

# **Rheologische in vivo-Untersuchung an der menschlichen Haut mit nicht-invasiven Verfahren**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereiches Chemie  
der Universität Hamburg

aus dem  
Institut für Gewerblich Technische Wissenschaften  
- Fachrichtung Körperpflege -  
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Sabine Gütt (geb. Lemke)

Hamburg 1998

Die vorliegende Arbeit wurde an der Universität Hamburg in der Zeit von März 1994 bis Dezember 1998 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Rimpler und Frau Prof. Dr. I. Mühlhauser angefertigt. Die praktischen Studien wurden im Institut der Biomedizinischen Technik der Medizinischen Hochschule Hannover, in der Dermatologischen Haut- und Allergieklinik Borkum und im Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung BioSkin in Hamburg-Poppenbüttel durchgeführt.

1. Gutachter: Prof. Dr. I. Mühlhauser
2. Gutachter: Prof. Dr. Dr. H. Steinhart
3. Gutachter: Prof. Dr. V. Steinkraus

Datum der mündlichen Prüfung: 6. Oktober 1999

## Danksagung

Ich danke allen Mitarbeitern der Abteilung Biomedizinische Technik der Medizinischen Hochschule Hannover für Ihre freundliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt der Firma BioSkin in Hamburg. Für die ausgezeichnete fachliche Beratung, die persönliche Betreuung und das stets in mich gesetzte Vertrauen danke ich Herrn Dipl. Ing. S. Bielfeldt, Herrn Dr. J. Gaßmüller und Frau Dr. B. Hughes. Bei allen weiteren Mitarbeitern möchte ich mich für die angenehme und freundliche Arbeitsatmosphäre, die herzliche Aufnahme in den Arbeitskreis und die freundliche Zusammenarbeit bedanken. Darüber hinaus gebührt ein besonderer Dank Herrn Th. Frase, der die Planung und Auswertung der Biostatistik unterstützte.

Ein großer Dank gebührt Herrn Dr. J. Ennen und Herrn S. Jaspers aus der Abteilung Experimentelle Dermatologie Beiersdorf AG in Hamburg. Ihr stetes Interesse an dem Projekt, ihre Ratschläge und Anregungen haben entscheidend zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen. Ausdrücklich möchte ich mich für die fachliche Beratung zu geräteimmanenten Fragen bedanken.

Darüber hinaus danke ich Herrn Dr. W. Umbach von der Firma Henkel KGaA in Düsseldorf für die Unterstützung bei der Literaturrecherche, den Unternehmen Courage und Khazaka electronic GmbH in Köln für die freundliche Leihgabe ihrer Hautmeßgeräte sowie IONTO COMED GmbH in Eggenstein für ihre finanzielle Unterstützung. Herzlichen Dank sei auch Herrn J. Gareiß von der Firma Nattermann Phospholipid GmbH in Köln ausgesprochen, dessen Anregungen in den gemeinsamen Diskussionen über die Entwicklungen in der Liposomentechnologie sehr hilfreich waren.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Herrn Dipl. Ing. K. Schwabe und Herrn Dipl. Ing. J. Pölzl bedanken, die mir bei der Produktion der kosmetischen Testpräparate zur Seite standen. Ein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Chr. Rimpler für die Überlassung des Kosmetiklabors sowie der Produktionsanlage des Kosmetik Kontors in Berghof.

Abschließend gilt ein besonderer Dank Frau Prof. Dr. I. Mühlhauser und Herrn Prof. M. Rimpler für die ausgezeichnete Betreuung der Dissertation. Daneben danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart und Prof. Dr. V. Steinkraus für die Begutachtung der Arbeit.

## ABSTRACT

Changes in the regulatory guidelines for cosmetics as well as consumer interest have led to increased efforts in assessment of product efficacy and claim substantiation. Within the framework of the development of modern emulsion systems with improved percutaneous absorption, it is important to be able to detect even slight alterations in skin conditions. This requires a selection of suitable measurement procedures with high reproducibility. This dissertation focuses on the evaluation of methods for the noninvasive measurement of biomechanical skin parameters, particularly in conjunction with application of cosmetic skin care products.

In the first series of studies a new device for in vivo measurement of torsion (MEdyS) was evaluated by assessing the reproducibility, validity and measurement range. In a study with 3 volunteers (1 male, 1 female, 1 patient with systemic sclerosis) intra- and interindividual differences were assessed by making repeated measurements (5-10) on various regions of the body. In a second study interindividual differences were evaluated on healthy skin in 116 volunteers with constitutional skin alterations (seborrhoea, seborrhoea, normal and aged skin; group 1) and lesional skin in 63 patients with skin diseases (psoriasis, atopic dermatitis, acne vulgaris, polymorphic light eruption; group 2). In group 1 test fields were located on the forehead and the right volar forearm. In group 2 multiple lesions on various body regions were assessed. In both groups three measurements were performed per test field. Due to the high variability of the results in both studies it was not possible to determine viscoelastic skin properties with sufficient accuracy. On the basis of the results the prototype MEdyS does not appear suitable for discrimination of skin characteristics associated with different skin conditions. Therefore this device was not included in the further testing of skin care products.

Important criterias for skin care products are their influence on skin hydration and viscoelastic properties. In the main study of this dissertation the influence of two skin care products (liposome cream vs. vehicle) on these properties and stratum corneum thickness were investigated. Validated devices for measurement of skin moisture (Corneometer CM 825<sup>®</sup>) and viscoelasticity (Cutometer SEM 575<sup>®</sup>) were tested as well as a prototype designed for measurement of skin moisture and stratum corneum thickness (IONTO HANA). In addition skin structure was assessed by using a new device for Photodocumentation (Beauty scope).

Topical application of liposomes has been shown to improve the water binding capacity and hydration of the stratum corneum. The therapeutic use of phospholipids by every form of dry skin, including aged skin, is based on this pharmacodynamic effect. The test product, an O/W emulsion containing loaded liposomes, was tested in a double-blind, placebo-controlled, randomized study with intraindividual comparison of treatment effects. Fourtyeight women aged 50 years and older with dry but otherwise healthy skin in the treatment areas (volar forearm) participated in the study. Treatment with the test product and vehicle was performed twice daily at home over a 3 week period. Measurements of skin moisture, stratum corneum thickness and viscoelasticity as well as photodocumentation were performed at

baseline (day 1) and following a 3 weeks treatment. A significant increase in the hydration of the stratum corneum (approximately 20%;  $p = 0,000$ ) was measured for both products using the validated corneometer for measurement of skin moisture. No statistical differences were observed between the test fields treated with liposomes and the liposome-free vehicle ( $p = 0,1392$ ). Even though the stratum corneum thickness values measured with the prototype IONTO HANA were plausible and were negatively correlated with the values measured with the corneometer ( $r = -0,7282$ ;  $p = 0,000$ ), plausible values were not obtained for skin moisture. However, since the values are recorded as arbitrary units the results are not useful for the determination of absolute thickness of stratum corneum.

No significant influence on elastic and viscoelastic parameters (UA/UF, UR/UF, UR/UE, UV/UE,  $UV_{(5)}/UE_{(5)}$  / X/UF) were detected as a result of treatment. Only a significant reduction in the viscoelastic parameter ( $X_{(5)}/UF_{(5)}$ ) was detected for both products (test product: -6,4%,  $p = 0,023$ ; vehicle: -8,1%,  $p = 0,047$ ). This corresponds with the internal softness of the skin, which is probably related to easier displacement of the corneocytes. Using a small diameter probe (2 mm) and a negative pressure of 200 mbar the suction method was not suitable for objective assessment of cosmetic efficacy. Minor alterations in skin conditions can not be sufficiently detected. In conclusion the present study shows that other biomechanical devices are needed for monitoring the effect of moisturizers on skin viscoelasticity.

An interpretation of in vivo tests can be difficult, as no analytical model has been developed that can relate measurements from these tests directly to basic skin properties. Subtle differences between methods make a comparison difficult. However, the alternative to bioengineering methods is the hand and eye, which provide subjective (and often biased) nonlinear, and notoriously variable data between individuals. Even experienced clinicians have difficulties with judging the severity of involvement, the changes due to treatment or progress of disease and the efficacy of competing treatments. Objective, numerical information on the effects of different active compounds and their formulations is essential if new preparations are to be optimized. Measurement of biomechanical properties is one aspect of this important field of endeavor.

## Abkürzungsverzeichnis

$\alpha$	Deformationswinkel
A	Querschnitt
At	lineare Deformation der Haut, folgend einer längeren Zeit biomechanischer Beanspruchung (stationäres Kriechen)
BMI	Body Mass Index
dynS	dynamische Steifigkeit
E	(Youngscher) Elastizitätsmodul
$\varepsilon$	Dehnung (relative Längenänderung)
$\varepsilon_{(t)}$	zeitabhängige Kriechdeformation
F	Kraft
G	G-Modul/ Schermodul (Gleit-, Scherungs-, Torsionsmodul)
IONTO HANA	Kombinationsmeßgerät MEF und MEDSC zur Messung der Hautfeuchtigkeit und Dicke des Stratum corneum
$\Delta L$	Längenänderung
LUV	large unilamellar vesicles
M	Drehmoment
m	Torquewert
MEDSC	Meßgerät zur Erfassung der Hornschichtdicke
MEdyS	Meßgerät zur Messung der dynamischen Steifigkeit der Haut
MEF	Meßsystem zur Erfassung der Hautfeuchtigkeit
MLV	multilamellar vesicles
MW	Mittelwert
$\gamma$	Winkeländerung
$\eta$	Viskosität
$\eta_v$	Volumenviskosität
$\eta_s$	Scherviskosität
$\nu$	Querverkürzung (Poissonzahl)
OLV	oligolamellar vesicles
$\theta$	Verdrehwinkel/ Rotationswinkel einer rotierenden Scheibe
PA	Phosphatidsäure
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PI	Phosphatidylinosit
PL	Phospholipide
PS	Phosphatidylserin
SC	Stratum corneum (Hornschicht)
SD	Standardabweichung
SUV	small unilamellar vesicles
$\sigma$	Normalspannung
$\tau$	Schubspannung
TEWL	transepidermaler Wasserverlust
TP	Meßtag
UE	sofortige elastische (lineare) Deformation der Haut
UF	maximale Hautdeformation
UF <sub>(3)</sub> - UF <sub>(1)</sub>	Hysterese/ Differentialausdehnung der Haut

ULV	unilamellar vesicles
UR/UE	Elastische Funktion
UR/UF	relative Elastische Erholung der Haut
UR	elastisches Rückstellungsvermögen der Haut (unmittelbare elastische Erholung der Haut)
UT	zeitabhängige Deformation der Haut
UV/UE	Viskoelastisches Verhältnis
UV	verzögerte, viskose Deformation der Haut (vorübergehendes Kriechen)
X/UF	Biologische Elastizität
X	verbleibende Deformation der Haut (Irreversibilität des Dehnungsprozesses)

# Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Abstract	III
Abkürzungsverzeichnis	V
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Aufgabenstellung</b>	<b>6</b>
<b>3 Physikalische Betrachtung der menschlichen Haut</b>	<b>9</b>
3.1 Die Haut als viskoelastisches System	9
3.1.1 Festigkeits- und Verformungskennwerte	9
3.1.2 Zusammenhang zwischen Spannung und Verformung	11
3.2 Experimentelle Verfahren	17
3.2.1 Spannungs-Relaxations-Experiment (zeitabhängiges Verfahren)	17
3.2.2 Kriech-Relaxations-Experiment (zeitabhängiges Verfahren)	17
3.2.3 Periodische Anregung (frequenzabhängiges Verfahren)	19
3.3 Elastische und viskoelastische Komponenten der Haut	22
<b>4 Nicht-invasive Untersuchungsmethoden - Stand der Biomedizinischen Technik</b>	<b>32</b>
4.1 Biomechanische Meßmethoden	32
4.1.1 Saugmethoden (Suction/ Elongation)	34
4.1.1.1 Cutometer SEM 475/ 575 <sup>®</sup>	34
4.1.1.2 Dermaflex A <sup>®</sup>	61
4.1.2 Torsionsmethoden	69
4.1.3 Eindruckmethoden (Indentometrie)	88
4.1.4 Ziehversuche (Lewarometrie)	97
4.1.5 Einachsige Scherbelastungen (Extensometer)	103
4.1.6 Dynamische Zugbelastungen (Elektrodynamometer)	105
4.2 Weitere Untersuchungsmethoden	111
<b>5 Voruntersuchung zur Prüfung eines Torsionsgerätes</b>	<b>112</b>
5.1 Hintergrund	112
5.2 Experimenteller Teil	116
5.2.1 Prüfziel und Prüfhypothesen	116
5.2.2 Nutzen-Risiko-Abwägung	116
5.2.3 Design	117
5.2.4 Probanden	117
5.2.5 Einschlußkriterien	117

5.2.4.2	Ausschlußkriterien	118
5.2.4.3	Einschränkungen während der Prüfung	118
5.2.4.4	Einschlußuntersuchung	118
5.2.4.5	Zwischenuntersuchung	119
5.2.4.6	Gesetzliche Grundlagen und GCP	119
5.2.4.7	Dekodierung	120
5.2.4.8	Drop outs	120
5.2.5	Untersuchungsverfahren	120
5.2.5.1	Methoden zur Probandensicherheit	120
5.2.5.2	Akklimatisierung	120
5.2.5.3	Durchführung	121
5.2.6	Biometrische Planung und Auswertung	123
5.2.6.1	Zielgröße	123
5.2.6.2	Hypothese	124
5.2.6.3	Statistische Methoden	124
5.2.6.4	Begründung des Stichprobenumfangs	125
5.2.7	Ergebnisse	126
5.2.7.1	Drop outs	126
5.2.7.2	Demografische Daten	126
5.2.7.3	Unerwünschte Ereignisse	127
5.2.7.4	Ergebnisse der statistischen Analyse	127
5.3	Diskussion der Ergebnisse	160
5.3.1	Reproduzierbarkeit	160
5.3.2	Trennschärfe des Gerätes - Änderung der Systemparameter mit den Hautmerkmalen	164

## **6 Liposomenstudie 171**

6.1	Theoretischer Teil	171
6.1.1	Einleitung	171
6.1.2	Aufbau kosmetikrelevanter Transportvehikel	173
6.1.2.1	Liposome	173
6.1.2.2	Sphingosome	176
6.1.2.3	Niosome	177
6.1.2.4	Nanopartikel	177
6.1.3	Charakterisierung von Liposomen	178
6.1.4	Bildung von Liposomen	182
6.1.5	Herstellung von Liposomen	183
6.1.6	Beladung von Liposomen	185
6.1.7	Stabilität von Liposomen	186
6.1.7.1	Mikrobiologische Stabilität	187
6.1.7.2	Chemische Stabilität	188
6.1.7.3	Physikalische Stabilität	188
6.1.8	Liposomen und Haut	190
6.1.8.1	Wechselwirkungen von Liposomen mit Zellmembranen	192
6.1.8.2	Effekte von Liposomen	199

6.1.8.3	Sicherheit liposomaler Produkte	205
6.1.9	Untersuchungsergebnisse der Anwendung liposomaler Formulierungen in der Kosmetik	206
6.2	Experimenteller Teil	215
6.2.1	Hintergrund	215
6.2.2	Prüfziel und Prüfhypothesen	216
6.2.3	Nutzen-Risiko-Abwägung	216
6.2.4	Design	217
6.2.5	Material	217
6.2.6	Probanden	220
6.2.6.1	Einschlußkriterien	220
6.2.6.2	Ausschlußkriterien	221
6.2.6.3	Einschränkungen während der Prüfung	221
6.2.6.4	Einschlußuntersuchung	222
6.2.6.5	Abschlußuntersuchung	222
6.2.6.6	Gesetzliche Grundlagen und GCP	222
6.2.6.7	Behandlungen	222
6.2.6.8	Permutation und Dekodierung	223
6.2.6.9	Drop outs	224
6.2.7	Untersuchungsmethoden	224
6.2.7.1	Methoden zur Probandensicherheit	224
6.2.7.2	Kontrolle der Compliance	224
6.2.7.3	Akklimatisierung	225
6.2.7.4	Hautmessungen	225
6.2.7.5	Voruntersuchungen zum IONTO HANA	232
6.2.7.6	Prüfungsablauf	239
6.2.8	Biometrische Planung und Auswertung	240
6.2.8.1	Zielgrößen	240
6.2.8.2	Hypothesen	240
6.2.8.3	Statistische Methoden	241
6.2.8.4	Begründung des Stichprobenumfangs	243
6.2.9	Ergebnisse	244
6.2.9.1	Relevante Abweichungen vom Prüfplan	244
6.2.9.2	Drop outs	244
6.2.9.3	Demografische Daten	244
6.2.9.4	Nachuntersuchung	244
6.2.9.5	Untersuchungen zur Probandensicherheit	245
6.2.9.6	Ergebnisse der statistischen Analyse und der Bilddokumentation	245
6.2.9.7	Compliance	259
6.2.9.8	Ergebniszusammenfassung	259
6.3	Auswertung weiterer biomechanischer Parameter	263
6.4	Diskussion der Ergebnisse	269
6.4.1	Hydratierender Effekt	269
6.4.2	Hydratierender Effekt und die Beziehung zu viskoelastischen Parametern	277

6.4.3	Beurteilung des Kombinationsgerätes IONTO HANA	288
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>293</b>
<b>8</b>	<b>Ausblick und persönliche Anmerkungen</b>	<b>297</b>
<b>9</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>304</b>
<b>10</b>	<b>Anhang</b>	<b>346</b>
10.1	Appendix A (Tabellen, Grafiken, Einzelwerttabellen)	
10.2	Appendix B (Tabellen, Grafiken, Einzelwerttabellen)	

# 1 Einleitung

Hautpflege findet heute in einer breiten Öffentlichkeit großes Interesse, und das Bemühen den Alterserscheinungen entgegenzuwirken, um eine jugendliche, straffe Haut zu bewahren, ist von einer kaum zu übertreffenden Aktualität.

Durch den Einsatz nicht-invasiver physiologisch sinnvoller Untersuchungsmethoden läßt sich die Wirksamkeit von kosmetischen Pflegeprodukten (u.a. Moisturizer, Emollients, Liposomen, Fruchtsäurepräparate) in vivo objektiv darstellen. Dabei können die Effekte quantitativ und reproduzierbar erfaßt, und/oder die Überlegenheit einiger Formulierungen aufgezeigt werden. Von besonderem Interesse sind bei kosmetischen Wirksamkeitsprüfungen *Messungen der Feuchtigkeit, des Fettgehaltes, des transepidermalen Wasserverlustes* sowie *Untersuchungen der Oberflächenstruktur der Haut*. Mittlerweile gehen aus neuen Entwicklungen der Biomedizinischen Technik auch kommerziell verfügbare, computergestützte Geräte zur Messung *biomechanischer Parameter* hervor (1), die in der Dermatologie inzwischen zur Erforschung von Bindegewebserkrankungen (2), zur Untersuchung pathologischer Hautveränderungen, äußeren Einflüssen wie UV-Strahlen oder physiologischen Alterungsvorgängen (3 - 14) eingesetzt werden. Der Einfluß kosmetischer Präparate auf die biomechanischen Eigenschaften der Haut ist kaum untersucht worden.

Zur Charakterisierung des biomechanischen Hautverhaltens wird der Begriff der *Viskoelastizität* eingeführt. Hierbei handelt es sich um eine Eigenschaft, bei der sich sowohl elastisches Verhalten von Festkörpern als auch die Viskosität von Flüssigkeiten bemerkbar macht (15 - 18). Die Kombination dieser Eigenschaften zeigen vornehmlich hochpolymere Substanzen (zum Beispiel Kautschuk) und im besonderen die Biopolymere Polypeptide, Proteine, Polynucleotide und Polysaccharide (17). Vor allem die Proteoglykane haben einen wesentlichen Anteil am Aufbau des Binde- und Stützgewebes, wobei ihre physiologische Rolle typisch für die Struktur und die Eigenschaften der Dermis ist. Die Wechselbeziehung der Proteoglykane mit dem Kollagen und dem Elastin ergibt ein viskoelastisches System, wobei die Interaktionen das zeitabhängige Materialverhalten der Haut beeinflussen, welches eine Funktion der Belastungs- oder Deformationsgeschichte ist. Kriech- und Relaxationserscheinungen sind typische viskoelastische Effekte (16). Schließlich geht auch die Verformbarkeit und

biomechanische Belastungsfähigkeit der Dermis auf den Zustand des viskoelastischen Systems zurück (17). Eine Zerstörung oder eine Alterung der Struktur von Biopolymeren führt zu einer Instabilität des Systems und schließlich zu einer Veränderung des gesamtmechanischen Verhaltens (17).

Mit der Zielsetzung, einer vorzeitigen Hautalterung entgegenzuwirken bzw. den Alterungsprozess zu verlangsamen, bemüht sich die Kosmetikforschung um die Optimierung der Penetration von Wirkstoffen in die Haut. Stetig werden Präparategrundlagen verbessert und Transportsysteme weiterentwickelt (19, 20). Bei Pflegepräparaten für atrophische Haut steht die feuchtigkeitsspendende und hautglättende Wirkung im Vordergrund. Weiterhin werden durchblutungsfördernde oder auch die Viskoelastizität beeinflussende Produkte angeboten, deren tatsächliche Wirkung noch weitgehend zu analysieren ist (21, 22). Über die Sicherstellung eines angemessenen Wassergehaltes (Turgor) und der "Aufpolsterung" der obersten Hautschichten wird ein positiver Einfluß auf biomechanische Parameter beabsichtigt (23). Allerdings ist bei dem nahezu unüberschaubaren Spektrum von Pflegeprodukten, Wirkstoffkombinationen und Behandlungsmöglichkeiten durchaus nicht immer geklärt, ob die Wirkversprechen auch tatsächlich gehalten werden können (24 - 26).

Bislang waren Hersteller und Vertreiber kosmetischer Mittel nicht verpflichtet, einen Nachweis über die ausgelobte Wirksamkeit ihrer Produkte zu erbringen (27, 28). Durch die am 01. Januar 1997 in Kraft getretene 6. Änderung der EG-Kosmetik-Richtlinie wird nun neben der Bewertung der Sicherheit eines Fertigerzeugnisses im Artikel 7a „...der Nachweis der für das kosmetische Mittel angepriesenen Wirkung...“ gefordert, „...wenn dies aufgrund der Beschaffenheit des Erzeugnisses oder der angepriesenen Wirkung gerechtfertigt ist“ (29, 30).

Für die Begriffsklärung von „Wirkung“ und „Wirksamkeit“ wird im Rahmen dieser Arbeit Abstand von den objektiv-kausaldeterministischen Definitionen in Enzyklopädien genommen und sich an Füllgraf (31) angelehnt, dessen Begriffsbestimmung aus dem Arzneimittelsektor sinngemäß auf das Gebiet der Kosmetik übertragen werden kann.

- *Wirkung ist eine Veränderung, die in einem biologischen System durch einen Reiz hervorgerufen wird. Wirkungen sind also meßbare, fühlbare oder sonst erkennbare*

*Reaktionen. Wirkungen sind im Hinblick auf therapeutische Ziele unspezifisch oder ungerichtet; sie können erwünscht oder unerwünscht sein.*

- *Wirksamkeit ist demgegenüber ein wertender Begriff, bezogen auf den beabsichtigten Heilerfolg, auf das Ziel, dessentwegen das Arzneimittel angewandt wird, und daß Maß, in dem dieses Ziel erreicht wird. Die Wirksamkeit ist die Summe aller erwünschten Einzelwirkungen.*

Im Rahmen der Entwicklung von modernen Emulsionssystemen werden in der Kosmetik häufig nur geringfügige Verbesserungen des Hautzustandes erzielt. Wenn dann geringe Unterschiede gemessen bzw. nachgewiesen werden sollen, können nur sorgfältig geleitete Experimente in der Lage sein, definierte Informationen über die Wirksamkeit von Externa zu geben. Mit der Mehrheit der Geräte für die Untersuchung der Hautphysiologie und in den vielfältigen Berichten über die Anwendung dieser Methoden wurde die Reproduzierbarkeit der Daten und die methodische Verfahrensweise bislang leider nur unzureichend untersucht (32). Diese Disziplin ist so jung, daß die Techniken, die Standardisierung und die Auswahl geeigneter Parameter sowie letztlich die Interpretation von Resultaten Probleme bereiten. Auch erweisen sich Vergleiche zwischen einzelnen Studienergebnissen als äußerst schwierig, da die Durchführung nicht-invasiver Messungen, insbesondere biomechanischer Hautmessungen, unter Zuhilfenahme verschiedener, die Viskoelastizität darstellender Parameter erfolgt (32). Zudem wurden viele Studien an normaler Haut durchgeführt, indessen Schlußfolgerungen für andere Hautzustände, wie trockene oder atrophische Haut gezogen (33).

Abgesehen von technischen Anforderungen im Geräteaufbau muß auch eine geeignete Anzahl von Probanden an den Kosmetikstudien teilnehmen, um eine statistische Aussagekraft zu gewährleisten (22). Daneben ist die Konditionierung der Haut durch Kontrollmessungen un behandelter Testareale und die Prüfung von Referenzsubstanzen entscheidend. Umweltbedingungen wie beispielsweise Jahreszeit, Temperatur und Luftfeuchtigkeit müssen ebenfalls Berücksichtigung finden (22). Es ist ein Erkenntnis aus den nicht-invasiven Untersuchungen der vergangenen Jahre, für solche Studienzwecke möglichst einander ergänzende Meßmethoden einzusetzen, um Altersveränderungen der Haut oder die Effektivität von Hautpflegepräparaten hinreichend sicher evaluieren zu können. Der Endverbraucher wird solange keinen

bedeutsamen Nutzen aus Meßergebnissen von Hautanalysegeräten ziehen, bis nicht die gewonnenen Daten in Beziehung zu einer merklichen und klinisch bestätigten Veränderung des Hautzustandes gesetzt werden können.

Im Gegensatz zu Werkstoffprüfungen an technischen Materialien ergibt sich bei in vivo-Untersuchungen an Altershaut insbesondere das Problem, daß die Haut sich als lebendes Organ ständig den jeweiligen Umweltbedingungen anpaßt und in individuell unterschiedlichem Ausmaß neben dem intrinsischen Altern (Zeitaltern) als Spezifikum auch das extrinsische Altern (Umweltaltern) auftritt. Demzufolge ist die Hautalterung als ein Resultat chronologischer plus aktinischer Alterungsprozesse anzusehen (32, 34, 35). Dies hat zur Konsequenz, daß altersabhängige Veränderungen nicht an sonnenexponierten Hautarealen evaluiert werden sollten, da sich hier beide Prozesse überlagern (32, 34). Hautveränderungen im Alter sind allgemein gekennzeichnet durch eine stumpfe, schlecht durchblutete, blasse, schlaffe, schuppige und dünne - in sonnenexponierten Arealen allerdings dickere - Haut, deren Oberfläche in individuell unterschiedlichem Ausmaß feine Einziehungen aufweist. Das Faltenbild ist vergrößert und die Faltenzahl erhöht.

Trotz des Mangels quantitativer und qualitativer Standardisierungen verschiedener Meßmethoden, sind vergleichbare Ergebnisse zu Beziehungen zwischen den biomechanischen Eigenschaften und dem Alter festzustellen (1, 3, 6). Generell übereinstimmend ist, daß sich die viskoelastischen Eigenschaften mit dem Alter verändern. Die Anwesenheit von Falten, der Verlust an Festigkeit (als elastische Eigenschaft) und Geschmeidigkeit der Haut resultiert aus der Desorganisation elastischer Fasern sowie der Degeneration sowie Verkürzung der Kollagenfasern (36), welche Biopolymere der extrazellulären Matrix darstellen und von Fibroblasten synthetisiert werden. Die Abnahme des Turgors geht auf einen Mangel an Feuchthaltefaktoren zurück (37, 38), und gibt sich an der verminderten Plastizität der Hornschicht und einer unzureichenden elastischen Rückstellungsfähigkeit der Dermis zu erkennen. Die Dehydratation der Epidermis reflektiert die Verlangsamung des Keratinozytenwachstums (37). Die dünne Altershaut ist leicht verletzlich und leistet mechanischen und chemischen Einwirkungen nur wenig Widerstand (3 - 14). Von der weit verbreiteten Störung der Hautoberfläche, der sog. „Xerosis“ oder „Hauttrockenheit“, wurde experimentell ermittelt, daß sie bei den meisten Individuen sporadisch, bei einigen permanent, aber bei allen Menschen

progredient mit dem Alter zunimmt (39). Weiterhin ist durch Studien mit Neugeborenen, Kindern und Erwachsenen belegt, daß die Hautalterung als ein physiologisches Ereignis durch eine Zunahme des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) und einen Abfall der Hydratation des Stratum corneums charakterisiert ist, wobei diese beiden Parameter ihr proportionales Verhältnis beibehalten (40, 41). Die bei der Altershaut typischen Veränderungen der Hautoberfläche führen in vielen Fällen zu Juckreiz (Pruritus senilis), und man nimmt heute an, daß etwa zwei Drittel aller Ekzeme bei älteren Menschen auf falsche Reinigungs- und/oder Pflegegewohnheiten zurückzuführen sind (34).

Dies unterstreicht die Bedeutung einer sachgerechten Hautpflege besonders für atrophische Haut. Liposome stellen hier in ihrer Funktion als Wirkstoff und gleichermaßen als Transportsystem mit lang anhaltendem Effekt eine interessante Wirkstoffklasse zur Verbesserung der Hautfunktionen dar. Seit der Einführung liposomaler Pflegeprodukte in den Körperpflegemarkt wird ihnen eine optimale und auch zielgerichtete Einschleusung kosmetischer Wirkstoffe - insbesondere hydrophiler Wirkstoffe - neben einem Depoteffekt zugesprochen (42). Erst in der jüngsten Zeit wird kritisch diskutiert, ob bei Phospholipiden in Pflegeprodukten flüssigkristalline Strukturen überhaupt notwendig oder gar überflüssig sind (43), d.h. inwieweit die Effekte von Liposomen tatsächlich strukturgebunden sind.

Ob sie über die Sicherstellung eines gesteigerten Feuchtigkeitsgehaltes signifikanten Einfluß auf biomechanische Parameter und damit die Viskoelastizität der Haut nehmen und sich diesbezüglich gegenüber modernen Präparategrundlagen durchsetzen, ist nicht geklärt.

## 2 Aufgabenstellung

Aus den bisherigen Erkenntnissen über das rheologische Verhalten der menschlichen Haut ergibt sich vor allem vor dem Hintergrund der veränderten Kosmetik-Richtlinien ein großer Forschungsbedarf hinsichtlich der objektiven Erfassung von Veränderungen verschiedener Hautfunktionen unter Anwendung kosmetischer Pflegeprodukte. Während bereits der Einfluß zahlreicher Medikamente und topisch applizierter dermatologischer Externa auf biomechanische Parameter untersucht wurde (44), ist die Wirksamkeit von Liposomen - im Vergleich zu ihrem Vehikel - in vivo bislang nicht eruiert. Aufgrund dessen kommen im Rahmen dieser Arbeit nicht-invasive Meßverfahren zur Bestimmung verschiedener Hautfunktionen zur Anwendung und werden in Hinblick auf ihre Eignung zur Bestimmung der Wirksamkeit von Moisturizern und Liposome getestet. Die zu prüfenden Verfahren müssen die Anforderungen der Nichtinvasivität erfüllen, da für kosmetische Untersuchungen an Probanden invasive Testverfahren zu vermeiden sind.

Der Schwerpunkt liegt bei Meßmethoden, die Informationen über die Funktion sowie die Kinetik der Veränderung biomechanischer Parameter liefern. Als potentielle Meßmethoden steht eine große Anzahl an Geräten zur Verfügung. Hier sollen Geräte berücksichtigt werden, die valide Daten liefern und auch geringfügige Veränderungen des Hautzustandes erfassen können. Die Geräte sollen möglichst kurze Meßzeiten haben, damit der zeitliche Aufwand einem Test für Routineuntersuchungen angemessen ist. Außerdem müssen ihre Meßparameter relevant sein, um eine einfache und präzise Detektion der Hautfunktionen in vivo zu gewährleisten, so daß sie für den Wirksamkeitsnachweis kosmetischer Präparate heranzuziehen sind. Daneben sind neue Untersuchungsmethoden, die noch nicht kommerziell erhältlich sind, in Bezug auf ihre Anwendungsmöglichkeiten zu prüfen. Weil der Einsatz einer einzelnen Meßmethode die Hautfunktionen nicht ausreichend bestimmt, wurden in der klinischen Studie einander ergänzende Verfahren eingesetzt und dabei eine Korrelation der verschiedenen Größen vorgenommen.

