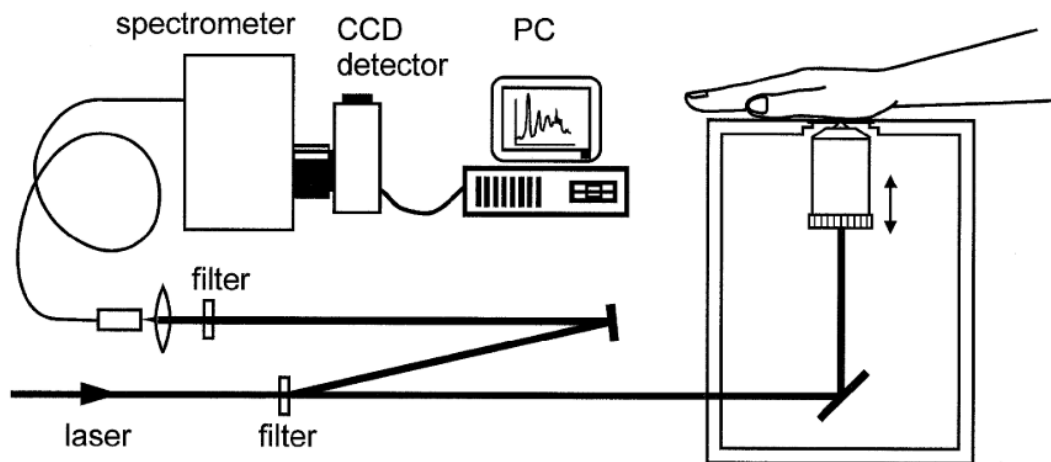


Abbildung 20: schematischer Aufbau eines Raman-Spektrometers [38]

Das monochromatische Licht des Lasers (Abbildung 20) wird von einem Kurzpassfilter transmittiert und anhand eines Objektivs in der Haut fokussiert. Das Raman-Streulicht wird wiederum vom selben Objektiv gesammelt, dann vom Kurzpassfilter reflektiert und durch einen Kerbfilter (englisch *notch filter*) gefiltert, um das störende Rayleigh-Signal auszublenden. Danach wird es auf den Kern einer optischen Faser fokussiert, die das Licht in ein Mehrkanalspektrometer mit CCD-Kamera (charge-coupled device) leitet [38].

3.3.7.3. Praktische Durchführung der Messung

Für die Erfassung des NMF-, Urea- und Wassergehalts der Haut wurde der gen2Skin Composition Analyzer (River Diagnostics, Rotterdam, Niederlande) verwendet. Das Gerät wurde speziell für die *in-vivo* Analyse der menschlichen Haut entwickelt und ermöglicht somit Veränderungen der genannten Hautparameter infolge der Behandlung mit verschiedenen Testsubstanzen festzustellen [8]. Vor Inbetriebnahme des konfokalen Raman-Spektrometers wurde die Power Supply Unit und der Computer eingeschaltet. Nach Öffnung der RiverIcon[®]-Software wurde eine

automatische Kühlung des Geräts auf -65°C gestartet. Danach wurde sowohl eine Überprüfung der Laserstärke der beiden eingebauten Laser als auch eine Kalibrierung durchgeführt. Im Anschluss konnte mit den Messungen gestartet werden. Dazu legten die ProbandInnen ihren Unterarm auf das Messfenster (Abbildung 21).



Abbildung 21: Positionierung des Unterarms auf das Messfenster des gen2-SCA

Je nach Feuchtigkeitsgehalt der Haut wurde eine gewisse Zeit abgewartet, bis sich die Haut mit optimalem Kontakt an das Fenster legte. Diese für die Messung geeigneten Hautstellen wurden im Bild der CCD-Kamera in der RiverIcon[®]-Software dunkel dargestellt (Abbildung 22).

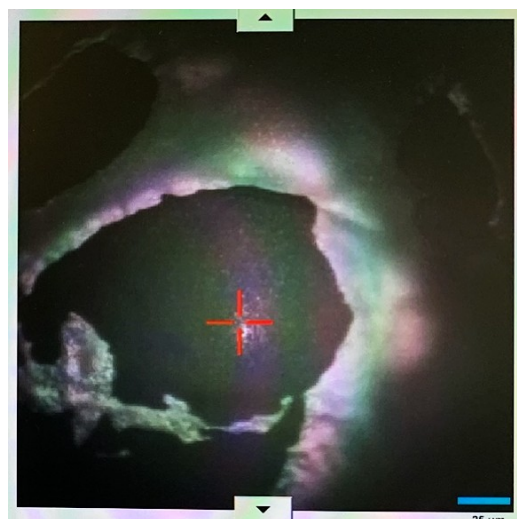


Abbildung 22: dunkle Stellen zur Messung wählen

Die Bestimmung des NMF- und Urea-Gehalts erfolgte im Fingerprint-Bereich ($400\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) mit dem Laser der Wellenlänge 785 nm . Dabei wurde in zwei- μm -Schritten bis zu einer Tiefe von $30\text{ }\mu\text{m}$ gemessen. Eine Dauer von fünf Sekunden für die Signaldetektion pro Spektrum wurde gewählt. Die insgesamt vier behandelten Hautstellen der ProbandInnen wurden am Tag 4 der klinischen Studie jeweils mindestens fünfmal im Fingerprint-Bereich vermessen.

Die Erfassung des Wassergehalts wurde im High-Wavenumber-Bereich ($2500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$) mit dem Laser der Wellenlänge 671 nm durchgeführt. Hierbei wurden die einzelnen Spektren ebenfalls in zwei- μm -Schritten aufgenommen, jedoch bis zu einer Tiefe von $40\text{ }\mu\text{m}$. Die Dauer der Signaldetektion wurde auf zwei Sekunden eingestellt. Die Messung des Wassergehalts erfolgte pro behandelter Hautstelle mindestens dreimal.

Die so erhaltenen Raman-Spektren der Studienteilnehmer wurden gemittelt und mittels SkinTools[®]-Software-Version 2.0 (River Diagnostics, Niederlande) ausgewertet.

3.3.8. Tape Stripping

Um den Effekt der verwendeten Tenside auf die Oberflächenmorphologie der Korneozyten zu beurteilen, wurden am vierten und somit letzten Tag der Studie den Freiwilligen Proben des SC mittels Tape Stripping-Verfahren (Abbildung 23) entnommen. Hierbei wurden die Corneofix[®]-Klebebandstreifen (Courage und Khazaka GmbH, Deutschland) verwendet. Pro behandelter Hautstelle wurden jeweils fünf Klebebandstreifen nacheinander abgezogen. Eine Waage wurde verwendet, um einen konstanten Druck von 49 N (5 kg) zu gewährleisten. Jeder Streifen wurde jeweils drei Sekunden lang aufgedrückt und dann zügig abgezogen. Die entnommenen Proben wurden bis zur Analyse mittels Rasterkraftmikroskopie in einem geschlossenen Gefäß bei Raumtemperatur gelagert.

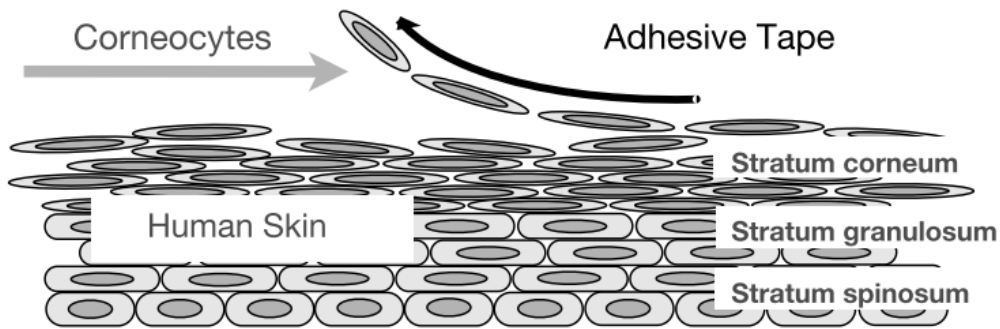


Abbildung 23: Schema der Entnahme von Korneozyten mittels Tape Stripping-Verfahren [23]

Anschließend wurde nur jeweils jeder dritte abgezogene Klebestreifen der AFM-Analyse unterzogen. Hierzu wurde ein Multimode-Atomkraftmikroskop verwendet, das mit einem Nanoscope III-Controller und der Softwareversion 5.30 sr3 (Digital Instruments, Santa Barbara, Kalifornien) ausgestattet war. Es wurden zehn zufällig ausgewählte Korneozytenbereiche von $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ für die Analyse der Nanoobjekte aufgenommen. Es erfolgte eine Auszählung der CNOs mit einer Größe von $<500 \text{ nm}$ mittels Computer Vision Algorithmen (Serend-ip GmbH, Münster, Deutschland). Als DTI wird die durchschnittliche Anzahl der Nanoobjekte dieser zehn Bereiche bezeichnet [8, 39].

4. Ergebnisse

4.1. Vorversuche an tierischen Hautmodellen

4.1.1. Porzine Haut

Vor Beginn der klinischen Studie an gesunden ProbandInnen, wurde ein kompletter Durchgang der Ausführung an zwei Schweineohren getestet. Ziel dieses Tests war einerseits Probleme der Ausführung vorab zu erkennen und rechtzeitig zu ändern und andererseits einen Vergleich der Ergebnisse zwischen porziner und humaner Haut zu ermöglichen.

Die tiefgefrorenen Ohren wurden aufgetaut und danach erfolgte die Entfernung der Borsten mittels Nagelschere an den zu behandelnden Stellen. Um den Ausgangszustand der porzinen Haut festzustellen, wurden an Tag 1 des Versuchs die verschiedenen Hautparameter mittels folgender Messsonden bestimmt: Aquaflux[®], Corneometer[®], Epsilon[®] und Skin-pH-Meter[®]. Das konfokale Raman-Spektrometer wurde hierbei ausgelassen, da es durch die Borsten zu eventuellen Verschmutzungen des Geräts hätte kommen können. Danach wurden die drei Tenside und Wasser auf die vier rot markierten Stellen jeweils zweimal täglich für 30 Minuten vier Tage hintereinander aufgetragen (Abbildung 24). An Tag 4 wurden für jede behandelte Stelle dieselben Hautparameter gemessen, um dann entsprechend die Effekte der Substanzen auf die Hautbarriere feststellen zu können.

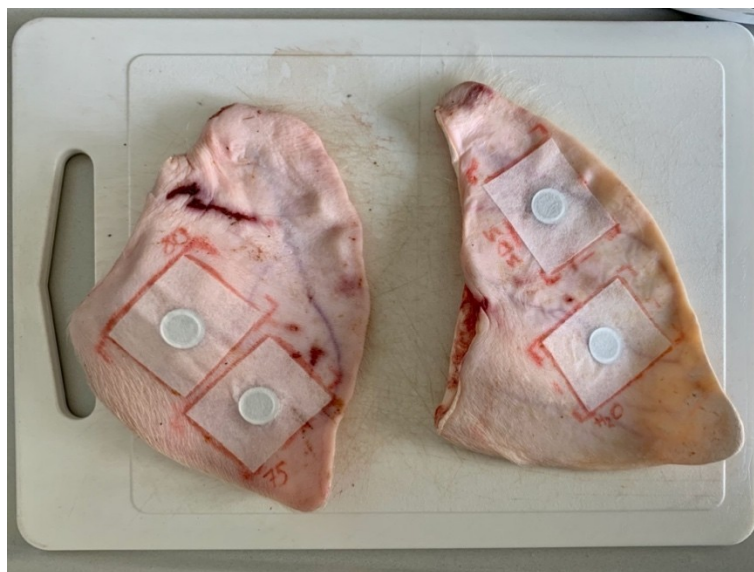


Abbildung 24: Finn Chambers[®] auf vier rot markierten Hautstellen der Schweineohren.

4.1.1.1. Aquaflux® – Bestimmung des transepidermalen Wasserverlusts

Die Veränderungen der TEWL-Werte sind in Abbildung 25 ersichtlich. Der anfängliche mittlere TEWL-Wert der Schweineohren betrug 11,36 ($\pm 1,24$) g/m²/h. Bei der mit Wasser behandelten Kontrollstelle konnte eine leichte Erniedrigung des TEWL mit einem Wert von 10,98 ($\pm 0,42$) g/m²/h festgestellt werden. Die mit dem Lecithin S75 behandelte Stelle wies mit einem Wert von 12,09 ($\pm 0,97$) g/m²/h eine leichte Erhöhung auf. Die mit LPC80 und SDS behandelten Stellen hingegen zeigten eine deutliche Zunahme des transepidermalen Wasserverlusts mit entsprechenden Werten von 24,44 ($\pm 0,29$) g/m²/h für LPC80 und 24,43 ($\pm 2,34$) g/m²/h für SDS.

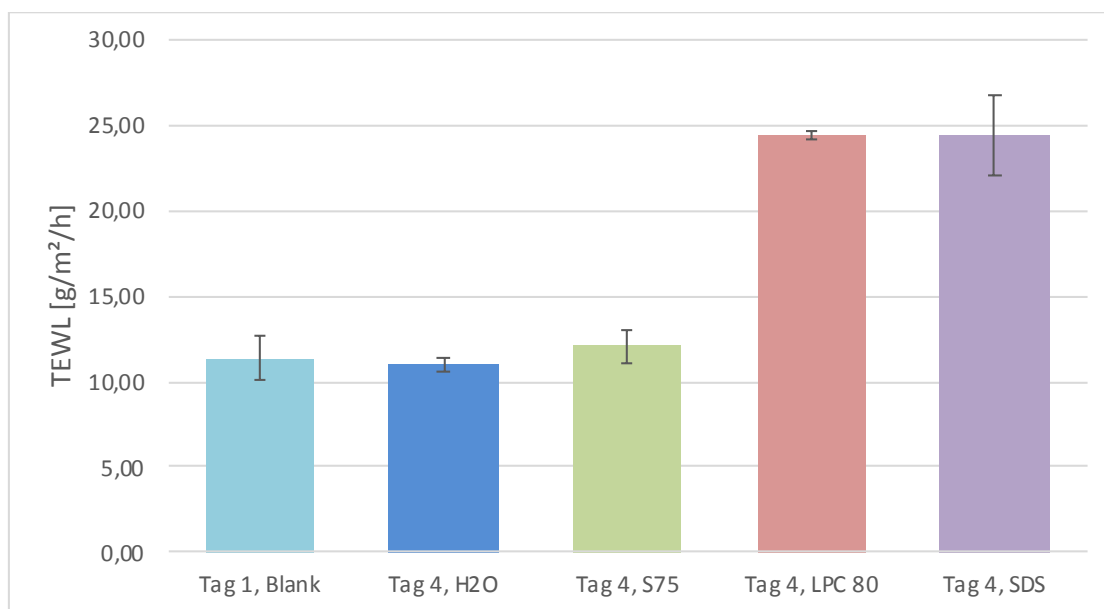


Abbildung 25: Vergleich der TEWL-Werte des Schweineohrs zwischen Tag 1 (Ausgangszustand) und nach viertägiger Behandlung mit den drei Tensiden und Wasser als Kontrolle.

4.1.1.2. Corneometer® – Bestimmung der Hautfeuchtigkeit

Die Veränderungen des Hautfeuchtigkeitsgehalts werden in Abbildung 26 dargestellt. Der durchschnittliche Feuchtigkeitsgehalt der Schweineohren am ersten Tag betrug 35,20 ($\pm 4,27$) a.u. Während die Kontrollstelle und die mit den Lecithinen S75 und LPC80 behandelten Stellen mit Werten von 33,73 ($\pm 2,52$) a.u., 33,73 ($\pm 2,87$) a.u. und 32,27 ($\pm 0,78$) a.u. jeweils eine leichte Abnahme der Hautfeuchtigkeit zeigten, wies die SDS-Stelle mit 60,17 ($\pm 3,10$) a.u. eine deutliche Zunahme auf. Vermutlich handelte es sich hierbei um ein Artefakt und entspricht nicht einer tatsächlichen

Erhöhung der Hautfeuchtigkeit, sondern deutet auf eine Exsudation als Hautreaktion auf das SDS hin.

