

## 7 Zusammenfassung / Summary

Zunächst wurden Methoden zur direkten Erfassung von cutan gebildetem NO und CO<sub>2</sub> *in vivo* entwickelt. Für NO ergaben sich zwei Arten der Probennahme, die Steady-State- und die Trap-Technik. Im Falle der Steady-State-Technik wurde der gesamte Unterarm über einen Zeitraum von 5 min kontinuierlich vermessen, während bei der Trap-Technik das von der Haut diffundierende NO über einer Fläche von 12,5 cm<sup>2</sup> 20 min lang gesammelt wurde. Zur Messung der CO<sub>2</sub>-Emission bot sich die Steady-State-Technik an, da die Haut so viel CO<sub>2</sub> freisetzt, dass auch auf einem kleinen Areal kontinuierlich gemessen werden konnte. Es konnte gezeigt werden, dass diese Methoden reproduzierbare Ergebnisse lieferten.

Die entwickelten Methoden wurden angewendet, indem potentielle NO- bzw. CO<sub>2</sub>-Einflussgrößen untersucht wurden. Hierbei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Es gelang, die exogene NO-Synthese zu beeinflussen und damit das Modell der NO-Produktion auf der Hautoberfläche zu bestätigen, indem nachgewiesen wurde, dass verstärkte Schweißsekretion, topische Applikation von Nitrit sowie Erniedrigung des Haut-pH-Wertes zu einem Anstieg der NO-Konzentration führen, während Desinfektion der Hautoberfläche eine Reduktion der NO-Werte zur Folge hatte. Die Beeinflussung der endogenen, NOS-katalysierten NO-Synthese aus L-Arginin erwies sich dagegen als weitaus schwieriger, denn weder L-Arginin noch der NOS-Inhibitor L-NA veränderten nach topischer Anwendung die NO-Freisetzung der Haut, und auch UV-Bestrahlung mit MED bewirkte keine messbare Erhöhung der NO-Werte. Lediglich Durchblutungsförderung mittels Nicotinsäureester führte zu einer Steigerung der NO-Emission. Physikalische Einflussfaktoren wie Temperaturerhöhung und Schädigung der Hautbarriere hatten ebenso eine Zunahme der NO-Freisetzung zur Folge wie chemische Entzündungsinduktion mittels SDS oder Wasserstoffperoxid. Ferner stellte sich heraus, dass die NO-Emission der Haut sowohl im Laufe des Tages als auch mit zunehmendem Lebensalter sinkt. Psoriatiker wiesen höhere NO-Werte auf als Hautgesunde, was vermutlich auf iNOS-Ausschüttung zurückzuführen ist. Der Akuteffekt des Rauchens äußerte sich in einer Abnahme der NO-Konzentration auf der Haut, während sich als chronischer Effekt erhöhte NO-Werte ergaben. Schließlich konnte gezeigt werden, dass auf die Haut

aufgebrachte Antioxidantien langfristig zu einem Anstieg der NO-Emission der Haut führen, da sie NO vor Reaktion mit Superoxid schützen.

Auch die CO<sub>2</sub>-Emission der Haut war durch physikalisch-chemische Faktoren beeinflussbar. So bewirkten Temperaturerhöhung, Hautbefeuchtung und Schädigung der Hautbarriere erwartungsgemäß eine Zunahme, Erhöhung des Haut-pH-Wertes dagegen eine Abnahme der CO<sub>2</sub>-Werte. Außerdem zeigte sich anhand von UV-Bestrahlung mit MED sowie topischer Applikation von Nicotinat, dass Hautrötungen grundsätzlich mit einer Reduktion der CO<sub>2</sub>-Freisetzung verbunden sind. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die CO<sub>2</sub>-Emission der Haut mit zunehmendem Lebensalter abnimmt und dass Schwarzafrikaner höhere CO<sub>2</sub>-Werte aufweisen als Kaukasier. Auf die Haut aufgebrachte Öle führten zu einer Abnahme der CO<sub>2</sub>-Freisetzung, während Coenzym Q10 – zumindest bei älteren Probanden – eher einen Anstieg der CO<sub>2</sub>-Werte bewirkte. Topische Applikation von Vitamin C hatte eine Reduktion der CO<sub>2</sub>-Emission der Haut zur Folge. Ursache hierfür ist wahrscheinlich, dass Vitamin C die NO-Konzentration in der Haut erhöht und NO wiederum die Zellatmung hemmt.

Methods for the direct *in vivo* detection of NO and CO<sub>2</sub> formed by the skin were first developed. For NO, two types of sampling techniques were developed, the steady-state and the trap technique. With the steady-state technique the whole forearm was continuously measured over a period of 5 min, whereas with the trap technique the NO diffusing from the skin over a surface of 12.5 cm<sup>2</sup> was collected for 20 min. For measurement of CO<sub>2</sub> emission, the steady-state technique was the sampling method of choice because the skin releases so much CO<sub>2</sub> that it can be measured continuously even on a small area. It could be shown that these methods give reproducible results.

The methods developed were used to study potential NO and CO<sub>2</sub> influencing factors. The following results were obtained:

It was possible to influence exogenous NO synthesis and therefore to confirm the model for NO production on the skin surface by demonstrating that heavy sweating, topical application of nitrite and a decrease in the skin pH lead to an increase in the NO concentration, whereas disinfection of the skin surface results in a reduction of the NO values. Demonstrating the influence of endogenous NOS-catalyzed NO synthesis from L-arginine proved to be much more difficult, as neither L-arginine nor the NOS inhibitor L-NA changed the NO release by the skin after topical application. UV irradiation with the MED likewise led to no measurable increase in the NO values. Only the blood flow-enhancing nicotinate led to an increase in NO emission. Physical factors like a temperature increase and damage to the skin barrier also resulted in an increase in NO release as did chemically induced inflammation by SDS or hydrogen peroxide. Moreover, it became apparent that NO emission by the skin decreases in the course of a day as well as with increasing age. Psoriasis patients showed higher NO values than persons with healthy skin, which is probably attributable to iNOS release. The acute effect of smoking was manifested in a decrease in the NO concentration on the skin, whereas increased NO values proved to be the chronic effect. Finally, it could be shown that long-term application of antioxidants to the skin results in an increase in NO emission by the skin, because this protects NO against reaction with superoxide.

The CO<sub>2</sub> emission of the skin was influenced by physicochemical factors as well. For instance, increasing the temperature, skin moisturization and damage to the skin barrier led to an increase, as would be expected, but increasing the skin pH produced a decrease in the CO<sub>2</sub> value. In addition, it could be shown on the basis of UV irradiation with the MED and topical application of nicotinate that reddening of the skin is always associated with a reduction in CO<sub>2</sub> release. Other studies showed that the CO<sub>2</sub> emission of the skin decreases with increasing age and that black Africans have higher CO<sub>2</sub> values than Caucasians. Oils applied to the skin lead to a decrease in CO<sub>2</sub> release, whereas coenzyme Q10 – at least in older subjects – tends to produce an increase in the CO<sub>2</sub> values. Topical application of vitamin C resulted in a reduction of CO<sub>2</sub> emission by the skin. The probable cause is that vitamin C increases the NO concentration in the skin and NO in turn inhibits cell respiration.