Die physikalische Betrachtung elastischer und viskoelastischer Hautkomponenten geht den Experimenten voraus. Zum Verständnis und zur Bewertung der Verfahren sowie zur Auswahl geeigneter Geräte für die experimentelle Untersuchung, ist eine

umfassende Darstellung bisher entwickelter nicht-invasiver Methoden und ihrer Anwendungsmöglichkeiten unerlässlich. Dabei stellt die Charakterisierung der Untersuchungsmethode und entsprechender Meßparameter ein wichtiges Kriterium für seine erfolgreiche Anwendung dar.

Es erfolgt eine besonders detaillierte Beschreibung der Meßparameter von Saug- und Torsionsmethoden und deren Verhältnis zu viskoelastischen Komponenten der Haut, da diese Methoden zur Erfassung miniziöser Veränderungen der Epidermis bzw. des Hautzustandes empfohlen werden (1,2, 45) und in die Hautstudien einbezogen werden sollen. Die Schwierigkeit bei der Saugmethode Cutometer besteht darin, sowohl einen geeigneten Meßmodus als auch die entsprechenden Meßparameter auszuwählen, die zum einen eine große Reproduzierbarkeit und somit Verlässlichkeit der Ergebnisse, zum anderen aber auch eine möglichst konkrete Aussage über die Viskoelastizität der Haut zulassen. Im Gegensatz zu dem validierten Cutometer stand bei dem neuen Torsionsgerät MEdyS zunächst die Prüfung der Anwendungsmöglichkeit in praxi im Vordergrund. Es wurde überprüft, ob dieses Gerät die viskoelastischen Eigenschaften der Haut hinreichend genau beschreibt, um auch geringfügige Modifikationen in oberflächlichen Hautschichten aufzudecken (45).

Die Arbeit teilt sich durch die Aufgabenstellung in zwei aufeinanderfolgende experimentelle Abschnitte.

Im ersten Abschnitt erfolgte die praktische Erprobung des Prototyps MEdyS (45). In den Vorversuchen wurde geprüft, ob sich das Torsionsgerät für Hautmessungen eignet und in der Lage ist, die viskoelastischen Eigenschaften der Haut ausreichend genau zu bestimmen. Es waren in der experimentellen Erprobung die Reproduzierbarkeit der Daten, die Meßbreite und die Trennschärfe des Gerätes sowie sein Einsatz für diagnostische Zwecke zu beurteilen. Anhand der Resultate wurde schließlich beurteilt, ob das Meßsystem Änderungen der viskoelastischen Hauteigenschaften aufdecken und sinnvoll in die Anwendungsstudie einbezogen werden kann.

Nach der Evaluierung der Torsionsmethode im ersten Abschnitt wurde im Rahmen einer klinischen Studie die hautbefeuchtende und die Viskoelastizität beeinflussende Wirksamkeit des Liposomenproduktes Hydro Gel spezial (mit beladenen Liposomen)

im Vergleich zu seinem Vehikel nach wiederholter Anwendung untersucht. Dabei kamen neben einem neuen Kombinationsmeßgerät (IONTO HANA) zur Erfassung der Hautfeuchtigkeit (MEF) sowie der Hornschichtdicke (MEDSC) (46) die validierten Meßgeräte Cutometer und Corneometer zur Anwendung. Hierbei galt zu überprüfen, inwieweit die neu entwickelten Geräte sowohl miteinander als auch mit den validierten Meßverfahren korrelieren und sich zur Bestimmung der Wirksamkeit der Kosmetikprodukte im Anwendungstest eignen. Zusätzlich ist ein neues Hautanalysegerät (Beauty Scope) eingesetzt worden, anhand dessen die Veränderung der Hautoberflächenstruktur über den Behandlungszeitraum fotografisch zu dokumentieren war.

Als potentielle Prüfprodukte standen verschiedene Liposomencremes zur Verfügung. Die Auswahl der Liposome erfolgte entsprechend den aktuellen Anforderungen und Entwicklungen in der Liposomenforschung (20, 43, 47 - 49), wobei folgende Gesichtspunkte berücksichtigt wurden:

- Einsatz von hydrierten Phospholipiden pflanzlichen Ursprungs;
- Gebrauch unilamellarer Vesikel mit einer Durchschnittsgröße, die im *sogenannten idealen Feinbereich* für die Kosmetik liegt;
- Beladung mit hydrophilen Aktivstoffen, um das Liposom in der Funktion eines Carrier-Systems zu nutzen.

Dabei wurde ein Kompromiß zwischen Beladungskapazität und der Stabilität von Liposomen eingegangen.

## 3 Physikalische Betrachtung der menschlichen Haut

### 3.1 Die Haut als viskoelastisches System

Die biomechanischen Eigenschaften der Haut sind nicht nur von ihrer Struktur, sondern in starkem Maße auch vom Gefüge, d.h. der Größe und Form der Zellen, dem Zusammenhalt der einzelnen Schichten und dem komplexen Zusammenspiel innerer Faserstrukturen sowie der Matrix abhängig (50 - 53). Wichtige biomechanische Eigenschaften sind die Verformbarkeit und die Festigkeit (54). Aus diesem Grund wird zunächst auf Festigkeits- und Verformungskennwerte eingegangen. Im Anschluß werden biomechanische Hauteigenschaften im Rahmen der Systemtheorie beschrieben. Die Systemtheorie analysiert komplizierte physikalische Systeme in Bezug auf ihr dynamisches Systemverhalten (15). Hierzu werden auf der phänomenologischen Ebene abstrakte mathematische Modelle aufgestellt, die ein Systemverhalten möglichst genau zu beschreiben versuchen. Grundlegend wird hierbei - im Verständnis der Haut als Übertragungssystem - das Augenmerk auf die Beziehung zwischen Eingang/ Ausgang bzw. Störung/ Antwort der Haut gerichtet. Schließlich wird die Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Spannungs-Deformations-Beziehung unter zeit- bzw. frequenzabhängigen Bedingungen behandelt.

#### 3.1.1 Festigkeits- und Verformungskennwerte

Allgemeines Ziel der Untersuchung biomechanischer Eigenschaften ist es, die Haut mit einer möglichst kleinen Anzahl von charakteristischen Stoffkonstanten zu beschreiben, wobei die Schwierigkeit darin besteht, diese Größen mit dem molekularen Aufbau des Systems in einen möglichst eindeutigen Zusammenhang zu bringen.

Zur Charakterisierung des biomechanischen Hautverhaltens werden die Variablen *Verformung (Deformation)*, *Dehnung* und *Spannung* eingeführt. Jede Belastung führt zu einer Verformung (Deformation) eines Materials. Im Gegensatz zur **elastischen Verformung** bleiben bei der **plastischen (bleibenden) Verformung** nach der Entlastung Formänderungen zurück (15, 17, 54).

Makroskopisch werden zwei Arten der Verformung unterschieden:

- Längenänderungen  $\Delta L$  oder
- Winkeländerungen  $\gamma$

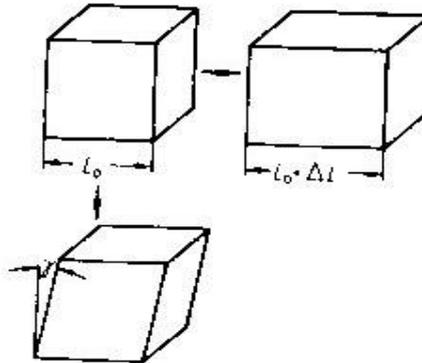


Abb. 1: Formänderungen: Längenänderung  $\Delta L$ , Winkeländerung  $\gamma$ , entnommen aus Bargel et al. (54).

Wird die Längenänderung  $\Delta L$  auf die parallele Ausgangslänge  $L_0$  bezogen, erhält man die dimensionslose Größe, die **Dehnung**  $\epsilon$  (relative Längenänderung) genannt wird (15, 17).

*Gleichung 1:*

$$\epsilon = \frac{\Delta L}{L_0}$$

Eine bleibende Verlängerung wird auch als Reckung bezeichnet. Die bereits dimensionslose Winkeländerung hat die Bezeichnung **Schiebung**.

Bezieht man die für die Verformung erforderliche Kraft auf die Wirkungsfläche, so erhält man als spezifische Größe die mechanische **Spannung** (17, 54).

*Gleichung 2:*

$$\mathbf{s} = \frac{\mathbf{F}}{\mathbf{A}}$$

Ebenso wie bei den Verformungsmöglichkeiten ist auch die Art der Kraftwirkung grundsätzlich unterschiedlicher Natur. Zum Hervorbringen einer Dehnung muß die

Kraft rechtwinklig zur Bezugsfläche wirken. Die Spannung ist dann eine **Normalspannung  $\sigma$**  (54). Bei einer Schiebung bzw. bei Gleitverformungen wirkt die Kraft parallel (tangential) zur Bezugsfläche und die Spannung heißt **Schubspannung  $\tau$**  (54) (siehe Abbildung 2).

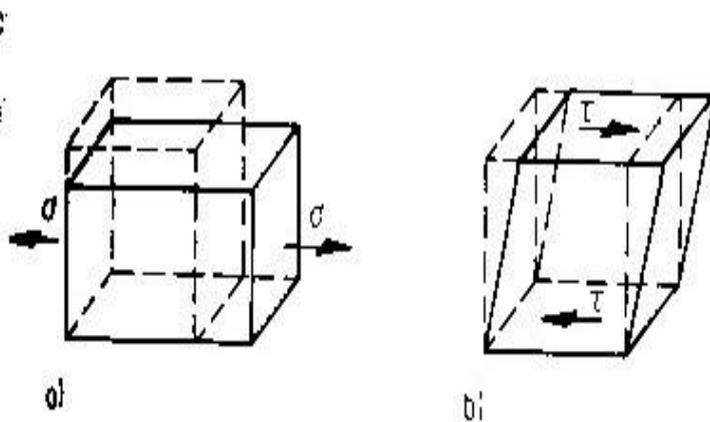


Abb. 2: a) Normalspannung  $\sigma$

b) Schubspannung  $\tau$ ; entnommen aus Bargel et al. (54).

Ist die Haut auf Scherung oder Verdrehung (Torsion) beansprucht (siehe Abbildung 3), so sind die hervorgerufenen Abscher- oder Torsionsspannungen Schubspannungen  $\tau_a$  bzw.  $\tau_t$  (54). Hervorzuheben ist, daß jede äußere Belastung innerhalb der Haut sowohl Normal- als auch Schubspannungen erzeugt.

### 3.1.2 Zusammenhang zwischen Spannung und Verformung

Bei herkömmlichen Werkstoffprüfungen läßt sich der Zusammenhang zwischen Spannung und Verformung in sogenannten Spannungs-Verformungs-Diagrammen darstellen. Dabei ist der Kurvenverlauf viskoelastischer Materialien (hochpolymere Stoffe, Biopolymere) durch lineare und viskose Anteile, d.h. Bereiche überwiegend elastischer oder plastischer Verformung gekennzeichnet (15, 54).

Belastet man die Haut konstant und läßt man die Belastung bei konstanter Temperatur andauern, so stellt sich eine **zunehmende Verformung (Kriechen)** und eine **Abnahme der Spannung (Relaxation)** ein (54). Zuerst ist die Verformung spontan reversibel und dann verzögert reversibel mit steigendem Anteil irreversibler (bleibender) Verformung (55). Eine Erscheinung der Relaxation ist zum Beispiel das "Erlahmen" von Federn, wobei ein Kraftabfall eintritt (54).

Die Zeitabhängigkeit des Materialverhaltens deutet darauf hin, daß bei der menschlichen Haut eine komplexe Verknüpfung eines elastischen und eines viskosen Antworttyps als Modell ihres Verhaltens herangezogen werden muß. Aus phänomenologischer Sicht wird zwischen elastischer, viskoser (dissipativer) und viskoelastischer Antwort unterschieden, wobei sich die Antworttypen in Bezug auf die Relation Spannung/Deformation und auf den zeitlichen Verlauf der Systemantwort quantitativ unterscheiden lassen (15).

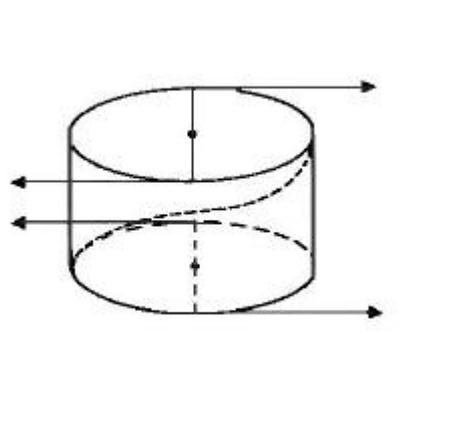


Abb. 3: Eine Torsion läßt sich erreichen, wenn die übereinanderliegenden Schichten eines festen Körpers durch Kräftepaare gegeneinander verdreht werden. Es wirken an den gegenüberliegenden Seiten entgegengesetzte Drehmomente, entnommen aus Gonsior (17).

### Elastische Antwort

Unter gewissen Näherungen (kleine Deformationen) läßt sich die Beziehung zwischen Spannung und Deformation sowohl bei linearer Deformation als auch bei Scherung durch eine lineare Gleichung, das **HOOKESche Gesetz**, beschreiben (15). Es besagt, daß die Dehnung sich unmittelbar zeitgleich mit der Spannung ändert (56).

Die beiden Größen Elastizitätsmodul  $E$  und Schermodul  $G$  sind für das System charakteristische Stoffkonstanten. In dem Fall der elastischen Antwort bzw. bei einem ideal elastischem Körper (beispielsweise einer metallischen Feder) wird die zur Erreichung der Deformation  $\varepsilon$  bzw.  $\gamma$  aufgebrauchte Arbeit in dem System gespeichert und kann beim Wegfallen der Spannung vollständig wiedergewonnen werden (15). Da bei der Haut (wie auch bei amorphen Polymeren) die Zeitabhängigkeit der Verformung berücksichtigt werden muß, besitzt das HOOKESche Gesetz nur eingeschränkt Gültigkeit.

Gleichung 3 und 4:

$$\text{Lineare Dehnung : } \mathbf{s} = \mathbf{E} \times \boldsymbol{\varepsilon}$$

$$\text{Scherung : } \mathbf{s} = \mathbf{G} \times \boldsymbol{\gamma}$$

$\sigma$  = Spannung (Zug- oder Scherspannung)

$E$  = Elastizitätsmodul (Youngscher E-Modul)

$G$  = Schermodul

$\varepsilon$  = Dehnung (Längenänderung bezogen auf die Ausgangslänge)

$\gamma$  = Scherdeformation

### Viskose (dissipative) Antwort

Wirkt eine Spannung auf ein viskoses System (beispielsweise Flüssigkeiten) ein, kann dies zu einer Deformation führen, die nicht durch das HOOKEsche Gesetz, sondern mit der Viskosität  $\eta$  durch die **NEWTONsche Gleichung** beschrieben wird (15).

Gleichung 5:

$$\mathbf{s} = \mathbf{h} \times \frac{d\boldsymbol{\varepsilon}}{dt}$$

Bei dieser Gleichung wird die Spannung nicht mit der Dehnung  $\varepsilon$  in Verbindung gebracht, sondern mit deren Ableitung nach der Zeit. So führt beispielsweise eine konstante, d.h. zeitunabhängige Dehnung zu keiner Spannung, sondern nur eine sich verändernde. Die aufgewandte Arbeit bei einem solchen Prozeß wird in Form von Wärme an die Umgebung dissipiert und kann nicht wiedergewonnen werden. Die Form der Newtonschen Gleichung legt nahe, daß die Spannungs-Dehnungs-Beziehung nur unter Einbeziehung der Zeitvariablen  $t$  beschrieben werden kann. Die jeweilige Dehnung wird im Fall der Schubspannung eine lineare Dehnung  $\varepsilon$  und im Fall der Scherspannung eine Scherung  $\gamma$  sein. Beide Deformationsarten sind affine Deformationen. Die Proportionalitätskonstanten für den entsprechenden dissipativen Prozeß sind jeweils die Volumenviskosität  $\eta_v$  und die Scherviskosität  $\eta_s$ .

Man kann auch relativ komplexe Systeme beobachten, bei denen die Anwendung der Newton-Gleichung zu einer spannungsabhängigen Viskosität führt. In solchen Fällen spricht man von nicht-Newtonischem Verhalten bzw. nicht-Newtonschen-

Flüssigkeiten. Die Ursache für ein solches Verhalten liegt darin, daß die Moleküle sich unter Scherspannung, bzw. in einem Geschwindigkeitsgradienten abhängig von der Spannung orientieren und als Folge dessen eine kleinere Viskosität als im nicht orientierten Zustand aufweisen.

Wie die meisten Thermoplast-Schmelzen ist die menschliche Haut **strukturviskos** (siehe Abbildung 4), d.h. die Schergeschwindigkeit nimmt überproportional mit steigender Schubspannung zu, weil sich ihre Makromoleküle zunehmend in Fließrichtung orientieren und dann in dieser Richtung leichter voneinander abgleiten können (55).

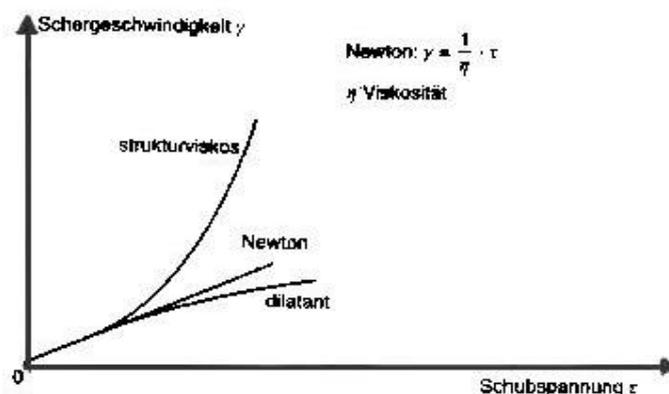


Abb. 4: Schergeschwindigkeiten von Flüssigkeiten oder Schmelzen in Abhängigkeit von der Schubspannung. Im Idealfall ist die Schergeschwindigkeit proportional der verursachenden Schubspannung. Der Proportionalitätsfaktor ist die reziproke Viskosität. Wenn die Schergeschwindigkeit weniger zunimmt, als der Gleichung nach Newton entspricht, heißt die Flüssigkeit dilatant. Bei strukturviskosen Materialien nimmt die Schergeschwindigkeit überproportional mit steigender Schubspannung zu, weil sich die Makromoleküle zunehmend in Fließrichtung orientieren; entnommen aus Franck (55).

### Viskoelastische Antwort

Da sich die Antwort eines viskoelastischen Systems additiv aus der viskosen und der elastischen Antwort zusammensetzt, wird in erster Näherung versucht, einfache Modelle zu konstruieren, in denen elastische und viskose Elemente verknüpft sind (siehe Abbildung 5) (15). Die hier dargestellte Reihenschaltung nennt man ein *Maxwell-Element*.

Die Feder stellt ein elastisches Element und der Dämpfer ein viskoses Element dar. Das zeitliche Verhalten eines Maxwell-Elements, das unter Spannung steht, kann einfach berechnet werden. Die Spannungs-Deformations-Beziehung des Maxwell-Elements ergibt sich aus denen des elastischen und des viskosen Elements laut Gleichung 3 und 5. Aus Gleichung 3 erhält man die Zeitabhängigkeit der Deformation des elastischen Körpers:

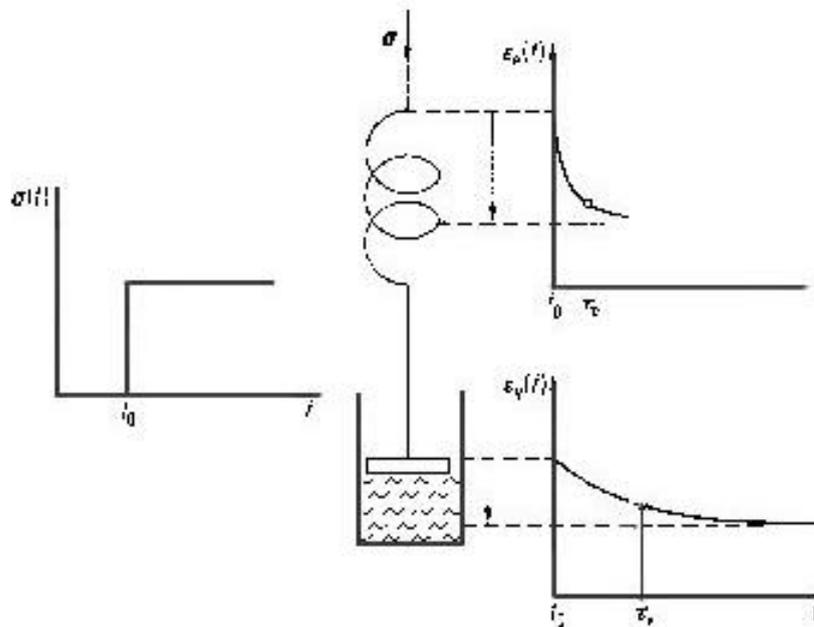


Abb.5: Viskoelastische Antwort des Maxwell-Elements. Bei einem stufenförmigen Zeitverlauf der Spannung erhält man für jedes der beiden Elemente eine Zeitabhängigkeit der Deformation. Die schnellere elastische Deformation der Feder baut sich mit der Zeitkonstante  $\tau_e$  auf, und die langsamere viskose des Dämpfers mit  $\tau_v$ , entnommen aus Dorf Müller (15).

Gleichung 6:

$$\frac{d\mathbf{e}_{el}}{dt} = \frac{1}{\mathbf{E}} \mathbf{x} \frac{d\mathbf{s}}{dt}$$

Für die viskose Antwort gilt Gleichung 7:

$$\frac{d\mathbf{e}_{vis}}{dt} = \frac{\mathbf{s}}{\mathbf{h}}$$

Wenn beide Elemente in Reihe geschaltet sind, kann man beide Beiträge zur Deformation addieren und es gilt *Gleichung 8*:

$$\frac{d\mathbf{e}}{dt} = \frac{d\mathbf{e}_{el}}{dt} + \frac{d\mathbf{e}_{vis}}{dt} = \frac{1}{\mathbf{E}} \times \frac{d\mathbf{s}}{dt} + \frac{\mathbf{s}}{\mathbf{h}}$$

Weitere Kombinationen von elastischen und viskosen Elementen wurden quantitativ berechnet und es zeigte sich, daß viele experimentelle Ergebnisse sich mit dem in Abbildung 6 dargestellten Voigt-Element oder dem etwas komplexeren Vier-Elemente-Modell (Burgers Modell) genauer beschreiben lassen als mit dem einfachen Maxwell-Element.

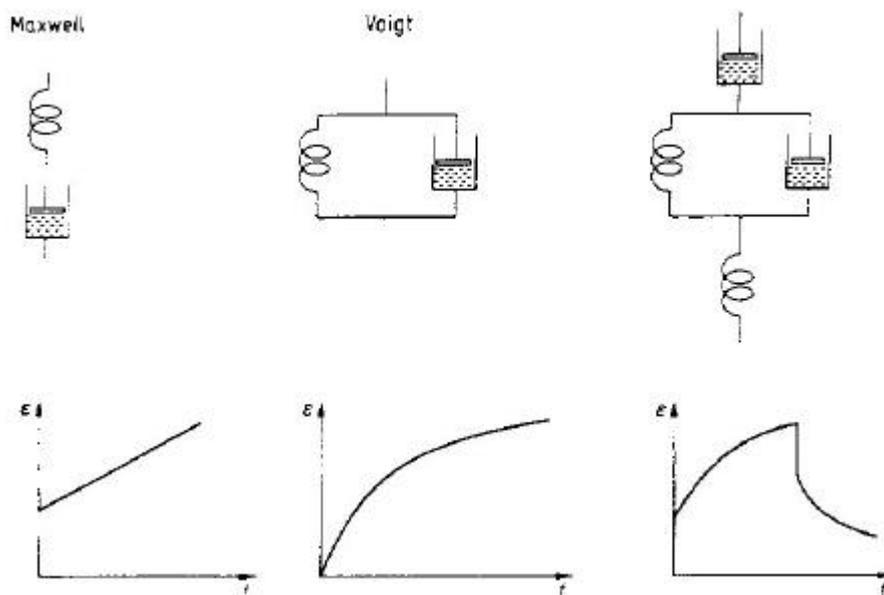


Abb.6 Drei viskoelastische Modelle und ihre zeitabhängige Antwort in einem Kriech-Relaxations-Experiment; entnommen aus Dorf Müller (15).

## 3.2 Experimentelle Methoden

Die biomechanischen Hautexperimente in vivo betreffen generell die Untersuchung des zeitlichen Verlaufs der Spannungs-Deformations-Beziehung unter verschiedenen Bedingungen. Solche Messungen ermöglichen die Prüfung von theoretischen Modellen, die Bestimmung von wichtigen Stoffkonstanten und die modellmäßige Verknüpfung der viskoelastischen mit molekularen Daten (15). Die Experimente lassen sich in zwei Verfahren klassifizieren:

- *Zeitabhängige Verfahren*

Hier wird eine Störung auf das System ausgeübt und die Antwort als Funktion der Zeit registriert. Je nach Natur der Störung handelt es sich um Spannungs-Relaxations- oder Kriech-Relaxations-Experimente.

- *Frequenzabhängige Verfahren*

Hier ist die Störung periodisch und die Meßgröße wird frequenzabhängig registriert.

### 3.2.1 Spannungs-Relaxations-Experiment (zeitabhängiges Verfahren)

Bei einem Spannungs-Relaxations-Experiment (siehe Abbildung 7) wird eine Deformation in Form einer Stufenfunktion der Zeit auf das System ausgeübt. Die Reaktion des Systems besteht aus einer ersten schnellen Zunahme und einer zweiten langsamen Abnahme der Spannung. Die Zunahme erfolgt als elastische Antwort (die Feder wird gespannt) und die Abnahme als verzögerte viskose Antwort (die Spannung wird durch verschiedene molekulare Mechanismen abgebaut). Nach hinreichend langer Zeit geht die Spannung asymptotisch auf Null zurück. Dieses Experiment läuft unter der Bedingung  $d\varepsilon/dt = 0$  ab (15).

### 3.2.2 Kriech-Relaxations-Experiment (zeitabhängiges Verfahren)

In diesem Versuch wird eine Spannung in Form einer Rechteckfunktion der Zeit auf das System ausgeübt (siehe Abbildung 8). Die Reaktion des Systems besteht in einer anfänglichen schnellen und einer anschließenden, sich langsam aufbauenden Dehnung. Nach der schnellen Entspannung geht die elastische Dehnung praktisch

momentan zurück, während die viskose Dehnung dissipiert ist, und somit nicht mehr zurückgeht. Man sieht, daß die elastische Dehnung nach einiger Zeit gespeichert wird und die viskose dissipiert ist. Das Experiment läuft unter den Randbedingungen  $d\sigma/dt = 0$  ab (15).

Beide Versuche erlauben, die viskoelastischen Parameter des untersuchten Systems zu bestimmen, jedoch liefern sie etwas unterschiedliche Informationen. Sie sind also nicht äquivalent. Sowohl das Spannungs- als auch das Kriech-Relaxations-Experiment sind kinetische Experimente, in denen der eine der beiden Parameter  $\sigma$  und  $\epsilon$  bei vorgegebenem Verlauf des jeweils anderen als Funktion der Zeit gemessen wird. So wird im Spannungs-Relaxations-Experiment die Deformation vorgegeben und spielt die Rolle der Störung, während die Spannung als Antwort durch das Meßverfahren als Antwort verfolgt wird. Im Kriech-Relaxations-Experiment liegen die Verhältnisse umgekehrt.

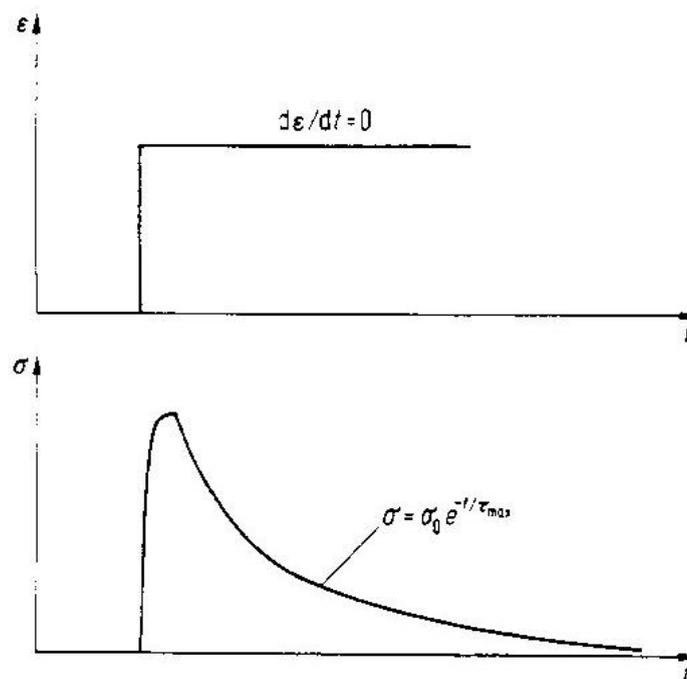


Abb.7: Verlauf eines Spannungs-Relaxations-Experiments an einem Maxwell-Element. Die Deformation wird schnell ausgeübt und dann konstant gehalten. Die Spannung nimmt sehr schnell zu. Anschließend baut sich die Spannung mit der Zeitkonstante  $\tau_{\max}$  wieder ab. Zunächst wird die Feder deformiert und anschließend wird das viskose Element zunehmend deformiert und ermöglicht den Abbau der Spannung der Feder. Hierbei wird die in der Feder gespeicherte potentielle Energie im viskosen Element in Wärme dissipiert; entnommen aus Dorfmueller (15).

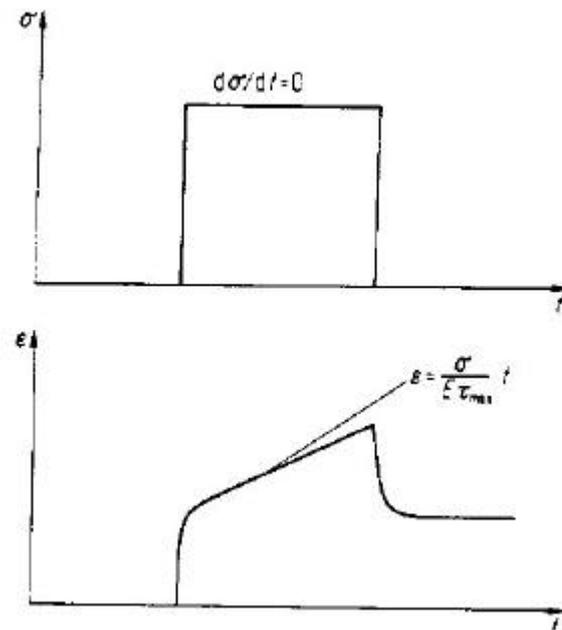


Abb.8: Verlauf eines Kriech-Relaxations-Experiments an einem Maxwell-Element. Die Spannung wird schnell aufgebaut, dann konstant gehalten und anschließend wieder schnell abgebaut (Rechteckfunktion der Zeit). In der ersten Phase reagiert das elastische Element sehr schnell, in der zweiten kommt bei konstanter Spannung die Deformation des viskosen Elements hinzu und in der dritten geht bei momentanem Abbau der Spannung die reversible Deformation der Feder schnell zurück. Die Deformation des viskosen Elements geht jedoch nicht wieder zurück, da diese Antwort irreversibel ist; entnommen aus Dorf Müller (15).