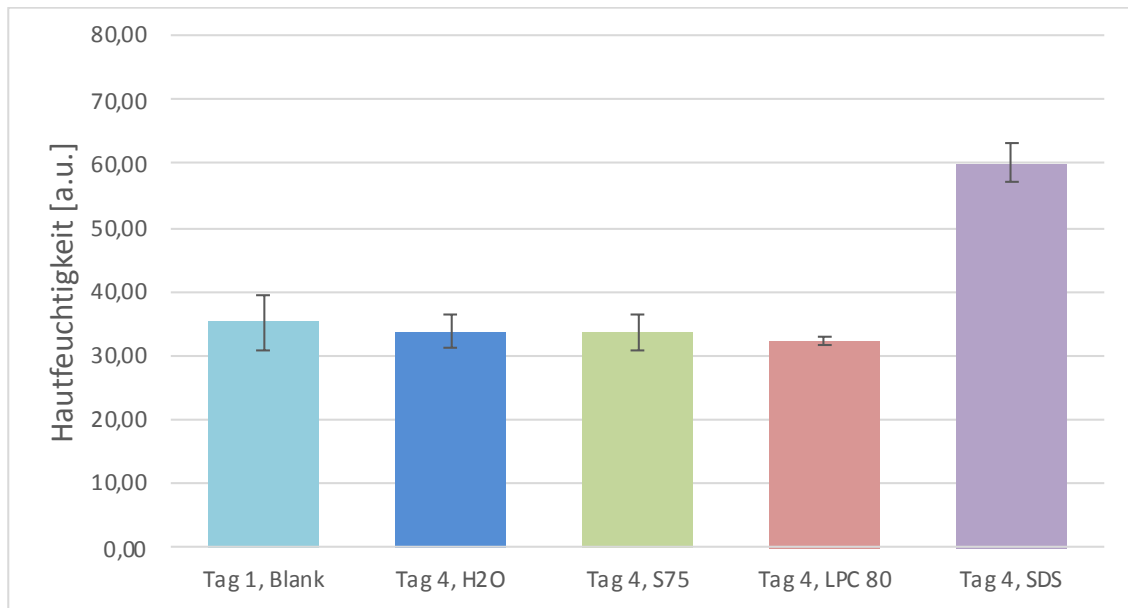


Abbildung 26: Vergleich des Feuchtigkeitsgehalts der Haut des Schweineohrs zwischen Tag 1 (Ausgangszustand) und nach viertägiger Behandlung mit den drei Tensiden und Wasser als Kontrolle.

4.1.1.3. *Epsilon*[®] – Bestimmung der Permittivität

Die Tendenzen der mit dem Corneometer[®] gemessenen Werte konnten auch bei Messungen der Permittivität (Abbildung 27) beobachtet werden. Die mittlere ϵ -Wert zu Beginn betrug 6,76 ($\pm 2,81$) a.u. Die Kontrollstelle verzeichnete mit 17,86 ($\pm 9,22$) a.u. einen Anstieg der Permittivität. Die durchschnittlichen ϵ -Werte der mit den Lecithinen behandelten Stellen zeigten mit 13,69 ($\pm 5,14$) a.u. für S75 und 11,42 ($\pm 2,61$) a.u. für LPC80 eine Abnahme. Beim enormen Anstieg der Permittivität auf einen Wert von 28,41 ($\pm 14,13$) a.u. für die SDS-Stelle handelte es sich wie beim Corneometer[®] um ein Artefakt.

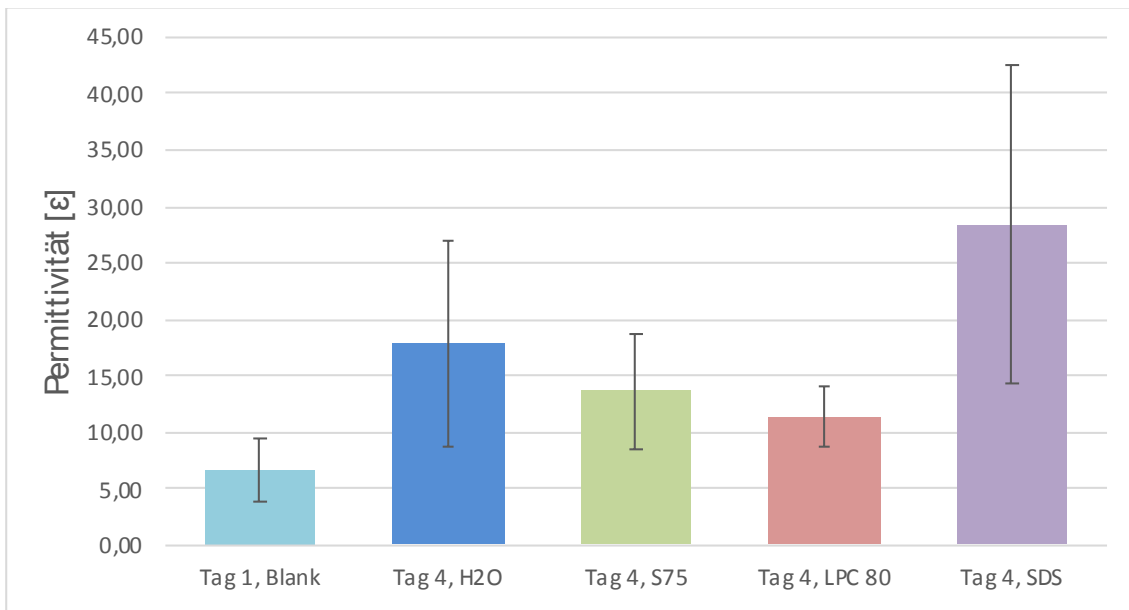


Abbildung 27: Vergleich der Permittivität des Schweineohrs zwischen Tag 1 (Ausgangszustand) und nach viertägiger Behandlung mit den drei Tensiden und Wasser als Kontrolle.

4.1.1.4. Skin-pH-Meter® – Bestimmung des pH-Werts

Die Veränderungen der pH-Werte der Hautoberfläche werden in Abbildung 28 gezeigt. Der mittlere pH-Wert des Schweineohrs betrug vor Beginn der Behandlung 6,47 ($\pm 0,32$). Eine Abnahme der pH-Werts auf 5,17 ($\pm 0,40$) wurde auf der Kontrollstelle registriert. Auch die mit den Lecithinen behandelten Stellen zeigten mit pH-Werten von 6,20 ($\pm 0,10$) für S75 und 5,40 ($\pm 0,30$) für LPC80 eine leichte Senkung. Die SDS-Stelle wies mit 6,37 ($\pm 0,12$) eine höheren pH-Wert als die Kontrollstelle auf.

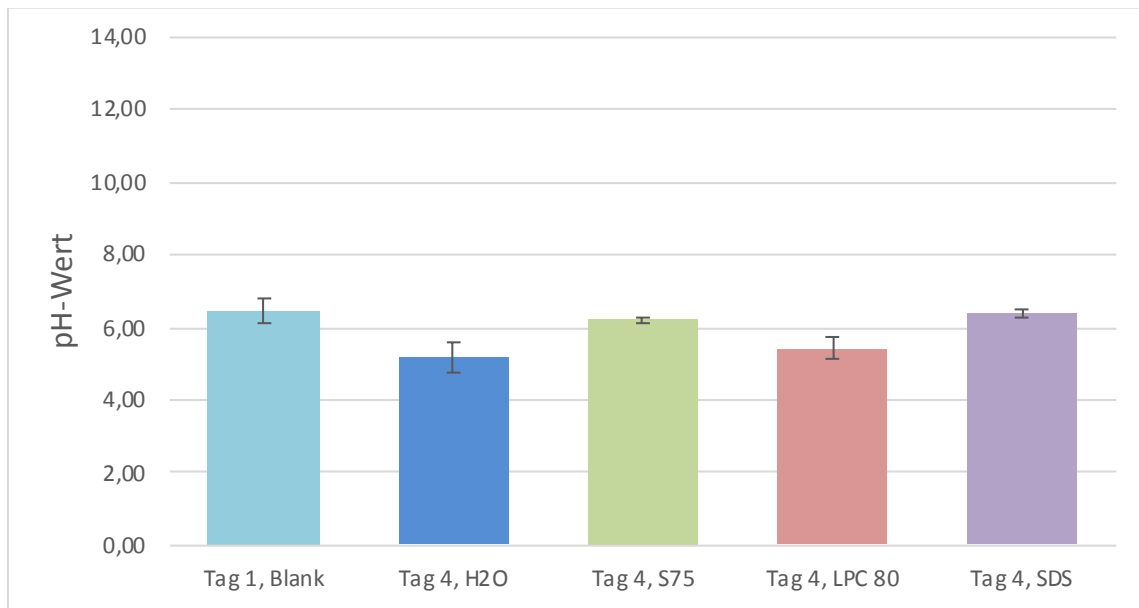


Abbildung 28: Vergleich der pH-Werte des Schweineohrs zwischen Tag 1 (Ausgangszustand) und nach viertägiger Behandlung mit den drei Tensiden und Wasser als Kontrolle.

4.1.2. Nagetierhaut

Um die Eignung verschiedener tierischer Häute als In-Vitro-Modell für humane Haut zu untersuchen, wurden die folgenden Hautparameter an diversen Hautmodellen vermessen und im Anschluss verglichen: Hautfeuchtigkeit, Permittivität, pH-Wert und TEWL. Hierzu standen Stücke der Bauchhaut von Ratte, Maus, Schwein und auch Mensch zur Verfügung (Abbildung 29 und 30).

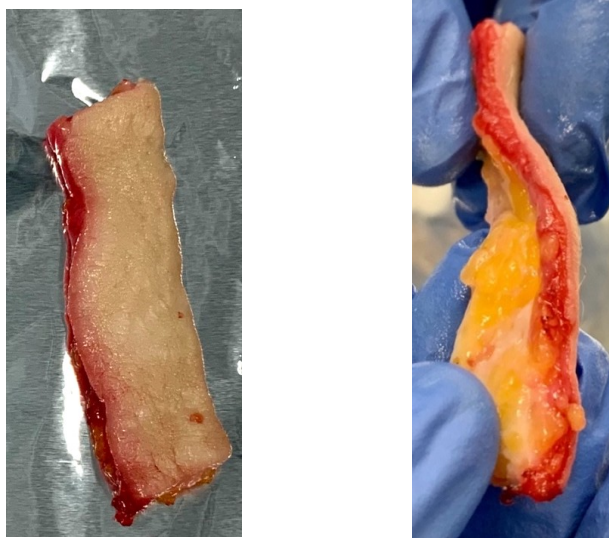


Abbildung 29: Proben humaner Bauchhaut (links: Aufsicht, rechts: Querschnitt und subkutanen Fettgewebe)

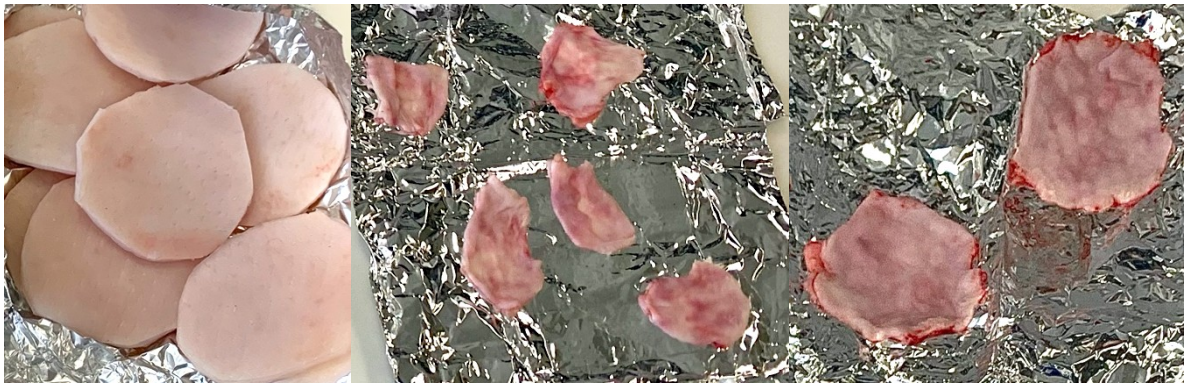


Abbildung 30: Hautproben von Schwein (links), Maus (Mitte) und Ratte (rechts)

4.1.2.1. Aquaflux®- Bestimmung des transepidermalen Wasserverlusts

In Abbildung 31 ist zu erkennen, dass der transepidermale Wasserverlust der porzinen Bauchhaut mit einem mittleren Wert von $100,58 (\pm 2,11) \text{ g/m}^2/\text{h}$ deutlich höher war als der von Menschen ($15,73 \pm 2,02 \text{ g/m}^2/\text{h}$), Ratte ($17,04 \pm 6,51 \text{ g/m}^2/\text{h}$) und Maus ($10,38 \pm 3,32 \text{ g/m}^2/\text{h}$). Das lag hierbei daran, dass es sich bei den verwendeten Proben um vorbehandelte Schweinebauchhaut handelte, die aus einem Schlachthof stammte. Dort erfolgte eine mechanische und thermische Behandlung der porzinen Haut, um eine hygienische Borstenentfernung durchzuführen. Durch dieses Verfahren wurde auch der Großteil der Hornhaut abgetragen und somit auch die Hautbarriere, die für die Regulation der Wasserverdunstung nach Außen zuständig ist.

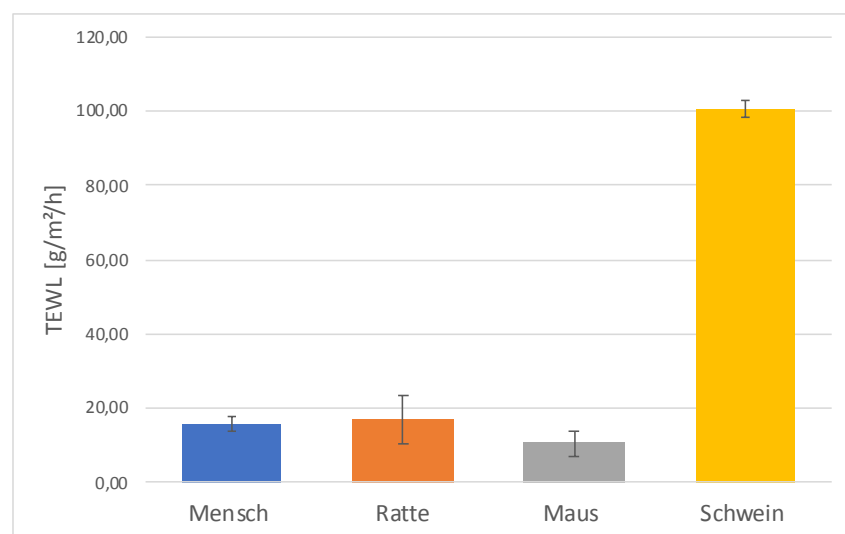


Abbildung 31: Vergleich des transepidermalen Wasserverlusts zwischen verschiedenen Tierhäuten und humaner Haut.

4.1.2.2. Corneometer® & Epsilon® - Bestimmung der Hautfeuchtigkeit

Da hinter dem Corneometer® und dem Epsilon® dieselben Messprinzipien stecken, sollten die gemessenen Werte korrespondieren. Wie aus Abbildung 32 und Abbildung 33 ersichtlich, war das durchaus der Fall. Beide Messsonden zeigten den höchsten Feuchtigkeitsgehalt bei der Maushaut an.