### 3.2.3 Periodische Anregung (frequenzabhängiges Verfahren)

Bei der periodischen Anregung wird der eine Parameter periodisch verändert und der andere als Funktion der Anregungsfrequenz  $\omega$  gemessen. Um die Auswertung solcher Experimente zu ermöglichen, muß zunächst die Differenzialgleichung für das Problem entsprechend formuliert werden.

Viskoelastische Eigenschaften lassen sich durch Erzeugung einer ebenen Scherwelle in dem zu untersuchenden Medium bestimmen. Wird ein viskoelastischer Körper einer periodischen Spannung mit der Kreisfrequenz  $\omega$  unterworfen, dann reagiert dieser mit einer periodischen Deformation  $\gamma$  der Form  $\gamma = \gamma_0 \sin \omega t$ . Die ebenfalls periodisch variierende Spannung läßt sich folgendermaßen beschreiben:  $\sigma = \gamma_0 (G' \sin \omega t + G'' \cos \omega t)$

Die Spannung  $\sigma$  ist in zwei Komponenten aufgespalten

- eine Komponente  $\gamma_0 G' \sin \omega t$ , die mit der Spannung phasengleich ist, und in
- eine Komponente  $\gamma_0 G'' \cos \omega t$ , deren Phase um  $90^\circ$  verschoben ist.

Dies läßt sich durch den Phasenwinkel  $\delta$  ausdrücken:  $\sigma = \sigma_0 \sin (\omega t + \delta)$ .

Im Fall eines viskoelastischen Systems ist das Schermodul  $G$  allgemein eine komplexe Größe:  $G^* = G' + iG''$ . Zwischen beiden Anteilen des Schermoduls gilt

*Gleichung 9:*

$$\frac{G''}{G'} = \tan \mathbf{d}$$

Für viskoelastische Systeme sind im allgemeinen die Größen  $E(t)$ ,  $G(t)$ ,  $J_d(t)$ ,  $J_s(t)$  zeitabhängig. Im Fall der periodischen Anregung sind die genannten Größen als komplexe frequenzabhängige Größen zu beschreiben.

Ist  $G$

- eine *reelle Größe*, so besitzt der Körper *elastische Eigenschaften*. Die Spannung ist phasengleich mit der Deformation, und die Welle pflanzt sich ungedämpft fort;
- eine *imaginäre Größe*, dann besitzt der Körper *viskose Eigenschaften*, die Verformung ist um  $90^\circ$  gegenüber der Spannung verschoben, und die Welle ist gedämpft.

Entsprechend gilt, daß bei elastischen Systemen die reale Komponente der Viskosität  $\eta'$  null und bei rein viskosen Systemen  $\eta''$  null ist. Die Fortpflanzungsgeschwindigkeit und die Dämpfung lassen sich im Falle eines imaginären Schermoduls berechnen.

### *Komplexe viskoelastische Parameter*

Im Fall der periodischen Anregung lassen sich die Meßgrößen von viskoelastischen Substanzen durch komplexe Parameter darstellen:

Schermodul:	$G^* = G'(\omega) + i * G''(\omega)$
Viskosität:	$\eta^* = \eta'(\omega) - i * \eta''(\omega)$
Nachgiebigkeit:	$J^* = J'(\omega) - i * J''(\omega)$
Impedanz:	$Z^* = Z'(\omega) + i * Z''(\omega)$

Zwischen dem Real- und dem Imaginärteil der Größen wie  $E^*$  besteht eine Phasenverschiebung um den Winkel  $\delta$ :

$$\tan \delta = \frac{E''}{E'}$$

Die Größe  $\tan \delta$  ist der sogenannte **Verlustwinkel**, der zur Charakterisierung der komplexen Antwort des Systems häufig verwendet wird (15). Beide Anteile, sowohl der Real- als auch der Imaginärteil der aufgelisteten komplexen Größen sind generell frequenzabhängig. Dies läßt sich verstehen, wenn man berücksichtigt, daß die elastische Antwort in der Regel sehr schnell erfolgt und die viskose Antwort u.U. um Größenordnungen langsamer. Eine quasistatische (niederfrequent durchgeführte) Messung registriert somit den viskositätsbedingten Anteil der Meßgröße, während eine Messung mit hochfrequenter Anregung den elastischen Anteil registriert (15).

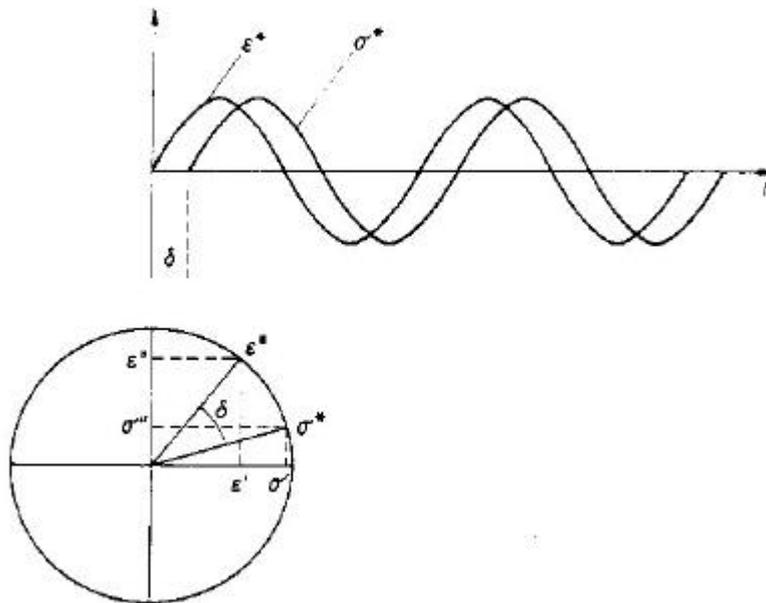


Abb.9: Phasenbeziehungen bei periodischer Anregung eines viskoelastischen Systems; entnommen aus Dorf Müller (15).

### 3.3 Elastische und viskoelastische Komponenten der Haut

Die menschliche Haut ist multifunktionell und hat konsequenterweise eine extrem komplexe Struktur. Sie ist mehrschichtig mit eingefalteten bzw. gewundenen, häufig unscharfen Grenzschichten zwischen den einzelnen Schichten, und ihre Eigenschaften sind richtungsabhängig (anisotrop) (44, 65). Die Struktur und entsprechende Funktion variiert mit der Körperstelle (44), wobei einige spezielle Hautareale über eine komplexe Befestigung zu unterliegenden Geweben sowie zur gesamten angrenzenden Haut verfügen.

Weitgehend besteht Übereinstimmung darüber, daß die biomechanischen Eigenschaften der Haut in erster Linie von der Dermis abhängen (58 - 60). Ihr Zustand wird maßgeblich durch die intra- und intermolekulare Verknüpfung von kollagenen, elastischen und retikulären Fasern, eingebettet in einer viskosen, amorphen Grundsubstanz (Matrix), bestimmt. Für die *gesamte* Hautmechanik scheint dabei die Epidermis eine untergeordnete Rolle zu spielen (61 - 64).

#### Epidermis

In der Epidermis sind die wesentlichen Barriere- und Schutzfunktionen, aber auch die für eine vitale Haut notwendigen Stoffwechselaktivitäten angesiedelt. Sie besteht aus mehreren Schichten von Keratinozyten, die sich in unterschiedlichen Stadien von Wachstum, Entwicklung und Alter befinden. Durch die Anwesenheit faserartiger Keratine (Skleroproteine) ist sie widerstandsfähig, zäh und elastisch federnd (66, 67). Die Anpassung an biomechanische Belastungen wird vermutlich durch die Bildung eines suprazellulären Stützgewebes gewährleistet. Tonofilamente (Intermediatfilamente des Zytoskeletts der Keratinozyten) scheinen dabei ein integraler Bestandteil dieses strukturellen Netzwerkes zu sein (68), das neben Hemidesmosomen und Desmosomen auch die Basalmembran einschließt. Diese Netzstruktur trägt u.a. zur Stabilisierung der strukturellen Integrität der einzelnen Keratinozyten, der Keratinozyten untereinander sowie der Epidermis bei (68 - 70).

Bestimmte Bereiche der Proteinstrangdomäne (Primärstruktur) der Tonofilamente scheinen an der Übertragung spezifischer funktioneller Eigenschaften beteiligt zu

sein, die für die Bildung des jeweiligen differenzierten Zelltyps in der Oberhaut und ihre Flexibilität erforderlich sind (71). Glyzinreiche Domänen von Untereinheiten des Keratins sind hochflexibel und stehen mit anderen Strukturen (u.a. mit Proteinen aus den Keratohyalingranula) in Wechselwirkung. Diese als Glyzin-Loops (Schleifen) bezeichneten Proteinstrukturen sichern die Beweglichkeit und die Dehnfähigkeit dieser Schicht (69, 71).

Die Viskoelastizität innerhalb der Epidermis ist ebenfalls mit der Anwesenheit von Wasser bzw. Schweiß assoziiert (66, 72), so daß der Hydratationszustand Einfluß auf ihre biomechanischen Eigenschaften nimmt. Nach Hartung (66) trägt die Epidermis wenig zum Dehnungswiderstand bei, aber ihr Beitrag zum Reibungswiderstand ist von Bedeutung. Durch die geringe Dicke der Oberhaut, die mit 10-22 µm (66) bzw. 50 bis 150 µm (73) angegeben wird, und der Verzahnung mit dem Stratum papillare ist bei Zugbelastungen von einer Übertragung auf unterliegende Schichten auszugehen. Aus diesem Grund ist es letztlich schwer, die Einflüsse der Epidermis von denjenigen der Dermis zu trennen (66).

Die biomechanischen Funktionen der Epidermis werden hauptsächlich dem Stratum corneum (SC) zugeschrieben (66). Es besteht aus einer kompakten Masse metabolisch inaktiver Korneozyten, die in eine extrazelluläre Matrix lamellarer Lipiddoppelschichten eingebettet sind. Diese Struktureigenschaften des SC sowie die lipophile Natur der Lipidbarriere schützen die Haut maßgeblich vor einem erhöhten transepidermalen Wasserverlust (TEWL).

Untereinander sind die Korneozyten über Desmosomen und insbesondere an der Hautoberfläche durch finger- oder blattförmige Fortsätze miteinander verzahnt (69). In der unteren Hornschicht bestehen die Korneozyten aus einer Plasmamembran, die von einer undurchdringlichen mit Keratin-Makrofibrillen gepackten Hornhülle umgeben ist (69). Im oberen SC verschwindet die Plasmamembran einschließlich ihrer Desmosomen und wird durch die unlösliche Hornhülle ersetzt. Agache (74) hebt in Übereinstimmung mit Lévêque et al. (75) und Hartung (66) den großen Einfluß des SC auf die Hautsteifigkeit und die elastische Erholung der Haut hervor. Auch die Untersuchungen von Christensen et al. (76), Hargens (77 - 80), Loden (73) und Wilhelm (N81) bestätigen den Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes der Hornschicht auf die viskoelastischen Eigenschaften intakter menschlicher Haut.

### Bereich der dermalen-epidermalen Grenzfläche

Die definierte Abgrenzung der Oberhaut von der Lederhaut, die *dermoepidermale junction*, erfolgt durch höckerförmige Ausstülpungen (Papillen) der Dermis in die Epidermis. Wahrscheinlich wird die Basalmembran von den basalen Keratinozyten erzeugt. Letztere produzieren Hemidesmosomen, die über Transmembranproteine mit den Keratin-Filamenten auf der zytoplasmatischen Seite der Basalzellen wechselwirken, Ankerfilamente sowie die Basalmembran überkleidenden dünnen und porösen Schichten *Lamina densa* und *Lamina lucida*. Die Lamina lucida enthält Glykoproteine (u.a. Laminin), die für die Zelladhäsion zwischen epidermalen Zellen und der Lamina densa von Bedeutung sind (68, 71, 82). Die Lamina densa fungiert darüber hinaus als Filter und strukturelles Gerüst für die Bindung von basalen Keratinozyten auf der epidermalen Seite und der Elastin-Kollagenmatrix auf der dermalen Seite. Kollagentyp VII enthaltende Ankerfibrillen (anchoring fibrils), die mit großer Wahrscheinlichkeit in der Lamina densa entstehen (69, 82), verknüpfen direkt dermales, in den Fibroblasten synthetisiertes Kollagen bzw. die Kollagen-Elastin-Matrix über Anker-Plaques mit der Lamina densa. Das elastische Netzwerk ist mit der basalen Lamina über die präterminalen Elaunin- und terminalen Oxytalan-Fasern (Bündel von Mikrofibrillen, die den amorphen Kern der reifen elastischen Fasern umgeben) verbunden (69).

### Dermis

#### *- Matrix -*

Hsu et al. (51) vertreten die Ansicht, daß die viskoelastischen Eigenschaften des kollagenen Fasernetzwerkes der Haut von den Interaktionen zwischen den makromolekularen Komponenten in der extrazellulären Matrix beeinflusst werden. Die Matrix hat die Eigenschaften eines Kolloids, d.h. sie ist wasserunlöslich, kann aber Wasser binden und stellt ein viskoses Material dar (66). Von den viskosen Anteilen der Viskoelastizität wird angenommen, daß sie in jedem Fall von den Komponenten der amorphen Grundsubstanz abhängig sind (62, 63). Die Matrix beinhaltet Glukosaminoglykane, die, teilweise an Peptidketten geknüpft, die Proteoglykane (Makromoleküle) bilden, welche insbesondere durch ihre Wasserbindungsfähigkeit für die Hydratation verantwortlich sind (62, 82). Wahrscheinlich klebt das

Chondroitinsulfat insbesondere die kollagenen Fasern zu Bündeln zusammen, während die Hyaluronsäure als „Schmiermittel“ dient, damit die elastischen und kollagenen Fasern bei Dehnungsvorgängen aneinander vorbei gleiten (50, 66). In einem in vitro-Test mit nativem Typ 1 Kollagen-Gel als Analog für das Bindegewebe der Haut konnten Hsu et al. (51) die Beziehung zwischen biomechanischer Festigkeit und der Morphologie der Fibrillen zeigen. Es wurde demonstriert, daß assoziative Interaktionen zwischen Dermatansulfat Proteoglykan und Hyaluronsäure mit Kollagenfibrillen und der Gehalt an Elastin die viskoelastischen Eigenschaften des modellhaften Kollagen-Gels modifizieren können. Fibronectin hingegen nimmt offensichtlich keinen Einfluß auf die Viskoelastizität des Gels (51).

Bei Änderungen im Gleichgewicht der Matrix verändern sich entsprechend die viskoelastischen Eigenschaften der Haut (50). Dabei steht das Verhältnis der Menge an Glykosaminoglykanen zu löslichem Kollagen in Beziehung zur Viskosität der Haut (63, 64, 66, 83, 84), die mit dem Alter abnimmt (50, 63). Infolge der Fähigkeit dieser Substanzklasse, Wasser zurückzuhalten, führt ein reduzierter Gehalt zu einem Abfall des Wassergehaltes in der Dermis und zu engeren interfibrillären Räumen zwischen kollagenen und elastischen Fasern (84). Von Östrogenen oder Progesteron ist bekannt, daß sie die Biosynthese von Hyaluronsäure steigern, deren erhöhter Gehalt eine Zunahme der Hautdicke und eine größere Hautausdehnung induziert (85, 86). Im Gegensatz dazu wird die Synthese von Glykosaminoglykanen bereits durch geringe Mengen von Glucocorticoiden innerhalb weniger Wochen gehemmt, was sich in einer signifikanten Abnahme der Viskosität widerspiegelt (4, 84).

Interessant ist die Beobachtung von Johnston et al. (87) und Uitto et al. (88), daß die Konzentration von Hyaluronsäure in sonnenexponierten Hautarealen mit zunehmendem Alter ansteigt, während sie in sonnengeschützten Hautbereichen abfällt. Verringerte Konzentrationen von Proteoglykanen bzw. Hyaluronsäure führen unweigerlich zu einem Verlust der dermalen Hydratation und sind an den Altersveränderungen der Haut beteiligt (88). Der Verlust an Grundsubstanz bei Altershaut führt nach Branchet et al. (89) zu einer Verdünnung der Dermis von etwa 6% pro Dekade.

- *Fasersysteme* -

Die unterschiedlichen Fasernetze der Dermis verlaufen in paralleler Ebene und tragen sowohl aufgrund ihrer elastischen als auch viskosen Eigenschaften zur Ausdehnung des Gewebes als Ganzes bei (44, 58). Die Elemente umfassen Kollagenfasern, Kollagenbündel, elastische Fasern und Grenzflächen (44, 58), die zur Subcutis hin eine relativ lockere Verbindung, in Richtung Epidermis hingegen eine reißverschlußähnlich verzahnende Verbindung darstellen.

Purslow et al. (53) konnten zeigen, daß das Bindegewebe generell viskoelastisch ist und zeitabhängige Eigenschaften aufweist. Die zeitabhängige Reorientierung der Kollagenfasern scheint für die Viskoelastizität des Bindegewebes aber nicht hauptsächlich verantwortlich zu sein (53). Vielmehr läßt die nichtlineare, dehnungabhängige Spannungs-Entspannungs-Antwort in diesen Geweben annehmen, daß Relaxationsvorgänge innerhalb der Kollagenfasern oder an der Grenzfläche zwischen Fasern und Matrix für die viskoelastischen Eigenschaften verantwortlich sind (53). Sasaki et al (52) schlußfolgern aus ihren Experimenten auf die Existenz einer viskoelastischen Komponente innerhalb des Kollagenmoleküls und nehmen an, daß die Viskoelastizität in Beziehung zu dem Wasserstoffbindungsnetzwerk im Kollagenmolekül steht.

Kollagenfasern stellen ein relativ dehnsteifes, fibröses Material von außerordentlich hoher Reiß- und Zugfestigkeit dar. Für gewöhnlich liegt die Reißfestigkeit bei 12 % (66). Reiß- und Zugfestigkeit werden durch die Grundeinheit des Kollagens, der aus festen Bindungen bestehenden Trippel-Polypeptidkette gebildet. Das rheologische Verhalten der Kollagenfasern ist viskoelastisch (50, 53). Sie verhalten sich wie ein kristallines Material (66). Ist die Haut entspannt, so liegen die Kollagenfaserbündel als lockeres, schlaffes und gewelltes Netzwerk vor und sind vorerst nicht in der Lage, Spannungen zu übertragen (50, 66). Sobald das Gewebe jedoch eine Dehnung erfährt, setzt eine gerade Ausrichtung und Dehnung dieser Fasern in Richtung der Hauptdehnung ein. Infolgedessen entwellen sich die Kollagenfasern (siehe Abbildung 10). Steigt die Zugspannung, werden zunehmend mehr Kollagenfasern rekrutiert und gedehnt, so daß sie zur Übertragung der Spannung beitragen (58, 66). Parallel dazu steigt die Widerstandskraft, die proportional zur Spannung ist, und erreicht ihr Maximum bei vollständiger Dehnung der Fasern.

Eine Dehnung der Haut über ihre natürliche Dehnfähigkeit hinaus resultiert in einem mechanischen Kriechen (50), da Wasser aus dem Kollagennetzwerk verlagert bzw. verschoben wird und die Haut viskoser macht (90, 91).

Altersabhängige Veränderungen im kollagenen Fasernetzwerk sind variabel; grundsätzlich wird mit zunehmendem Alter das einzelne Kollagenfaserbündel im Mittel schmaler (50, 86). Die Synthese des Kollagens vom Typ 1, das sowohl für das Bindegewebe als auch die Basalmembran bedeutsam ist, nimmt deutlich ab (50) und der absolute Kollagengehalt fällt ebenfalls ab (50, 86).

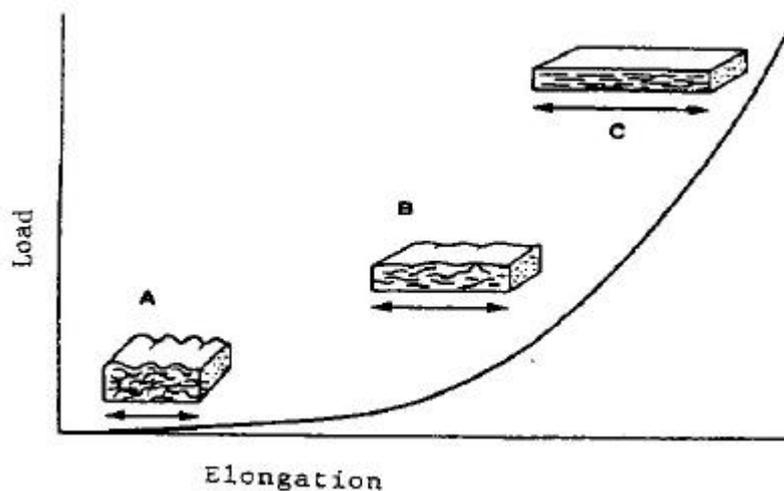


Abb.10: Im entspannten Zustand sind die Kollagenfasern gewellt. Bei einer Dehnung der Haut werden die Kollagenfasern gestreckt. Sie entwellen sich und richten sich parallel zueinander aus; entnommen aus Brody (92).

Für die Rückstellung der Kollagenfasern in ihren relaxierten Zustand sind die elastischen Fasern verantwortlich (90, 93). Sie sind wesentlich dünner als Kollagenfasern, bestehen aus Elastin und mikrofibrillären Proteinen und stellen eine weitere wichtige strukturelle Komponente des Bindegewebes dar (50, 94). Es handelt sich um ein gummiartiges, hoch dehnbares und extrem unlösliches Material, das bis auf das 2- bis 3-fache seiner Ausgangslänge gedehnt werden kann, jedoch nur 1/25 der Festigkeit von Kollagen besitzt (66).

Elektronenmikroskopisch zeigt sich keine innere Ordnung der elastischen Fasern. Es wird daher angenommen, daß die Proteinfibrillen innerhalb der Fasern ungerichtet sind und so dem elastischen Hautgewebe die außerordentlich hohe Dehnbarkeit

verleihen (66). Histopathologische und elektronenmikroskopische Studien zeigen weiterhin, daß elastische Fasern mindestens aus zwei unterschiedlichen Proteinen zusammengesetzt sind: Elastin und die mikrofibrilläre Komponente sowie Oxytalan- und Elaunin-Fasern. Oxytalan-Fasern haben einen hohen Anteil an Mikrofibrillen mit wenig Elastin, während Elaunin-Fasern einen höheren Anteil an Elastin in den Mikrofibrillen haben.

Balin et al. (95) faßt in Übereinstimmung mit Bouissou et al. (96) die Veränderungen der elastischen Fasern während des fortschreitenden Alterungsprozesses wie folgt zusammen:

- *30.-50. Lebensjahr:* fortschreitender Schwund subepidermaler Oxytalan-Fasern und Abnormitäten bei Elaunin- und elastischen Fasern;
- *50.-70. Lebensjahr:* Abwesenheit von Oxytalan-Fasern in der papillären Dermis, progressive Abnormitäten bei Elauninfasern und elastischen Fasern; Beginn blasiger Zwischenräume innerhalb der elastischen Matrix;
- *> 70 Jahre:* größere blasige Zwischenräume in der elastischen Matrix, Anwesenheit von separierten Mikrofibrillen, dünnerem elastischen Kern und Verklumpungen von dichten mikrofibrillären Arealen.

Diese Modifikationen bedingen bekannte Veränderungen der biomechanischen Hauteigenschaften wie Schlaffheit, schlechtes und verzögertes Zurückziehen der Haut nach einer vorangegangenen Dehnung sowie die Ausprägung feiner Falten (94).

Unter biomechanischer Betrachtungsweise muß die intrinsische Hautalterung (Zeitaltern) von der lichtinduzierten, extrinsischen Hautalterung (Umweltaltern; Photoaging) differenziert werden, da die jeweiligen Mechanismen sowohl auf biologischer, biochemischer als auch auf molekularer Ebene völlig unterschiedlich sind. Eine lichtinduzierte Schädigung elastischer Fasern ist infolge der solaren Elastose und reduzierten Viskoelastizität durch grobe Falten und Furchen sowie eine schlaffe und lederartige Haut charakterisiert (94). Histopathologisch liegt nahe der Basalmembran eine Zone dicht gepackter Kollagenbündel. Sowohl das mikrofibrilläre als auch das elastische Netzwerk ist durch das Auftreten von feinem, amorphem,

granulärem elastischen Material sowie durch die Akkumulation von Glykosaminoglykanen unterbrochen (86, 88). An sonnenexponierten Hautstellen sind infolge der UV-Belastung sowie der natürlichen Alterung die Veränderungen überlagert. Die Organisation des elastischen Fasernetzwerkes ist in einem größeren Umfang gestört, als es bei der natürlichen, intrinsischen Hautalterung allein beobachtet wird.

Zusammenfassend bleibt folgendes festzuhalten:

→ Die Haut zeigt elastische und viskose Eigenschaften und ihr rheologisches Verhalten ist viskoelastisch. Typische viskoelastische Eigenschaften sind **nichtlineare Spannungs-Dehnungs-Beziehungen** mit **Hysterese**. Das bedeutet, daß die Spannungs-Dehnungs-Kurve, die man durch eine Belastung bzw. Verformung des „Materials“ Haut erhält, nicht von der Kurve übertroffen werden kann, die durch die elastische Rückstellung bei der Entlastung erreicht wird (4, 50, 53, 62, 97) (siehe Abbildung 11). Das Areal zwischen diesen beiden Kurven, die Hysterese, repräsentiert die während der Dehnung verbrauchte Energie (50).

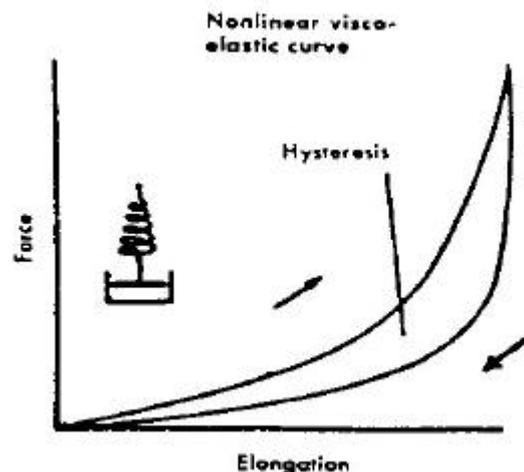


Abb.11: Spannungs-Dehnungs-Kurve bei einem viskoelastischen Material; entnommen aus Brody (92).

→ Wird die Haut konstant belastet, stellt sich eine zeitabhängige wachsende Verformung ein, die als mechanisches Kriechen bzw. **Kriechphänomen** oder **Fließen** bezeichnet wird (siehe Abbildung 12) (50, 53).

→ Weiterhin erweist sich die Dehnbarkeit der Haut als **anisotrop** (44, 63, 65, 66, 76, 98).

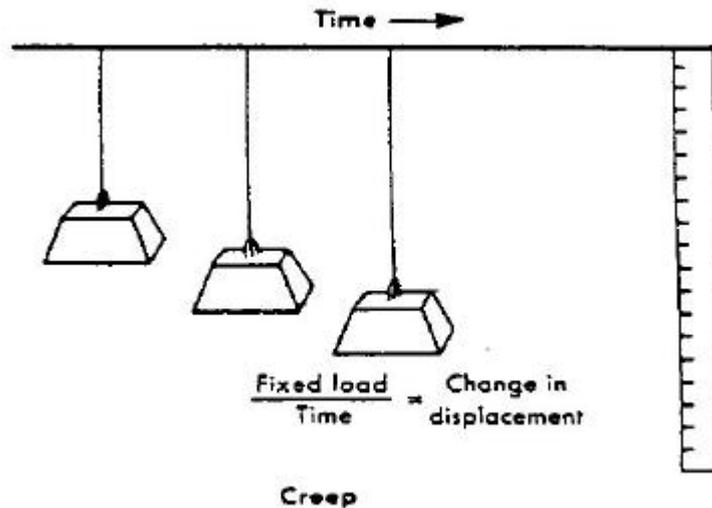


Abb.12: Mechanisches Kriechen: Die Dehnung eines Materials (z.B. der Haut) unter einer konstanten Belastung über eine bestimmte Zeit; entnommen aus Brody (92).

Durch die außerordentliche Komplexität des viskoelastischen Hautgewebes können die biomechanischen Phänomene bis dato noch nicht eindeutig den einzelnen Hautkompartimenten zugeschrieben werden. Aus bisherigen Untersuchungen kann vorerst festgestellt werden:

- die **Elastizität** wird in erster Linie durch Kollagen und elastische Fasern,
- die **Viskosität** durch die innere Reibung der
  - ⇒ Bindegewebszellen untereinander,
  - ⇒ Zellen und Kollagenbündel,
  - ⇒ Kollagenfasern innerhalb der Bündel untereinander und
  - ⇒ Komponenten der dermalen Grundsubstanz repräsentiert.

Daneben leistet die Epidermis einen nicht zu vernachlässigenden Beitrag am Reibungswiderstand. Ihr Gehalt an Feuchtigkeit und an Lipiden beeinflusst den viskosen Widerstand gegenüber einer Verformung.

Interne und externe Einflußgrößen, wie Geschlecht, Alter, Körperregion, Hautdicke, genetische Faktoren (die die Hautbeschaffenheit bestimmen), begleitende oder

vorherige Krankheiten, Präsenz von Ödemen, Kollagengehalt, Sonnenexposition sowie das berufliche Betätigungsfeld nehmen maßgeblich Einfluß auf die Hautfunktionen (4, 58, 60, 62, 99 - 105) und erschweren damit die exakte Determination des biomechanischen Verhaltens der menschlichen Haut in vivo.

## 4 Nicht-invasive Untersuchungsmethoden - Stand der Biomedizinischen Technik

### 4.1 Biomechanische Meßmethoden

Die Dehnfähigkeit, Zugbelastbarkeit, Viskoelastizität sowie die Fließeigenschaften der Haut sind bei Hautmessungen von vorrangigem Interesse (44), wobei in vivo die Reaktion der Haut auf externe Dehnungskräfte, Scherung, Torsion, Kompression oder Indentation evaluiert werden und die Resultate Informationen über die Funktion und die Kinetik von Änderungen biomechanischer Hauteigenschaften geben (44).

Nicht-invasive Untersuchungsmethoden lehnen sich im wesentlichen an gebräuchliche Werkstoffprüfungen bzw. Materialprüfungsverfahren der Biomedizinischen Technik an und dienen der Bestimmung des Verhältnisses von applizierter Kraft zu resultierender Deformation. Demzufolge wird die Haut anhand von *Spannungs-Dehnungs-Kurven* analysiert und dabei der Versuch unternommen, eine Korrelation von biomechanischen Modulen zu den strukturellen Komponenten der Haut herzustellen, um u. a. neue Erkenntnisse über Hauterkrankungen, die Prozesse intrinsischer und extrinsischer Alterung, sowie über die Wirksamkeit extern applizierter Agenzien zu erhalten.

Die Verfahren lassen sich im wesentlichen unterteilen in

- **Saugmethoden (Elongation),**
- **Verdrehungen (Torsion),**
- **Eindruckversuche (Indentometrie),**
- **Ziehversuche (Lewarometrie),**
- **einachsige Scherbelastungen (Extensometer),**
- **dynamische Zugbelastungen (Elektrodynamometer).**

Bei Messungen der biomechanischen Eigenschaften der Haut wird der Spannungs-Dehnungs-Modus eingesetzt. Um zu verstehen, welche Faktoren beteiligt sind, muß an die Tatsache erinnert werden, daß die Haut als viskoelastisches Material aus viskosen

und elastischen Elementen besteht (siehe Kap. 3). Deshalb sind die mechanischen Module, die zur Festlegung gesucht werden, infolge der großen viskosen Komponenten des Moduls signifikant verhältnisbezogen. Mit anderen Worten, eine zu beobachtende Dehnung der Haut wird von der Geschwindigkeit abhängen, mit der eine Kraft appliziert wird. Dies ist der Grund, warum man sich nicht mit der in früherer Zeit primär vorgenommenen statischen Messungen zufrieden gegeben hat, da diese nicht das dynamische Verhalten erklären, das die Hautqualität beeinflusst (76).