Der mit dem Corneometer® gemessene durchschnittliche Feuchtigkeitsgehalt der Maushaut betrug 75,10 ($\pm 9,56$) a.u. Während die drei anderen Hautproben mit Werten von 52,76 ($\pm 2,11$) a.u. für humane Haut, 53,03 ($\pm 8,39$) a.u. für Rattenhaut und 53,68 ($\pm 10,25$) a.u. für Schweinhaut nur geringe Unterschiede aufwiesen.

Der mittlere ϵ -Wert für Maushaut betrug 65,67 ($\pm 5,61$) a.u. Die gemessenen ϵ -Werte für humane Haut ($42,38 \pm 4,08$ a.u.) und für Rattenhaut ($41,18 \pm 4,76$ a.u.) lagen nahe beieinander. Der durchschnittliche Permittivität für porcine Haut nahm einen Wert von $52,18 (\pm 8,30)$ a.u. an.

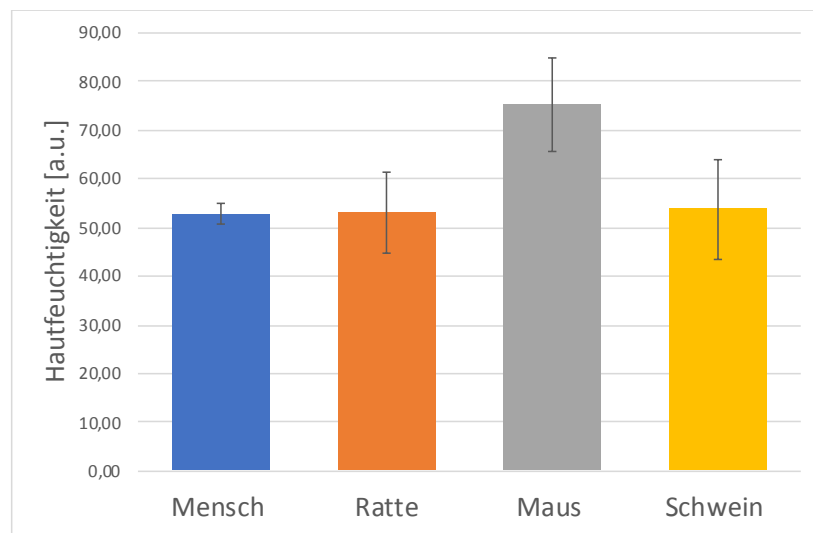


Abbildung 32: Vergleich des Feuchtigkeitsgehalts zwischen verschiedenen Tierhäuten und humaner Haut.

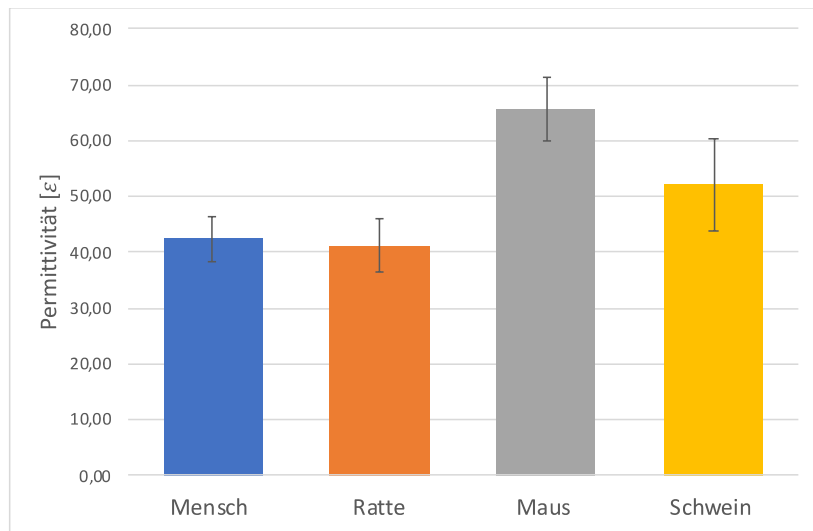


Abbildung 33: Vergleich der Permittivität zwischen verschiedenen Tierhäuten und humaner Haut.

4.1.2.3. Skin-pH-Meter®- Bestimmung des pH-Werts

Die Ergebnisse der Messungen des Skin-pH-Meters® sind in Abbildung 34 dargestellt. Der niedrigste pH-Wert wurde an den Proben humaner Haut vermessen und betrug 5,61 ($\pm 0,16$). Ein ähnlicher pH-Wert wurde bei der Maushaut mit 5,85 ($\pm 0,25$) festgestellt. Die Rattenhaut wies mit 6,60 ($\pm 0,30$) einen etwas höheren pH-Wert auf. Der höchste Wert wurde bei der vorbehandelten Schweinhaut ermittelt und betrug 7,84 ($\pm 0,14$).

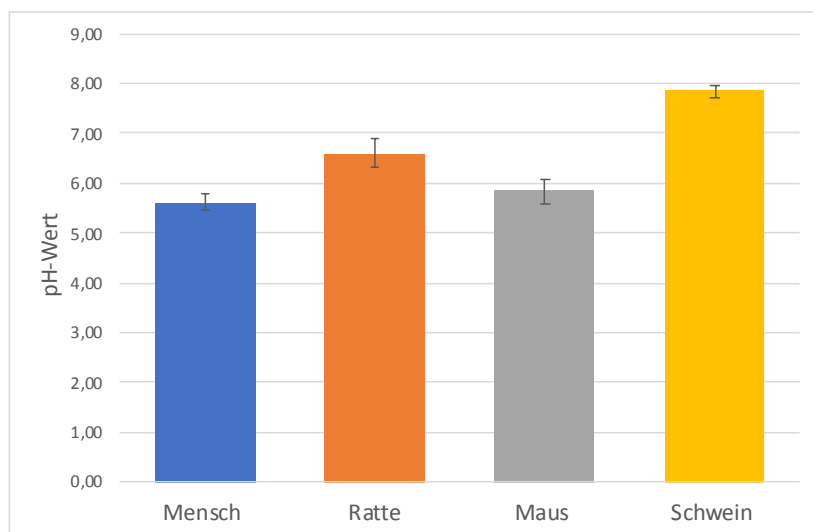


Abbildung 34: Vergleich des pH-Werts zwischen verschiedenen Tierhäuten und humaner Haut.

4.2. Klinische Studie an gesunden Probanden

4.2.1. Messsonden-Auswertung

4.2.1.1. Transepidermaler Wasserverlust

Am ersten Tag der Studie wurden die anfänglichen TEWL-Werte der unbehandelten Haut bestimmt. Dazu wurden drei Messungen mit dem Aquaflux® am nicht-dominanten Unterarm der ProbandInnen vorgenommen. Am letzten Tag wurden jeweils drei Messungen für jede der vier behandelten Hautstellen durchgeführt. Somit konnten Veränderungen des TEWL nach zweimal täglicher Applikation der verschiedenen Tenside und Wasser als Kontrolle festgestellt werden. Die prozentualen Änderungen der TEWL-Werte zwischen Tag 1 und 4 sind in Abbildung 35 dargestellt.

Der durchschnittliche TEWL-Wert aller Probanden, der an Tag 1 bestimmt wurde, betrug 10,14 ($\pm 1,93$) g/m²/h. Mit einem leichten Anstieg auf 12,25 ($\pm 2,02$) g/m²/h betrug die Veränderung nach Behandlung mit Wasser +22,09% ($p > 0,05$). Die mit dem Lecithin S75 behandelte Stelle führte mit einer prozentualen Änderung von +12,03% und einem durchschnittlichen TEWL-Wert von 11,27 ($\pm 2,05$) g/m²/h zu einem geringeren Anstieg. Während der mittlere Wert der mit LPC80 behandelten Stelle mit 13,31 ($\pm 2,19$) g/m²/h einen etwas höheren Anstieg zeigte, entsprechend einer Veränderung von +32,75% ($p > 0,05$). Jedoch erreichten keine der beiden Lecithine Veränderungen mit statistischer Signifikanz. Die Behandlung mit SDS führte allerdings mit einem mittleren TEWL-Wert von 20,41 ($\pm 6,63$) g/m²/h zu einer signifikanten Veränderung von +100,31% ($p \leq 0,001$). Der durch das konventionelle Tensid SDS verursachte Anstieg des TEWL war signifikant höher als die durch LPC80 ($p \leq 0,01$), S75 und Wasser ($p \leq 0,001$) induzierte Steigerung [8].

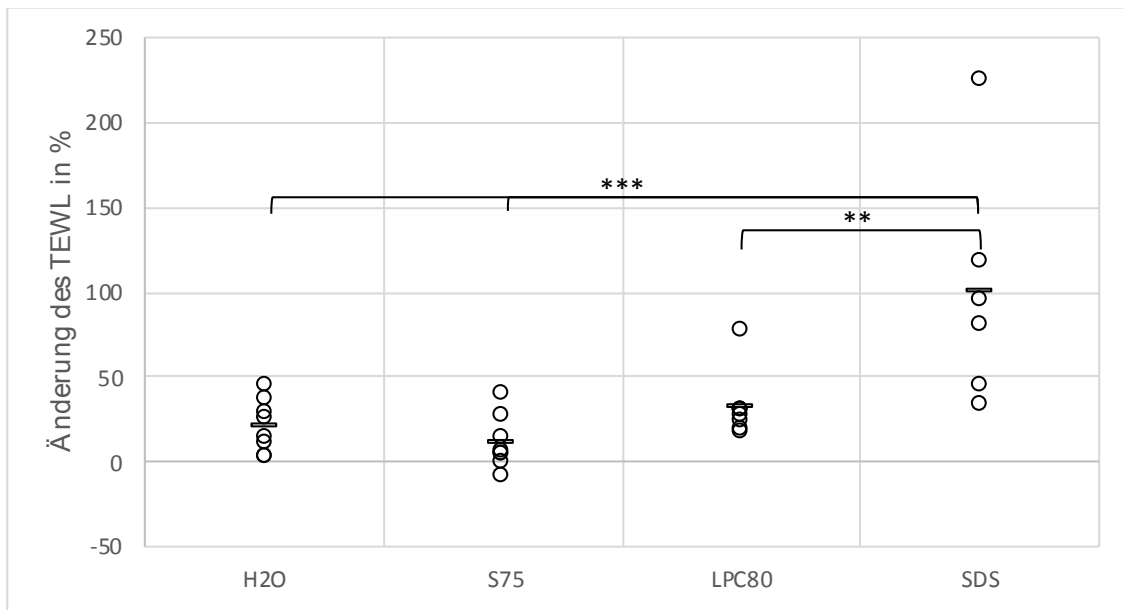


Abbildung 35: Änderungen des transepidermalen Wasserverlusts nach vier Behandlungstagen mit Wasser und den drei verschiedenen Tensiden. Die Veränderungen der Parameter wurden mittels Gleichung berechnet. Es sind jeweils die Werte der einzelnen ProbandInnen (n=8, SDS-Werte n=6) und der entsprechende Mittelwert angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$) und wurden mit einem Einweg-ANOVA + post-hoc Tukey-Test mit $p < 0,05$ als minimales Signifikanzniveau getestet [8].

4.2.1.2. pH-Wert

Um Veränderungen der pH-Werte nach Behandlung mit Wasser und den verschiedenen Tensiden Lecithin S75, Lecithin LPC80 und SDS festzustellen, wurde nach dem gleichen Prinzip wie beim TEWL vorgegangen.

Die prozentualen Änderungen der pH-Werte sind in Abbildung 36 dargestellt. Der durchschnittliche pH-Wert aller ProbandInnen betrug vor Beginn der Behandlung 5,29 ($\pm 0,42$). Nach vier Behandlungstagen zeigte weder die Wasser-Stelle mit einem mittleren pH von 5,31 ($\pm 0,42$) noch die SDS-Stelle mit 5,19 ($\pm 0,18$), die jeweils Zunahmen von +0,73% und +1,36% entsprechen, eine signifikante Veränderung. Hingegen erreichten die mit den Lecithinen S75 und LPC80 behandelten Stellen signifikant niedrigere pH-Werte (S75: 4,59 $\pm 0,36$, entsprechend einer Abnahme von -12,97%; LPC80: 4,49 $\pm 0,36$, entsprechend einer Abnahme von -14,88%). Diese

Abnahmen der pH-Werte waren auch im Vergleich zur Wasser-Stelle und im Fall von LPC80 auch im Vergleich zur SDS-Stelle statistisch signifikant [8].

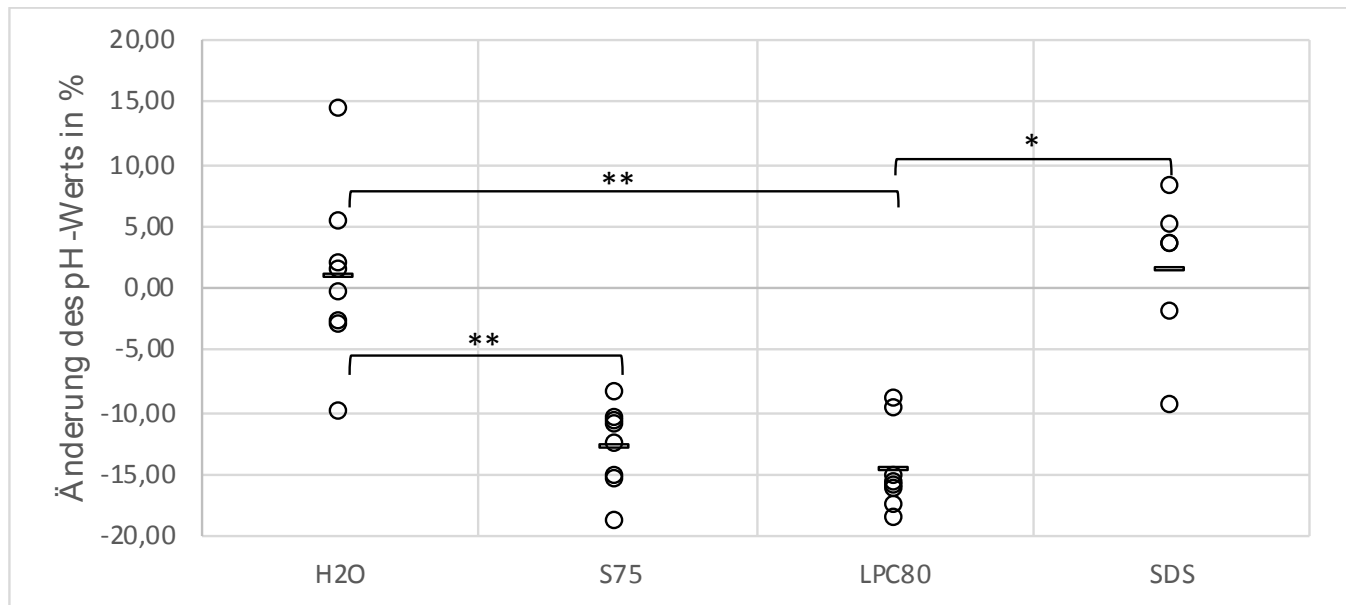


Abbildung 36: Änderungen der pH-Werte nach vier Behandlungstagen mit Wasser und drei verschiedenen Tensiden. Es sind jeweils die Werte der einzelnen ProbandInnen (n=8, SDS-Werte n=6) und der entsprechende Mittelwert angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$) [8].

4.2.1.3. Hautfeuchtigkeit

Die Hautfeuchtigkeit der Studienteilnehmer wurde sowohl mit dem Corneometer[®] als auch mit dem Epsilon[®] bestimmt.

Der mit dem Corneometer[®] gemessene durchschnittliche Feuchtigkeitsgehalt der Hornhaut zu Beginn der Studie betrug 33,48 a.u. ($\pm 6,38$). Die prozentualen Veränderungen des Feuchtigkeitsgehalts sind in Abbildung 37 dargestellt. Nach wiederholter Applikation der Testsubstanzen konnte weder bei Wasser noch bei S75 eine signifikante Veränderung festgestellt werden. Die gemessenen Werte am letzten Tag betrugen 35,68 a.u. ($\pm 7,24$) bei Wasser, das einer Zunahme von +7,12% entspricht, und 31,30 a.u. ($\pm 5,43$) bei S75, das einer Abnahme von -6,08% entspricht. Im Gegensatz dazu führte sowohl LPC80 als auch SDS zu einer signifikanten Abnahme der Hautfeuchtigkeit mit Werten von 24,17 a.u. ($\pm 4,28$) für

LPC80 und 19,28 a.u. ($\pm 4,79$) für SDS, entsprechend Änderungen von -27,04% und -41,53%. Auch im Vergleich zu den durch Wasser und S75 induzierten Veränderungen war die durch SDS verursachte Abnahme der Feuchtigkeit signifikant höher. Und die durch LPC80 hervorgerufene Veränderung war signifikant höher als die Veränderung durch Wasser [8].

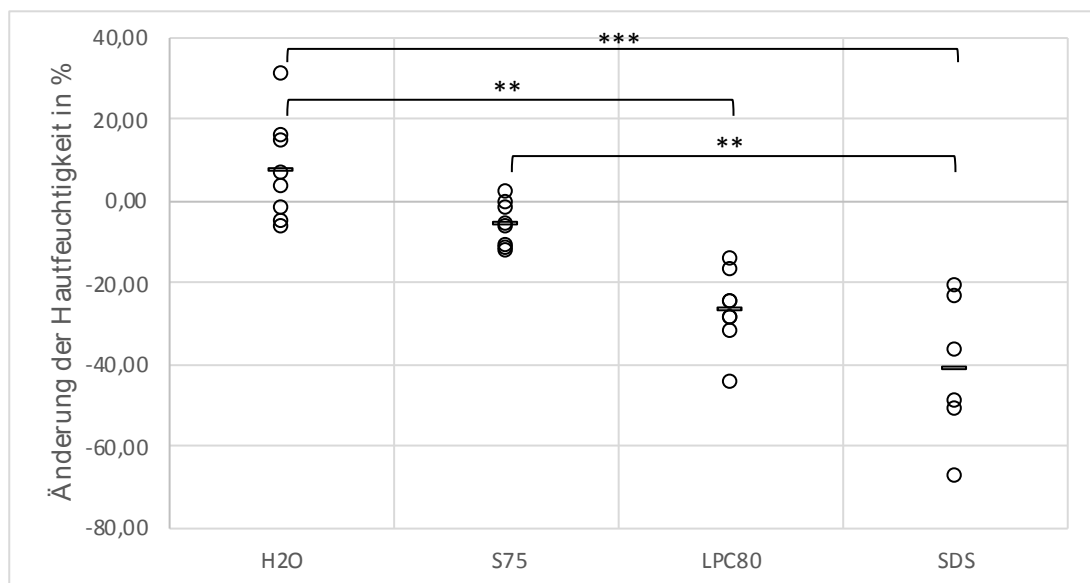


Abbildung 37: Änderungen der Hautfeuchtigkeit nach vier Behandlungstagen mit Wasser und drei verschiedenen Tensiden. Es sind jeweils die Werte der einzelnen ProbandInnen (n=8, SDS-Werte n=6) und der entsprechende Mittelwert angegeben. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen markiert (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$) [8].

Da die mit dem Epsilon[®] gemessenen Werte in hochauflösenden Echtzeitbildern angezeigt werden, erfolgte somit auch eine Visualisierung der Hautfeuchtigkeit. Repräsentative Bilder, die einen Vergleich von unbehandelter und behandelter Haut zeigen, sind in Abbildung 38 dargestellt. Die mit dem Corneometer[®] beobachteten Tendenzen konnten hiermit veranschaulicht werden [8].

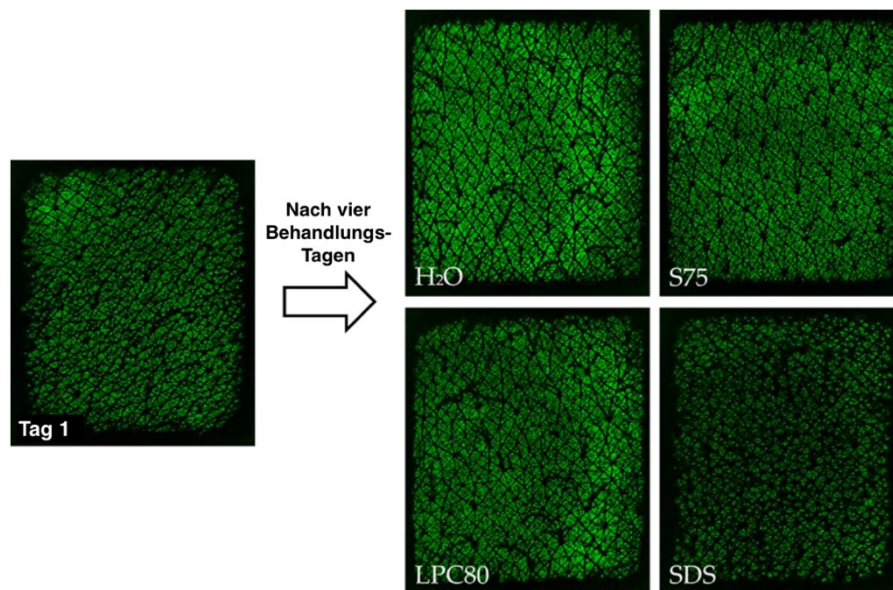


Abbildung 38: Das linke Bild zeigt die unbehandelte Haut eines/r Probanden/in am Tag 1 der Studie. Die rechten Bilder zeigen die Veränderungen der Hautfeuchtigkeit nach vier Behandlungstagen mit Wasser und drei verschiedenen Tensiden [8].

Der zu Beginn der Studie gemessene mittlere ε -Wert betrug $5,07 \pm 1,70$ a.u. Nach vier Tagen zeigten die mit Wasser und S75 behandelten Stellen eine Zunahme der Werte auf jeweils $7,16 \pm 1,26$ a.u. und $6,12 \pm 1,69$ a.u., während hingegen bei den mit LPC80 und SDS behandelten Stellen eine Abnahme auf $4,15 \pm 1,29$ a.u. und $4,80 \pm 1,75$ zu beobachten war [8].

4.2.2. Konfokale Raman-Spektroskopie-Auswertung

An Tag 1 wurde der Ausgangszustand der Haut der ProbandInnen an einer beliebigen Stelle des nicht-dominanten Unterarms bestimmt. Hierzu wurden die NMF- und Urea-Konzentration im Fingerprint-Bereich und die Wasserkonzentration im High-Wave-Number-Bereich des Raman-Spektrometers vermessen. Am Tag 4 wurden dieselben Messungen für alle vier behandelten Stellen durchgeführt, um die Effekte der Behandlung mit Wasser und den drei verschiedenen Tensiden zu beurteilen. Hierbei wurden die Konzentrationsverläufe von NMF, Urea und Wasser von der Hautoberfläche bis zu tieferen Zellschichten der Hornhaut bestimmt. Bei der Interpretation der Daten lag der Fokus jedoch auf den ersten $10 \mu\text{m}$.

4.2.2.1. Fingerprint-Bereich

Natural Moisturizing Factor

Die NMF-Konzentrationskurven der verschiedenen Hautstellen sind in Abbildung 39 dargestellt. Bei allen ProbandInnen zeigten die zwei mit LPC80 und SDS behandelten Stellen eine deutliche Abnahme des NMF-Gehalts. Die durchschnittlichen Veränderungen der Konzentration betrugen -35,51% ($\pm 9,56$) für LPC80 und -53,14% ($\pm 16,84$) für SDS. Im Gegensatz dazu nahm der NMF-Gehalt der mit Wasser behandelten Stelle um +18,11% ($\pm 12,89$) zu und auch die mit S75 behandelte Stelle zeigte eine Zunahme von +4,48% ($\pm 18,82$) [8].

Die NMF-Konzentrationen der LPC80- und SDS-Stellen waren signifikant niedriger als die mit Wasser und S75 behandelten Stellen [8].

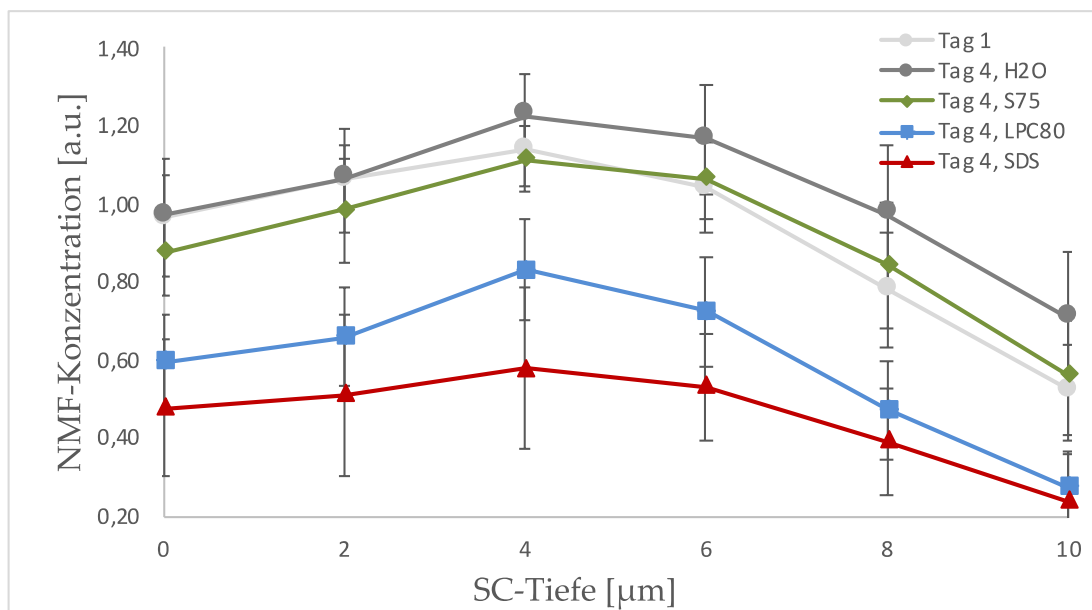


Abbildung 39: NMF-Konzentrationsverlauf der ersten 10 μm der Hornhaut am ersten Tag der Studie (hellgrau) und nach vier Behandlungstagen mit Wasser (dunkelgrau) und den drei verschiedenen Tensiden (S75 in grün, LPC80 in blau und SDS in rot) [8].

Harnstoff (Urea)

Die Urea-Konzentrationskurven der verschiedenen Hautstellen sind in Abbildung 40 dargestellt. Die Urea-Konzentrationen wiesen nicht so ausgeprägte Veränderungen wie der NMF-Gehalt auf. Die größte Abnahme mit -29,30% ($\pm 12,28$) zeigte die mit LPC80 behandelte Stelle, während die anderen beiden Tenside mit -8,50% ($\pm 28,27$)

für S75 und -17,96% ($\pm 19,72$) für SDS einen geringeren Verlust anzeigten. Nur die mit Wasser behandelte Kontroll-Stelle legte mit +4,82% ($\pm 32,67$) eine Zunahme dar. Die verringerte Urea-Konzentration der LPC80-Stelle war im Vergleich zur Kontrolle statistisch signifikant [8].

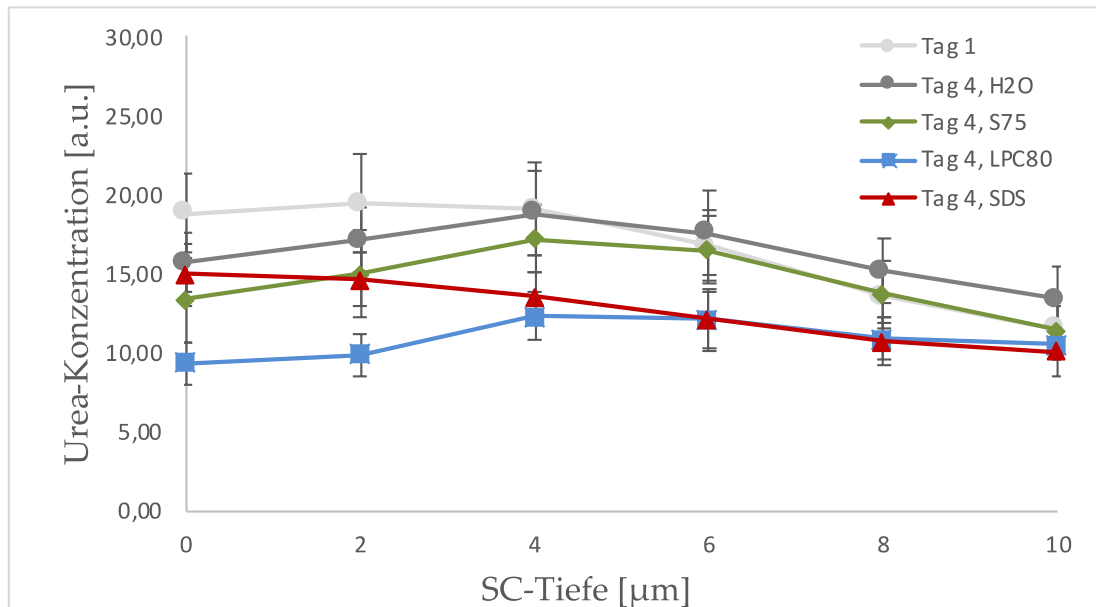


Abbildung 40: Urea-Konzentrationsverlauf der ersten 10 μm der Hornhaut am ersten Tag der Studie (hellgrau) und nach vier Behandlungstagen mit Wasser (dunkelgrau) und den drei verschiedenen Tensiden (S75 in grün, LPC80 in blau und SDS in rot) [8].

4.2.2.2. High-Wave-Number-Bereich

Wasser

Die Verläufe der Wasserkonzentration der verschiedenen Hautstellen sind in Abbildung 41 dargestellt. Die Wasserkonzentrationskurven der drei mit Wasser, S75 und LPC80 behandelten Stellen zeigten einen ähnlichen Verlauf wie die Kurve un behandelter Haut. Dabei starteten die Wasserkonzentrationen bei etwa 30% an der Hautoberfläche und erreichten dann bei einer Tiefe von 30 μm um die 60-70%. Die Wasserkurve der mit SDS behandelten Hautstelle fing hingegen bei einer etwas höheren Konzentration von ungefähr 35% an, erreichte dann aber in tieferen Hautschichten ähnliche Konzentrationen wie die anderen Stellen. Der Wassergehalt der ersten 10 μm war jedoch signifikant höher bei der der SDS-Stelle als bei den mit Wasser und S75 behandelten Stellen [8].