Trotz der vielen Erkenntnisse, die aus der Anwendung zahlreicher Meßmethoden gewonnen wurden, weichen die Ergebnisse bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt voneinander ab (1, 32, 58). Ursächlich sind neben interindividuellen Variationen und der Schwierigkeit, Vergleiche aufstellen zu können, die fehlende Standardisierung der Meßsysteme. Die Belastungsrichtung der uniaxial oder biaxial orientierten Kräfte bestimmt nicht nur die Ausrichtung der Hautdehnung, sondern auch die Einbeziehung verschiedener Gewebeschichten und beeinflusst damit deutlich die Resultate der biomechanischen Hauttests (32, 58, 106).

Aus der Biomedizinischen Technik gingen in den letzten Jahren kommerziell erwerbbar, computergestützte Geräte hervor:

*Derma Torquemeter*<sup>®</sup> (Dia Stron Ltd., Andover England),

ein Drehmoment-Meßgerät, das auf dem Prinzip der dynamischen

Hautverdrillung basiert:

⇒

**Torsionsmethode**

*Cutometer SEM 575*<sup>®</sup> (Courage-Khazaka, Köln, Deutschland)

*Dermaflex*<sup>®</sup> (Cortex Technology, Hadsund, Dänemark),

Geräte, welche die vertikale Deformationen der Haut nach Ansaugen in die

Öffnung einer Meßsonde messen:

⇒

**Elongationsmethoden**

Da die erstgenannte Elongationsmethode in die klinische Anwendungsstudie einbezogen wird (siehe Kap. 6) und beide Methoden nach Piérard et al. (2) und anderen Forschern eine deutliche Verbesserung im Bereich biomechanischer Hautmessungen darstellen, werden nachfolgend ihr Meßprinzip und ihre Meßergebnisse ausführlich

erläutert. Im Anschluß findet eine Beschreibung von Lewarometer, Extensometer und Elektrodynamometer statt.

Eine tabellarische Übersicht über weitere, für kosmetische Wirksamkeitsprüfungen herangezogene Untersuchungsmethoden ist Kapitel 4.2 zu entnehmen.

#### **4.1.1 Saugmethoden (Suction/ Elongation)**

##### **4.1.1.1 Cutometer SEM 475/ 575<sup>®</sup>**

###### Meßprinzip

Das Cutometer SEM 575<sup>®</sup> ist ein Nachfolgegerät des Cutometer SEM 475<sup>®</sup>, dem bereits das gleiche Meßprinzip zugrunde lag. Im Gerät wird ein Unterdruck erzeugt, der von 20 bis 500 mbar variabel einstellbar ist und während des Meßvorganges einige Millimeter der obersten Hautschichten anzieht (23). Dabei wird die Eindringtiefe der Haut in die Öffnung der Meßsonde durch ein optisches Meßsystem berührungslos erfaßt. Das optische Meßsystem besteht aus einem Lichtsender und einem Lichtempfänger sowie zwei gegenüberliegenden Glasprismen, die das Licht vom Sender zum Empfänger leiten. Das Lichtverhältnis wird proportional durch die Eindringtiefe der Haut verändert, d.h. das optische System mißt in Abhängigkeit der Hauteindringung die Abnahme der Lichtintensität eines infraroten Lichtstrahls.

Die Meßdaten, die mit einem Cutometer aufgenommen werden, sind von vielen Parametern abhängig: Oberfläche des Testareals (2), Alter und Geschlecht der Probanden (58), anatomische Region (58) und Hautbefund (100, 107 - 110). Ebenso beeinflußt die Stärke der auf die Haut einwirkenden Saugkraft (33, 58, 111), sowie die Größe der Meßsonde das Ergebnis (2).

###### Die Meßsonde

Die Sonde beinhaltet die Meßoptik und die Auswertungselektronik und ist durch einen speziellen Luftschlauch mit dem Gerät verbunden. Sie hat ein Eigengewicht von 90 g und wird vertikal mit einem konstanten Druck auf die Meßstelle appliziert ( $50 \text{ g/cm}^2$  oder  $2 \cdot 10^3 \text{ N/m}^2$ ). Eine Federvorrichtung (Druckfeder) innerhalb der Sonde sichert den

konstanten Druck auf die Hautoberfläche. Das optische System wurde mit einem Mikrometer (von 0 bis 3,0 mm) kalibriert und erfaßt nach Barel (111) die Verformung der Haut mit einer absoluten Genauigkeit von 0,01 mm. Die Haut, die der Öffnung der Sonde anliegt, wird mit Hilfe eines äußeren Halteringes in Position gehalten.

In seiner ursprünglichen Konfiguration wurde die Saugmethode mit einer Standardmeßsonde, die einen Öffnungsdurchmesser von 2 mm (Meßareal von ca. 3 mm<sup>2</sup>) hatte, ausgestattet (siehe Abbildung 13). Daneben sind inzwischen jedoch weitere Sonden mit 4, 6 und 8 mm verfügbar.

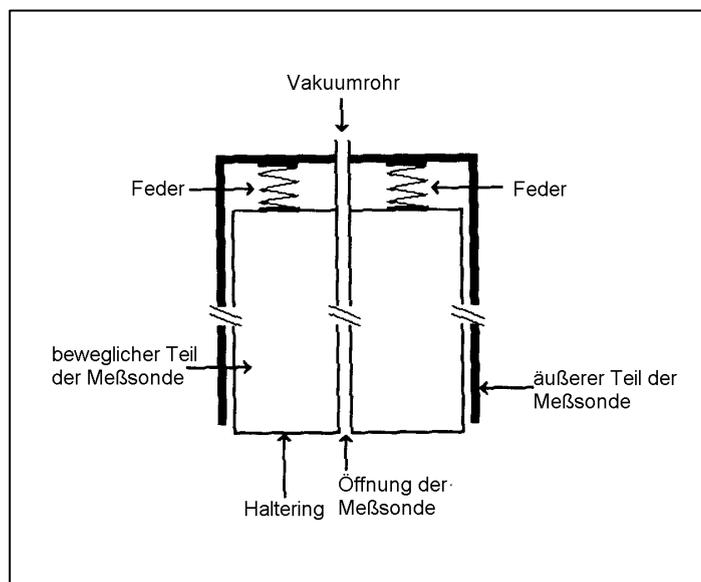


Abb.13: Schematische Darstellung der Standardmeßsonde des Cutometer® mit einem Öffnungsdurchmesser von 2 mm; entnommen aus Barel et al. (111).

Für den variabel einstellbaren Unterdruck wird eine relative Genauigkeit zwischen 10% für Werte von 20 bis 100 mbar bis zu 5% für größere Werte (100 bis 500 mbar) angegeben (111).

Für die Arbeit mit dem Cutometer SEM 575® muß das Gerät über eine serielle Schnittstelle RS-232-C an einen IBM-kompatiblen PC, Version AT, angeschlossen werden. Eine Standard-Kontrollsoftware steuert die Apparatur und wird vom Hersteller geliefert. Die Software (aktuelles Softwareprogramm: Cuto, Version 5.3) erlaubt die Speicherung folgender Daten:

Probandennummer,  
Zeit der Untersuchung,  
Hautareal,  
relative Luftfeuchtigkeit,  
Umgebungstemperatur,  
Typ der Meßsonde,  
Modus der Meßtechnik.

Zusätzlich gestattet das grafische Display unter Benutzung eines variablen Cursors die Berechnung von individuellen Mittelwerten auf den gemessenen Kurven.

### Meßmodi

Grundlegend sind mit dieser Art von Saugmethode zwei verschiedene Meßtechniken (Dehnungs-Zeit- und Spannungs-Dehnungs-Modus) verfügbar, bei denen in jedem Modus die Wahl des Vakuums (von 50 bis 500 mbar), die Dauer der Messung (von 0.1 bis 320 Sek.) und die Anzahl der Meßzyklen (von 1 bis 163) vorgegeben werden kann.

#### **1. Dehnungs-Zeit-Modus (*strain-time-mode*)**

Bei diesem Modus wird die Deformation der Haut als Funktion der Zeit (Zeitkurve) angezeigt (siehe Abbildung 14).

Der Dehnungs-Zeit-Modus, der am *häufigsten für biomechanische Studien an menschlicher Haut verwendet wird*, bietet eine Auswahl von 4 Meßmethoden an, die das Ergebnis der Wahl verschiedener Unterdruckeinstellungen während einer gewählten Zeitperiode von 0.1 bis 60 Sekunden sind:

- Messungen mit konstantem Unterdruck;
- Messungen mit linear ansteigendem und abfallenden Unterdruck;
- Messungen mit zunächst konstantem und dann linear abfallenden Unterdruck;

- Messungen mit linear ansteigendem Unterdruck und abrupten Wegfall des Unterdruckes.

Die beiden letztgenannten haben in der Literatur bis dato kaum Beachtung gefunden.

Beim Dehnungs-Zeit-Modus wird der Unterdruck für eine Zeitperiode von 2-10 Sekunden angesetzt (am häufigsten 5 Sekunden), gefolgt von einer Relaxationsphase von 3-10 Sekunden (häufig 3-5 Sekunden). Die Anzahl der aufeinanderfolgenden Meßzyklen kann variabel eingestellt werden und variiert in aktuellen Untersuchungen von einem Zyklus (Cua et al., 1990; Krusche et al., 1995) bis zu drei Zyklen (Deleixhe-Mauhin et al., 1994; Viatour et al., 1995; Piérard et al., 1995; Ennen et al., 1995; Enomoto et al., 1996).

### *Deformationsparameter*

Obwohl verschiedene Arten von Belastungen mit Saug- und Torsionsgeräten gemessen werden, sind die entsprechenden Kurvenverläufe beider Verfahren sehr ähnlich (112) und die Meßparameter werden häufig identisch berechnet.

Die *Deformationsparameter*, die am häufigsten zur Beschreibung der verschiedenen Anteile der Meßkurven herangezogen werden, sind die von Aubert et al. (113) und Escoffier et al. (6) vorgeschlagenen: **UE**, **UF**, **UV** und **UR**. Diese biomechanischen Parameter werden von einigen Forschergruppen zum Teil anders benannt [siehe Bezeichnung in Klammerstellung] und seit einigen Jahren auch weitreichender berechnet (2, 23, 61, 100, 105, 106), so daß sie der Vollständigkeit halber alle aufgeführt werden. Es wird dabei der Versuch unternommen, die Meßparameter in Beziehung zu elastischen und viskosen Komponenten der Haut zu setzen.

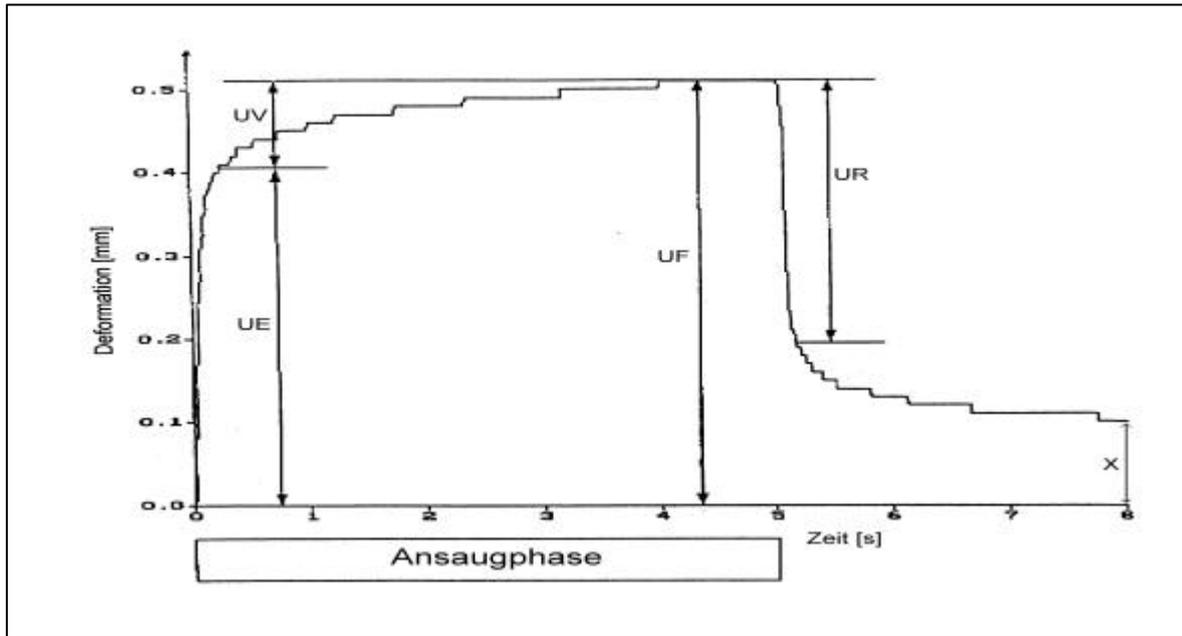


Abb.14: Grafische Darstellung einer Dehnungs-Zeit-Kurve mit den entsprechenden Deformationsparametern zur Beschreibung der verschiedenen Anteile der Meßkurve. Die Hautmessung erfolgte an der Unterarmhaut mit dem Cutometer SEM 575<sup>®</sup>: 500mbar Unterdruck, Meßsonde mit 6 mm Durchmesser, 1 Saugzyklus (5 Sek. Deformation, gefolgt von 3 Sek. Relaxation).

### UE [ED1]

ist nach Verabreichung einer äußerlich aufgetragenen Kraft die **sofortige elastische Deformation** der Haut während des ersten Ansaugens (112, 114). Der Parameter kennzeichnet den ersten Teil des linear ansteigenden Kurvenanteils und wird nach ca. *0,11 - 0,15 Sekunden* gemessen.

Die Auslenkung der Haut ist noch so schwach, daß viskose Elemente noch nicht zum Tragen kommen. Folglich werden in erster Linie elastische Komponenten der Verformung sichtbar (61) und der elastische Anteil der Viskoelastizität reflektiert. In dieser Phase der Hautdeformation tritt eine Längenausdehnung aller Fasern (Kollagen, Elastin) und Faserbündel ein. Zusätzlich können nach Ennen et al. (61) erste Veränderungen der räumlichen Anordnung des Bindegewebes und der Matrix postuliert werden. Der Bereich der "reinen Elastizität" sollte möglichst groß sein, damit die Hautdehnung weitgehend reversibel ist.

**UV [ / ]**

kennzeichnet den zweiten Teil der ersten Meßkurve bis zum Ende der Belastung und stellt die **verzögerte Deformation** bzw. das **vorübergehende Kriechen** der Haut dar (114).

Nun wird vorwiegend der viskose Anteil der Viskoelastizität dargestellt, der durch die innere Reibung einiger Hautkomponenten gegeneinander bedingt ist (61). Gewellte Kollagenfasern werden gedehnt und eine hohe innere Reibung in den Eiweißfasern setzt ein. Bei überwiegend elastischen Materialien ist demzufolge dieser Kurvenanteil kaum sichtbar. Unter energetischen Gesichtspunkten wird in dieser Dehnungsphase nicht die gesamte Energie in Ausdehnungsarbeit umgesetzt, sondern offensichtlich gibt es hier Teile von plastischer oder temporär plastischer Verformung (112).

Herauszustellen ist, daß zu jedem Zeitpunkt der Belastung immer ein elastisches Stretching von Hautstrukturen und gleichsam eine innere Reibung zwischen diesen Elementen stattfindet. Damit repräsentieren die Parameter UE und UV - wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß - elastische und viskose Anteile.

**UF [MD1]**

stellt die **maximale Hautdeformation** am Ende des ersten Saugzyklus dar. Infolge des ständigen Anstiegs der zeitabhängigen Hautdeformation nach der Anwendung einer verabreichten Belastung (Kriechen), erreicht die maximale Deformation keinen konstanten Plateauwert. Als Konsequenz wird UF normalerweise nach einer konstanten Zeitperiode des Unterdruckes von *5 - 10 Sekunden* gemessen.

Die Gesamtauslenkung umfaßt elastische und viskoelastische Houteigenschaften. Unter energetischen Gesichtspunkten stellt dieser Parameter das Gesamtmaß für die von der Haut elastisch und quasi-elastisch aufgenommenen Energie dar (61).

**UF<sub>(3)</sub> [MD3]**

ist die maximale Deformation der Haut am Ende des dritten Meßzyklus.

**UR [ER1]**

ist das sofortige **elastische Rückstellvermögen**, d.h. die **unmittelbare elastische Erholung** der Haut nach Beendigung des Vakuums und wird ca. nach *5,1 Sekunden* (bzw. 0,1 Sek. nach Beendigung der Ansaugphase) gemessen.

UR drückt die Fähigkeit der Haut aus, aufgenommene Energie wieder elastisch abzugeben (61). Erneut wird die Bewegung der Haut durch innere Friktion (Viskosität) erschwert. Die Elastinfasern ziehen sich zusammen und die Kollagenfasern knäulen sich wieder auf. Eine Rückkehr in den Ausgangszustand tritt aufgrund der typischen viskoelastischen Hauteigenschaften der Haut nur sehr langsam ein.

**X [RD1]**

ist die **verbleibende Deformation** bzw. Dehnung der Haut am Ende des ersten Saugzyklus und wird nach ca. 10 Sekunden gemessen.

Die durch die angelegte Spannung resultierende Deformation der Haut, die in Form einer quasiplastischen Verformung vorliegt, bildet sich nun vergleichsweise sehr langsam zurück. Die Entspannung nähert sich einem Grenzwert an, der ungleich Null ist, d.h. eine Rückkehr in die Ursprungslage auf dem gleichen Weg und in den gleichen Zustand ist nicht möglich. Der Parameter ist ein direktes Maß dafür, wie irreversibel der Dehnungsprozeß war. Unter energetischen Gesichtspunkten kann er als Maß für die während der Hautauslenkung verlorengangene Energie angesehen werden, die in Verformungsenergie umgewandelt wurde. Damit wird die Geschmeidigkeit der Haut dargestellt (61).

Werden mehrere Meßzyklen auf der gleichen Hautstelle durchgeführt (zur Mittelwertbildung empfehlen sich mindestens 3 Zyklen), zeigen die zweite und

dritte Dehnungs-Zeit-Kurve einen ähnlichen Verlauf wie die erste. Allerdings steigen die Kurven infolge der zunehmend langsameren Rückkehr der Haut in ihren Originalzustand fortlaufend vertikal an (111).

Alle absoluten Deformationsparameter sind komplexe Funktionen der Dicke der Haut und der Subcutis und können deshalb nicht interindividuell verglichen werden. Escoffier et al. (6) weisen deshalb ausdrücklich darauf hin, daß aufgrund signifikanter Differenzen in der Hautdicke zwischen den Geschlechtern und zwischen dem Alter die Verwendung dieser "äußeren" Deformationsparameter für Vergleichsstudien nicht adäquat ist. Folglich

- ⇒ wird ein intrinsischer Hautdeformationsparameter mit Berechnung der korrespondierenden Hautdicke herangezogen, oder
- ⇒ es werden Verhältnisse der extrinsischen Parameter berücksichtigt, die von der Hautdicke unabhängig sind, um zwischen verschiedenen Probanden und anatomischen Regionen Vergleiche anstellen zu können. Für Berechnungen haben sich die nachfolgend aufgeführten *Relativen Parameter* bewährt (23, 49, 58, 64, 99, 115):

### **UV/UE [VER]**

**[das viskoelastische Verhältnis; VER = MD1-ED1];**

es ist das Verhältnis von der Deformation viskoser Elemente zur Deformation elastischer Elemente in der Haut; d.h. die Relation von verzögerter (UV) zu sofortiger elastischer Ausdehnung (UE).

$$VER = 10^2 (MD1-ED1) ED1^{-1}$$

VER zeigt den relativen Beitrag der viskoelastischen sowie der elastischen Deformation an der maximale Verformung an (67).

Nach Krusche et al. (64) repräsentiert dieses Verhältnis insbesondere die Viskosität der Haut und ist der wichtigste Parameter, der beispielhaft den Beginn

eines Behandlungserfolges topisch applizierter Steroide auf das Keloidbindegewebe deutlich macht.

### **UR/ UE [EF]**

**[Elastische Funktion;  $EF = ER1/ED1$ ];**

hier handelt es sich um das Verhältnis zwischen unmittelbarer elastischer Erholung (UR) und sofortiger elastischer Ausdehnung (UE).

$$EF = 10^2 (MD1-ER1) ED1^{-1}$$

Dieses Verhältnis wird nach Cua et al. (58) und Escoffier et al. (6) als ein biologisch wichtiger Faktor zur Charakterisierung der Hautelastizität angesehen.

### **UR/ UF [RER]**

**[Relative Elastische Erholung;  $RER = ER1/MD1$ ];**

es beschreibt das Verhältnis zwischen sofortiger elastischer Rückstellung (unmittelbarer elastischer Erholung) und der maximalen Hautdeformation während der ersten Meßkurve.

$$RER = 10^2 (MD1-ER1) MD1^{-1}$$

RER wird als ein Maß für die elastische Erholung angesehen und repräsentiert nach Elsner et al. (59) und Krusche et al. (64) die Fähigkeit der Haut, sich nach einer Deformation in ihre Ursprungslage zurückzuziehen. RER korreliert mit der Funktion des elastischen Fasernetzwerkes (59), sowie nach Takema et al. (43) mit dem Zustand der kollagenen Fasern (64).

Cua et al. (58) weisen darauf hin, daß sich die relativen Parameter UR/UE und UR/UF gleichen, so daß zu Studienzwecken für gewöhnlich nur einer der beiden berechnet wird.

**X/UF [BE]****[Biologische Elastizität; BE = RD1/MD1];**

betrifft das Verhältnis zwischen der rückfedernden elastischen Ausdehnung [RD1] und der maximalen Ausdehnung während der ersten Meßkurve [MD1]. Es beschreibt die Relative Elastische Nachwirkung der Haut und basiert auf der Hysterese. Aus den Hystereseeigenschaften kann gemäß Both et al. (23) auf den Turgor der Haut zurück geschlossen werden.

$$BE = 10^2 (MD1-RD1) MD1^{-1}$$

**X/UF<sub>(3)</sub> [BE3]**

Ist die sogenannte „endgültige“ biologische Elastizität, die im dritten Meßzyklus bestimmt wird (61, 100):

$$BE3 = 10^2 (MD3-RD3) MD3^{-1}$$

**UF<sub>(3)</sub> - UF<sub>(1)</sub> [MD3-MD1]****[Hysterese oder Differentialausdehnung]**

beschreibt die unterschiedliche Gesamtauslenkung gemessen als Differenz zwischen der maximalen Hautdeformation im dritten Meßzyklus und der im ersten Meßzyklus. Dieser Parameter ist gemäß Berardesca et al. (116) am stärksten von den viskoelastischen Eigenschaften der Dermis abhängig und steht in Beziehung zur Grundsubstanz und dem Gehalt an Glukosaminoglykanen.

$$DD (\mu\text{m oder mm}) = UF_{(3)} - UF_{(1)}$$

Die beiden letztgenannten Parameter werden erst seit wenigen Jahren von einigen Untersuchern herangezogen (2, 82, 106).

Für eine normale Haut scheinen nach Piérard et al. (2) sowie Enomoto et al. (105) die biomechanischen Parameter UF sowie X/UF am wichtigsten zu sein. Die größten Veränderungen der Haut im Alter betreffen den Anstieg des Verhältnisses UV/UE und

die Abnahme der Relativen Elastischen Erholung, charakterisiert durch den Quotienten UR/UF (58).

## 2. Der Spannungs-Dehnungs-Modus (stress-strain-mode)

Bei diesem Modus wird die Verformung der Haut in Abhängigkeit von der Spannung (Vakuum im mbar) angezeigt. Sie wird während des linearen Anstiegs des Vakuums (von 0 bis max. 500 mbar) und darauffolgend während des linearen Abfalls des Vakuums gemessen. Die resultierende grafische Darstellung kann als Spannungs-Dehnungs-Kurve wiedergegeben werden (siehe Abbildung 15).

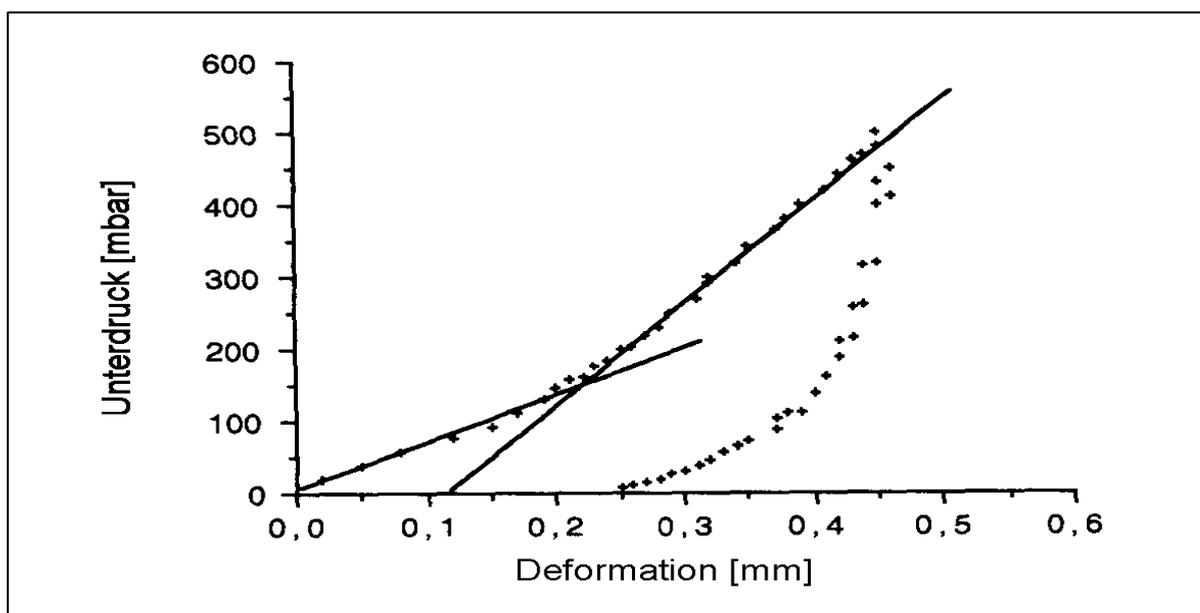


Abb.15: Grafische Darstellung einer typischen Spannungs-Dehnungs-Kurve (stress-strain-mode) von der Unterarmhaut. Die Hautmessung erfolgte mit der Standardmeßsonde des Cutometer SEM 575<sup>®</sup> mit einem Durchmesser von 2 mm, einem linearen Anstieg und Abfall des Vakuums (50 mbar/Sek.) über eine Gesamtzeit von 20 Sekunden.

Die Spannungs-Dehnungs-Kurve bei Belastung wird nicht von der Entlastungskurve überholt. In der Relaxationsphase geht die Dehnung nicht umgehend zurück. Die Haut kehrt erst nach einer sehr langen Entspannungsperiode in ihren Ausgangszustand zurück.

Bei menschlicher Haut kann nach Manchot et al. (102) aufgrund der *Nichtlinearität* der Spannungs-Dehnungs-Beziehungen der E-Modul nicht angewendet werden. Es läßt sich jedoch immer ein Elastizitätskoeffizient definieren, der mit der Ableitung der Spannung zur Dehnung  $d\sigma / d\varepsilon$  bei einem vorgegebenen Wert des Vakuums

korrespondiert (102). Nach Piérard et al. (1, 117) ist für den linearen Abschnitt der Spannungs-Dehnungs-Kurve, unter Rückgriff auf das von Agache et al. vorgeschlagene theoretische Modell (74), eine praktische Berechnung des E-Moduls prinzipiell möglich. In diesem Modell wird davon ausgegangen, daß durch die Saugmethode die anfänglich flache Oberfläche des kreisförmigen Testareals durch den angewendeten Unterdruck in eine kurvige Oberfläche eines Segmentes einer Sphäre umgewandelt wird.

### Beeinflussende Faktoren

Faktoren, die Messungen der vorgestellten Saugmethode *Cutometer SEM 475/575*<sup>®</sup> beeinflussen können, sind

- ⇒ Stärke der Belastung (Vakuum),
- ⇒ Durchmesser der Meßsonde,
- ⇒ Ausrichtung der Meßsonde,
- ⇒ Auflagedruck der Meßsonde,
- ⇒ Vorspannung der Hautoberfläche (Preconditioning).

### *Einfluß des Unterdruckes und der Meßsonde*

Infolge des Kurvenverlaufes der Spannungs-Dehnungs-Kurve und abhängig von der letztlich subjektiven Bestimmung des linearen Kurventeils, der für die Berechnung des E-Moduls herangezogen wird, sind die Meßwerte unterschiedlich. Konsequenterweise sind sie auch abhängig vom gewählten Unterdruck. Barel et al. (111) haben für den E-Modul Werte in einer ähnlichen Größenordnung erhalten wie Agache et al. (74) und postulieren in Übereinstimmung mit Agache, daß der E-Modul bei einem Vakuum zwischen 150 und 500 mbar mehr oder weniger unabhängig von der Belastung ist.

Hinsichtlich der geeigneten Meßsondengröße und der Stärke des Unterdruckes herrschen konträre Ansichten. Abhängig von der Öffnung der Meßsonde sowie der Unterdruckeinstellung sind alle Parameter der Hautdeformation nichtlinear ansteigend. Durch technische Begrenzungen des Gerätes sind nach Barel et al. (111) mit der 8 mm Meßsonde Hautmessungen mit einem Unterdruck von 400 bis 500 mbar nicht möglich.

Die größte Hautverformung wurde mit der 6 mm Sonde beobachtet. In Übereinstimmung mit Elsner et al. (59) geben Barel et al. (111) an, daß an den meisten Hautstellen (mit Ausnahme der Haut der weiblichen Geschlechtsorgane) die Meßwerte der Relativen Parameter unabhängig vom Vakuum sind.

Piérard et al. (2) haben erstmals den Einfluß des Testareals auf die biomechanischen Eigenschaften der Haut untersucht und bestätigen, daß die Meßsonden nicht genau den gleichen Zielparameter von Hautmechanik messen. Es ist ein wichtiger Aspekt, der bei Studienplanungen zu berücksichtigen ist. Wird beispielsweise die Unterarmhaut mit einem Unterdruck von 500 mbar unter Anwendung einer 2 mm Sonde angesogen, müssen die Hautschichten beim Hochziehen in die schmale Öffnung in irgendeiner Art und Weise komprimiert werden. Dieser Artefakt des Zusammendrückens spiegelt sich in den Erhebungen anhand der verfälschten Meßergebnisse signifikant wider. Piérard et al. (2) empfehlen deshalb für kosmetische Wirksamkeitsprüfungen und zur Untersuchung epidermaler Hautveränderungen die kleinste Meßsonde (Durchmesser von 2 mm) heranzuziehen, die nur für einen schwachen Sog bis etwa 200 mbar geeignet ist.

Ungeachtet dieser Erkenntnisse werden in jüngster Zeit von Deleixhe-Mauhin et al. (100) und Krusche et al. (64) Studien mit der 2 mm Meßsonde bei maximalem Unterdruck von 500 mbar durchgeführt, mit der Begründung, daß bei Applikation größerer Meßsonden auf pathologische Läsionen auch angrenzende gesunde Hautareale mit in die Hautmessung einbezogen werden und das Meßergebnis beeinflussen.

Einhellige Meinung besteht zum gegenwärtigen Zeitpunkt darüber, daß mit der 8 mm Sonde eine gleichförmigere Dehnung im cutanen Gewebe erreicht wird, so daß bei einem gewählten Unterdruck von 500 mbar die biomechanischen Eigenschaften der Dermis selbst und ihre gleitende Mobilität auf der Unterhaut erfaßt wird (2, 103, 105).

### *Ausrichtung der Meßsonde*

Die vertikale Deformation der Haut wird entlang einer auf der Oberfläche der Meßsonde angezeigten Richtung vorgenommen. Indem die vertikale Deformation unter verschiedenen Ausrichtungen der Meßsonde gemessen wird, kann die Anisotropie der Haut evaluiert werden (10, 11). Van Den Eynde (10) und Van Wonterghem (11) untersuchten die biomechanischen Eigenschaften der Unterarmhaut in 2 Richtungen, einmal parallel und einmal rechtwinkelig zur Richtung der Hauptlinien der Mikrotopografie der Hautoberfläche. Dabei sind bei jungen wie auch bei Individuen mittleren Alters keine signifikanten Unterschiede für das Elastizitätsverhältnis UR/UE oder für den E-Modul festgestellt worden. Diese Ergebnisse zeigen nach den Autoren, daß die Saugmethode scheinbar in isotropischer Weise die vertikale Verformung der Haut am Unterarm mißt (10, 11).

### *Anwendungsdruck auf die Haut*

Um kleine Variationen im Anwendungsdruck zu reduzieren, der weitgehend durch das Federsystem in der Meßsonde sichergestellt ist, empfehlen Barel et al. (111) das zu messende Hautareal immer in horizontaler Position zu plazieren und die Meßsonde mit einer standsicheren Halterung zu versehen.

### *Preconditioning der Hautoberfläche*

Die Haut, die der Öffnung der Meßsonde unmittelbar anliegt, wird mit Hilfe eines Halteringes fixiert. Trotzdem kann während des Ansaugprozesses eine laterale Verschiebung der unmittelbar der Öffnung anliegenden Haut auftreten. Um diese Verschiebung zu minimieren ist es im *Dehnungs-Zeit-Modus* möglich, die Haut vor der eigentlichen Messung durch eine vom Gerät vorgegebene Vorkonditionierung (Preconditioning) über eine Zeitspanne von 0,1 bis 0,2 Sekunden durch kurzes Ansaugen vorzuspannen (102).

Untersuchungen von Barel et al. (111) und Vandenbussche (118) haben gezeigt, daß bei einer Vorspannung der Haut die Meßwerte besser reproduzierbar und

genauer sind. Messungen auf verschiedenen Hautstellen, u. a. am Unterarm und an der Stirn, zeigen, daß mit einem Preconditioning die elastischen Erholungsparameter UR/UE systematisch höher gemessen werden. Beispielsweise betragen die Werte von UR zu UE der Unterarmhaut von jungen Individuen ohne Vorspannung 0,82 mm, mit Vorspannung hingegen 0,89 mm. Dieses Ergebnis belegt, daß mit einer Vorspannung die Haut in größerem Umfang die Ausgangsposition nach einer Deformation wiedererlangt. Wiederholte Messungen des Deformationsparameters UF bei der gleichen Testperson ohne eine Vorspannung zeigen einen Variabilitätskoeffizienten von 4 bis 6%, jeweils abhängig von der untersuchten Hautstelle. Mit einer Vorspannung ist dieser Koeffizient generell kleiner, und zwar um ca. 4% (111). Ähnliche Ergebnisse erbringen Untersuchungen anderer Forscher, die diese Saugmethode auf verschiedenen Hautstellen erprobten.

#### Untersuchungsergebnisse von Hautmessungen

Für die hier vorgestellte Saugmethode, das Cutometer SEM 575<sup>®</sup> bzw. das Vorlaufmodell Cutometer SEM 475<sup>®</sup> liegen umfangreiche Ergebnisse über die viskoelastischen Eigenschaften gesunder und pathologisch veränderter Haut, über die Einflüsse verschiedener intrinsischer Faktoren (u.a. Geschlecht, Alter, anatomische Körperstellen, Hormonstatus, Krankheiten) sowie über den quantitativen Einfluß von dermatologischen Anwendungen vor.

Dabei finden die resultierenden Spannungs-Dehnungs- und Dehnungs-Zeit-Kurven (9, 104, 119 - 121) unterschiedlichster Hautstellen (u.a. Unterarme, Hüfte, Gesicht) zum Teil gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die mit anderen biomechanischen nicht-invasiven Untersuchungsmethoden wie Torsions-, Eindruck- oder Ziehversuchen erzielt wurden.

Es hat sich gezeigt, daß die *Deformationsparameter UE, UF und UR* abhängig vom Unterdruck und der Öffnung der Meßsonde variieren.

- ⇒ Unter Anwendung der 2 mm Saugsonde reichen die Meßwerte der maximalen Hautverformung (UF) von 0,1 bis 0,6 mm, abhängig vom gewählten Vakuum (100 bis 500 mbar). Werden für UF hohe Werte gemessen, korrespondieren die Meßwerte nach Barel et al. (111) typischerweise mit Deformationen der Dermis und vielleicht auch mit einigen Beiträgen der Subcutis.
- ⇒ Die Meßwerte des Elastizitätsverhältnisses UR/UE sind abhängig von der anatomischen Lage, dem Alter sowie anderen physiologischen Faktoren (6). Für die unterschiedlichen anatomischen Regionen reichen typische Werte von 0,4 bis 0,9 mm. Die Meßwerte der elastischen Erholung stimmen nach Escoffier et al. (6) mit denen von Torsionsmethoden gut überein.
- ⇒ Für den linearen Anteil der Spannungs-Dehnungs-Kurve reichen typische Werte des E-Modul von  $13 \cdot 10^4$  bis  $26 \cdot 10^4$  N/m<sup>2</sup>. Die mit der Saugmethode erreichten in vivo-Werte stimmen nach Agache et al. (99) und Piérard (1) mit denen mit dem Dermal Torque Meter<sup>®</sup> (Torsionsgerät) gemessenen Daten (E-Modul =  $42 \cdot 10^4$  N/m<sup>2</sup>) überein.

Wie schon bereits von Piérard (1) hervorgehoben, ist der lineare Anteil der Spannungs-Dehnungs-Kurve nicht immer offensichtlich und wird allgemein eher subjektiv festgelegt. Dies erklärt nach Barel et al. (111) die viel stärkeren Variationen des E-Moduls, die normalerweise beobachtet werden. Als Konsequenz variiert der E-Modul abhängig vom gewählten Unterdruck und dem in der jeweiligen Untersuchung verwendeten Meßverfahren in einer Größenordnung von  $10^4$  bis  $10^6$  N/m<sup>2</sup>.

Alle folgenden Tabellen in diesem Kapitel sollen, ohne Anspruch auf Vollständigkeit erheben zu können, eine kurze Übersicht der wesentlichen Ergebnisse der ausgesuchten biomechanischen Meßmethoden geben. Die Auswahl beschränkt sich auf in vivo-Untersuchungen, in denen mit nicht-invasiven Verfahren die Einflüsse verschiedener intrinsischer (u.a. Alter, Geschlecht, Hormone, Krankheiten) sowie extrinsischer Einflußgrößen (u.a. UV-Bestrahlung, Wirksamkeit topisch applizierter Dermatika, Kosmetika) auf elastische und viskoelastische Parameter evaluiert

wurden. Anzumerken bleibt, daß keine Überprüfung auf Validität der Studien erfolgte. Aufgrund des Umfangs der Untersuchungen werden die Testbedingungen nur in Einzelfällen angeführt. Eine Stellungnahme zu den Untersuchungen erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt (siehe Kap. 6.4).

Tabelle 1: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse

Autor

**Einfluß des Alters**

**Absolute Parameter**

- Zunahme von **UE, UV, UR, UF** mit dem Alter in allen anatomischen Regionen; die Gesichtshaut älterer Individuen zeigt keine dramatischen Unterschiede zu einer jungen Haut; sekundäre Veränderungen, ausgelöst durch Sonnenschäden, leisten einen erheblichen Beitrag und verschleiern den intrinsischen Alterungsprozeß.

Cua et al., 1990 (58)

- Abnahme von **UE, UR, UF** bei sonnenexponierter Haut (Stirn, Augen-, Mundwinkel) mit dem Alter, aber mit dem Alter Zunahme bei sonnengeschützter Haut (Unterarm); die Veränderungen sind auffälliger nach Korrektur der Hautdicke.

Takema et al., 1994 (122)

*Fazit: Altersbedingte Veränderungen der absoluten Parameter differieren zwischen sonnengeschützten und -exponierten Hautbezirken. Veränderungen des quantitativen oder qualitativen Verhältnisses der elastischen und viskoelastischen Elemente differieren zwischen Gesicht und Unterarm so deutlich, daß von einer Einflußnahme der UV-Strahlen auf die biomechanischen Hauteigenschaften ausgegangen werden kann.*

**UE**

- keine signifikanten Veränderungen mit dem Alter;

Barel et al., 1990 (119)

**UV**

- Zunahme bei sonnengeschützter Haut (Unterarm) mit dem Alter; Abnahme bei sonnenexponierter Haut (Gesicht) - einzige Ausnahme stellt die Stirn dar (keine signifikanten Veränderungen).

Takema et al., 1994 (122)

*Fazit: Absolute Parameter decken lichtinduzierte Alterungsprozesse besser als relative Parameter auf. Die Resultate verdeutlichen die Spezifität der Gesichtshaut in Bezug auf Hautdicke und Viskoelastizität.*

**UR und UE**

- Abnahme mit dem Alter an allen untersuchten Arealen (Wange, Stirn, volarer Unterarm); Resultate sind homogener auf dem volaren Unterarm (als im Gesicht) mit der 2, 4 und 6 mm Meßsonde bei einem Unterdruck von 500 mbar;

Couturaud et al., 1995 (123)

**UV**

- keine Veränderung

Tabelle 2: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse

Autor

**Einfluß des Alters**

**4-Elemente-Modell (Maxwell Elemente und Voight Elemente in Serie)**

- Die Analyse der biomechanischen Hauteigenschaften in Abhängigkeit vom Alter mit Hilfe eines 4-Elemente-Modells zeigt im Elastizitätskoeffizienten von Maxwell keine Veränderung für sonnengeschützte Haut (Unterarm), aber einen Anstieg für sonnenexponierte Haut (Gesicht).

*Fazit: Das Ergebnis bestätigt quantitative als auch qualitative Veränderungen der elastischen Fasern der Gesichtshaut. Sonnenlicht hat auf die biomechanischen Eigenschaften und die Dicke der Haut einen bedeutenden Effekt.*

Takema et al., 1994 (122)

**Relative Parameter**

**UR/UE**

- Kontinuierliche und signifikante Abnahme mit dem Alter, bei beiden Geschlechtern und an verschiedenen anatomischen Körperregionen.

- Das elastische Erholungsverhältnis wechselt von:

0,92	in der Altersgruppe	2 - 15 Jahre
0,71	"	18 - 25 Jahre
0,64	"	40 - 55 Jahre
0,50	"	70 - 95 Jahre.

Van Den Eynde, 1990 (10)  
 Van Wonterghem, 1991 (11)  
 De Schrijver, 1992 (12)  
 Barel et al., 1995 (111)

**UV/UE**

- Zunahme bei lichtexponierter (u.a. Stirn, Mundwinkel, Augenwinkel) und lichtgeschützter Haut (Unterarm); einzige Ausnahme sind die Mundwinkel (keine signifikanten Veränderungen mit dem Alter).

*Fazit: UV/UE repräsentiert sowohl intrinsische als auch extrinsische Alterungsprozesse. UV/UE deckt die biomechanischen Hautveränderungen des intrinsischen Alterns besser auf als die absoluten Parameter.*

Takema et al., 1994 (122)

**UR/UE**

- Abnahme mit dem Alter

*Fazit: Modifikationen der biomechanischen Hauteigenschaften sind altersabhängig. Die Elastizität und die Dehnbarkeit der Haut nehmen ab, während die Dauerfestigkeit zunimmt. Das Meßergebnis ist abhängig von dem Meßareal (Wange, Stirn, volarer Unterarm) und dem Sondendurchmesser (2, 4, 6, 8 mm).*

Couturaud et al., 1995 (123)

Tabelle 3: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>UV/UE</b>	
- Zunahme mit dem Alter; die Daten sind abhängig vom Unterdruck (100, 200, 500 mbar). Zunahme der Viskoelastizität mit dem Alter.	Cua et al., 1990 (58)
- Signifikante Unterschiede zwischen jungen und älteren Probanden an verschiedenen Körperstellen (Oberarm, volarer und dorsaler Unterarm, Abdomen, Hüfte und Rücken); - keine signifikanten Unterschiede zwischen jungen und älteren Probanden im Gesicht (u.a. Stirn, Augen) und Handinnenflächen. <i>Fazit: Zunahme des Verhältnisses zwischen viskoelastischer und elastischer Extension zeigt mit fortschreitendem Alter eine größere Mitwirkung bzw. einen größeren Beitrag des viskosen Anteils an der totalen Hautdeformation.</i>	
<b>UR/UF</b>	
- Abnahme bei lichtgeschützter Haut (Unterarm) mit dem Alter.	Agache et al., 1980 (99) Lévêque et al., 1980 (60) Escarot et al., 1989 (6) Nishimura et al., 1992 (104) Cua et al., 1990 (58)
- Abnahme bei sonnengeschützter Haut (Unterarm) und im Gesicht (Stirn) mit dem Alter ; Meßwerte [mm] sind abhängig vom Unterdruck (100, 200, 500 mbar) Stirn: 0,69 bei jungen bzw. 0,61 bei älteren Probanden Unterarm: 0,72 bei jungen bzw. 0,58 bei älteren Probanden	
- Abnahme im Gesicht (u.a. Stirn, Augen-, Mundwinkel); Zunahme bei lichtgeschützter Haut (Unterarm) mit dem Alter. <i>Fazit: UR/UF repräsentiert sowohl extrinsische als auch intrinsische Hautalterung. Die Meßwerte fallen höher als bei Cua et al. aus, vermutlich aufgrund des unterschiedlichen Unterdruckes.</i> - Meßwerte der Stirn, Postauricula und Hüfte unterscheiden sich nicht signifikant.	Takema et al., 1994 (122) Agache et al., 1980 (99) Elsner et al., 1990 (7) Lévêque et al., 1980 (60) Piérard et al., 1977(101)

Tabelle 4: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>E-Modul</b>	
- Abnahme mit dem Alter (Unterarm);	Barel et al., 1990 (111)
- Zunahme mit dem Alter (u.a. Unterarm, Gesäß, Hüfte)	Van Den Eynde, 1990 (10) Van Wonterghem, 1991 (11) Escoffier et al., 1989 (6) Cua et al., 1990 (58) Elsner et al., 1990 (7)
<b>Einfluß der anatomischen Region</b>	
<b>UV/ UE und UR/UF</b>	
- <b>Meßwerte sind bei</b> beiden Parametern genital signifikant geringer als am Unterarm; UV/UE sind konstant (Genitalbereich, Unterarm) und nicht altersabhängig; UV/UE korreliert signifikant mit dem Körpergewicht; UR/UF nimmt im Genitalbereich mit dem Alter ab; UR/UF ist bei postmenopausalen Frauen geringer (Unterarm- und auch Genitalhaut).	Elsner et al., 1990 (7)
<b>UR/UE</b>	
- signifikante Unterschiede der viskoelastischen Hauteigenschaften differenter Körperregionen (Unterarm, Stirn, Schläfen, Hüfte, Gesäß); Werte variieren in einem Bereich von 0,4 bis 0,9	Cua et al., 1990 (58) Elsner et al., 1990 (7) Malm, et al., 1990 (120) Van den Eynde, 1990 (10) Van Wonterghem, 1990 (11) Nishimura et al., 1992 (104) Barel at al., 1995 (111)
weibliche Geschlechtsgegend : 0,48	
Krähenfüße Gesicht : 0,50	
Stirn : 0,60	
Unterarme : 0,80	
<i>Fazit: Es werden Unterschiede der Struktur der papillären und retikulären Dermis reflektiert. Trotz der Unterschiede in den viskoelastischen Parametern, treten für alle untersuchten Hautstellen ähnliche Veränderungen mit dem Alter auf.</i>	

Tabelle 5: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Geschlechts</b>	
<p><b>UF</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Meßwerte bei Frauen größer; allerdings nur, wenn mit der 2 mm Sonde gemessen wird;</li> </ul>	Piérard et al., 1995 (2)
<p><b>UV/UE und UR/UF</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keine geschlechtsspezifischen Unterschiede;</li> <li>- Für die meisten anatomischen Regionen keine signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede; die Unterschiede hängen in erster Linie mit Veränderungen des elastischen Fasernetzwerkes zusammen; <i>einzigste Ausnahmen sind</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>- UV/UE (volarer Unterarm) ist bei Männern höher (500 mbar Unterdruck);</li> <li>- UR/UF (Stirn) ist bei Männern höher (500 mbar Unterdruck)</li> </ul> </li> </ul>	Nishimura et al., 1992 (104)  Cua et al., 1990 (58)
<p><b>UR/UE</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern.</li> </ul>	Escoffier et al., 1989 (6) Elsner et al., 1990 (7) Piérard et al., 1995 (2)
<p><b>E-Modul</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern.</li> </ul>	Escoffier et al., 1989 (6)
<b>Einfluß des Testareals und Parameterbeurteilung</b>	
<b>Absolute Parameter</b>	
<p><b>UF</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zeigt beste Reproduzierbarkeit der Meßwerte;</li> <li>- hat neben X/UF die meiste Relevanz zur Beurteilung klinischer Fragen;</li> <li>- ist der einzige absolute Parameter, dessen Wert sich signifikant unter Verwendung der 2 mm im Vergleich zur 8 mm Meßsonde unterscheidet.</li> </ul>	Piérard et al., 1995 (2)

Tabelle 6: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse

Autor

**Einfluß des Testareals und Parameterbeurteilung****Relative Parameter****X/UF**

- von den relativen Parametern UR/UF, UR/UE und X/UF weist X/UF die höchste Reproduzierbarkeit auf;
- untersucht am genauesten die Tendenz der Haut sich nach einer vorangegangenen Deformation wieder in ihre Ausgangslage zurückzuziehen;
- hat neben UF die meiste Relevanz für normale Haut: beantwortet einfache klinische Fragen, z.B. ob die Haut steif ist, wenn sie deformiert wird, oder ob die Haut sich normal nach einer vorangegangenen Dehnung zurückzieht.

Piérard et al., 1995 (2)

**UF<sub>(3)</sub>-UF<sub>(1)</sub> [Differential Ausdehnung; Hysterese]**

- Ist der einzige relative Parameter, dessen Werte je nach Größe der Meßsonde (2 mm versus 8 mm Durchmesser) signifikant unterschiedlich ausfallen;
- ist der am wenigsten reproduzierbare Parameter (Variationen hängen mit der Geräteauflösung und inter-individuellen Unterschieden zusammen; der Parameter hat einen hohen Variationskoeffizienten);

**UV/UE [VER]**

- Meßwerte zeigen eine größere Variabilität als die Werte von UF und X.

**UR/UF**

- **Meßwerte** zeigen eine größere Variabilität als die Werte von UF und X.

*Fazit: Die Meßwerte für die biomechanischen Verhältnisse sind für die 2 mm und die 8 mm Sonden die gleichen.*

*Eine lineare Korrelation zwischen den Parametern der Viskoelastizität wird bestätigt.*

*Die Sonden messen nicht die gleichen Aspekte von Hautmechanik, da die 2 mm Sonde Eigenschaften oberflächlicher Hautschichten, hingegen die 8 mm Sonde die biomechanischen Eigenschaften der Dermis und ihre gleitende Mobilität auf der Subcutis mißt.*

*Ein Unterdruck von 300 bis 500 mbar erfaßt tiefliegende Bindegewebsschichten. Ein Unterdruck unter 300 mbar scheint besser geeignet zu sein, um oberflächliche, minuziöse Veränderungen der Epidermis aufzudecken.*

Tabelle 7: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse

Autor

---

**Einfluß von Krankheiten**

**systemische Sklerodermie**

**UR**

- Anwesenheit von Flüssigkeit in der Haut reduziert ihre Fähigkeit, sich nach vorangegangener Deformation wieder zurückzuziehen.

Enomoto et al., 1995 (104)

**UF**

- Geringere Hautausdehnung bei sklerotisch veränderter Haut;
  - > durchschnittlich in klinisch normaler Haut bei Sklerodermiepatienten: 1,11 mm;
  - > normal kontrollierte Haut bei Sklerodermiepatienten: 1,29 mm;
- zwischen verschiedenen anatomischen Regionen klinisch normaler Haut bei Sklerodermiepatienten bestehen starke Unterschiede hinsichtlich der Verformungswerte [mm];
- Favorisierung der 8 mm Sonde bei einem Unterdruck von 500 mbar zur Untersuchung der Sklerodermie; reproduzierbare Daten werden erbracht; bei der 2 mm Sonde ist der Beitrag der dermalen Komponenten an der Gesamtmessung relativ gering.

**chronische Hämodialyse**

**UF**

- Zunahme bei Patienten, die diese Erkrankung weniger als 5 Jahre haben;
- Zunahme von UF mit Dauer der Erkrankung bei Patienten jünger als 50 Jahre;
- keine signifikanten Veränderungen von UF mit Dauer der Erkrankung bei Patienten über 50 Jahre.

Deleixhe-Mauhin et al., 1994 (100)

**X/UF und X/UF<sub>(3)</sub>**

- Abnahme bei Patienten mit diesem Krankheitsbild;
- Abnahme mit dem Alter nur bei Patienten, die diese Erkrankung weniger als 5 Jahre haben.

*Fazit: Maximale Gesamtauslenkung der Haut hängt mit der Dauer der Erkrankung zusammen, hingegen die Biologische Elastizität nicht.*

**UV/UE**

- signifikante Zunahme mit dem Alter bei Patienten, die Hämodialyse weniger als 5 Jahre haben;
- signifikante Zunahme mit der Erkrankungsdauer sowohl bei jungen als auch älteren Patienten (über 50 Jahre).

Tabelle 8: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475<sup>®</sup> / 575<sup>®</sup>

Parameter und Ergebnisse

Autor

---

Einfluß von Krankheiten

### chronische Hämodialyse

*Fazit: Die Viskoelastizität der Haut nimmt bei Patienten mit chronischer Hämodialyse mit dem Alter zu. Die Veränderungen sind ähnlich denen der chronologischen Hautalterung.*

#### UR/UE

- Keine auffälligen Veränderungen; spezifische Änderungen, die direkt in Beziehung zur Viskoelastizität stehen, sind minimal;
- Parameter wird nicht signifikant von der Dauer der Erkrankung beeinflusst;

#### UF<sub>(3)</sub>-UF<sub>(1)</sub> [Differential Ausdehnung; Hysterese]

- mit dem Alter signifikanter Anstieg der Hysterese bei Patienten mit chronischer Hämodialyse weniger als 5 Jahre.

*Fazit: Die biomechanischen Hautveränderungen hängen mit der veränderten Verformbarkeit der Haut zusammen.*

Buschke-Sklerödem

Untersuchung dieser diffusen, teigartig-ödematösen Schwellung mit Spannungsgefühl im Gesicht, Hals und Stamm an 9 verschiedenen Regionen; Untersuchung nach 3, 17 und 28 Monaten (n = 1).

Dobrev, 1998 (107)

#### UE, UF, UR

- signifikante Abnahme

#### UV/UE

- signifikanter Anstieg

#### UV und UR/UF

- keine Veränderung

*Fazit: Hautveränderungen werden mit der 8 mm Meßsonde besser erfaßt als mit der 2 mm Sonde. Geringe Dehnungsfähigkeit der Haut korreliert mit einer Verhärtung des Hautgewebes.*

Tabelle 9: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475® / 575®

Parameter und Ergebnisse

Autor

### Einfluß von Medikamenten

#### Triamcinolon-Injektionen (Steroide)

##### UF

- In Keloid-Läsionen stets niedriger als in nicht befallenen Hautarealen;
- Zunahme bei jeder Behandlung mit Steroiden.

Krusche et al., 1995 (64)

##### UV/UE

- höher bei Keloiden als bei normaler Haut;
- auffällige Abnahme unter Behandlung mit Triamcinolon-Injektionen.

Cua et al., 1990 (58)

Krusche et al., 1995 (64)

##### UR/UF

- wenig ausgeprägter Anstieg unter o.g. Injektion in Keloidgewebe.

##### UR/UE

- bei Keloiden niedriger als bei normaler Haut.

*Fazit: Intraläsional verabreichte Steroide erbringen für das Bindegewebe von Keloiden einen Abfall der Viskoelastizität infolge des Verlustes an Grundsubstanz. Im Keloidgewebe nimmt die Viskosität zu, während die Elastizität abnimmt.*

#### Kortikoide (topisch)

##### UA/UF, UR/UE, UR/UF, UV/UE

- Zunahme aller Parameter

Dobrev, 1996 (124)

*Fazit: Effekte der Formulationen (5 kommerziell verfügbare Kortikoide als Salben oder Cremes) sind wahrscheinlich durch die Hydratierung des SC und die Erweichung des Keratins bedingt, welche die biomechanischen Eigenschaften der Epidermis verbessern. Als Resultat des dermalen Ödems und vermutlich eines biochemischen Effektes auf die Matrix wurde die Friktion zwischen den Bindegewebsfasern reduziert und die interstitielle Flüssigkeitsbewegung durch das Fasernetzwerk erleichtert.*

*Das Cutometer ist hilfreich, um die Effekte unterschiedlicher topischer Präparate auf elastische und viskoelastische Eigenschaften der Haut vergleichend zu evaluieren.*

Tabelle 10: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Cutometer SEM 475®/ 575®

Parameter und Ergebnisse

Autor

---

**Einfluß intrinsischer Kräfte (Position des Unterarmes)**

- Unter Anwendung der 2 mm Sonde und einem Unterdruck von 500 mbar werden nur wenige Messungen von der Armstellung beeinflusst. Dies sind: **UF und  $UF_{(3)}/UF_{(1)}$**  [Differential Ausdehnung; Hysterese]  
*Fazit: Die Position der Arme beeinflusst die Oberflächentopografie und die axiale Verschieblichkeit, hat aber nur geringfügigen Einfluß auf die Messung mit der Saugmethode, da sie rechtwinkelig zur Hautoberfläche durchgeführt wird.*

Viatoure et al., 1995 (106)

**Einfluß von UVA- und UVB-Strahlung**

Einmalige UV-Bestrahlung mit UVA ( $50J/cm^2$ ) und UVB (1 MED, d.h eine erythemauslösende Dosis); Messungen direkt vor und 24 Stunden nach der Bestrahlung.

Habig et al., 1996 (125)

**UV/UE**

- UVA induziert keine meßbaren Veränderungen der Viskoelastizität;
- UVB führt zum signifikanten Anstieg der Viskosität;

**UR/UF**

- keine meßbaren Veränderungen der Biologischen Elastizität durch UVA;
- Abfall der Biologischen Elastizität der Haut.

*Fazit: Bereits bei kurzer, künstlich initiiertes Bestrahlung mit UVB wird deren negativer Einfluß auf die biomechanischen Hautfunktionen deutlich.*

#### 4.1.1.2 Dermaflex A<sup>®</sup>

##### Meßprinzip

Das Dermaflex A<sup>®</sup> (siehe Abbildung 16) ist eine Sauggerät, das im Gegensatz zum Cutometer SEM 475/575<sup>®</sup> eine Dehnung über die gesamte Hautdicke vornimmt und sich nach Gniadecka et al. (126) besonders für dermatologische und medizinische Untersuchungen eignet, da es sowohl die inneren als auch die äußeren biomechanischen Kompartimente des Hautorgans beleuchtet.

Das Dermaflex A<sup>®</sup> ist aus 3 Hauptteilen zusammengesetzt (32, 127):

- dem Generator, der das Vakuum in die Saugsonde überführt, die ihrerseits direkt auf die Hautoberfläche plaziert wird;
- dem Sensor für die Hautausdehnung (innerhalb der Sonde);
- dem Datenverarbeitungs- und dem Visualisierungssystem.

##### Meßsonde

Die Meßsonde ist mit einem Stahlring ausgestattet und hat im Gegensatz zum Cutometer einen größeren Durchmesser (10 mm). Der Stahlring soll eine scharfe Begrenzung des angesogenen Hautareals sicherstellen, indem der rund um den Stahlring lokalisierte Klebering (1 cm Durchmesser) eine Hautverschiebung während des Ansaugens verhindert. Die Höhe der Hautausdehnung wird elektronisch durch Messung des kapazitiven Widerstandes zwischen Hautoberfläche und Elektrode erfaßt. Die Genauigkeit der Messung beträgt nach Serup et al. (128) bis zu 0,01 mm.

Das Gerät erlaubt entsprechend der vorangegangenen Saugmethode eine genaue Einstellung der Vakuumstärke, der Länge der Saugperiode und der Anzahl der Saugzyklen.

Bedingt durch die größere Ansaugkammer werden hauptsächlich die biomechanischen Eigenschaften der Dermis sowie der mechanisch funktionelle Status des gesamten Integuments gemessen, wohingegen nach Gniadecka et al. (126) das Cutometer -

insbesondere mit der Standardmeßsonde von 2 mm - , in erster Linie biomechanische Eigenschaften der Epidermis, der papillären Dermis und nur zu einem geringen Grad tieferliegende Schichten der Subcutis erfaßt.

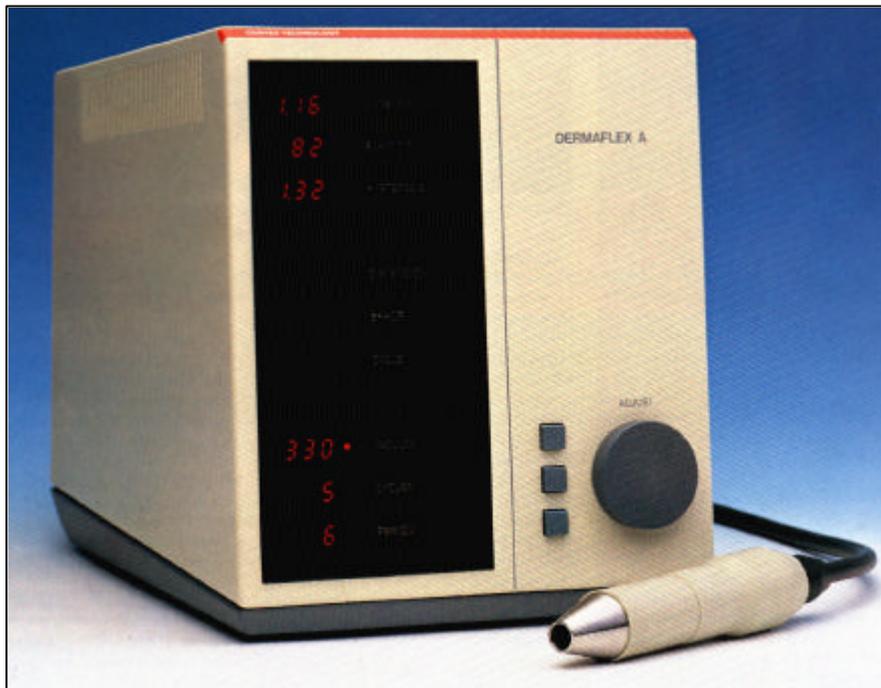


Abb.16: Saugmethode Dermaflex A<sup>®</sup> zur Bestimmung der biomechanischen Hauteigenschaften.

### Meßmodi

Der Parametersatz, der am häufigsten für Untersuchungen der Haut genutzt wird, ist der folgende:

- Ansaugphase: 300 oder 450 mbar (selten 100 mbar)
- Saugperiode: 4 oder 20 Sekunden
- Anzahl der Zyklen: 5 - 6 Zyklen (selten ein Saugzyklus)

Die biomechanischen Parameter sind im Gegensatz zur vorher beschriebenen Saugmethode auf drei begrenzt. Untersucht werden die

<b>Hautdehnbarkeit [in mm]</b>	→	entspricht UF
<b>Hysterese [in mm]</b>	→	entspricht $UF_{(3)} - UF_{(1)}$
<b>RER: Elastizität der Haut [in %]</b>	→	entspricht $X/UF$

Als Maß für die Hautsteifigkeit dient das Ausdehnungsvermögen der Haut [in mm] am Ende der ersten Ansaugphase. Die Dehnung nach Beendigung des ersten Ansaugzyklus wird als „elastische Dehnung“ bezeichnet (siehe Abbildung 17). Das relative elastische Zurückziehen (RER) der Haut reflektiert ihre „biologische Elastizität“ und wird für Untersuchungen mit dem Dermaflex nach der unten aufgeführten Formel kalkuliert. Ein Wert von 100% repräsentiert die perfekte Rückstellung der Haut nach vorangegangener Dehnung. Als zusätzlicher Parameter repräsentiert die Hysterese das Phänomen des Kriechens. Sie wird als Differenz der maximalen Ausdehnbarkeit zwischen dem letzten Ansaugen und dem ersten Ansaugzyklus berechnet.

$$\text{RER} = \frac{\text{Dehnbarkeit} - \text{elastischrückfedernde Ausdehnung}}{\text{Dehnbarkeit}} * 100$$

#### Untersuchungsergebnisse von Hautmessungen mit dem Dermaflex A<sup>®</sup>

Die Untersuchungsergebnisse der Saugmethode Dermaflex A<sup>®</sup> decken sich weitgehend mit denen des Cutometer bzw. anderer biomechanischer Meßmethoden (118) (siehe Tabelle 11-14).