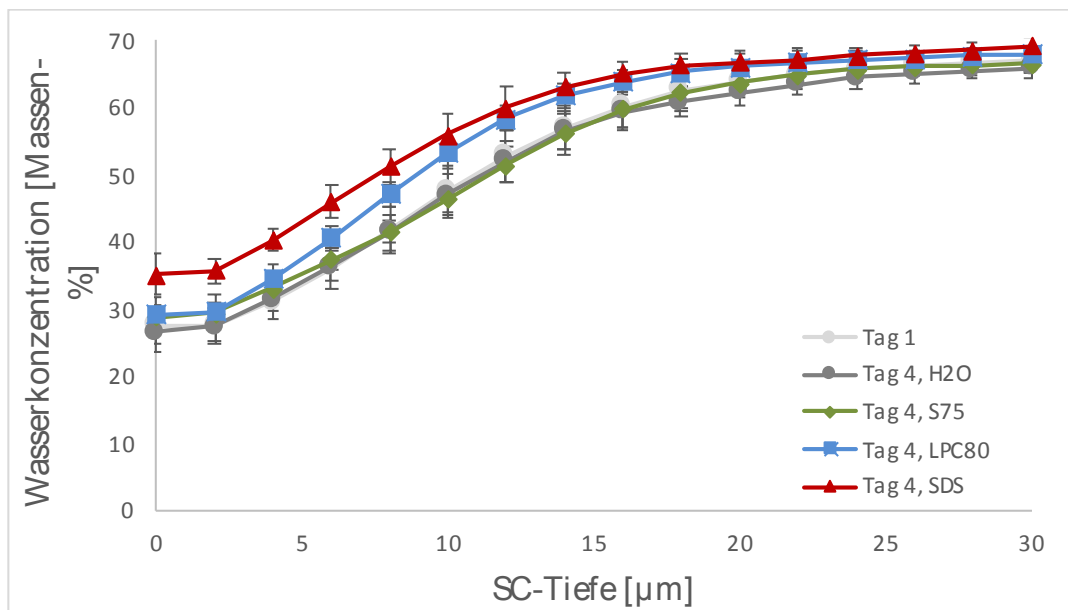


Abbildung 41: Wasserkonzentrationskurven der ersten 30 μm der Hornhaut am ersten Tag der Studie (hellgrau) und nach vier Behandlungstagen mit Wasser (dunkelgrau) und den drei verschiedenen Tensiden (S75 in grün, LPC80 in blau und SDS in rot) [8].

4.2.3. Rasterkraftmikroskopie-Auswertung

Die Analyse der durch Tape Stripping-Verfahren entnommenen Korneozyten erfolgte mittels Rasterkraftmikroskopie. Hierbei wurde die durch die diversen Tenside induzierte Veränderung der Oberflächenmorphologie der Hornzellen durch Auszählung der kreisförmigen Nanoobjekte (CNOs) beurteilt. Repräsentative AFM-Bilder der Oberflächenmorphologie von Korneozyten der verschiedenen Hautstellen sind in Abbildung 42 dargestellt.

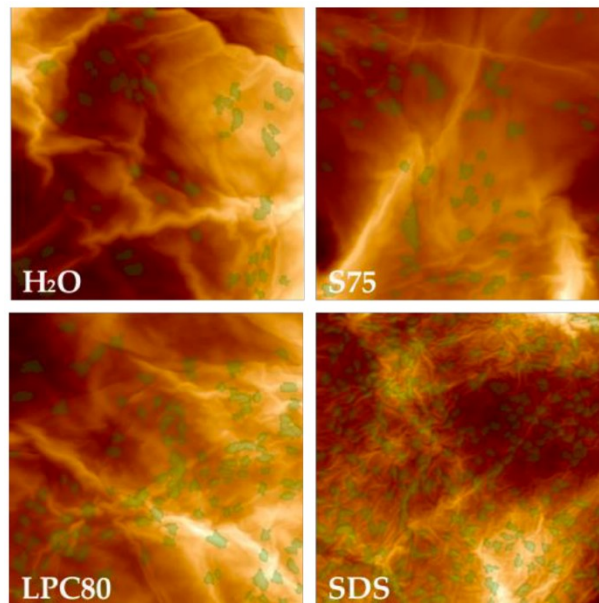


Abbildung 42: Repräsentative AFM-Bilder der Oberflächenmorphologie von Korneozyten nach viertägiger Behandlung mit Wasser und drei verschiedenen Tensiden. Die Entfernung der Korneozyten von der Hautoberfläche erfolgte mittels Tape Stripping-Verfahren. Die kreisförmigen Nanoobjekte (CNOs) sind grün dargestellt [8].

In Abbildung 42 ist zu erkennen, dass alle drei verwendeten Tenside nach viertägiger Behandlung zu einer stärkeren Bildung von CNOs als Wasser führten. Jedoch wiesen die berechneten DTI-Werte der beiden mit S75 und LPC80 behandelten Stellen im Vergleich zur Kontrollstelle (Wasser) keine statistische Signifikanz auf ($p > 0,05$). Wie in Abbildung 43 ersichtlich, erreichte der DTI-Wert der mit SDS behandelten Hautstelle einen statistisch signifikanten Anstieg im Vergleich zur mit Wasser behandelten Stelle ($p \leq 0,05$) [8].

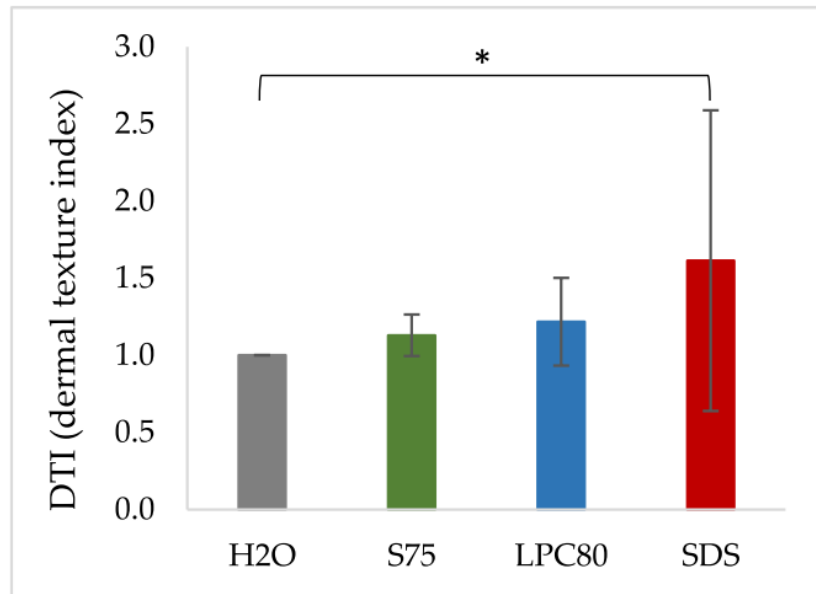


Abbildung 43: Die berechneten DTI-Werte geben die durchschnittliche Anzahl von CNOs in einem Beobachtungsfeld von $20 \mu\text{m}^2$ an. Dabei handelt es sich um Mittelwerte von $n=8 \pm \text{SD}$. Statistisch signifikante Unterschiede sind mit Sternchen (* $p < 0,05$) gekennzeichnet und wurden mit einem Einweg-ANOVA + post-hoc Tukey-Test mit $p < 0,05$ als minimales Signifikanzniveau getestet [8].

5. Diskussion

Das Ziel der durchgeführten Studie war es, einen Vergleich zwischen dem anionischen Tensid SDS und zwei verschiedenen Phospholipid-Mischungen in Bezug auf ihre Beeinflussung der Hautbarriere zu erhalten. Hierzu wurden Veränderungen diverser Hautparameter, die Auskunft über den Zustand der Barrierefunktion geben, nach wiederholter Applikation dieser Tenside gemessen. Allen acht gesunden ProbandInnen wurden die Tensidlösungen jeweils zweimal täglich über einen Zeitraum von vier Tagen aufgetragen.

Zwei Freiwillige entwickelten jedoch am letzten Tag der Studie eine Hautrötung und beginnende Exsudation an der mit SDS behandelten Hautstelle. Infolgedessen konnten die gemessenen Parameter dieser Stelle nicht in die Ergebnisse miteinbezogen werden, da es sich hierbei durch die Entzündungsreaktion um verfälschte Werte handeln könnte.

Die gemessenen TEWL-Werte bestätigten die äußerst aggressive Natur des herkömmlichen Tensids SDS. Denn während die mit Wasser behandelte Kontrollstelle und die zwei mit Lecithin-Mischungen behandelten Hautstellen nur einen geringen Anstieg des Wasserverlusts im Vergleich zum ursprünglichen Wert am Tag 1 der Studie aufwiesen, zeigte die mit SDS behandelte Stelle einen doppelt so hohen TEWL-Wert an. Dieser enorme Anstieg von +100% des transepidermalen Wasserverlusts deutete auf eine signifikante Verschlechterung der Hautbarrierefunktion hin.

Das aus proteinreichen Korneozyten mit lipidreichen interzellulären Doppelschichten bestehende SC ist eine natürliche Barriere gegen Verlust von Wasser aus tieferen Schichten der Epidermis und jede Schädigung dieser, hier beispielsweise durch oberflächenaktive Substanzen induziert, führt selbstverständlich zu einem Anstieg des Wasserverlusts [40].

Interessanterweise übte SDS jedoch keinen besonderen Einfluss auf den pH-Wert der Hautoberfläche aus. Sowohl bei der Wasser-Stelle als auch bei der SDS-Stelle konnte keine signifikante Veränderung zum Ausgangswert festgestellt werden. Die mit den Lecithinen S75 und LPC80 behandelten Hautstellen zeigten allerdings eine deutliche Erniedrigung an. Da ein saurer pH-Wert außerordentlich wichtig für die

Aufrechterhaltung einer gesunden Hautbarriere ist und durch die Abwehr pathogener Mikroorganismen außerdem einen Schutz vor Infektionen bietet, kann auf einen positiven Effekt der Lecithine auf die Haut geschlossen werden [3].

Auch ein ausreichender Feuchtigkeitsgehalt der Hornhaut spielt zur Beibehaltung einer intakten Hautbarriere eine wichtige Rolle, indem die richtige Funktion verschiedener Enzyme gewährleistet wird [2, 16]. Die mit dem Corneometer® und dem Epsilon® bestimmten Werte der Hautfeuchtigkeit zeigten die gleichen Tendenzen. Weder für die mit Wasser behandelte Kontrollstelle noch für die S75-Stelle konnten signifikante Veränderungen des Feuchtigkeitslevels festgestellt werden. Die mit dem Lecithin LPC80 und SDS behandelten Hautstellen wiesen dagegen signifikant erniedrigte Werte auf.

Die NMF- und Urea-Konzentrationen der Hornhaut wurden mittels konfokaler Raman-Spektroskopie ermittelt. Hierbei wurden für die mit LPC80 und SDS behandelten Stellen signifikante Abnahmen der NMF-Konzentration beobachtet. Demgegenüber wiesen die Kontrollstelle und die mit dem Lecithin S75 behandelte Hautstelle leicht erhöhte NMF-Werte auf.

Während der Ausdifferenzierung der Korneozyten werden die NMF-Komponenten durch Zerfall des histidinreichen Proteins Profilaggrin gebildet. Dieser Prozess beinhaltet mehrere Kaskaden für die jeweils verschiedene proteolytische Enzyme verantwortlich sind. Nun können Veränderungen der Aktivitäten dieser Schlüsselenzyme und/oder Verfügbarkeit von Substraten durch z.B. chemische Mittel (Tenside) erniedrigte NMF-Konzentrationen verursachen [41].

Bei den Messungen der Urea-Level konnte hingegen nur bei der mit Wasser behandelten Kontrollstelle eine minimale Erhöhung festgestellt werden, während alle Tenside zu erniedrigten Konzentrationen führten. Eine statistisch signifikante Abnahme erreichte jedoch nur das Lecithin LPC80. Die Hauptkomponente des Lecithins LPC80 ist das Monoacyl-Phosphatidylcholin. Dieses enthält im Vergleich zum ursprünglichen Phosphatidylcholin, Hauptbestandteil des Lecithins S75, nur einen Fettsäurerest und ist somit polarer, wasserlöslicher und weist ein höheres Emulgiervermögen auf [42]. Somit könnte das durchaus höhere Irritationspotenzial von LPC80 im Vergleich zu S75 erklärt werden.

Außerdem wurde auch der Wassergehalt des SC mit dem konfokalen Raman-Spektrometer bestimmt. Hierbei wurde erkannt, dass die viertägige Behandlung mit SDS zu höheren Wasserkonzentrationen an der Hautoberfläche führte. Während die mit Wasser, S75 und LPC80 behandelten Hautstellen Konzentrationen um die 30% an der Oberfläche aufwiesen und dann Richtung tiefere Hautschichten kontinuierlich auf 60-70% anstiegen, startete die Wasserkurve der SDS-behandelten Stelle bei höheren Werten von 35%, stieg aber auf ähnliche Werte (60-70%) an. Als Verursacher dieser erhöhten Wasserkonzentrationen an der Hautoberfläche SDS-behandelter Stellen könnte die Exsudation betrachtet werden, die als Reaktion auf entzündliche Prozesse ausgelöst durch das aggressive Tensid auftritt.

Jedoch zeigten die mit dem Corneometer® und dem Epsilon® gemessenen Hautfeuchtigkeitswerte zum Teil widersprüchliche Ergebnisse. Hier wurden signifikant erniedrigte Hydratationslevel der Hornhaut SDS-behandelter Stellen festgestellt. Dies könnte daran liegen, dass während der CRS-Messungen die Hautstellen deutlich länger okklusiven Effekten unterliegen und somit das austretende Exsudat zu Artefakten geführt hat.

Die am letzten Tag der Studie entnommenen Korneozyten-Proben wurden mittels Rasterkraftmikroskop analysiert. Dabei wurde festgestellt, dass alle drei verwendeten Tenside zu Veränderungen der Oberflächenmorphologie führten, indem sie eine verstärkte Bildung von CNOs induzierten. Allerdings verursachte nur das herkömmliche SDS einen signifikant erhöhten DTI-Wert im Vergleich zur Kontrollstelle.

Die Ergebnisse der *in-vivo* Studie bestätigten das ausgesprochen hohe Irritationspotenzial des anionischen Tensids SDS. Es konnte ein negativer Einfluss auf diverse Hautparameter beobachtet werden. Der transepidermale Wasserverlust verdoppelte sich im Vergleich zu den Ausgangswerten, während die Hydratation der Hornhaut und die NMF-Konzentration eine deutliche Erniedrigung anzeigten. Außerdem führte das SDS zu einer signifikant erhöhten Bildung von kreisförmigen Nanoobjekten auf der Korneozytenoberfläche.

Zwischen den beiden verwendeten Lecithin-Mischungen konnten auch Unterschiede festgestellt werden. Während sich S75 als das hautfreundlichste Tensid herausstellte, zeigte LPC80 durchaus auch negative Effekte auf die Hautbarriere.

6. Anhang

Die Rohdaten zu den oben erläuterten Ergebnissen liegen in digitaler Form vor und wurden aus Platzgründen nicht in die vorliegende Arbeit integriert. Der Anhang enthält eine theoretische Abhandlung zum Thema Kosmetika, die im Zuge der Diplomarbeit angefertigt wurde. Hierfür wurden die Modell-Präparate aus der Lehrveranstaltung „Kosmetik in Theorie und Praxis“ der Universität Wien auf ihre Zusammensetzung hin untersucht.

6.1. Ausarbeitung zum Thema Kosmetika

Im Rahmen dieser Arbeit wurden klassische kosmetische Präparate auf ihre Struktur und Zusammensetzung hin analysiert und die Funktion der einzelnen Komponenten in Bezug auf ihre Wirkung bei dermalen Anwendung wurde detailliert erläutert. Diese Erhebung soll als Basis für weitere Arbeiten dienen, in denen kosmetische Formulierungen mit optimiertem Effekt auf die Haut entwickelt werden sollen.

6.1.1. Nachtcreme

Die Nachtcreme stellt eine Formulierung mit relativ hohem Lipidgehalt dar, die aufgrund ihrer stark rückfettenden Eigenschaften eher abends im Gesicht und auf dem Dekolleté aufgetragen wird. Die Formulierung besteht aus einer apolaren Basis, in die eine hydrophile Phase eingearbeitet wird. Das resultierende Produkt ist ansehnlich cremeweiß und homogen im Erscheinungsbild. Es handelt sich um eine halbfeste, gut verstreichbare Creme, die langsam einzieht und einen Film auf der Haut hinterlässt. Die Analyse der Modell-Nachtcreme führte zu folgenden Ergebnissen: Die lipophile Phase enthält die fertige W/O-Grundlage *Dehymuls K*[®], gebleichtes Wachs (*Cera alba*), flüssiges Wachs (*Cetiol V*[®], *Cera liquida*) und Neutralöl (*Miglyol 812*[®], mittelkettige Triglyceride). Die hydrophile Phase besteht aus gereinigtem Wasser, in dem ein flüssiger Feuchthaltefaktor (*Hydroviton*[®]) gelöst ist.

Die fertige W/O-Grundlage *Dehymuls K*[®] besteht aus folgenden Substanzen: Vaseline (INCI: PETROLATUM), Decyloleat (INCI: DECYL OLEATE), Fettsäuren aus Kokosöl, Pentaerythritol (=2,2-Bis(hydroxymethyl)-1,3-propandiol), Stearylalkohol (1-Octadecanol), Salze bzw. Ester der Zitronensäure (INCI: DICOCOYL PENTAERYTHRITYL DISTEARYL CITRATE), Sorbitansesquioleat (INCI:

SORBITAN SESQUIOLEATE), mikrokristallines Wachs (INCI: MICROCRYSTALLINE WAX), flüssiges Paraffin (INCI: PARAFFINUM LIQUIDUM), Bienenwachs (=Cera alba) (INCI: BEESWAX), Aluminiumdistearat und -tristearat (INCI: ALUMINUM STEARATES) (Aluminiumsalz der Stearinsäure).

Die fertige Grundlage enthält verschiedene Kohlenwasserstoff-Paraffine wie Vaseline, flüssiges Paraffin und mikrokristallines Wachs. Paraffine sind gesättigte, verzweigte oder unverzweigte Kohlenwasserstoffe. Die Gewinnung kann aus Erdöl oder synthetisch erfolgen. Besondere Vorteile der Paraffine sind, dass sie keiner Oxidation durch Sauerstoff unterliegen und gegen mikrobiellen Befall inert sind. Daher sind sie sehr gut lagerbar. Vaseline besteht aus einer Mischung von n- und iso-Paraffinen und ist der gereinigte Rückstand der Erdöldestillation. Die sowohl festen als auch flüssigen Paraffine bilden ein beständiges Lipogel und sind somit ein spezielles Kohlenwasserstoffprodukt [1].

Bei der Anwendung in Dermatika ist zu sagen, dass Kohlenwasserstoff-Paraffine nicht von der Haut resorbiert werden, sondern einen okklusiven Film hinterlassen. Zur täglichen Pflege normaler Haut eignen sich reine Paraffinsalben wie Vaseline daher nicht. Sie hinterlassen einen fettigen Film auf der Haut. Dieser Effekt macht sie in erster Linie zu Hautschutzprodukten, beispielsweise im Winter bzw. in Arbeitsschutzsalben [1].

Außerdem verursachen reine Paraffine durch ihren wasserabweisenden Effekt einen Wärmestau und vermindern die Verdunstung von Wasser durch die Haut. Ein großer Nachteil ist die Gewöhnung der Haut an die Hilfe der Paraffine gegen Austrocknung. Folglich steigt der TEWL, weil die Haut ihre körpereigenen Schutzmechanismen gegen Austrocknung herunterfährt. Paraffine eignen sich aber in kleinen Mengen, um die Konsistenz und die Applikationseigenschaften von Emulsionen wie Cremes zu verbessern [1].

Als weitere apolare Grundlage ist Bienenwachs enthalten. Das Bienenwachs (Cera alba/flava, Beeswax) ist ein festes natürliches Wachs, das von Bienen zum Bau ihrer Waben produziert wird. Es handelt sich hierbei um Verbindungen aus langen gesättigten Fettalkoholen und Fettsäuren. Das Bienenwachs besteht aus 10-15% Paraffinkohlenwasserstoffen, 35-75% Estern aus C16-C36 Fettsäuren und C24-C36

Wachsalkoholen. Als Salbengrundlagen eignen sich feste Wachse aufgrund ihrer Härte nicht. Jedoch sind sie wichtige Konsistenzgeber in Cremes und Lippenstiften, indem sie die Viskosität einer Zubereitung erhöhen und die Festigkeit dieser Produkte regulieren. Außerdem enthalten natürliche Wachse auch freie Fettalkohole und Fettsäuren, die eine gewisse emulgierende Wirkung haben können. Allerdings kann selbst gereinigtes weißes Bienenwachs Pollenrückstände aufweisen, die bei empfindlichen Personen zu allergischen Reaktionen führen können [1].

Neben Bienenwachs ist auch flüssiges Wachs verarbeitet. Flüssige Wachse (Cera liquida) sind auch Ester aus langkettigen Fettalkoholen und Fettsäuren. Hierbei ist jedoch eine der beiden Komponenten ungesättigt, wie z.B. Ölsäuredecylester. Es können aber auch beide Bestandteile aus ungesättigten Verbindungen bestehen wie z.B. beim Ölsäureoleylester. Ein bedeutender Vorteil flüssiger Wachse ist, dass sie ein sehr gutes Spreitvermögen haben und sich somit leicht auf der Haut verteilen lassen. Zudem ziehen sie schnell ein und hinterlassen ein angenehmes Hautgefühl [1].

Das Neutralöl besteht aus Neutralfetten. Das sind Triester von Glycerol mit drei Fettsäuren. Je nach Kettenlänge, Verzweigung der C-Kette und Anzahl der Doppelbindungen in den Fettsäuren können die resultierenden Triglyceride in fester oder flüssiger Form vorliegen. Zur Synthese des Neutralöls werden mittelkettige Fettsäuren verwendet [1].

Neben den apolaren Grundlagen enthält die Nachtcreme zwei Emollientien, nämlich Decyloleat und Dicocoyl Pentaerythrityl Distearyl Citrate. Die Stoffgruppe der Emollientien enthält Wirkstoffe, welche die Haut pflegen und glätten. Sie vermitteln somit ein weiches Hautgefühl. Decyloleat gehört chemisch gesehen zu den Wachsen. Diese sind Ester aus einem langkettigen, einwertigen Alkohol und einer Fettsäure. Die Komponente Dicocoyl Pentaerythrityl Distearyl Citrate ist ein Ester des vierwertigen Alkohols Pentaerythrit mit Fettsäuren [1].

Dieses Emolliens enthält Fettsäure-Reste aus dem Kokosöl. Kokosöl ist ein industriell sehr häufig verwendeter Rohstoff. Es enthält hauptsächlich kurzkettige C12- und C14-Fettsäuren, wie z.B. Laurinsäure (C12) und Myristinsäure (C14). Bevorzugt finden diese Fettsäuren Verwendung in der Herstellung spezieller Tenside

und als Rohstoff für Waschmittelalkohole. Gewonnen wird das Kokosöl aus den Früchten der Kokospalme (*Cocos nucifera*) [43].

Die Nachtcreme enthält zur Stabilisierung des Mehrphasensystems Emulgatoren. Als Emulgator in dieser Creme fungiert das Sorbitansesquioleat. Da es keine Ladungen trägt, gehört es zu den nichtionischen Emulgatoren. Den polaren Teil der amphiphilen Substanz bildet das Sorbitol, ein Zuckeralkohol, während der apolare Teil aus der einfach ungesättigten Ölsäure (18C) besteht. Verbunden sind diese Bestandteile als Ester. Es handelt sich beim Sorbitansesquioleat um einen W/O-Emulgator. Das bedeutet, dass die lipophilen Komponenten überwiegen und der Emulgator somit eher in der Ölphase löslich ist, die dann auch als äußere Phase der Emulsion festgelegt ist [1].

Weiters ist ein Verdickungsmittel in der Creme enthalten. Aluminiumstearate gehören zur Gruppe der Verdickungsmittel. Chemisch gesehen handelt es sich um Metallseifen. Diese sind im Gegensatz zu Seifen, welche Na- und K-Salze von Fettsäuren umfassen, nicht wasserlöslich. Zusammen mit Ölen bilden sie glasige Gele (Oleogel). Außerdem werden sie als Trübungsmittel eingesetzt, um ein Durchscheinen von Licht durch durchsichtige Zubereitungen zu verhindern [1].

Bei den spezielleren Komponenten der Nachtcreme findet sich in der hydrophilen Phase ein Feuchthaltefaktor, um die Haut in gutem Zustand zu halten. Der flüssige Feuchthaltefaktor Hydroviton 24[®] setzt sich aus den folgenden Substanzen zusammen: Glycerol (INCI: GLYCERIN), Natriumlactat (INCI: SODIUM LACTATE), Triethanolaminlactat (INCI: TEA-LACTATE), Serin (INCI: SERINE), Milchsäure (INCI: LACTIC ACID), Harnstoff (INCI: UREA), Sorbitol (INCI: SORBITOL), Natriumchlorid (INCI: SODIUM CHLORIDE), Allantoin (INCI: ALLANTOIN).

Die Mehrheit dieser Substanzen sind natürliche Feuchthaltefaktoren, die den Feuchtigkeitsgehalt der Hornhaut stabilisieren: Natriumlactat, Serin, Milchsäure, Harnstoff. Diese finden sich auch im natürlichen NMF der Haut. Mit dem Einsatz dieser Faktoren in Kosmetika wird eine nachhaltige Hydratisierung der Haut erzielt, weil es sich hier um kleine, hydrophile Moleküle handelt, die große Hydrathüllen besitzen und sich in den Hydrolipidfilm integrieren [1].

Hydroviton 24[®] enthält weiters Glycerol und Sorbitol. Glycerol gehört zwar physiologisch betrachtet auch zu den NMF, aber chemisch gehört es zu den Humectants. Das sind mehrwertige, kurzkettige Alkohole, die wegen ihrer ausgeprägten Hydrophilie und Hygroskopizität als Feuchthaltemittel dienen. Einerseits verhindern sie die Austrocknung der Zubereitung andererseits den transepidermalen Wasserverlust der Hornhaut. Sorbitol gehört auch zu den Humectants [1].

Die Rolle des enthaltenen Natriumchlorids ist nicht klar definiert. Die Literatur führt NaCl als Verdickungsmittel in Kosmetika an. Es ist bekannt, dass Kochsalz als Elektrolyt grundsätzlich Feuchtigkeits-affin ist. Es kann daher auch in seiner Funktion als Feuchthaltemittel gesehen werden.

Das enthaltene Allantoin ist ein in der Arzneipflanze Beinwell (*Symphytum officinale*) vorkommender Wirkstoff. Neben seinem leicht hydratisierenden Effekt hat es vor allem eine heilende und reizlindernde Wirkung [1].

Die Komponente Triethanolaminlactat ist ein Salz des Triethanolamins (TEA). Diese Komponente ist in Dermatika bzw. dermalen Arzneiformen bis zu einem Gehalt von 2,5% noch zugelassen [44]. Der innerliche Gebrauch der Base TEA ist obsolet; es besteht bei der Lagerung das Risiko der Bildung von kanzerogenen Nitrosaminen. Der Einsatz ist daher zu hinterfragen.

6.1.2. Tagescreme

Bei der Tagescreme handelt es sich um ein O/W-System. Durch einen großen Anteil Wasser hat die Formulierung eine leichte und schnell einziehende Textur. Dadurch soll sie die Haut im Verlauf des Tages vor schädlichen Umwelteinflüssen schützen und in einem guten Zustand halten, ohne sie dabei zu beschweren. Daher eignen sich diese Produkte für das tägliche Auftragen morgens nach der Gesichtereinigung. Die Analyse der Modell-Tagescreme führte zu folgenden Ergebnissen: Die lipophile Phase der Tagescreme enthält Neo-PCL selbstemulgierend O/W und den Spreitungsförderer Isopropylmyristat. Die hydrophile Phase beinhaltet das

Konservierungsmittel Imidazolidinyl-Harnstoff, Propylenglykol und gereinigtes Wasser.

Die Salbengrundlage **Neo-PCL selbstemulgierend O/W** ist ein fertiges halbfestes O/W-System. Es ist eine Mischung aus PCL-liquid und PCL-solid. PCL-liquid ist ein flüssiges Gemisch verzweigter Fettsäureester. Ein Beispiel hierfür ist der Ester aus 2-Ethylhexansäure und Cetylstearylalkohol, einem Gemisch aus Cetylalkohol und Stearylalkohol. PCL-liquid verhindert im Gegensatz zu den Paraffinen nicht die natürliche Wasserverdunstung der Haut und trägt zu einem guten Spreitvermögen der Grundlage bei. PCL-solid besteht aus langkettigen Fettsäureestern wie zum Beispiel dem Ester aus Heptansäure und Stearylalkohol [1].

Alle Bestandteile von Neo-PCL sind im Folgenden aufgelistet: Bienenwachs (INCI: CERA ALBA), Ethylhexansäurecetylstearylester (INCI: CETEARYL ETHYLHEXANOATE), Stearylalkohol (INCI: STEARYL ALCOHOL), Stearylheptanoat (INCI: STEARYL HEPTANOATE), Palmitinsäurecetylstearylester (INCI: CETYL PALMITATE), PEG-Ether des Stearylalkohols (INCI: STEARETH-7), (INCI: STEARETH-10), Stearylcaprylat (INCI: STEARYL CAPRYLATE), Myristylalkohol (INCI: MYRISTYL ALCOHOL).

Bei den PEG-(Polyethylenglykol-)Ethern des Stearylalkohols handelt es sich um O/W-Emulgatoren. Die Ziffern nach dem Bindestrich geben die Anzahl der Ethylenoxid-Einheiten an [1].

Als weiterer Inhaltsstoff verbessert der Spreitungsförderer Isopropylmyristat (INCI: ISOPROPYL MYRISTATE) die Gleitfähigkeit der Formulierung. Jedoch sollte man von der Verwendung dieser Substanz in Cremes für unreine und fettige Haut absehen, da sie eine komedogene Wirkung besitzt und somit durch Verstopfung der Poren zu einer Verschlimmerung der Hautunreinheiten führen könnte [1].

Als mehrwertiger, kurzkettiger Alkohol gehört Propylenglykol (INCI: PROPYLENE GLYCOL) zu den Feuchthaltmitteln, den sogenannten Humectants. Durch ihre ausgeprägte Hygroskopizität dürfen diese Substanzen nur in Kombination mit Wasser in Verwendung kommen, da sie ansonsten der Haut Wasser entziehen

würden. Da es sich beim Propylenglykol um eine flüssige Verbindung handelt, dient es außerdem noch als Lösungsmittel [1].

Da es sich bei der Formulierung um eine O/W-Creme handelt und der Wassergehalt somit relativ hoch ist, muss hier ein Konservierungsmittel zum Einsatz kommen. Durch das ständige Hineingreifen in den Tiegel und das häufige Öffnen der Gefäße ist eine mikrobielle Kontamination der Zubereitungen nicht zu vermeiden. Im äußersten Fall können diese Mikroorganismen Krankheiten auslösen oder durch die Freisetzung bestimmter Toxine zu einer Zersetzung der Inhaltsstoffe führen. Die eingesetzten Konzentrationen haben eine mikrobistatische Wirkung und hemmen somit das Wachstum der Keime. In der vorliegenden Zubereitung wird das Konservierungsmittel Imidazolidinylharnstoff (Unicide U-13[®]) eingearbeitet, ein sogenannter Formaldehydabspalter. Diese Stoffgruppe setzt kontinuierlich Formaldehyd frei, das eine mikrobizide Wirkung hat und somit zu einer Abtötung der Keime führt [1].

6.1.3. Reinigungsmilch

Eine Reinigungsmilch ermöglicht eine milde Reinigung von trockener und empfindlicher Haut. Sie kann morgens und abends durch kreisende Bewegungen auf das Gesicht und das Dekolleté aufgetragen und anschließend mit einem Wattebausch abgenommen werden.

Die Analyse der Modell-Reinigungsmilch führte zu folgenden Erkenntnissen: Die lipophile Phase der O/W-Emulsion enthält neben zwei verschiedenen Emulgatoren (INCI: CETEARETH-25, CETEARETH-6) auch Cetylstearylalkohol und flüssiges Paraffin. Die hydrophile Phase besteht zu einem Großteil aus Wasser und zusätzlich Propylenglykol. Durch den hohen Anteil Wasser handelt es sich hierbei um eine flüssige, milchige Zubereitung.