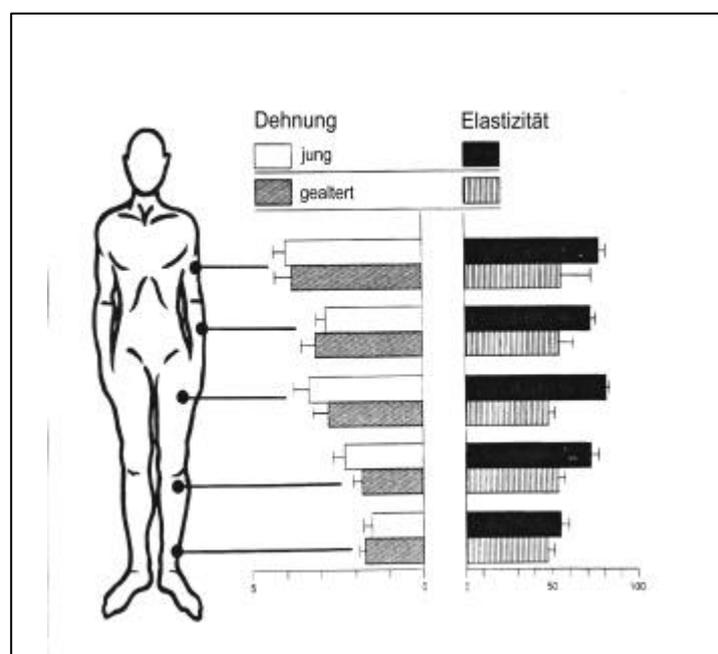


Abb.17: Untersuchungsergebnisse mit dem Dermaflex A<sup>®</sup>: Altersabhängige Ausdehnbarkeit [in mm] und Elastizität [% der Rückstellung] der Haut verschiedener Körperstellen (Mittelwerte plus zwei Standardabweichungen); entnommen aus: Gniadecka et al. (129).

Tabelle 11: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Dermaflex A®

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Dehnbarkeit</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Effekte des Alterns auf die Hautsteifigkeit sind nicht gesichert geklärt;</li> <li>- es ist schwer zu unterscheiden zwischen der intrinsischen Alterung in sonnengeschützten Regionen, charakterisiert durch Hautverdünnung und epidermale sowie dermale Atrophie, sowie der aktinischen Alterung in sonnenexponierten Hautarealen, mit Hyperplasie der Epidermis und verdickter Dermis;</li> <li>- die Dehnungsfähigkeit der Haut unterschiedlicher Körperregionen älterer Personen unterscheidet sich nicht von der Verformbarkeit der Haut junger Probanden;</li> <li>- für die Extremitäten läßt sich ein abnehmender vertikaler Vektor von Hautsteifigkeit ausmachen.</li> </ul>	<p>Gniadecka et al., 1994 (129)                      Gniadecka et al., 1995 (126)</p>
<b>Biologische Elastizität (RER)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nimmt im Alter ab; verringert sich mit dem Alter sowohl bei lichtgeschützter als auch -exponierter Haut.</li> </ul>	<p>Berardesca et al., 1991 (131)</p>
<b>Dehnbarkeit</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Dehnungsvermögen der Haut bleibt vom Alter relativ unbeeinflußt.</li> </ul>	
<b>Dehnbarkeit und Biologische Elastizität (RER)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bei chronischer Lichtexposition nimmt die Dehnbarkeit der Haut und das elastische Rückstellvermögen ab;</li> <li>- Abnahme der Hautelastizität und -dehnbarkeit in Hautregionen, die langfristig UV-Strahlen ausgesetzt sind.</li> </ul> <p><i>Fazit: Die verminderte Viskoelastizität atrophierter Haut hängt von der Schädigung, Desintegration und Veränderung der Struktur der elastischen Fasern ab (sowohl bei extrinsisch als auch intrinsisch gealterter Haut). Glukosaminoglykane häufen sich in der papillären Dermis an, mischen sich zwischen die elastischen Fasern, lagern sich dort ab, was Folgen für die biomechanischen Hautfunktionen hat.</i></p>	<p>Lévêque et al., 1984 (132)                      Fazio et al., 1989 (94)                      Balin et al., 1989 (95)</p>
<b>Dehnbarkeit</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Keine altersbedingten Unterschiede hinsichtlich der Dehnbarkeit der Haut;</li> <li>- Unterschiede in der Dehnbarkeit treten zwischen lichtgeschädigter und lichtgeschützter Haut auf.</li> </ul>	<p>Malm et al., 1990 (120)</p>

Tabelle 12: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Dermaflex A®

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß von UV-Strahlen</b>	
<p><b>Dehnbarkeit und Biologische Elastizität (RER)</b>                      - Künstliche Bestrahlung mit UVA auf sonnengeschützten Hautstellen ist ursächlich für die Verminderung der Viskoelastizität sowie der Dehnbarkeit der Haut.</p>	Berardesca et al., 1990 (130)
<p><b>Dehnbarkeit</b>                      - Photoaging ist mit einer verminderten Hautdehnung assoziiert.</p>	Lévêque et al., 1988/89 (133)
<b>Einfluß der Körperregion</b>	
<p><b>Dehnbarkeit und Biologische Elastizität (RER)</b>                      - Biomechanische Hauteigenschaften hängen von der anatomischen Lage ab;                      - Haut in den akralen Regionen (u.a. Unterarm) ist steifer bzw. weniger ausdehnbar als die Haut in mehr proximal gelegenen Regionen (Oberschenkel, Oberarme, Rumpf).  <i>Fazit: Es besteht ein vertikaler Faktor der Dehnbarkeit und ein ähnlicher vertikaler Vektor für die Biologische Elastizität (RER), wobei die Haut in akralen Regionen weniger elastisch ist.</i></p>	Malm et al., 1995 (134) Gniadecka et al., 1994 (129)
<p><b>Hysterese</b>                      - Es ist ein vertikaler Vektor für die Hysterese festzustellen.</p>	Malm et al., 1995 (134)
<b>Einfluß des Geschlechts</b>	
<p><b>Dehnbarkeit</b>                      - Akrale weibliche Haut ist dehnungsfähiger als männliche Haut, während sich das Dehnungsvermögen der Haut am Rumpf nicht signifikant zwischen Männern und Frauen unterscheidet.</p>	Grahame et al., 1969 (130)
<p><b>Biologische Hautelastizität (RER)</b>                      - Weibliche Hormone modulieren die biomechanischen Hauteigenschaften. Die Viskoelastizität differiert merklich während des Menstruationszyklus.</p>	Berardesca et al., 1989 (85)

Tabelle 13: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Dermaflex A®

Parameter und Ergebnisse

Autor

### Einfluß der Tageszeit

#### **Dehnbarkeit und Biologische Elastizität (RER)**

- Dehnungsfähigkeit und Viskoelastizität der Haut variieren im Tagesverlauf;
- RER und die Dehnbarkeit der Haut nehmen bei Jüngeren am Nachmittag zu;
- die abendliche Zunahme der Viskoelastizität der akralen Haut unterstützt die Beseitigung ödematöser Flüssigkeit, die sich im Tagesverlauf in den unteren Extremitäten ansammelt.

Gniadecka et al., 1994 (129)

*Fazit: Mechanismus der tageszeitlichen Variation der Viskoelastizität der Haut ist noch ungeklärt. Das Phänomen könnte eine Anpassung an die aufrechte Körperhaltung sein. Bei einer Dehnung der Haut wird die (zeitabhängige) dermale Ansammlung von Flüssigkeit vergrößert. Hingegen wird bei der Wiederherstellung des Ausgangszustandes Flüssigkeit entfernt. Elastische Kräfte, die zur Wiederherstellung des ursprünglichen Ausgangszustandes beitragen, steigern die Beseitigung extrazellulärer Flüssigkeit.*

### Einfluß von Krankheiten

#### **Ödeme**

##### **Hysterese**

- Zunahme bei akuten Ödemen;

Serup et al., 1985 (128)

##### **Dehnbarkeit**

- Zunahme bei akuten Ödemen.

*Fazit: Das Übermaß an Wasser agiert wie Öl, so daß das Fasernetzwerk der Dermis weiter ausgedehnt wird. Einem wiederholten Saugen an der gleichen Hautstelle folgt eine relativ geringe Dehnung bei einer größeren Belastung. Die Anfangsbelastung bringt die Fasern in eine relativ ausgedehnte und geschlossene Position für eine Spanne von einer Stunde.*

#### **Psoriasis vulgaris**

##### **Dehnbarkeit**

- Abnahme bei Psoriasis vulgaris

Serup et al., 1985 (128)

##### **Hysterese**

- Zunahme aufgrund des entzündeten und anhaltenden Ödems.

Tabelle 14: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Dermaflex A®

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Sklerodermie</b>	
<b>Dehnbarkeit und Hysterese</b>	
- Sklerotischer Plaque: Abnahme der Dehnbarkeit, Abnahme der Hysterese	Serup et al., 1985 (127)
frühe Remission: Abnahme der Dehnbarkeit, Zunahme der Hysterese	
späte Remission: Abnahme der Dehnbarkeit, leichte Abnahme der Hysterese	
<i>Fazit: Die Dehnbarkeit der Haut ist in jeder Krankheitsphase vermindert. Die zunehmende Hautsteifigkeit ist - im Gegensatz zur Hautverdickung - eine konstante Größe.</i>	
<b>Ehlers-Danlos-Syndrom</b>	
<b>Dehnbarkeit</b>	
- Im Gegensatz zur Sklerodermie teilweise Zunahme an Wangen und Armen;	Serup et al., 1995 (96)
- die Verknüpfung von Binde- und subcutanem Fettgewebe hat keinen entscheidenden Einfluß auf die Hautmechanik.	
<b>Einfluß von Medikamenten</b>	
<b>Tretinoin (Creme, 0,05%)</b>	
<b>Dehnbarkeit, Hysterese, Biologische Elastizität (RER)</b>	
- Bei Hautmessungen mit geringem Unterdruck (100 mbar) stellen sich keine signifikanten Unterschiede der biomechanischen Parameter ein;	Berardesca et al., 1990 (126)
- bei höherem Unterdruck (300 mbar) tritt ausschließlich eine signifikante Zunahme der Hautelastizität ein.	
<i>Fazit: Die gesteigerte Hautelastizität geht auf eine Zunahme des Kollagens zurück, resultierend aus der topischen Tretinoinbehandlung und dem Ersatz elastotischen Materials. Das Dehnungsvermögen und die Hysterese bleiben von der Behandlung offensichtlich unbeeinflusst. Der signifikante Anstieg der Hautelastizität bei höherer Belastung spricht für den Effekt des Medikamentes auf das kollagene Fasernetzwerk in der Dermis, da nur bei höheren Belastungen kollagene Faserbündel involviert werden. Ein geringer Unterdruck induziert hauptsächlich Reaktionen der oberen Dermis und der elastischen Fasern.</i>	

Tabelle 15: Untersuchungsergebnisse mit der Saugmethode Dermaflex A®

Parameter und Ergebnisse

Autor

---

### Einfluß von Kosmetika

#### Prüfung des Kurzzeiteffektes von Moisturizern

##### Dehnbarkeit

- wurde durch alle 6 getesteten Moisturizer (Decubal® (O/W), Nivea®, Vaseline®, Locobase® (W/O), Kerodex® (W/O), Clinique Moisture-on-call® (O/W)) verbessert;
- Verbesserung der Dehnbarkeit der Haut sowohl bei normaler Haut (n = 25), als auch bei atopischer Haut (n = 15);
- keine signifikanten Unterschiede in der Wirksamkeit der Moisturizer bei normaler als auch atopischer Haut.

##### Hysterese

- Verbesserung - aber signifikante Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Moisturizer bei gesunder Haut;
  - keine signifikante Veränderung der Hysterese gesunder Haut induzierten Kerodex® (Hautschutzcreme, W/O) und Clinique Moisture-on-call® (O/W-Feuchtigkeitsemulsion);
  - bei atopischer Haut hat nur Clinique Moisture-on-call® keinen statistisch signifikanten Einfluß auf die Hysterese; der Einfluß aller anderen Produkte ist gleich (keine statistisch signifikanten Unterschiede).
- Fazit: Zur Prüfung der Kurzzeiteffekte topischer Agenzien auf die Hautplastizität ist die Hysterese der bessere bzw. empfindlichere Parameter. Zur Veränderung der Verformbarkeit der Haut ist nicht nur die Absorption von Wasser in das SC wichtig, sondern auch die Absorption von Lipiden.*
- Bei normaler Haut zeigen fettige Kosmetikprodukte signifikant größere Veränderungen als andere Cremes. Moisturizer mit hohem Fettgehalt haben stärker weichmachende Effekte und verursachen signifikant größere Veränderungen der Plastizität normaler Haut als Moisturizer mit geringem Lipidgehalt. Atopische Haut wird in einem stärkeren Maß durch Moisturizer beeinflusst als normale Haut.*

Jemec, G.B.E., 1998 (136)

### 4.1.2 Torsionsmethoden

Die Torsionsmethode hat sich seit den 60er Jahren durch die Arbeit von D.C. Vlasblom (114) als allgemein akzeptiertes Verfahren in der Hautkosmetik und Dermatologie etabliert (23). Finlay (112, 137) dehnte die Untersuchungen aus und nutzte das Prinzip der Torsion zur Beurteilung von biomechanischen Hautveränderungen im Alter. Seitdem hat die l'Oréal Gruppe rund um Lévêque (60, 75, 76, 132, 133) extensiv Torsionsgeräte eingesetzt und wesentlich zur Entwicklung dieser Technik beigetragen.

Die Entwicklung von twistometrischen Untersuchungsmethoden wurde aus verschiedenen Gründen vorangetrieben:

- Rechtwinkelig zur Hautoberfläche applizierte biomechanische Stimuli haben nach Meierson et al. (138) generell den Nachteil, daß zum Teil die Subcutis in die Messung einbezogen wird. Da diese Schicht erhebliche Unterschiede in ihrer Dicke oder im Fettgehalt zeigt, wird sie konsequenterweise weit auseinander liegende biomechanische Eigenschaften aufweisen und die Hautmessung maßgeblich beeinflussen. Hingegen wird von Torsionsmessungen in der horizontalen Ebene bei Anwendung geringfügiger Hautverschiebungen ausschließlich eine Einbeziehung von Epidermis und Dermis erwartet (138).
- In eine Richtung wirkende Belastungen müssen immer die Anisotropie der Haut berücksichtigen, aber Langer'sche Linien sind nicht leicht zu finden und die meisten von ihnen stehen schräg zu den Körper- und Gliedmaßenachsen. Sie sind deshalb schwierig zu vergleichen (138). Außerdem ist das Testareal mit solchen Geräten kaum zu begrenzen (138).

#### Meßprinzip

Torsionsgeräte arbeiten mit einer Scheibe, die auf der Hautoberfläche aufgeklebt ist und durch einen Drehmomentenmotor rotiert, der durch eine kontrollierte Spannung unter Strom gesetzt wird. Die Haut wird hierbei um definierte Beträge verdreht, um anschließend in ihren Ausgangszustand zurückzukehren. Aus den Drehmomenten, den Winkelverschiebungen und dem Zeitverhalten kann nach Both et al. (23) auf die

viskoelastische Qualität der obersten Hautschichten geschlossen werden, wozu nach Meinung der Autoren das SC stark beiträgt. Die Kraft des Drehmomentes ist variabel einstellbar.

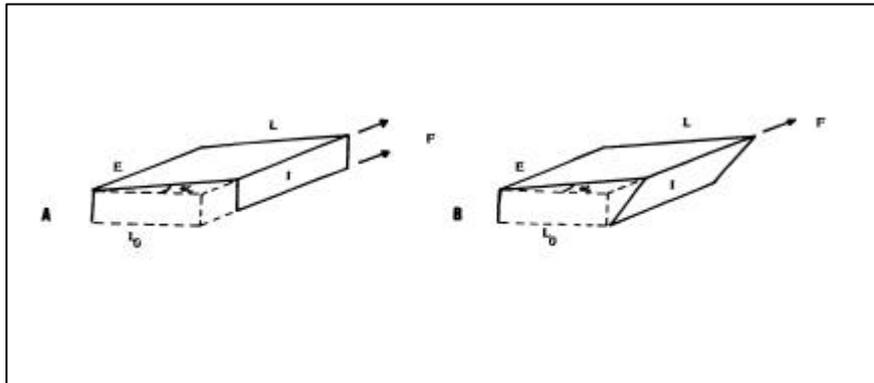


Abb.18: Darstellung der winkelförmigen Deformation der Haut unter Verdrehbeanspruchung in Torsionstests. A = Homogene Deformation der Haut über ihre volle Dicke; B = Deformation primär an der Hautoberfläche. Die Deformationsgradienten werden als linear angenommen: ( $l_0$ ) Ausgangslänge (Weite des Hautringes), ( $L$ ) Länge nach Dehnung, ( $I$ ) innerer Aspekt des Hautringes zur Scheibe, ( $E$ ) äußerer Aspekt des Hautringes zur Hautscheibe, ( $F$ ) Kraft, ( $\alpha$ ) Deformationswinkel; entnommen aus Agache (74).

Unter dem Torque bewegt sich das unter der Scheibe festgeklebte Hautareal vermutlich ohne jegliche Bremsung des subkutanen Gewebes mit (74). Die Haut rings um die Scheibe wird durch die Verdrillung gedehnt. Es können zwei Arten der Verdrehung in Betracht gezogen werden, abhängig davon, ob ein konzentrisch zu der Scheibe befindlicher peripherer Haltering vorhanden ist oder nicht (siehe Abbildung 19). Der Haltering selbst klebt ebenfalls auf der Hautoberfläche und ist während der Scheibenrotation unbeweglich.

- ⇒ Ist *kein Haltering* an einem Torsionsgerät existent, so wird nach Sanders (103) die Haut peripher der Scheibe bis zu einer unbekanntem Distanz ebenfalls mit in den Torque einbezogen. Da sie viel weniger ausdehnbar als die Subcutis ist, wird letztere zum größten Teil für die Verformung sorgen.

- ⇒ *Existiert hingegen ein Haltering*, so sind sowohl die Form als auch die Grenzen des verdrehten Hautareals bekannt, das Gleiten der Haut über der Subcutis wird begrenzt und der wesentliche Teil der Torsionsdehnung findet in der Dermis selbst statt.

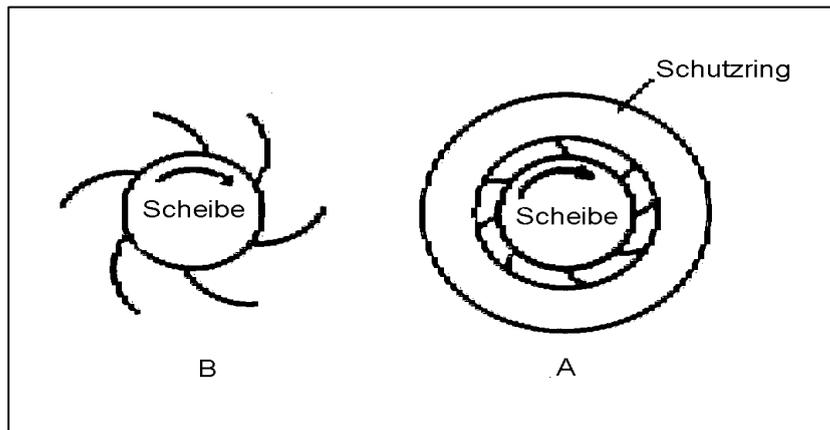


Abb.19: Die Deformation der Haut, verursacht an der Peripherie einer rotierenden Scheibe eines Torquemeters ohne (B) und mit (A) Haltering, entnommen aus Agache (74).

Nach Barbenel und Payne (139) müssen Torsionsexperimente die folgenden Voraussetzungen erfüllen, damit die Validität der Untersuchung gewährleistet ist:

- Das Hautareal, das dem Torque ausgesetzt wird, sollte *immer* durch einen Haltering begrenzt werden, um zu gestatten, daß
  - ⇒ ausschließlich die Haut verformt und ihr Gleiten auf der Subcutis auf ein Minimum reduziert wird;
  - ⇒ die Dehnung der Haut im Vergleich zu ihrer ursprünglichen Länge berechnet werden kann.
- Die Weite des Hautkreises sollte gering sein, um den Zug auf die Subcutis zu unterbinden. In jedem Fall sind bei in vivo-Untersuchungen der Durchmesser der Drehscheibe und des inneren Halterings sowie das Drehmoment anzugeben.
- Der Rotationswinkel sollte möglichst klein ( $[\theta] < 10^\circ$ ) und der Radius  $[r]$  der rotierenden Scheibe groß sein; nur dies gestattet eine Verschiebung  $[r\theta]$ , bei der die Zirkulation als linear angesehen werden kann.

- Es sollte niemals ein rechtwinkliger Druck auf die Hautoberfläche ausgeübt werden, da dieser zu einer Beeinflussung der Hautmechanik führt. Ein Druck über 24,52 kPa induziert eine künstliche Meßkurve, bei der die krummlinige Beziehung zwischen Spannung und Dehnung nicht länger sichtbar ist. In der Praxis ist der jeweilige Druck der Meßsonde immer anzugeben.
- Beim Anlegen des Meßsensors ist ein Rutschen bzw. eine Deformation der Haut in jedem Fall zu vermeiden.
- Die Geschwindigkeit der angewandten Rotationskraft muß angegeben werden. Da die menschliche Haut viskoelastisch ist, erlaubt jede Applikation mit einer geringen Verdrehgeschwindigkeit zur gleichen Zeit sowohl elastische als auch viskose Verformungen der Haut. Sehr geringe Geschwindigkeiten, also quasi-statische Experimente, reduzieren den Widerstand der Haut gegen Null und beeinflussen folglich den elastischen Widerstand. Hingegen überwinden hohe Verformungsgeschwindigkeiten viskose Widerstände, die geringer als die applizierte Belastung sind und tragen zum elastischen Widerstand während der sofortigen Hautdeformation bei.

### Meßparameter

Die Geräte von Finlay (140), Jaskowski und Maceluch (141) ermöglichen wiederholende Verdrehungen in einstellbaren Frequenzen und zu- bzw. abnehmenden Geschwindigkeiten. Finlays Protokoll (137, 140) beschreibt eine progressive Zunahme der Scheibenrotation, dann einen Stillstand, um die Entspannung der Haut von der Rotationskraft zu untersuchen, und anschließend eine progressive Rückkehr der Scheibe auf Null. Aufgezeichnet wird die Dehnung der Haut und ihre interne Widerstandskraft während des ersten Durchganges und der nachfolgenden Durchgänge.

Jaskowski und Maceluch (141) unternahmen Wiederholungsmessungen bis zu einer Resonanzfrequenz und zeichneten dabei die Oszilloskop-Amplitude des Drehmoments, die höchste Frequenz und die Abschwächung des Torques durch die Haut auf.

Die einfachste Art, Torquetests durchzuführen, ist die Anwendung eines konstanten Drehmomentes (für einige Sekunden) und die Aufzeichnung der winkelförmigen Deformation der Haut gegen die Zeit. Wird die Haut verdreht, tritt entsprechend der beschriebenen Saugmethoden (vgl. Kap. 4.1.1) eine sofortige elastische Verformung (UE) ein, gefolgt von einer kriechenden viskoelastischen Verformung (UV). Nach Beendigung des Drehmoments stellt sich wieder eine sofortige Erholung der Haut (UR) ein, die jedoch immer unvollständig ist.

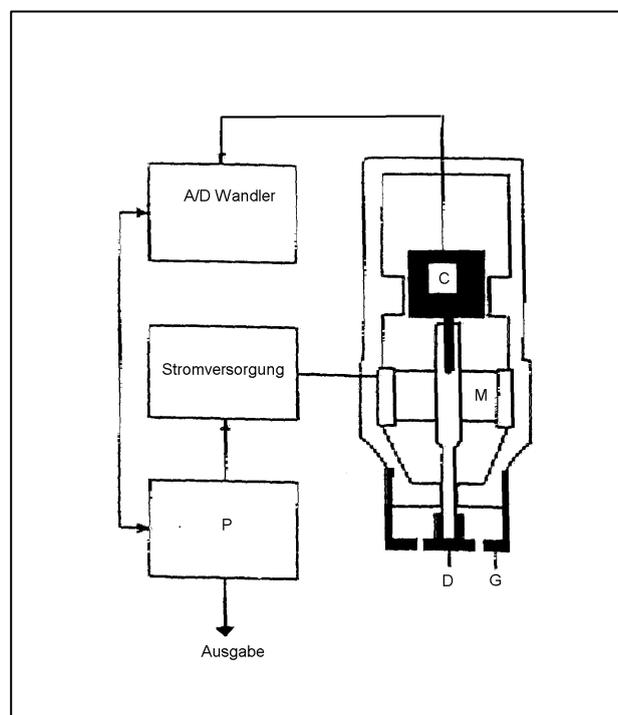


Abb.20: Twistometer von Lévêque (1985). C = Rotierender Sensor, M = Motor, D = Scheibe, G = Haltering, P = Mikroprozessor. Der Haltering ist in der Apparatur integriert. Es liefert ein analoges Signal, direkt proportional zum Rotationswinkel der Scheibe. In der neueren Version ist das Signal digitalisiert und ein Mikroprozessor berechnet die Hauptparameter und kontrolliert die Meßphasen; entnommen aus Agache (74).

Das ursprüngliche Torsionsgerät von Lévêque et al. (76) (siehe Abbildung 20) wurde weiterentwickelt und ist nunmehr als Dermal Torque Meter<sup>®</sup> (Dia Stron Ltd., Andover, England) kommerziell erhältlich (siehe Abbildung 21). Ziel dieses Gerätes ist es, die Weichheit bzw. die Oberflächencharakteristika der Haut schnell und zuverlässig zu

ermitteln (23). Das Gerät zeichnet sich durch eine flexible Vorgabe der Parameter und eine hohe Winkelauflösung mit folgenden Spezifikationen aus (23):

Wählbarer Drehmomentenbereich:	0-30 mNm
Auflösung Drehmoment :	0,1 mNm
Zeitbereich:	1 - 99 s
Auflösung Zeit:	0,1 s
Meßbarer Winkelbereich:	$0 \pm 40^\circ$
Auflösung Winkel:	$0,02^\circ$
Einstellbare Zykluszahl:	1 - 20
Durchmesser der Scheibe:	20 mm
Spaltbreite:	1, 3, 5 mm
Datenaufnahme:	12 Bits mit 100 samples
Bandbreite:	50 Hz

Das Dermal Torquemeter<sup>®</sup> beinhaltet einen Sensorkopf, eine Kontrolleinheit und einen an das Meßsystem angeschlossenen Computer. Der Sensorkopf ist aus einem Torquemotor und einem Winkelsensor zusammengesetzt. Der Drehmomentmotor versetzt eine auf der Hautoberfläche geklebte Scheibe mit einem Durchmesser von 20 mm in Bewegung. Da die Scheibe mit dem Eigengewicht des Meßkopfes auf dem SC aufliegt, erfolgt bei der Hautmessung eine Mitnahme der obersten Hornschicht (23). Ein mit der Motorachse verbundener Sensor erzeugt ein analoges Signal direkt proportional zu der sich bewegenden Achse. Das dem Drehmoment ausgesetzte Hautareal ist durch einen mit Doppelklebeband auf der Hautoberfläche befestigten Ring festgelegt. Die Weite des einbezogenen Areal beträgt 1 mm zwischen der Zentralscheibe und dem Haltering. Auch andere Weiten können eingestellt werden. Die Dynamik des Torques reicht von 1 bis 30 mNm, wobei die Auflösung bei 0,1 mNm liegt. Die Sequenz von „torque-on“ zu „torque-off“ wird als Zyklus bezeichnet. Der Torque wird über eine bestimmte Zeitperiode appliziert und dabei wird die resultierende Winkelverschiebung [°] bzw. Verdrehung der Haut aufgezeichnet. Beispielsweise liegt nach einem über 10 Sekunden applizierten Torque von 20 mNm der Winkel bei  $8^\circ$  (61).

Nach Both et al. (23) stellt sich in einem Drehmomentbereich bis zu 1,5 mNm der Kurvenverlauf normalerweise quasilinear dar. Auf diesen elastischen Bereich folgt eine Phase des Kriechens, weil kein vollständiger Kraftschluß zustande kommt und sich die Scheibe stick-slipartig über die Hautoberfläche bewegt. Bei noch höheren

Drehmomenten kann die Scheibe fast reibungslos über die Hautoberfläche hinwegrutschen, was durch einen steilen Anstieg der Winkelveränderung angezeigt wird (23).

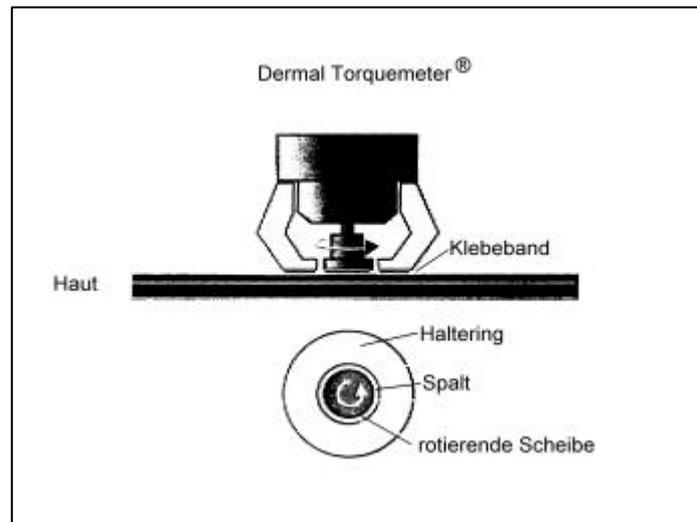


Abb.21: Dermal Torquemeter® (Diastron, Ltd., Andover, England). Die Meßsonde wird manuell gehalten. Das dem Drehmoment ausgesetzte Hautareal ist durch einen mit Doppelklebeband auf der Hautoberfläche befestigten Ring festgelegt. Die Weite des einbezogenen Hautareals beträgt 1 mm zwischen der Zentralscheibe (Durchmesser von 20 mm) und dem Schutzring (innerer Durchmesser von 22 mm). Die Einstellung anderer Weiten ist möglich. Die Dynamik des Torques reicht von 1 bis 30 mNm, die Auflösung liegt bei 0,1 mNm. Der Torque wird über eine bestimmte Zeitperiode appliziert und dabei wird die resultierende Winkelverschiebung [°] der Haut erfaßt; entnommen aus Ennen et al. (61).

Es wurden verschiedene Methoden entwickelt, um aufgezeichnete Meßdaten aus Torsionsversuchen in mathematische Modelle einzufügen. Eine detaillierte Verknüpfung verschiedener Meßergebnisse mit algebraischen Modellen und einige generelle Aspekte hinsichtlich der Verbesserungen im Bereich torsionaler Messungen sind im einzelnen der umfangreichen Arbeit von Salter et al. (142) zu entnehmen. Hier wird nachgewiesen, daß für das Verständnis der ermittelten Werte eine besondere mathematische Behandlung der Ergebnisse erforderlich ist. Es wird die Weibull-Verteilung, eine aus exponentiellen Teilen zusammengesetzte Anpaßfunktion als mathematisches Instrument eingesetzt (142). Salter und andere Autoren verbinden die Hautoberfläche und die Drehscheibe des Torsionsmeßgerätes über Klebepunkte fest miteinander und untersuchen damit nur die Verdrehung der obersten Hautschichten.