Der enthaltene Hilfsstoff Cetylstearylalkohol (INCI: CETEARYL ALCOHOL) kann mehrere Zwecke erfüllen. Einerseits kann er als sogenannter Konsistenzgeber die Viskosität der Formulierung erhöhen und dadurch das Auftragen der Reinigungsmilch erleichtern. Andererseits haben die zwei Fettalkohole durch ihre Lipophilie auch eine rückfettende Wirkung. Somit kann eine starke Entfettung der Haut durch die Reinigung verhindert werden. Daher eignet sich eine Reinigungsmilch

für eher trockene Hauttypen, während bei fettiger Haut auf eine andere Alternative zur Gesichtereinigung zurückgegriffen werden sollte [1].

Als weiterer Rückfetter kommt das flüssige Paraffin (INCI: PARAFFINUM LIQUIDUM) in der lipophilen Phase der Emulsion zum Einsatz. Außerdem handelt es sich hierbei, wie bei allen Lipiden, um ein Emolliens. Emollientien machen die Haut weich und geschmeidig. Das flüssige Paraffin gehört, wie bereits bei der Nachtcreme besprochen, zu den Kohlenwasserstoff-Paraffinen und enthält viele verzweigte und zyklische Kohlenwasserstoffe [1].

Die Reinigungsmilch enthält zwei neutrale Emulgatoren aus der Gruppe der Macrogolfettalkoholether. Hierbei handelt es sich um Polyethylenglykol-(PEG-)Ether des Cetylstearylalkohols. Dieser Alkohol ist ein Gemisch aus dem C16-Cetylalkohol und dem C18-Stearylalkohol. Die Zahlen nach dem Bindestrich bei Cetareth-6 (Cremophor A6®) und Cetareth-25 (Cremophor A25®) geben jeweils die unterschiedliche Anzahl von Molen polymerisierten Ethylenoxids an. Macrogolfettalkoholether sind O/W-Emulgatoren, die sich in Wasser lösen. Somit wird die äußere Phase der Emulsion die Wasserphase sein.

Neben der Funktion als Emulgatoren übernehmen die Polyethylenglykol-Ether auch eine gewisse reinigende Wirkung. Durch ihre Amphiphilie können sie den lipophilen Schmutz vom Gesicht ablösen. Daher kann man sie auch zur Gruppe der neutralen Tenside zählen, die eine milde und hautfreundliche Reinigung ermöglichen [1].

Der mehrwertige Alkohol Propylenglykol (INCI: PROPYLENE GLYCOL) dient hier wiederum als Humectant, um eine Austrocknung der Zubereitung zu verhindern [1].

6.1.4. Body Lotion

Bei der Body Lotion (Körpermilch) handelt es sich um eine eher dünnflüssigere Formulierung, um ein leichtes Verteilen und schnelles Einziehen zu ermöglichen. Die Zubereitung kann nach dem Duschen mit kreisenden Bewegungen auf den gesamten Körper aufgetragen werden. Durch die in der lipophilen Phase enthaltenen Komponenten, wie zum Beispiel das Sesamöl, verhindert die Bodylotion ein Austrocknen der Haut. Neben dem Sesamöl ist in der Modell-Körpermilch noch ein Emulgator, Octansäurecetylstearylester, Stearylheptanoat und ein Konservierungsmittel enthalten. Die hydrophile Phase besteht hauptsächlich aus Wasser, Propylenglykol und einem weiteren Konservierungsmittel.

Die Bodylotion enthält die bereits bei der Tagescreme erwähnten Lipidkomponenten PCL-solid und PCL-liquid. Das PCL-solid besteht aus langkettigen Fettsäureestern wie dem Ester aus Heptansäure und Stearylalkohol (INCI: STEARYL HEPTANOATE) und bildet einen nicht fettenden Film auf der Haut. Das PCL-liquid enthält verzweigte Fettsäureester wie der Ester aus Octansäure und Cetylstearylalkohol (INCI: CETEARYL OCTANOATE). Durch diese Komponente weist die Bodylotion ein hohes Spreitvermögen auf [1].

Das enthaltene Sesamöl (INCI: SESAMUM INDICUM) hat, wie alle Lipidkomponenten, eine pflegende und weichmachende Wirkung auf die Haut und gehört somit auch zur Gruppe der Emollientien. Ein großer Vorteil pflanzlicher Öle ist, dass diese sehr viele mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthalten. Eine dieser Fettsäuren ist die essenzielle Linolsäure. Da unser Körper nicht in der Lage ist diese selbst herzustellen, sind wir auf eine äußere Zufuhr essenzieller Fettsäuren angewiesen. Ein Mangel würde zu einer gestörten Barrierefunktion der Haut führen und somit zu einem erhöhten Wasserverlust.

Ein Nachteil von Sesamöl ist jedoch, dass es eine gewisse komedogene Wirkung besitzt und dadurch die Entstehung von Mitessern begünstigen kann. Daher sollten vor allem Personen, die eine unreine Haut oder Akne haben, die Anwendung vermeiden [1].

Weiteres wird ein neutraler O/W-Emulgator eingearbeitet, den wir bereits bei der Reinigungsmilch kennengelernt haben. Und zwar handelt es sich um das Cetareth-6 (Cremophor A-6[®]), ein PEG-(Polyethylenglykol-)Ether des Cetylstearylalkohols [1]. Zur Konservierung der Formulierung ist eine fertige Mischung verschiedener Parabene (Uniphen P-23[®]) enthalten: 2-Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Butylparaben, Propylparaben und Isobutylparaben. Jedoch wurde in Tierversuchen eine endokrine Wirksamkeit bestimmter Parabene nachgewiesen. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) schätzt die Verwendung von Methyl- und Ethylparaben in einer Konzentration von bis zu 0,4% als sicher ein. Die langkettigen Butyl- und Propylparabene sollten auf 0,19% beschränkt werden, da hier die Datenlage in Bezug auf die Aufnahme durch die Haut noch unzureichend ist. Auf die

Verwendung von Isobutylparaben sollte verzichtet werden, weil nur sehr begrenzte Daten für die Bewertung des gesundheitlichen Risikos vorliegen [45].

Ein weiterer Konservierungsstoff, der aber in die hydrophile Phase eingearbeitet wird, ist das Imidazolidinyl-Harnstoff (Unicide U-13[®]), ein Formaldehydabspalter, den wir bereits bei der Tagescreme näher besprochen haben.

6.1.5. Gesichtswasser

Auf dem Markt werden Gesichtswässer in Form von wässrigen oder wässrig-alkoholischen Lösungen angeboten. Besonders zur Pflege unreiner und zu Akne neigender Haut eignen sich die alkoholhaltigen Präparate besser, da bei diesen eine desinfizierende Wirkung hinzukommt. In der Regel wird das Gesichtswasser nach der Reinigung des Gesichts mit Hilfe eines Wattebauschs aufgetragen. Dadurch können eventuelle Reste des Reinigungsmittels entfernt werden. Außerdem wird der pH-Wert der Haut wiederhergestellt.

Bei dem im Folgenden besprochenen Modell- Gesichtswasser handelt es sich um eine wässrig-alkoholische Lösung aus Milchsäure, einem flüssigen Feuchthaltefaktor, einer Sorbitlösung und Hamameliswasser.

Die Milchsäure (INCI: LACTIC ACID) hat ein breites Spektrum an Funktionen. Einerseits ist sie im flüssigen Feuchthaltefaktor Hydroviton 24[®], den wir bereits bei der Nachtcreme näher besprochen haben, enthalten. Als NMF (Natural Moisturizing Factor) kann Milchsäure in die Epidermis eindringen und somit den Feuchtigkeitsgehalt der Hornhaut nachhaltig erhöhen. Ein ausreichender Wassergehalt der Haut ist Voraussetzung, um die natürliche Barrierefunktion aufrecht erhalten zu können [1].

Außerdem handelt es sich bei der Milchsäure um eine α -Hydroxysäure. Diese Gruppe von Säuren sind in Pflanzen oder Früchten enthalten und werden daher auch als Fruchtsäuren bezeichnet. Weitere Vertreter sind zum Beispiel die Glycolsäure, die Apfelsäure und die Weinsäure. Neben der schon erwähnten feuchtigkeitserhöhenden Wirkung haben diese Säuren weitere Effekte: Sie können die Hornschicht auflockern und dadurch zu einer leichteren Entfernung alter Hornschüppchen beitragen. Durch die Keratolyse können verhornte Follikelöffnungen

geöffnet werden und es kann zu einem besseren Talgabfluss kommen. Damit kann man eine Verfeinerung der Poren und somit ein glatteres und ebenmäßigeres Hautbild erzielen [1].

Zu guter Letzt dient die Milchsäure in Kosmetika auch als Puffersubstanz. Diese stabilisieren den pH-Wert der Zubereitung, um große Abweichungen durch externe Einflüsse zu verhindern. Optimale pH-Werte von Pflegeprodukten liegen, wie der hauteigene pH-Wert, im sauren Bereich. Dadurch kann eine gute Hautverträglichkeit gewährleistet werden [1].

Das zugesetzte Hamameliswasser (INCI: HAMAMELIS VIRGINIANA) hat eine adstringierende und antiphlogistische Wirkung. Die Gewinnung erfolgt mittels Wasserdampfdestillation aus den Blättern oder der Rinde der virginischen Zaubernuss. Der Hauptbestandteil des Wassers ist somit das ätherische Öl und enthält somit weniger Gerbstoffe als andere Auszüge aus der Arzneidroge [1].

Die 70%ige Sorbit-Lösung (Karion F flüssig[®]) dient hier als Feuchthaltemittel. Das Sorbit ist ein Zuckeralkohol und gehört wegen seines ausgeprägten hygroskopischen Charakters zur Gruppe der Humectants [1].

Da es sich beim Gesichtswasser um eine alkoholisch-wässrige Lösung handelt, ist natürlich Ethanol enthalten. Dieses hat aber neben seiner Funktion als Lösungsmittel auch noch eine antiseptische Wirkung. Dadurch kann es Keime, die sich auf der Hautoberfläche befinden, abtöten und eignet sich daher zur Anwendung auf fettiger, unreiner Haut [1].

6.1.6. Rasierwasser

Aftershave-Produkte sollen die Haut nach der Rasur desinfizieren, beruhigen und regenerieren. Dabei gibt es am Markt eine Vielzahl an Produkten, die auf verschiedene Hauttypen abgestimmt sind. Rasierwässer enthalten hauptsächlich Wasser und Alkohol und sind somit eher für unempfindliche Hauttypen geeignet. Bei trockener und empfindlicher Haut sollte man eher zu Balsamen greifen, die nur einen geringen Alkoholgehalt aufweisen. Unser hergestelltes Modell-Rasierwasser enthält neben den Hauptkomponenten Wasser und Alkohol auch noch das Feuchthaltemittel

Propylenglykol, einen Rückfetter, einen Emulgator, einen Gelbildner und eine reizlindernde Substanz.

Das enthaltene hydrierte und ethoxylierte Rizinusöl (INCI: PEG-40 HYDROGENATED CASTOR OIL) (Cremophor RH 40[®]) dient in der Formulierung als Emulgator und als Lösungsvermittler. Chemisch gesehen handelt es sich um Macrogolfettsäureester. Die Gewinnung des Rizinusöls (INCI: RICINUS COMMUNIS) erfolgt durch Kaltpressung der Samen des Wunderbaums. Die Hautkomponente des Öles ist die einfach ungesättigte Omega-9-Fettsäure Ricinolsäure. Häufig wird das Öl halbsynthetisch zu Emulgatoren, Tensiden und Lösungsvermittlern verarbeitet, wodurch die INCI-Bezeichnung dann die Silbe „Castor-“ erhält. Bei diesen ethoxylierten Fettsäuren des Rizinusöls handelt es sich um neutrale Emulgatoren, die sowohl O/W- als auch W/O-Emulsionen bilden können [1].

Das Neo-PCL wasserlöslich[®] ist eine Mischung eines PEG-(Polyethylenglykol-)Esters der 2-Ethylhexansäure (INCI: PEG-5 ETHYLHEXANOATE) und eines PEG-Ethers von 1-Tridecanol (INCI: TRIDECETH-9). Sie findet als Überfettungsmittel, auch Rückfetter genannt, Anwendung in verschiedenen kosmetischen Zubereitungen wie Bädern, Shampoos und Rasierwässern. Diese Stoffgruppe verhindert eine zu starke Entfettung und somit Austrocknung der Haut [1].

Das Polyvinylpyrrolidon (INCI: PVP) (Luviskol K30[®]) ist ein organisches synthetisches Polymer, das zur Gruppe der Gelbildner gehört. Die Synthese erfolgt durch Polymerisation des Vinylpyrrolidons. Da es sich hierbei um ein lineares Makromolekül handelt, ist eine Resorption ausgeschlossen. Somit ist das Polyvinylpyrrolidon eine für die Haut gut verträgliche und nicht toxische Substanz, die jedoch zur Gruppe des Mikroplastiks gezählt wird, da sie synthetisch hergestellt wird und nicht abbaubar ist. Gelbildner können aber nicht nur streichbare Gele ausbilden, sondern auch noch viele weitere Funktionen erfüllen: Als Filmbildner können sie nach der Anwendung einen schützenden Film auf der Haut hinterlassen oder als Emulsionsstabilisatoren verhindern sie eine Phasentrennung der Emulsion und stabilisieren somit die Zubereitung [1].

Da eine Rasur immer großen Stress für die Haut bedeutet, ist der Einsatz reizlindernder Wirkstoffe in Aftershave-Produkten, wie einem Rasierwasser, sinnvoll. Das bereits bei der Nachtcreme besprochene Allantoin (INCI: ALLANTOIN) hat nicht nur eine reizlindernde, sondern auch eine heilende Wirkung und eignet sich somit hervorragend um eine Regeneration der strapazierten Haut nach der Rasur zu fördern [1].

Da eine Desinfektion der Haut nach der Rasur von großer Bedeutung ist, um bakterielle Entzündungsprozesse zu vermeiden, enthalten Rasierwässer Ethanol (INCI: ALCOHOL). Alkohole haben aber auch einen austrocknenden Effekt und sollten somit eher nur bei fettiger und unempfindlicher Haut angewendet werden [1].

6.1.7. Deo-Roll-on

Am Markt gibt es eine breite Palette an Produkten, die einer Entstehung von Schweißgeruch entgegenwirken sollen. Jedoch funktionieren nicht alle nach demselben Prinzip, denn es gibt mehrere Möglichkeiten eine Geruchsentwicklung zu verhindern. Die sogenannten Antitranspirantien, zu denen die Aluminiumsalze gehören, hemmen die Bildung von Schweiß in den Schweißdrüsen. Weiters gibt es die Gruppe der Deodorantien oder Deodorierungsmittel, die die Schweißsekretion nicht verringern, sondern die Gerüche binden, überdecken oder sogar die Entstehung dieser hemmen. Für die Entstehung des Schweißgeruchs sind Bakterien auf der Hautoberfläche verantwortlich, weil sie die zunächst geruchslosen Schweißbestandteile in riechende Substanzen zersetzen. Somit können auch Antiseptika, die ein Bakterienwachstum verhindern, die Bildung von Schweißgeruch hemmen [1]. Das hergestellte Modell-Deo-Roll-on enthält eine antiseptische Substanz, einen Gelbildner und verdünnten Alkohol. Das fertige Produkt hat die Konsistenz eines dünnflüssigen Gels und kann mit Hilfe der Rollerkugel einfach in die Achselhöhlen aufgetragen werden.

Die wichtigste Rolle zur Verminderung des Schweißgeruchs übernimmt der enthaltene 2, 4, 4'- Trichlor-2'-hydroxydiphenylether (INCI: TRICLOSAN) (Irgasan DP 300®). Als Antiseptikum hat es eine bakteriostatische Wirkung und kann somit das Wachstum von Bakterien auf der Hautoberfläche hemmen. Da es sich beim

Schweißdrüsensekret um eine wässrige, geruchslose Salzlösung handelt, kommt es erst durch eine bakterielle Zersetzung der einzelnen Schweißbestandteile zu einer Geruchsbildung. Durch eine Reduktion der vorhandenen Bakterien können keine flüchtigen, riechenden Metaboliten mehr entstehen. Da hier lediglich die Bildung dieser Duftstoffe verhindert wird und keine Hemmung der Schweißsekretion stattfindet, gehört das Triclosan auch zur Gruppe der Deodorierungsmittel [1].

Beim Roll-on handelt es sich um ein dünnflüssiges Gel. Zur Herstellung wird hierzu in ein fertiges Konzentrat aus Polyacrylsäure (INCI: CARBOMER), Tris(hydroxymethyl)aminomethan (INCI: TROMETAMOL) und Wasser portionsweise verdünnter Ethanol eingearbeitet. Die Polyacrylsäure ist ein organischer, synthetischer Gelbildner und wird durch Polymerisation von Acrylsäure hergestellt. Somit gehört es genauso wie das beim Rasierwasser besprochene Polyvinylpyrrolidon zur Gruppe des Mikroplastiks. Das Tris(hydroxymethyl)aminomethan fungiert in dieser fertigen Mischung als pH-Regulierungsmittel, weil die Bildung des Gels ein pH-abhängiger Prozess ist [1].

7. Literaturverzeichnis

- [1] Ellsäßer, S., *Körperpflegekunde und Kosmetik*, Springer Verlag (2020)
- [2] Heymann, E., *Haut, Haar und Kosmetik*, Hans Huber Verlag (2003)
- [3] Raab, W., Kindl, U., *Pflegekosmetik-Ein Leitfaden*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (2012)
- [4] Van Smeden, J., Bouwstra, J.A., Stratum Corneum Lipids: Their Role for the Skin Barrier Function in Healthy Subjects and Atopic Dermatitis Patients, *Current Problems in Dermatology* 49 (2016), pp. 8–26, 2016, doi: 10.1159/000441540.
- [5] Ananthapadmanabhan, K.P., Moore, D.J., Subramanyan, K., Misra, M., Meyer, F., Cleansing without compromise: The impact of cleansers on the skin barrier and the technology of mild cleansing, *Dermatol. Ther.* 17 (2004) pp. 16–25, doi: 10.1111/j.1396-0296.2004.04s1002.x.
- [6] De Jongh, C.M., Jakasa, I., Verberk, M.M., Kezic, S., Variation in barrier impairment and inflammation of human skin as determined by sodium lauryl sulphate penetration rate, *Br. J. Dermatol.* 154 (2006) pp. 651–657, doi: 10.1111/j.1365-2133.2005.06989.x.
- [7] Di Nardo, A., Conti, A., Seidenari, S., In vivo assessment of n-alkyl-sulfate-induced skin irritation by means of non-invasive methods, *Skin Research and Technology* 4 (1998) pp. 192–195, doi: 10.1111/j.1600-0846.1998.tb00109.x
- [8] Vater, C., Apanovic, A., Riethmüller, C., Changes in skin barrier function after repeated exposition to phospholipid-based surfactants and sodium dodecyl sulfate in vivo and corneocyte surface analysis by atomic force microscopy, *Pharmaceutics* 13 (2021) doi: 10.3390/pharmaceutics13040436.
- [9] Bender, S., *Körperpflegekunde*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (2014)
- [10] Wertz, P.W., Stratum corneum lipids and water, *Exog. Dermatology* 3 (2004) pp. 53–56, doi: 10.1159/000086155.
- [11] Benson, H.A.E., Skin Structure, Function, and Permeation, *Transdermal Top. Drug Deliv. Princ. Pract.* 1 (2012) pp. 1–22, doi: 10.1002/9781118140505.ch1.
- [12] Khiao In, M., Richardson, K.C., Loewa, A., Hedtrich, S., Kaessmeyer, S., Plendl, J., Histological and functional comparisons of four anatomical regions of porcine skin with human abdominal skin, *J. Vet. Med. Ser. C Anat. Histol. Embryol.* 48 (2019) pp. 207–217, doi: 10.1111/ahe.12425.

- [13] Dragicevic, N., Maibach, H.I., *Percutaneous Penetration Enhancers Drug Penetration Into/Through the Skin*, Springer Verlag (2017)
- [14] Jacobi, U., Kaiser, M., Toll, R., Porcine ear skin: An in vitro model for human skin, *Ski. Res. Technol.* 13 (2007) pp. 19–24, doi: 10.1111/j.1600-0846.2006.00179.x.
- [15] Sekkat, N., Kalia, Y.N., Guy, R.H., Biophysical study of porcine ear skin in vitro and its comparison to human skin in vivo, *J. Pharm. Sci.* 91 (2002) pp. 2376–2381, doi: 10.1002/jps.10220.
- [16] Verdier-Sévrain, S., Bonté, F., Skin hydration: A review on its molecular mechanisms, *J. Cosmet. Dermatol.* 6 (2007) pp. 75–82, doi: 10.1111/j.1473-2165.2007.00300.x.
- [17] Kwan, P., Sills, G.J., Brodie, M.J., Understanding the Role of NMF in Skin Hydration, *Pract. Dermatology* 90 (2001) pp. 21–34, doi: 10.1016/s0163-7258(01)00122-x.
- [18] Alexander, H., Brown, S., Danby, S., Flohr, C., Research Techniques Made Simple: Transepidermal Water Loss Measurement as a Research Tool, *J. Invest. Dermatol.* 138 (2018) pp. 2295-2300, doi: 10.1016/j.jid.2018.09.001.
- [19] Ali, S.M., Yosipovitch, G., Skin pH: From basic science to basic skin care, *Acta Derm. Venereol.* 93 (2013) pp. 261–267, doi: 10.2340/00015555-1531.
- [20] Riethmüller, C., Assessing the skin barrier via corneocyte morphometry“, *Exp. Dermatol.* 27 (2018) pp. 923–930, doi: 10.1111/exd.13741.
- [21] Dawber, R.P.R., Marks, R., Swift, J.A., Scanning electron microscopy of the stratum corneum, *Br. J. Derm.* 86 (1972) pp. 272-281, doi: 10.1111/j.1365-2133.1972.tb02228.x
- [22] Gorzelanny, C., Goerge, T., Schnaeker, E.M., Thomas, K., Luger, T.A., Schneider, S.W., Atomic force microscopy as an innovative tool for nanoanalysis of native stratum corneum, *Exp. Dermatol.* 15 (2006) pp. 387–391, doi: 10.1111/j.0906-6705.2006.00424.x.
- [23] Franz, J., Nanoscale alterations of corneocytes indicate skin disease, *Ski. Res. Technol.* 22 (2016) pp. 174–180, doi: 10.1111/srt.12247.
- [24] Bauer, K.H., Frömming, K.H., Führer, C., *Pharmazeutische Technologie*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (2017)
- [25] Vater, C., Cytotoxicity of lecithin-based nanoemulsions on human skin cells and ex vivo skin permeation: Comparison to conventional surfactant types, *Int.*

- J. Pharm.* 566 (2019) pp. 383–390, doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.05.078.
- [26] <https://go.drugbank.com/drugs/DB00815> abgerufen am 31.05.2021
- [27] Klang, V., Valenta, C., Lecithin-based nanoemulsions, *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 21 (2011) pp. 55–76, doi: 10.1016/S1773-2247(11)50006-1.
- [28] Müller-Esterl, W., *Biochemie*, Spektrum-Akademischer Verlag (2011)
- [29] <https://www.bioxsystems.com/wp-content/uploads/Biox-A4-Folding-Brochure-Rev08b.pdf> abgerufen am 04.08.2021
- [30] Fluhr, J., Uhl, C., Hautphysiologische Messungen in der täglichen Praxis: Corneometrie und Sebumetrie bei physiologischen und krankhaften Hautveränderungen, in: *Selbstzahlerleistungen der Dermatologie und der ästhetischen Medizin*, pp. 321–326, Kardorff, B., Springer Verlag (2005)
- [31] <https://www.courage-khazaka.de/de/wissenschaftliche-produkte/alle/sondensysteme/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/72-corneometer-d> abgerufen am 04.08.2021
- [32] Logger, J.G.M., Münchhoff, C.U., Olydam, J.I., Peppelman, M., Van Erp, P.E.J., Anatomical site variation of water content in human skin measured by the Epsilon: A pilot study, *Ski. Res. Technol.* 25 (2019) pp. 333–338, doi: 10.1111/srt.12653.
- [33] <https://www.bioxsystems.com/wp-content/uploads/ISBS-2012-Workshop-Biox-Epsilon.pdf> abgerufen am 05.08.2021
- [34] Wolf, M., Klang, V., Stojcic, T., Fuchs, C., Wolzt, M., Valenta, C., NLC versus nanoemulsions: Effect on physiological skin parameters during regular in vivo application and impact on drug penetration, *Int. J. Pharm.* 549 (2018) pp. 343–351, doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.08.007.
- [35] <https://www.courage-khazaka.de/de/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/96-ph-meter-d> abgerufen am 05.08.2021
- [36] Caspers, P.J., Lucassen, G.W., Wolthuis, R., Bruining, H.A., Puppels, G.J., In vitro and in vivo raman spectroscopy of human skin, *Biospectroscopy* 4 (1998) pp. 31-39, doi: 10.1002/(sici)1520-6343(1998)4:5+<s31::aid-bspy4>3.0.co;2-m.
- [37] Lambert, J.B., Gronert, S., Shurvell, H.F., Lightner, D.A., *Spektroskopie - Strukturaufklärung in der Organischen Chemie*, Pearson (2012)
- [38] Caspers, P.J., Lucassen, G.W., Carter, E.A., Bruining, H.A., Puppels, G.J., In vivo confocal raman microspectroscopy of the skin: Noninvasive determination of molecular concentration profiles, *J. Invest. Dermatol.* 116 (2001) pp. 434–

- 442, doi: 10.1046/j.1523-1747.2001.01258.x.
- [39] R  ther, L., Kezic, S., Riethmüller, C., Corneocyte Nanotexture as Biomarker for Individual Susceptibility to Skin Irritants, *Ann. Work Expo. Heal.* 65 (2021) pp. 201–205, doi: 10.1093/annweh/wxaa085.
 - [40] Rogiers, V., Group, E., EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 14 (2001) pp. 117–128, doi: 10.1159/000056341.
 - [41] Lod  n, M., Maibach, H.I., Treatment of dry skin syndrome: The art and science of moisturizers, Springer Verlag (2012)
 - [42] Hoppel, M., Ettl, H., Holper, E., Valenta, C., Influence of the composition of monoacyl phosphatidylcholine based microemulsions on the dermal delivery of flufenamic acid, *Int. J. Pharm.* 475 (2014) pp. 156–162, doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.08.058.
 - [43] Behr, A., Seidensticker, T., *Einführung in die Chemie nachwachsender Rohstoffe*, Springer Verlag (2018)
 - [44] Ammon, H.P.T., Schubert-Zsilavecz, M., *Hunnius-Pharmazeutisches Wörterbuch*, De Gruyter (2014)
 - [45] https://www.bfr.bund.de/cm/343/verwendung_von_parabenen_in_kosmetischen_mitteln.pdf abgerufen am 05.08.2021
 - [46] Van Ravenzwaay, B., Leibold, E., A comparison between in vitro rat and human and in vivo rat skin absorption studies, *Human and Experimental Toxicology* 23 (2004) pp.421-430, doi: 10.1191/0960327104ht471oa

Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber*innen der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.

8. Abstract

8.1. Deutsch

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde eine *in-vivo* Studie durchgeführt, um die Effekte verschiedener Tensidlösungen auf die Hautbarriere zu untersuchen. Dabei wurden die zu untersuchenden Substanzen über einen Zeitraum von vier Tagen jeweils zweimal täglich am nicht-dominanten Unterarm der ProbandInnen aufgetragen. Um den Einfluss auf die Funktion der Hautbarriere festzustellen, wurden mittels nicht-invasiver Messtechniken verschiedene Hautparameter bestimmt. Mit den in der Derma Unit® SSC3 enthaltenen Messsonden konnte der pH-Wert und der Hautfeuchtigkeitsgehalt vermessen werden. Letzteres wurde auch mit dem Fingerprintsensor Epsilon® bestimmt. Hier zeigten v.a. das SDS, aber auch das Lecithin LPC80 negative Effekte, indem sie zu einer erniedrigten Hydratation des SC führten. Darüber hinaus verursachte das SDS eine enorme Erhöhung des transepidermalen Wasserverlusts, der mittels Aquaflux® bestimmt wurde.

Weiters wurden die NMF-, Urea- und Wasserkonzentration des Stratum Corneum anhand konfokaler Raman-Spektroskopie untersucht. Auch hier zeigten SDS und LPC80 signifikant erniedrigte NMF-Level nach vier Behandlungstagen an. Zu einem signifikant erniedrigten Urea-Gehalt führte jedoch nur das LPC80. Die Messung der Wasserkonzentration zeigte im Vergleich zu den Messungen der Hauthydration mittels Messsonden widersprüchliche Ergebnisse, da die mit SDS-behandelte Stellen einen höheren Wassergehalt an der Hautoberfläche aufwiesen. Dies könnte jedoch als Folge einer Entzündungsreaktion der Haut betrachtet werden.

Am letzten Tag der Studie wurden den TeilnehmerInnen Korneozyten mittels Tape Stripping-Verfahren entnommen, die im Anschluss anhand der Rasterkraftmikroskopie auf eine Neubildung von CNOs untersucht wurden. Auch hier konnte ein signifikant höherer DTI-Wert bei den mit SDS-behandelten Hautstellen festgestellt werden.

Zusammenfassend stellte sich das Lecithin S75 als das hautfreundlichste Tensid heraus. Die Behandlung der Haut mit dem konventionellen Phosphatidylcholin führte im Gegensatz zum anionischen Tensid SDS oder zum Monoacyl-Phosphatidylcholin zu einer deutlich besser aufrecht erhaltenen Hautbarriere.

8.2. Englisch

As part of this diploma thesis, an *in-vivo* study was carried out to investigate the effects of different surfactant solutions on the skin barrier. The substances of interest were applied twice a day to the non-dominant forearm of the test subjects over a period of four days. In order to determine the influence on the function of the skin barrier, various skin parameters were determined using non-invasive measurement techniques. With the measuring probes contained in the Derma Unit® SSC3, the pH value and the skin moisture content could be measured. The skin moisture content was also determined with the Epsilon® fingerprint sensor. Above all, SDS, but also lecithin LPC80, showed negative effects that led to a reduced hydration of the stratum corneum. In addition, the SDS caused an enormous increase in transepidermal water loss, which was determined by using an Aquaflux® probe.

Furthermore, the NMF, urea and water concentrations of the stratum corneum were examined using confocal Raman spectroscopy. Here, too, SDS and LPC80 showed significantly reduced NMF levels after four days of treatment. However, only LPC80 led to a significantly reduced urea content. The measurement of the water concentration shows contradicting results compared to the measurements of the skin hydration using measuring probes, since the areas treated with SDS had a higher water content on the skin surface. However, this could be viewed as the result of an inflammatory reaction of the skin.

On the last day of the study, corneocytes were removed from the participants using tape stripping, which were then examined for the formation of new CNOs using atomic force microscopy. Here, too, a significantly higher DTI value was found in the skin areas treated with SDS.

In summary, lecithin S75 emerged as the most skin-friendly surfactant. Treatment of the skin with the conventional phosphatidylcholine resulted in a significantly better preserved skin barrier, in contrast to anionic SDS or monoacyl phosphatidylcholine.