Verzichtet man auf eine derartige Verbindung, können nach Both et al. (23) über Haftreibung auch - allerdings nur kleine - Drehwinkel erfaßt werden. Darüber hinaus läßt sich der Übergang vom Haften zum Rutschen bei aufgesetztem Meßsensor quantifizieren (23). Obgleich Untersuchungen über den Einsatz der Torsionsmethode Dermal Torquemeter<sup>®</sup> deutlich herausstellen, daß das eigentliche Ziel die Evaluierung des biomechanischen Zustandes der Epidermis ist, erbringt die Studie von Salter et al. (142), daß selbst bei Auswahl der geringsten Spaltbreite von 1mm (siehe Abbildung 21) gleichzeitig die Dermis erfaßt wird. Aus diesem Grund sind die vorgestellten "WB-Modellparameter" sowohl sensibel für externe Einflußgrößen (beispielsweise Veränderung des Parameters WB2B bei topischer Applikation von Moisturizern) als auch für intrinsische Faktoren (Veränderung des Parameters WB2C auf Faktoren wie Alter und elastische Erholung), von denen angenommen werden kann, daß sie in Bezug zur Dermis stehen (142).

Nach Both et al. (23) erhöhen die mathematischen Modelle (142) den Informationsgehalt der Torsionsmethode deutlich und ermöglichen eine bessere Charakterisierung sowohl der unbehandelten als auch der mit kosmetischen Mitteln behandelten Haut. Im Gegensatz dazu besitzen nach Ennen et al. (61) solche Modelle wenig praktischen Wert, da keine signifikanten Unterschiede zwischen der grundlegenden Information, die von ausgesuchten Parametern erhalten, und den Parametern, die aus Kurven abgeleitet werden, bestehen. Natürlich sind algebraische Modelle unter Nutzung mathematischer Funktionen reproduzierbar; um jedoch die Reproduzierbarkeit der Meßparameter (UE, UR, UV usw.) sicherzustellen, wird von den Autoren ein Computerprogramm zur Trennung der Kurvenphasen bevorzugt (61).

### Untersuchungsergebnisse von Hautmessungen mit Torsionsgeräten

Agache et al. (74) stellen unmißverständlich heraus, daß vom biomechanischen Standpunkt die Torsionsexperimente Belege dafür sind, daß die Haut ein Kompositmaterial darstellt, bestehend aus drei Schichten unterschiedlicher Dicke, Steifheit und Viskoelastizität, die parallel zusammenarbeiten. In Übereinstimmung mit Lévêque et al. (75) betonen sie den großen Einfluß des SC auf die Steifigkeit und die elastische Erholung der Haut.

Die Untersuchungen mit Torsionsmethoden lassen eine Abnahme der sofortigen Dehnbarkeit der Haut mit dem Alter - größtenteils jenseits des 60. Lebensjahres - und eine verzögerte viskose Hautausdehnung erkennen. Da insbesondere ab der sechsten Lebensdekade die Hautdicke abnimmt, steigt das E-Modul jenseits dieses Alters an. Nur wenige Daten zeigen Diskrepanzen. Der Hauptgrund könnte das Fehlen eines Halteringes am Meßkopf sein, so daß solche Untersuchungen vielleicht eher eine Schätzung bzw. eine Annäherung an die Ausdehnungsfähigkeit der Subcutis sind. Andere Diskrepanzen zeigen sich bei den Entspannungskräften, z.B. bei der Fähigkeit der strukturellen Hautelemente, sich gegeneinander zu verschieben. Ist die Entspannungszeit verringert (6, 60, 99), so nimmt die Beweglichkeit der strukturellen Elemente im Alter zu. Das Gegenteil, das bei Finlay (112) beobachtet wurde, könnte durch die abweichende Untersuchungsdurchführung erklärt werden. Während Finlay (105) für die Entspannungszeit die Beweglichkeit von Hautelementen während einer gehaltenen Dehnung untersuchte, haben sich die anderen Experimente mit der Beweglichkeit während einer dynamischen Dehnung befaßt.

Wie bei den Elongationsmethoden, so ist auch bei Torsionsgeräten eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschwert: Durchmesser der rotierenden Scheibe, auf die Haut applizierter Druck, Drehmoment und Anzahl der Meßdurchgänge weichen voneinander ab. Aus diesem Grund sei ausdrücklich auf die Untersuchungsergebnisse des erst seit einigen Jahren kommerziell verfügbaren Dermal Torquemeter® hingewiesen, dessen Einstellungen weniger variieren. Both et al. (23) prüften mit diesem Gerät erst kürzlich den Einfluß von zwei Duschbädern (rückfettendes Duschbad sowie ein Duschbad auf Grundlage einer Wachsdispersion) auf die viskoelastischen Hauteigenschaften in vitro. Daneben wurden die Effekte einer Emulsion mit synthetischen Barrierelipiden (SBL) und einer chitosanhaltigen O/W-Hautemulsion in vitro evaluiert, wobei letztgenannte Emulsion ebenfalls in vivo an Probanden getestet wurde. Die Autoren schlußfolgern aus den in vitro-Befunden, daß das in der O/W-Emulsion eingearbeitete Chitosan wirksam war. Die Torsionswerte wurden zu höheren Drehwinkeln hin verschoben, wobei dies mit einem weicheren Hautgefühl korrelierte (23). Durch die topische Anwendung von unterschiedlichen Ceramiden wurde die Barriereeigenschaft des SC nur wenig beeinflusst, hingegen die innere Weichheit der

Haut, d.h. ihre innere Flexibilität, durch eine ceramidähnliche Verbindung positiv. Die Behandlung von Schweinehaut mit einer n-Hexadecylbernsteinsäuremonobehenylester enthaltenden Formulierung führte im Vergleich zum Placebo bei gleichem Drehmoment zu größeren Drehwinkelverschiebungen und wurde damit als wirksamer "Flexibilitätsverbesserer" eingestuft. Die Verschiebung der Slipwerte zu höheren Werten wurde als Indiz für die Substantivität des eingesetzten Pseudoceramids gedeutet, das eine vergrößerte Haftung zwischen Haut und Torsionsdrehscheibe induziert. Die Ergebnisse des in vivo-Tests, in dem ausschließlich die Eigenschaften der chitosanhaltigen Rezeptur (Volarmessung, Hautmessungen zu Beginn (Baseline), nach 14 und 31 Tagen) evaluiert wurden, standen in gutem Einklang mit den in vitro-Ergebnissen (23). Sie ergaben eine Verbesserung der Hautweichheit bereits nach 2 Behandlungswochen.

Tabelle 16: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Intrinsische Alterung</b>	
<p>Meßstelle: lateraler Unterarm; 4 mm Hautkreis; rotierende Scheibe mit 15 mm Durchmesser; induzierter Druck auf die Haut: 11 kPa; Meßdurchgang mit progressiver Verdrillung des kreisförmigen Hautareals (Rotation der Scheibe 2°/ pro Sek.) bis zu einem Torque von 20 mN * m; Beibehaltung des Torsionslevels für 1 Minute, bevor der Torque mit der gleichen Geschwindigkeit bis auf Null reduziert wird; während des Durchgangs steigt die Rotationskraft bis zu einem Peak an, sinkt dann teilweise ab, während die Deformation erhalten bleibt („force relaxation“). Danach Abfall auf einen negativen Wert. Anschließend drei weitere Durchgänge in 1 Minuten-Intervall mit gleichen Parametern. Ausgewählte Parameter: Winkeländerung, assoziiert mit einem Torque von 2 mN * m; Verhältnis Gipfel zu Endtorque (z.B. Ende der Hautrelaxation); halbe Entspannungszeit (zeigt Intensität der Entspannung innerhalb 1 Minute an).</p> <p>Ergebnis:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mit dem Alter signifikanter Abfall der Winkeldeformation; d.h. ein Anstieg der Hautsteifigkeit.</li> </ul> <p>Ergebnis bei Durchführung eines fünften Durchgangs in umgekehrter Richtung:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mit dem Alter ist nur das Verhältnis Peak zu Endtorque geringer; d.h. Abfall der Entspannungskraft in der gedehnten Haut während dieses Zeitintervalls.</li> </ul> <p><i>Fazit: Werden die Komponenten der Haut mit Federn und hydraulischen Stoßdämpfern verglichen, könnten die steifere Haut und die geringeren Entspannungskräfte sowohl Kennzeichen für schwächere Federn als auch für stärkere Stoßdämpfer (mehr Viskosität) bzw. beides sein.</i></p>	Finlay et al., 1971 (112)
<p>Meßstelle: dorsaler Unterarm; rotierende Scheibe mit 8,7 mm Durchmesser (ohne Haltering - verdrilltes Hautareal damit undefiniert); applizierter Druck nicht spezifiziert; Torque von 0,83 mN* m; gleiche Apparatur wie Finlay (s.o.), 19 gesunde Probanden von 6-61 Jahren. Ausgewählte Parameter: UE, UV, E-Modul</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- UE steigt mit dem Alter fast linear an;</li> <li>- UV steigt nur bei einem Alter &gt; 40 Jahre an;</li> <li>- geringer E-Modul;</li> <li>- Anstieg des E-Modul mit dem Alter.</li> </ul> <p>Der berechnete elastische Torsionsmodul (20 bis 100 kPa) nahm mit dem Alter ab.</p>	Sanders, 1973 (143)

Tabelle 17: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Intrinsische Alterung</b>	
<p><i>Fazit: Bei geringer Verdrillung sind ausschließlich elastische Fasern beteiligt. Die mit dem Alter abnehmende Hautsteifigkeit erklärt sich durch den altersbedingten Verfall der elastischen Fasern. Durch den fehlenden Haltering übernimmt die Subcutis einen Teil, wenn nicht sogar den größten, an der Deformation. Da die subkutane Schicht locker ist, erklärt sich der sehr geringe E-Modul und dessen Zunahme im Alter. Die beobachteten Parameter waren vermutlich die der Subcutis und nicht die der Dermis.</i></p>	Sanders, 1973 (143)
<p>Meßstellen: Unterarm-, Stirn- und Bauchhaut; höchster Punkt zwischen rotierender Scheibe und Haltering wurde durch die Scheibenschwingung bis zu einer Maximalamplitude (Resonanz) zum Vibrieren gebracht; 380 gesunde Probanden von 5-80 Jahren. Ausgewählte Parameter: Widerstand, Frequenz, Häufigkeit und Dämpfung</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ständiger Anstieg der Hautsteifheit (Nm/ rad) von 20 bis 60 Jahre; sehr starker Anstieg bei Personen älter als 60 Jahre;</li> <li>- Dämpfung (Nms/rad) folgt der gleichen Steigerung;</li> <li>- Resonanzfrequenz und Widerstand stiegen über die Lebensspanne langsam an.</li> </ul>	Jaskowski et al., 1982 (141)
<p>Meßstelle: volarer Unterarm; 5 mm Hautkreisareal; zentrale Scheibe mit 25 mm Durchmesser; Druck auf die Haut: 12,6 kPa; Meßdurchgang: schneller abrupter Torque für 2 Minuten, Applikation von zwei Belastungen mit gewissem Abstand (9 und 28,6 mN * m); 141 gesunde Probanden im Alter von 3 bis 89 Jahren. Ausgewählter Parameter: Winkelrotation von 24 mV/°.</p> <p>Ergebnisse:</p> <p><u>unter geringerem Druck</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Abnahme von UE während der ersten beiden Lebensjahrzehnte um 30 %;</li> <li>- UE stabil bis zum 60. Lebensjahr, danach Anstieg um 10 %;</li> <li>- das Ergebnis der sofortigen Deformation einer halben Hautfalte auf der gleichen Seite (Messung mittels Kaliper) zeigte deutlich einen fortschreitenden Abfall mit dem Alter;</li> <li>- höherer E-Modul bei Frauen in jedem Alter, d.h. Vorliegen einer steiferen Haut.</li> </ul>	Lévêque et al., 1980 (60) Agache et al., 1980 (99)

Tabelle 18: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Intrinsische Alterung</b>	
<p><u>unter höherem Druck</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- starke Abnahme von UE bis zum 30. Lebensjahr, dann leichter Anstieg;</li> <li>- langsamer Abfall des E-Moduls bis auf ein Minimum bei Zwanzigjährigen; anschließend ständige Zunahme mit dem Alter.</li> </ul> <p><i>Fazit: Bei höherem Torsionsdruck ist der E-Modul bei Frauen aller Altersklassen über 20 Jahre größer. Die absoluten Werte des E-Moduls liegen bei beiden Belastungen in dem gleichen Bereich, sind aber statistisch höher bei geringerem Torque. Die Richtung dieses Unterschiedes favorisiert eher eine technische als eine physiologische Ursache, da der höhere Torque zu gering war, um eine Schädigung der Haut zu induzieren, und er verursachte zudem bei der Anwendung kein unangenehmes Gefühl.</i></p>	<p>Lévêque et al., 1980 (60) Agache et al., 1980 (99)</p>
<p>Meßstelle: volarer Unterarm (Gerät vgl. 60, 91); Verringerung des Hautkreises auf 3 mm um mögliche Einbeziehung der Subcutis zu minimieren; Reduktion der Torque-Werte auf 2, 3, und 10 mN *m (im Vergleich zu 9 und 28,6 mN *m); Scheibe von 18 mm Durchmesser (statt vorher 25 mm); zusätzlich Hautdickenmessung mittels Ultraschall-Hochbildauflösung; 123 Probanden. Ausgewählte Parameter: <b>UE, Hysterese, UR/UE</b></p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ultraschallstudien zeigen eine dünnere Haut vor dem 10. Lebensjahr und nach dem 70. Lebensjahr mit keiner signifikanten Variation dazwischen;</li> <li>  Männerhaut ist in allen Altersgruppen signifikant dicker (ca. 16% ) als bei Frauen;</li> <li>- weder bei UE noch beim Kriechen signifikante Veränderungen über die Lebensspanne;</li> <li>- keine signifikanten Differenzen zwischen den Geschlechtern;</li> <li>- signifikante Abnahme nur beim Produkt <math>U_e \cdot \text{Hautdicke}</math> (um ca. 85% bei Alter &gt; 70 Jahre);</li> <li>- Abnahme der unmittelbaren Erholung mit dem Alter;</li> <li>- Abnahme von UR/UE mit dem Alter;</li> <li>- Abnahme der Entspannungszeit des Kriechens nur bei größerem Torque; d.h. mit fortschreitendem Alter verliert die Dermis an Viskosität, da der Gehalt an Glukosaminoglykanen abnimmt.</li> </ul>	<p>Escoffier et al., 1989 (6)</p>

Tabelle 19: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Intrinsische Alterung</b>	
<p>Meßstelle: ventraler Unterarm; Dermal Torquemter®, Torque von 20 mN *m; Spaltbreite 1mm, Periode "torque on zu torque off" : 10 Sek.; Sequenz von 3 Zyklen;  zusätzlich zum Vergleich: Einsatz der Saugmethode (Cutometer: 400 mbar Unterdruck, Sonde von 2 mm, Belastungs- und Entspannungsphase von 5 Sekunden; Sequenz von 3 Meßzyklen; Dehnungs-Zeit-Modus); 2 weibliche Probanden (24 und 50 Jahre). Ausgewählter Parameter:  - Quotient X/UF bzw. Flächenberechnung innerhalb von UF und X für eine Serie von 3 Zyklen (um einen Vergleich zwischen Saug- und Torsionsmethode zu ermöglichen).  Ergebnisse:  - Vergleich der beiden Meßsysteme aufgrund unterschiedlicher Sonden (2 mm vs. 22 mm) nicht möglich; Volumen bei der Torsionsmethode ist etwa 100 mal größer als bei der Saugmethode (Hinweis auf diese Schlußfolgerung ist der Unterschied im Anstieg der Meßkurve: während bei der Saugmethode die Dehnungskurve fast ihren Grenzwert erreicht hat, endete die korrespondierende Kurve bei der Torsionsmethode früher);  - UF: deutlich altersabhängige Veränderung durch Abnahme der Hautdicke sowie der Alterung von kollagenen und elastischen Fasern;  - UV/UE: deutlich höherer Grad innerer Reibung bei älterer Haut (mehr als 60%);  - X/UF: Fähigkeit zur Erholung dreimal höher bei jüngerer Haut; unter Flächenberechnung: Cutometermessung zeigt ein 60% - Torsionsmessung ein nur 30% höheres Level an dynamischer Flexibilität bei jüngerer Haut.  <i>Fazit: Saug- und Torsionsmethode können das Alter der Haut unter Flächenberechnung bestimmen, sofern o.g. Parameter gewählt werden. Unterschiede in den Absolutwerten hängen von der höheren inneren Reibung bei der Torsion ab.</i></p>	Ennen et al.,1995 (61)

Tabelle 20: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Aktinische Alterung (Photoaging)</b>	
<p>Meßstelle: sonnenexponierte und -geschützte Hautareale am Unterarm (1 cm Entfernung zur Bräunungsgrenze); Spaltbreite 1 mm; rotierende Scheibe mit 18 mm Durchmesser (um Druck auf die oberflächlichen Hautschichten zu begrenzen); Torque: 9 mN *m für 10 Sek.; 35 Probanden</p> <p>Ergebnisse in sonnenexponierter Haut:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Reduktion des Drehwinkels um 33 %; Zunahme der Hautdicke um 22,5 %;</li> <li>- Anstieg des E-Moduls von 541 auf 698 kPa;</li> <li>- Verminderung der relativen sofortigen elastischen Erholung um 22%.</li> </ul> <p><i>Fazit: Der Anstieg des E-Moduls demonstriert eine Hautversteifung infolge wiederholter UV-Exposition die reduzierte Erholung zeigt einen substantiellen Verlust an Hautelastizität.</i></p>	Lévêque et al., 1988 (133)
<p>Meßstellen: volarer und dorsaler Arm; Torque von 15 mN *m, Scheibendurchmesser: 18 mm; Spaltbreite 3 mm; abrupter Torque, anschließend über 60 Sek. gehalten und sofort gestoppt. Ausweitung der Studie auf Probanden verschiedener Rassen (Schwarze, Weiße, Spanier).</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keine Unterschiede in der Hautdicke (Gerät: Ultraschall-A-Scan, 15 MHz) zwischen den Rassen;</li> <li>- bei allen Probanden war die Haut des dorsalen Oberarms dicker;</li> <li>- E-Modul des volaren Unterarms bei allen Gruppen gleich;</li> <li>- signifikante Unterschiede zwischen beiden volaren Unterarmseiten (außer bei Schwarzen);</li> <li>- signifikanter Unterschied der Viskoelastizität zwischen innerem und äußerem Unterarm (außer bei Schwarzen);</li> <li>- geringere elastische Erholung der äußeren Unterarmhaut (außer bei Schwarzen);</li> <li>- Zunahme der elastischen Erholung mit dem Alter, unabhängig von der rassischen Gruppe und der untersuchten Hautstelle.</li> </ul> <p><i>Fazit: Volare Unterarmhaut zeigt bei allen Rassen das gleiche biomechanische Verhalten, Unterschiede treten nur dorsal auf. Aufgrund der chronischen UV-Exposition zeigen Schwarze einen Anstieg des E-Moduls, d.h. ihre Haut ist steifer, und einen Abfall der Hautdehnbarkeit.</i></p>	Berardesca et al., 1991 (131)

Tabelle 21: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<b>Aktinische Alterung (Photoaging)</b>	
<p><i>Die Ergebnisse beider Studien zeigen, daß langandauernde, sich wiederholende Sonnenschädigung dem intrinsischen Altern in Bezug auf eine Verminderung der Hautelastizität und einem Anstieg der Hautsteifigkeit ähneln. Im Gegensatz zur intrinsischen Alterung ist das aktinische Altern mit einer Verdickung der Haut verbunden. Folglich kann eine chronische, aktinische Hautschädigung nicht mit einer vorzeitigen Alterung der Haut gleichgesetzt werden.</i></p>	Berardesca et al., 1991 (131)
<b>Einfluß des Stratum corneum (SC) auf die Hautmechanik</b>	
<p>Meßstelle: volarer Unterarm; Torque von 9 mN * m; Prüfung des Effekts von Wasser auf ein kreisförmiges Hautareal von 1, 3 oder 5 mm Weite; 10 Probanden.</p>	Lévêque et al., 1988/89 (133)
<p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- hochsignifikanter Anstieg von UE (80, 40 bzw. 15% für Kreisweiten von 1, 3 bzw. 5 mm);</li> <li>- progressiver Anstieg von UE bei indirekter Befeuchtung des SC von 15, 30 und 120 Minuten unter Okklusion (Plastikfolie);</li> <li>- stärkerer Anstieg von UE bei einer Spaltbreite von 1 mm im Vergleich zu 5 mm;</li> <li>- die Variationen von UE sind invers bezogen auf den E-Modul.</li> </ul>	
<p><i>Fazit: Das SC spielt eine wichtige Rolle für das biomechanische Verhalten der gesamten Haut. Die Verdrehung eines kleinen bzw. engeren Hautkreises läßt den Anteil des SC an den biomechanischen Parametern stark ansteigen. Die Feuchtigkeitsanreicherung im SC kann in vivo durch Torsionsexperimente aufgezeigt werden.</i></p>	
<b>Einfluß von Kosmetika</b>	
<p>Drei Gruppen mit je 14 Probanden, Untersuchung an trockener Beinhaut, 2 O/W- Emulsionen (mit 10% Glycerol bzw. 10% Harnstoff); Applikation zweimal täglich über 3 Wochen.</p>	Lévêque et al., 1985 (76)
<p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zunahme von UE in der ersten, zweiten und dritten Behandlungswoche bei beiden Präparaten;</li> <li>- Leerformulatur unterscheidet sich nicht vom Kontrollfeld;</li> <li>- eine Woche nach der Anwendungsphase ist ausschließlich der Effekt von Glycerol noch meßbar.</li> </ul>	

Tabelle 22: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß von Kosmetika</b>	
<p>Gleiche experimentelle Bedingungen und Geräte (s.o.); 10 Probanden</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Zunahme von UE (um 34%) zwei Minuten nach Eintauchen des Unterarmes in warmes Wasser (30°C, für 3 Minuten);</li> <li>- Zunahme von UR und UR/UE (je 40%).</li> </ul> <p>In der gleichen Untersuchung werden die Veränderungen der gleichen Parameter über 24 Behandlungstage evaluiert. Jede Messung wurde in Zeitintervallen von 24 Std. nach der letzten Anwendung vorgenommen.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- UE, UR und UR/UE zeigen einen kontinuierlichen und signifikanten Anstieg.</li> </ul> <p><i>Fazit: Zunahme der Viskoelastizität der Haut steht in Beziehung zum Anstieg der Hauttemperatur und der Befeuchtung des SC. Die Untersuchungen zeigen auch die täglichen intraindividuellen Schwankungen, die vermutlich mit klimatischen Veränderungen, wie der relativen Luftfeuchtigkeit und der Temperatur in Zusammenhang stehen.</i></p>	Aubert et al., 1985 (113)
<p>Meßstelle: Unterarmhaut, Stripping-Versuche (10, 15 und 30 SC-Strippings mit adhäsiven Klebeband; 10 Probanden.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Stetiger, signifikanter Abfall von UE, UR und UR/UE nach Strippings im Vergleich zu Baseline.</li> </ul> <p><i>Fazit: Das Resultat bestätigt, daß das SC eine große Rolle für die Hautsteifigkeit und die elastische Erholung der Haut spielt. Diese Tatsache sollte bei der Interpretation von Daten Berücksichtigung finden, die das biomechanische Verhalten der Haut evaluieren.</i></p>	Aubert et al., 1985 (113)
<p>Meßstelle: Gesichtshaut (Stirn und Wangen); klinische Erfassung des Trockenheits-Score (von 0-3) parallel zum Torsionstest; 55 Probanden.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- auf den Wangen inverse Beziehung zwischen UE und dem klinischen Trockenheits-Score;</li> <li>- auf der Stirn ebenfalls inverse Relation zwischen UE und dem Trockenheits-Score (weniger auffällig).</li> </ul> <p>Fazit: Der Einfluß des Feuchtigkeitsgehaltes des SC auf die biomechanischen Parameter unterstreicht die Bedeutung des SC für das biomechanische Verhalten der Haut.</p>	Lévêque et al., 1987 (75)

Tabelle 23: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse

Autor

**Einfluß von Kosmetika**

Meßstelle: volarer Unterarm; Torque: 9 mN \* m; Spaltbreiten von 1, 3 und 5 mm Weite; 13 Probanden.

Lévêque et al., 1988/89 (133)

Ergebnisse:

- Zunahme von UE eine Stunde nach Applikation von O/W- und W/O-Emulsionen (die Emulsionen enthalten keine Moisturizer oder mineralischen Fette);
  - Abfall von UE eine Stunde später; UE fällt weniger schnell ab, sofern okkludierendes Mineralfett oder W/O-Emulsion appliziert wurden;
  - Zugabe verschiedener Moisturizer (10%-ige Milchsäure, PCNa, Harnstoff) ergab in der ersten Stunde keinen größeren Effekt und wider Erwarten auch keinen zusätzlicher Effekt zwei Stunden nach der Applikation;
  - verlängerter Hydratationseffekt nur bei 10%-igem Glycerol (obgleich geringer als Milchsäure).
- Fazit: Moisturizer beeinflussen die Viskoelastizität der Hautt nicht signifikant stärker als klassische Emulsionsgrundlagen ohne Befeuchtungsmittel.*

Meßstellen: Unterarm und Gesicht; Dermal Torquemeter®, Torque von 10 mNm; torque on (15 Sek.) - torque off (15 Sek.); Spaltbreite von 1 mm; Untersuchung der Effekte von hochmolekularen und niedrigmolekularen Proteinen in verschiedenen Formulationen (wäßrige Systeme, O/W-Emulsionssysteme) auf die Haut; verschiedene Gruppen mit jeweils ca. 5-6 Probanden.

Challoner et al., 1997 (144)

Ergebnisse:

- Anstieg von UE durch Grundlagen mit inkorporierten Proteinen gilt als Indiz für eine Hautbefeuchtung;
- UE ist eine direkte Funktion des Feuchtigkeitsgehaltes der Haut; zeigt die Effekte filmbildender Proteine; Abfall von UE, da der Proteinfilm dem Torque Widerstand leistet (d.h. Rigidität der Hautoberfläche wird durch Ausbildung eines straffen Films erhöht);
- Anstieg von UR durch einige Proteinpräparate (O/W-Emulsionen) gilt als biomechanischer Marker für einen verbesserten Hautzustand bzw. "verjüngte" Haut.

Tabelle 24: Untersuchungsergebnisse mit twistometrischen Methoden (u.a. mit Dermal Torquemeter®)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß von Kosmetika</b>	
<p>Meßstelle: volarer Unterarm, Dermal Torquemeter®, Parametereinstellung s.o.; Untersuchung des Einflusses einer chitosanhaltigen O/W-Emulsion (Hautpflegecreme) auf biomechanische Parameter. Anwendungszeit der Creme: 1 Monat; Hautmessungen zu Beginn, nach 2 und 4 Wochen.</p> <p>Ergebnis:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Verbesserung der Weichheit bereits nach 2 Wochen;</li> <li>- Applikation der Creme hat Torsionswerte zu höheren Drehwinkeln hin verschoben, was mit einem weicheren Hautgefühl, d.h. einer besseren inneren Flexibilität korreliert.</li> </ul> <p><i>Fazit: Die an der Haut gemessenen Drehwinkelveränderungen, die bei kleinen Drehmomenten gemessen werden, korrespondieren mit der inneren Weichheit der Haut. Letztgenanntes ist vermutlich auf die leichtere Verschiebbarkeit der Korneozyten zurückzuführen. Mit dem Gerät lassen sich auch Slick-Slip-Effekte erfassen, die zur genaueren Beschreibung einer mehr oder weniger glatten Hautoberfläche herangezogen werden können.</i></p>	Both et al., 1998 (23)
<b>Einfluß von Krankheiten</b>	
<b>Sklerodermie</b>	
<p>Torque: 3 mN * m; Scheibenradius: 18 mm; Spaltbreite 3 mm; parallel Messung der Hautdicke mit A-Scan Echographie.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Gruppe 1 (n = 5, S. morphea, aktive Plaques): Anstieg der Hautdicke um 60%; Abnahme der Hautdehnbarkeit um 67% relativ zu gesunden Kontrollfeldern;</li> <li>- Gruppe 2 (n = 12, S. morphea, abnehmende Läsionen): Hautdicke unterscheidet sich nicht vom Kontrollfeld, aber die Dehnbarkeit der Haut ist immer noch geringer;</li> </ul> <p><i>Fazit: In der sklerotischen Phase mit übermäßiger Kollagensynthese weist die Haut normale biomechanische Eigenschaften auf, während in der regressiven Phase die progressive dermale Atrophie mit steiferem Kollagen verbunden ist.</i></p>	Kalis et al., 1990 (145)

### 4.1.3 Eindruckmethoden (Indentometrie)

#### Meßprinzip

Die Indentometrie basiert auf einem ähnlichen Prinzip wie die industriellen Messungen zur Prüfung der Materialhärte. Ziel ist es, die „Weichheit“ der Haut zu messen. Während des quasi-statischen Eindruckversuches drückt ein kreiszylinderischer Stempel mit einer definierten Last auf die Hautoberfläche, die sich abhängig von der applizierten Kraft und ihrer Weichheit eindrücken läßt. Die resultierende Eindringtiefe wird in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet. Alle Meßmethoden basieren auf diesem Prinzip (siehe Abbildung 22).

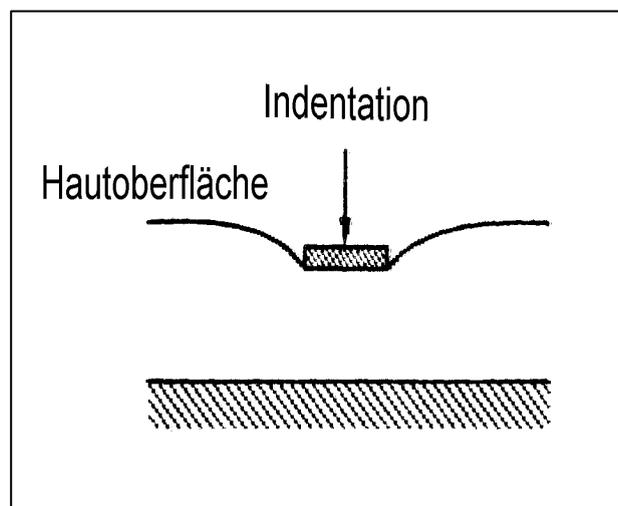


Abb.22: Schematische Darstellung der Indentation; entnommen aus Lanir et al. (146)

Eindruckmethoden zur Materialprüfung besitzen eine lange Tradition, so daß die Veränderungen hinsichtlich des Apparateaufbaus sowie der angewandten Druckkräfte im historischen Kontext aufgezeigt werden.

Das erste Indentometer wurde von Schade (147) 1912 gebaut. Alle anderen Geräte sind Modifikationen dieses Systems. Schades Meßsystem, das „Elastometer“, besteht aus einer aufzeichnenden Hebestange und einer Rotationstrommel. Ein Ende dieser Hebestange ist mit einer vertikalen Metallstange verbunden, die in einer hemisphärischen Lagerschale/ Kammbuchse innerhalb eines Feldes von 50 mm<sup>2</sup>

endet, welche auf die Haut appliziert wird. Die Hebestange trägt außerdem eine kleine Plattform, auf der ein Gewicht von 5 bis 75 g plaziert werden kann. Auf der anderen Seite des Hebbers sind eine ausschlagende Feder und Tinte befestigt, um die Meßkurve auf das Papier in der Rotationstrommel aufzuzeichnen. Der Meßdruck beträgt 10 bis 150 g/cm<sup>2</sup>.

Das erstmals 1946 von Kirk et al. (148, 149) beschriebene Meßsystem nutzt eine ähnliche Apparatur. Der einzige Unterschied ist, daß Bewegungen des Hebels von einem Zelluloid-Punkt auf gerauchtes Papier aufgebracht werden. Das Standardmeßgewicht beträgt 50 g und der Meßdruck ist 100 g/cm<sup>2</sup>.

Das Meßsystem von Tregear et al. (150), erstmals 1965 beschrieben, besteht aus einem beschwerten Metallstift mit einem Meßareal von 0,1 bis 5 cm<sup>2</sup>. Der Stift ist in einer vertikalen Hülse aus Glas frei beweglich und kann mit Gewichten von 100 bis zu 2000 g belastet werden. Der Metallstift wird auf ein Areal von Hautfalten plaziert, dessen untere Oberfläche auf einer dünnen Metallscheibe des gleichen Durchmessers wie der Stift liegt. Die vertikale Position des Stiftes wird akkurat bis 2 µm von einem mit einer Sprungfeder ausgestatteten Mikrometer registriert. Der Meßdruck beträgt 20 bis 400 g/cm<sup>2</sup>.

1969 haben Robertson et al. (151) als erste ein Meßsystem beschrieben, das aus einer Meßstange und einem Befestigungssystem mit einem geringen Moment von Trägheit besteht. Die Sonde ist ein hohler Aluminiumstab. Das der Haut anliegende Meßende hat einen Durchmesser von 0,5 cm. Eine Aluminiumplatte am oberen Ende trägt die Gewichte. Diese Sonde ist mit einem sich drehenden Energiewandler verbunden, dessen äußerer Teil in einem Bogen rings um einen stationären inneren Kern in Reaktion auf eine vertikale Bewegung des Stabes rotiert. Der innere Kern beinhaltet ein photosensitives Element, wobei der Output dieser Photozelle in Beziehung zur vertikalen Verschiebung der Sonde steht und mit einem Voltmeter gemessen wird. Das Instrument hat eine Antwortzeit von 50 ms und kann Bewegungen bis zu 1 cm mit einer Auflösung von 0,01 cm aufzeichnen. Die innere Reibung beträgt annähernd 1 dyn. In allen Experimenten wird ein Gewicht von 50 g benutzt. Der Meßdruck beträgt 250 g/cm<sup>2</sup>.

Das Meßsystem von Daly et al. (62) aus dem Jahr 1974 besteht aus einem Ultraschallumwandler, der mit einem Führungsstab mit einem Durchmesser von 4,5 mm und 20 mm Länge verbunden ist. Ein servokontrolliertes Belastungssystem überträgt die Belastung von 5 g bei einem Meßdruck von  $71 \text{ g/cm}^2$  auf das Gewebe.

Das 1984 beschriebene Instrument von Piérard et al. (152) nutzt eine Aluminiumstange. Die Kraft wird von einem Manometer erzeugt. Die Messung erfolgt unter Nutzung eines Komparators, und der Meßdruck reicht von 1 bis  $4 \text{ N/320 mm}^2$ . Die Präzision der Messung beträgt  $10 \text{ }\mu\text{m}$ , der angewandte Meßdruck 28 bis  $111 \text{ g/cm}^2$ .

Das Meßsystem von Dikstein et al. (153) umfaßt ein Meßareal von  $0,2 \text{ cm}^2$  (Perspex®). Es wurde erstmals 1981 publiziert und bis dato von verschiedenen Forschern eingesetzt. Das Gerät besteht aus einer Leichtmetallstange, die so ausbalanciert ist, daß der Druck des Systems auf die Haut weniger als  $1 \text{ g/cm}^2$  beträgt. Die Stange kann mit verschiedenen 2 g Gewichten beladen werden, so daß der Druck bis auf  $10 \text{ g/cm}^2$  zu steigern ist. Dikstein et al. (153, 154) entscheiden sich für eine Standardbelastung von 2 g, da der resultierende Druck immer noch im linearen Teil der Spannungs-Dehnungs-Kurve liegt. Verbunden ist die Stange mit einem linear variablen Differential Transformer (LVDT). Der Output wird durch einen elektronischen Rekorder grafisch aufgezeichnet. Die Meßstange ist so justiert, daß sie die Haut nur ganz leicht berührt. Sobald die Grundlinie einmal stabilisiert ist, wird das Gewicht sofort angesetzt. Ein Anstieg in der Indentation ist das Resultat eines abnehmenden Widerstandes gegen den Druck. Bei Entfernung des Druckes kann die sofortige elastische Rückstellung der Haut bei einer Geschwindigkeit von 6 cm/Min. durch den LVDT aufgezeichnet werden (Eindringtiefe als Funktion der Zeit).

Die neueste Entwicklung ist ein Ultraschall-Indentations-System (155) zur biomechanischen in vivo-Untersuchung weicher Gewebe. Die bleistiftgroße, per Hand gehaltene Meßsonde setzt sich aus einer Kraft- bzw. Druckmeßdose und einem Ultraschallumformer zusammen, wobei letztgenannter auf der (Meß-) Spitze der Meßsonde lokalisiert ist (155). Durch das Ultraschallecho wird sowohl die Dicke als auch die Deformation weicher Gewebsschichten bestimmt. Um die Kraftantwort der

Haut aufzuzeichnen, ist die Drucklastzelle mit dem Ultraschallumformer in Serie verbunden (155).

### Meßparameter

Bei Eindruckmethoden können 2 rheologische Parameter gemessen werden:

- ⇒ die Widerstandskräfte gegen den Druck (Indentation) unter einem Druck von 10  $\text{g/cm}^2$ , sowie
- ⇒ die Rückprallelastizität (elastischer Wirkungsgrad) nach Entfernung des Druckes.

Die Indentation wird in willkürlichen Einheiten ausgedrückt. Nach Robert et al. (156) korrespondiert eine Auslenkung von 10 Einheiten auf dem Rekorder mit 0,16 mm der Indentation. Der elastische Rückprall wird in Prozent der Indentation berechnet. Viele Experimente erfassen zur Berechnung nur den unverzüglichen Rückprall 1 bis 2 Sekunden nach Entfernung des Gewichtes. Das Kriechen der Haut wird nicht in Betracht gezogen.

Messungen des gleichen Hautareals zu verschiedenen Zeitpunkten ergeben, daß die Varianz der Messung weniger als 6% beträgt. Die Streuung aufeinanderfolgender Messungen zeigen nach Manny-Afraim et al. (157) eine Abweichung vom Mittelwert von 10%. Um verschiedene physiologische Bedingungen zu vergleichen, muß innerhalb des linearen Bereiches der Spannungs-Dehnungs-Kurven gearbeitet werden. Dabei beträgt die Standard-Indentationskraft nach Dikstein et al. (153) 10  $\text{g/cm}^2$ . Der Druck des Meßapparates sollte 20 % des kompletten Meßdruckes nicht überschreiten.

Das Gewicht der Apparatur von Dikstein et al. (153, 154) erzeugt einen Anfangsdruck von 1  $\text{g/cm}^2$ , was 10% des endgültigen Meßdruckes entspricht. Den exakten Anfangsdruck hat gemäß Robert et al. (156) kein Autor spezifiziert. Entscheidend für die Messung ist, daß kein Kontaktverlust zwischen der Meßapparatur und der Haut stattfindet. Nach Manny et al. (158) sollte die Reproduzierbarkeit der Hautmessungen größer als 10% sein.

Eindruckversuche werden seit langer Zeit durchgeführt, um ödematöse Hautzustände zu erfassen (147). Haben vorhergehende Studien noch Belastungen von 10 kPa

verwendet, so ziehen Dikstein und Hartzshtark (153, 159) sowie Lanir et al. (160) erstmals ein Gewicht von 1 kPa heran, um beispielsweise die Reaktion der Stirnhaut auf eine Indentation zu evaluieren.

Bei Indentationsversuchen können die Grenzbedingungen verhältnismäßig gut kontrolliert werden. In den mathematischen Berechnungen von Lanir et al. (146) wird eine analytische Lösung angeboten, die eine direkte Assoziation zwischen den Meßergebnissen und den Hauteigenschaften ermöglichen soll. Dabei wird die Haut als Festkörpermatrix aus Kollagen und Elastin betrachtet, die in die fluidähnliche Grundsubstanz eingebettet ist. In der Reaktion der Haut schlagen sich alle Komponenten nieder (146). Lanir et al. (146) weisen ausdrücklich darauf hin, daß im Gegensatz zu Dehnungen in der Ebene, bei denen der Beitrag der Matrix im Vergleich zu dem der Fasern verhältnismäßig gering ist, die Hautantwort bei einer Indentation vollständig anders ist.

Die Unterschiede beruhen auf zwei Mechanismen, denn bei der Indentation

- ⇒ sind die Widerstandskräfte der Matrix von prädominanter Wichtigkeit;
- ⇒ und findet unter Kompression eine Kontraktion der dermalen Fasern statt, die in oder nahe der Kompressionsrichtung verlaufen. Die Fasern können sich dabei eventuell verbiegen. Allerdings gibt es für die Verbiegung keinen experimentellen Beweis. Da die Fasern relativ lang und dünn sind, wird angenommen, daß bei der Indentation von ihnen kein Widerstand ausgeht. Als Reaktion auf die Kompression in normaler Oberflächenrichtung antwortet die Haut sofort mit einer Reduktion ihrer Dicke und Ausdehnung ihres Areals. Wird angenommen, daß sich die Fasern während der Dickenabnahme in Richtung der Belastung verbiegen, ist ein Gleichgewicht dann erreicht, wenn die kompressive Belastung von dem flüssigen, hydrostatischen Druck ausbalanciert wird, der dem Schwellpotential des Gewebes entstammt. Durch die Verbiegung der Fasern in Belastungsrichtung sind diejenigen, die parallel zur Hautoberfläche verlaufen, durch die seitliche Ausdehnung der Haut gedehnt.

## Untersuchungsergebnisse von Hautmessungen mit Indentationsmethoden

Eindruckversuche unter Nutzung der aufgeführten Meßsysteme wurden in erster Linie durchgeführt, um die Weichheit der Haut in verschiedenen physiologischen Zuständen und an differenten anatomischen Körperregionen festzustellen: junge und alte Haut (62, 147, 148, 151, 158, 161), männliche und weibliche Haut (148, 156), ödematöser Zustände (147). Darüber hinaus sind der Einfluß beruflicher und sozialer Umgebungsbedingungen auf die Hautalterung (156) ebenso wie die Wirkungen topischer Behandlungen (154) evaluiert worden.

Nach Dikstein et al. (154) erfassen indentometrische Messungen tatsächlich den Wassergehalt der Dermis, der im großen Umfang durch den Gehalt an Proteoglykanen und ihrer Fähigkeit zur Wasserbindung determiniert wird. Die Autoren bestätigen mit ihren Versuchen, daß für Veränderungen der Indentation der Zustand der Matrix und der des Elastinnetzwerkes ausschlaggebend sind und daß das SC keinen Einfluß auf die Messungen hat. Die meisten Untersucher erachten die Indentometrie als eine ungeeignete Methode, um ausreichend zwischen junger und alter Haut differenzieren zu können (149, 156, 161, 162), zumal der Unterschied zwischen verschiedenen Alters- und Berufsgruppen anhand der elastischen Rückstellungsfähigkeit wesentlich deutlicher wird als an der Indentation. Es wird herausgestellt, daß bei junger Haut nach dem Nachlassen der belastenden Kraft das Zurückspringen in den Ursprungszustand einen größeren Prozentsatz der anfänglichen Indentometrie umfaßt (146 - 149, 156, 158, 161).

Obwohl einige Studien unter Nutzung der Eindruckversuche eine Altersabhängigkeit sowie auch Unterschiede zwischen männlicher und weiblicher Haut aufzeigen, liegt nach Vered et al. (162) der größere Nutzen in der Untersuchung ödematöser Bedingungen und der veränderten Wasserbindung in der Dermis.

Einzelne Untersuchungsergebnisse sind der tabellarischen Übersicht zu entnehmen.



Tabelle 25: Untersuchungsergebnisse mit Eindruckmethoden (Indentometrie)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<p>Meßstellen: Bein (Knienähe), Unterarme (Ellbogennähe) bei verschiedenen ödematösen Zuständen.                      Ergebnisse:                      - Abnahme der elastischen Rückstellung der Haut mit dem Alter;                      - Abnahme der elastischen Rückstellung und der Indentation bei Ödemen.</p>	Schade et al., 1912 (147)
<p>Meßstellen: mittlere Oberfläche des Wadenknochens; Gewicht von 50 g/cm<sup>2</sup>; Frauen: 20 bis 101 Jahre, Männer: 18-104 Jahre.                      Ergebnisse:                      - Abnahme der Indentation mit dem Alter;                      - noch stärkere Abnahme der sofortigen Rückstellung der Haut mit zunehmendem Alter;                      - Haut von Frauen zeigt größere Elastizität (Elastizitätswerte der Frauen entsprachen vergleichsweise den von 10 Jahre jüngeren Männern).</p>	Kirk et al., 1962 (163)
<p>Meßstelle: Haut der unteren und oberen Wadenknochen; Gewicht von 50 g/cm<sup>2</sup>; Probanden zwischen 60-86 Jahren und 18-22 Jahren.                      Ergebnisse:                      - größere elastische Rückstellung und Tiefe der Indentation bei junger Haut.</p>	Kirk et al., 1962 (163)
<p>Ergebnisse:                      - Zunahme der Tiefe der Indentation ist begleitet von geringerer Kompressibilität der Haut.</p>	Robertson et al., 1969 (151)
<p>Ergebnisse:                      - Das Alter hat keinen dramatischen Effekt auf die Kompressibilität der Haut;                      - bei Probanden zwischen 8-10 Jahren zeigt sich tendentiell eine größere Kompressibilität;                      - das Alter hat den größten signifikanten Effekt auf die Rückstellungsfähigkeit der Haut;                      zwischen 8-20 Jahren zeigt die Haut eine fast sofortige elastische Erholung (bis zu 97%);                      zwischen 15-23 Jahren eine sofortige Rückstellungsfähigkeit in der gleichen Zeitspanne (von 90%);                      72-86 Jährige zeigen eine Rückstellungsfähigkeit innerhalb von 10 Minuten von nur 67%.</p>	Daly et al., 1979 (62)

Tabelle 26: Untersuchungsergebnisse mit Eindruckmethoden (Indentometrie)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<p>Meßstelle: Stirn; Gewicht: 10 g/cm<sup>2</sup>; Frauen zwischen 2-70 Jahren.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Indentation bei der jüngeren Frauengruppe beträgt 0,043 cm; bei den 70jährigen 0,054 cm; d.h. eine Differenz von 26%;</li> <li>- bessere elastische Erholung (80,5%) der Haut von Jüngeren; bei 70-jährigen 60,5%.</li> </ul> <p><i>Fazit: Haut älterer Frauen besitzt eine geringere Widerstandskraft gegenüber äußerlich angewandten Druckkräften sowie eine geringere elastische Rückstellungsfähigkeit.</i></p>	Dikstein et al., 1984 (161)
<b>Einfluß des Alters sowie Stellung der Akren</b>	
<p>Meßstellen: Stirn, Handrücken; Apparatur und Gewicht vgl. Dikstein; Frauen zw. 20-30 Jahren und 65 Jahre.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Keine Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen;</li> <li>- Indentationswerte bei geschlossener Hand sind höher.</li> </ul> <p><i>Fazit: Haltung der Akren beeinflusst Indentationsmessung.</i></p>	Manny et al., 1989 (158)
<b>Einfluß sozialer und beruflicher Faktoren</b>	
<p>Meßstelle: Stirn; Apparatur / Gewicht vgl. Dikstein; drei verschiedene Berufsgruppen: Nonnen, Angestellte (Frauen und Männer), Fließbandarbeiter aus der chemischen Industrie (Frauen und Männer) in zwei Alterskollektiven: &lt; 55 Jahre und &gt; 55 Jahre.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- elastische Rückstellungsfähigkeit nach Beseitigung des Gewichtes nimmt mit dem Alter ständig ab; der Effekt ist bei Frauen stärker ausgeprägt;</li> <li>- Haut berufstätiger Frauen verliert ihre Viskoelastizität schneller als die Haut von Nonnen;</li> <li>- Haut männlicher Fließbandarbeiter verliert Viskoelastizität schneller als die männlicher Büroangestellter.</li> </ul> <p><i>Fazit: Die Ergebnisse zeigen den Einfluß von Umweltbedingungen (berufliche und soziale Faktoren auf die Hautalterung. Auch Hormone scheinen eine Rolle zu spielen. Während der Menopause nimmt die Indentation ab und steigt anschließend wieder an.</i></p>	Robert et al., 1988 (156)

Tabelle 27: Untersuchungsergebnisse mit Eindruckmethoden (Indentometrie)

Parameter und Ergebnisse

Autor

### Einfluß des SC

Apparatur und Druck vgl. Dikstein; Stripping des SC und Aufzeichnung des PH-Wertes der Hautoberfläche (um sicherzustellen, daß das SC tatsächlich entfernt ist).

Ergebnisse:

- Stripping beeinflußt die Indentation nicht.

*Fazit: Das SC hat keinen Einfluß auf Eindruckversuche.*

Dikstein et al., 1983 (154)

### Einfluß topischer Agenzien

Probanden mit trockener Haut; Applikation von 4%-iger Milchsäure (pH-Wert:4,2) und 5%-igem Glycerol

Ergebnisse:

- Beide Agenzien haben keinen Einfluß auf die Eindruckversuche.

*Fazit: Feuchtigkeitsgehalt des SC nimmt keinen Einfluß auf die Indentation.*

Dikstein et al., 1983 (154)

### Einfluß von Medikamenten

Meßstelle: Stirn, drei männliche Probanden; intradermale Injektion von NaCl-Lösung, Hyaluronidase, Elastase und Kollagenase.

Ergebnisse:

- Physiologische Kochsalzlösung verringert die Indentation durch die Feuchtigkeitssteigerung;

- Anstieg der Indentation durch Hyaluronidase und zu einem geringen Anteil auch durch Elastase;

- Kollagenase hat keinen bedeutenden Effekt auf die Indentation.

*Fazit: Zustand von Matrix und Elastinnetzwerk sind für die Veränderungen der Indentation verantwortlich*

Dikstein et al., 1983 (154)

#### 4.1.4 Ziehmethoden/ Anhebetests (Lewarometrie)

##### Meßprinzip

Ziehversuche werden angewandt, um die „Schlaffheit“ der Haut zu bestimmen. Im Gegensatz zu den Eindruckversuchen (siehe Kap. 4.1.3) wird bei den Anhebetests eine rechtwinkelige Zugkraft auf die Haut ausgeübt, wodurch sie je nach Zustand in unterschiedlichem Ausmaß vertikal angehoben wird (siehe Abbildung 23).

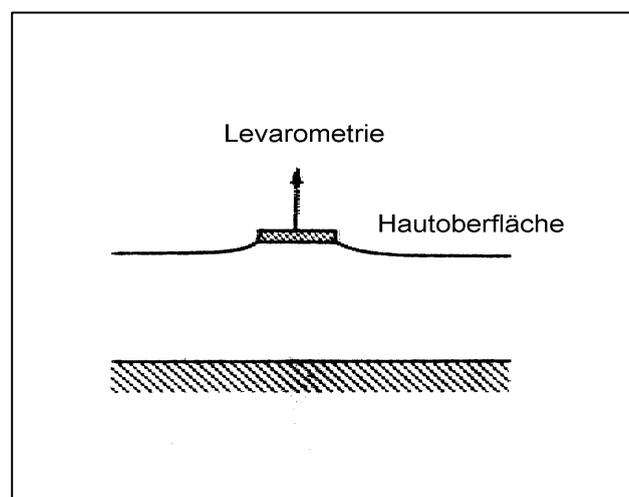


Abb. 23: Schematische Darstellung eines Lewarometrie-Tests; entnommen aus Lanir et al. (146).

Das von Dikstein et al. (125) entwickelte und am häufigsten eingesetzte Gerät ist das „Lewarometer“ (siehe Abbildung 24). Es stellt eine Modifizierung und Weiterentwicklung des Meßgerätes von Schade (147) dar, dessen Genauigkeit durch Nutzung modernster elektronischer Techniken verbessert wurde (163). Das Lewarometer analysiert die Haut im unteren Bereich der Spannungs-Dehnungs-Kurve, der nach Daly (62) der empfindlichste Meßparameter zur Differenzierung zwischen junger und alter Haut ist. Sofern die Belastung bei Anhebetests gering ist, sind die Verschiebungen gering und die Hautantwort unter solchen Deformationen ist linear (146). Die Antwort auf die wenig belastende Lewarometrie ist nach Lanir et al. (146) in erster Linie mit den Fasern der Dermis assoziiert.

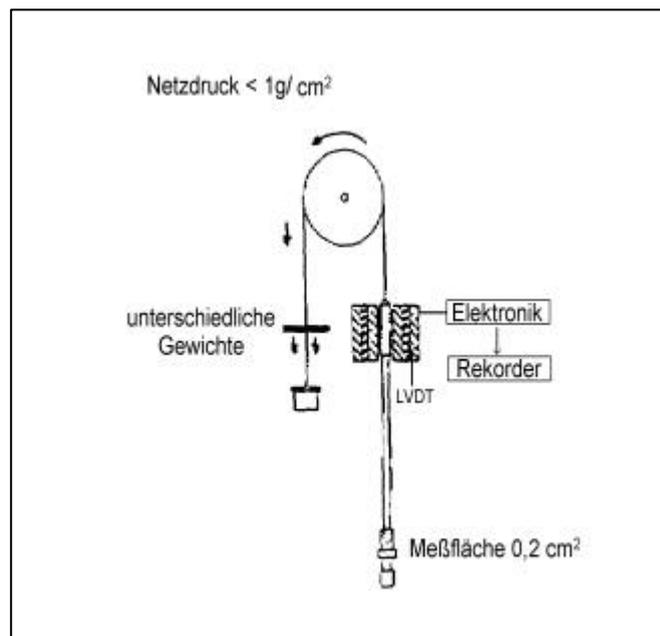


Abb.24: Schematische Darstellung eines Lewarometers; entnommen aus Manny-Afraim et al. (157).

### Die Meßsonde

Beim Lewarometer wird ein kreisförmiges Stück Perspex<sup>®</sup> mit einem Durchmesser von 0,5 cm mit beidseitigem Klebeband auf der Hautoberfläche befestigt. Durch die Anbindung an einem ausbalancierten Meßstab ist der Netzdruck des Systems geringer als  $1 \text{ g/cm}^2$ . Zur Einstellung der gewünschten Zugkraft können unterschiedliche Gewichte an dem Stab befestigt werden. Die Zugkräfte sind normalerweise gering und belaufen sich in der Regel auf 5 bis  $40 \text{ g/cm}^2$ . Die Meßstange ist mit einem linear variablen Differential-Transformer (LVDT) verbunden (siehe Abbildung 24), dessen Output grafisch aufgezeichnet wird. Die Präzision des Meßsystems wird mit  $2 \text{ }\mu\text{m}$  angegeben. Nach Vered et al. (162) ist das Hauptproblem dieses Systems die Verhinderung der Reibung zwischen Meßstange und Differential-Transformer.

Die Haut kann mittels Kleber oder durch Anwendung eines Unterdruckes am Boden der Meßsonde (einem hohlen Zylinder) anhaften. Lanir et al. (146) befestigten die Meßsonde sowohl mit einem Klebeband als auch durch einen Unterdruck an der Haut. Beim Vergleich der beiden Befestigungssysteme sind keine meßbaren Unterschiede in den Ergebnissen festgestellt worden.

## Meßparameter

Untersuchungen mit Ziehmethoden zeigten, daß unter geringer Belastung bis zu 1 kPa eine lineare Hautantwort produziert wird, während bei höheren Belastungen die Antwort nicht linear wird. Durch die genaue Gerätekonstruktion und ihre einfache Anwendung können sehr kleine Deformationen erreicht werden (146). Unter bestimmten Grenzbedingungen kann die Reaktion der Haut in einer analytischen Form abgeleitet werden. Diesbezüglich wird auf die detaillierte theoretische Abhandlung von Lanir et al. verwiesen (146).

Nach Vered et al. (162) ist die genaueste Messung die der unmittelbaren Antwort auf die applizierten Zugkräfte, ohne Messung des Kriechens. Dabei beträgt das Standardgewicht 4 g, der Zug  $20 \text{ g/cm}^2$  und das Areal der Meßsonde umfaßt  $0,2 \text{ cm}^2$ . Wenn das gleiche Hautareal zu verschiedener Zeit gemessen wird, beträgt die Varianz der Messungen mit dem Lewarometer weniger als 5,5% (158). Wird die Abweichung von kurz aufeinanderfolgenden Messungen auf einer Hautfläche von  $4,5 \times 4,5 \text{ cm}^2$  berechnet, so beläuft sich die Abweichung vom Mittelwert auf 6%. Diese Abweichung wird von Manny et al. (158) als sehr gering beurteilt, verglichen damit, daß die Haut kein homogenes Gewebe ist. Umgebungsbedingungen oder topisch applizierte Agenzien nehmen keinen Einfluß auf Ziehversuche (158).

Zwei Forschergruppen benutzen ähnliche Methoden, die mit dem Lewarometer verglichen werden können:

Warren et al. (164) wählen für ihre Ziehversuche eine Zugkraft von 10 g und eine Belastungszeit von 0,25 Sekunden. Der Durchmesser der Meßscheibe ist 3 mm und zur Befestigung wird ein Vakuum herangezogen. Nach der Belastung folgt eine Erholung von abermals 0,25 Sekunden. Die gesamte Zeit des Meßzyklus beträgt damit 0,5 Sekunden und wird von einem Computer aufgezeichnet. Kalkuliert wird neben der Hautausdehnung die Hautelastizität als Prozentzahl der Erholung (Rückstellung der Haut nach der Verformung).

Piérard et al. (165) setzen Zugkräfte von 16 bis  $128 \text{ g/cm}^2$  bei einem Meßscheibendurchmesser von 14 mm und 64 bis  $512 \text{ g/cm}^2$  bei einem Scheibendurchmesser von 7 mm ein. Anwendung finden Hafringe mit unterschiedlichen

Durchmessern. Zur Befestigung der Scheibe auf der Hautoberfläche wird hier Cyanoacrylat verwendet. Als Meßparameter dient die Hautverformung (Ziehhöhe) 20 Sekunden nach der belastenden Kraft.

Vered et al. (162) ermitteln in ihrer Untersuchung, daß bei einem Verhältnis von Durchmesser der Meßscheibe zu Durchmesser des Halteringes kleiner als sechs der Ring einen minimalen Einfluß auf die Ziehversuche mit dem Lewarometer hat. Sie weisen ausdrücklich darauf hin, daß der anfängliche Netzdruck der Meßsonde auf der Haut minimal sein muß, damit er die Haut nicht beschädigt, bevor er sie anhebt. Der Netzdruck des Systems beträgt ca.  $1 \text{ g/cm}^2$ .

Die Reproduzierbarkeit der verschiedenen Zugmethoden wird für Gartsteins System mit 4%, der Apparatur von Piérard mit geringer als 8% und für das Lewarometer mit 5,5% angegeben (162).

#### Untersuchungsergebnisse der Ziehversuche (Lewarometer)

Warren et al. (164) kommen zu dem Ergebnis, daß eine junge, verhältnismäßig unbeschädigte Haut sich weniger dehnen läßt und sich nach der Belastung vollständiger erholt als gealterte oder sonnengeschädigte Haut. Die zunehmende Schloffheit des Hautgewebes mit fortschreitendem Alter wird von Vered et al. (162) bestätigt.

Ein Vergleich der Levarometrie mit anderen biomechanischen Meßmethoden wie Torsionsmethoden, Anhebeversuche mit einem Haltering, Eindruckmethoden oder ballistometrische Meßmethoden (130, 132, 158, 166, 167, 168) zeigt nach Vered et al. (162), daß Ziehversuche (ohne Anwendung eines Halteringes) stärker zwischen der Haut Jüngerer und Älterer sowie männlicher und weiblicher Altershaut differenzieren.

Lanir et al. (160, 146) bestätigen mit einer vergleichenden Untersuchung von Eindruck- und Anhebetests, daß beide Methoden - sofern sie geringe Belastungen bzw. Deformationen auf die Haut ausüben - zur Evaluierung von dermalen Altersveränderungen geeignet sind, da beide analytisch die Relation biomechanischer Ergebnisse zu konstitutionellen Eigenschaften der Mikrostruktur der Haut aufzeigen. Allerdings werden bei Anhebetests (ohne Haltering) die Alterseffekte deutlicher.

Vered et al. (162) empfehlen, zukünftig ein tragbares, einfach zu bedienendes Lewarometer mit einer festgelegten Zugkraft von  $20\text{g/cm}^2$  zu entwickeln, um schneller

viele Daten zu generieren und die Kenntnis verschiedener Einflußgrößen (u.a. Hormone) auf die Hautschlaffheit intensiver evaluieren zu können.

Tabelle 28: Untersuchungsergebnisse mit Ziehversuchen/ Anhebetests (Lewarometrie)

Parameter und Ergebnisse	Autor
<b>Einfluß des Alters</b>	
<p>Meßstelle: Stirn; zwei weibliche Alterskollektive (20-30 Jahre und 65-80 Jahre); jeweils 15 Hautgesunde; Messungen mit Zugkräften von 5, 10, 20 und 40 g/cm<sup>2</sup>.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Signifikanter Unterschied zwischen den Altersgruppen bei allen Zugkräften.</li> </ul> <p><i>Fazit: Lewarometer differenziert zwischen junger und alter Haut. Die Standardzugkraft sollte 20 g/cm<sup>2</sup> betragen. Bei geringeren Zugkräften besteht die Gefahr größerer Meßfehler. Außerdem sind geringere Zugkräfte schwieriger zu handhaben.</i></p>	Manny et al., 1989 (158)
<p>Meßareal: Stirnmitte; zwei Alterskollektive (20-26 Jahre und 64-80 Jahre); jeweils 15 Probanden</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Signifikanter Unterschied zwischen den Alterskollektiven.</li> </ul> <p><i>Fazit: Bei kleineren Zugbelastungen werden in erster Linie elastische Fasern angesprochen, die vom Alterungsprozeß beeinflusst sind. Hohe Zugbelastungen bewirken große Hautdeformationen und resultieren in nicht linearem Verhalten. Dies manifestiert sich in den Ziehversuchen mit höherem Belastungslevel. Ziehversuche mit geringem Belastungslevel sind für Altersstudien geeignet.</i></p>	Lanir et al., 1993 (146)
<b>Einfluß des Geschlechts</b>	
<p>Meßstelle: volarer Unterarm; 2 Alterskollektive (20-30 Jahre und &gt; 61 Jahre) je 22 Frauen und Männer; Standardbelastung von 20 g/cm<sup>2</sup>.</p> <p>Ergebnisse:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Signifikanter Unterschied zwischen Männern und Frauen sowie zwischen den Altersgruppen;</li> <li>- Unterschied zwischen den männlichen Alterskollektiven geringer (60%) als zwischen den weiblichen Alterskollektiven (100%);</li> <li>- in beiden Altersgruppen weisen Männer eine geringere Hautausdehnung auf als Frauen; dieser Unterschied ist deutlich stärker ausgeprägt in der älteren Probandengruppe.</li> </ul> <p><i>Fazit: Lewarometrie kann zwischen männlicher und weiblicher Haut differenzieren.</i></p>	Manny et al., 1989 (158)

### 4.1.5 Einachsige Scherbelastungen (Extensometer)

#### Meßprinzip

Bei der uniaxialen Scherbelastung der Haut werden zwei rechteckige Stempel eines manuell gehaltenen „Extensometers“ in einem definierten Abstand mit doppelseitigem Klebeband oder Cyanoacrylatkleber auf die Hautoberfläche geklebt. Anschließend werden die Stempel mit einer vorgegebenen Geschwindigkeit auseinander bewegt (44, 169 - 171). Am Stempel wird mit Dehnungsmeßstreifen die resultierende Kraft sowie der zurückgelegte Weg der Stempel durch einen induktiven Wegaufnehmer aufgezeichnet (172, 173).

Berardesca et al. (13) und Borlone et al. (174) wenden eine geringe Standardbelastung von  $3,9 \cdot 10^{-3}$  N/m an und befestigen zwei quadratische Platten mit einer Größe von  $1,5 \cdot 1,5$  cm mit Cyanoacrylatkleber auf der Haut der Probanden. Die anfängliche Entfernung der Platten des Extensometers beträgt 10 mm. Die Hautwiderstandsfähigkeit wird in Hundertsteln von Sekunden gemessen. Verschiebungen von einigen Millimetern können nicht gemessen werden.

#### Meßparameter

Berardesca et al. (13, 85) ziehen folgende Meßparameter für uniaxiale Scherbelastungen mit dem Extensometer heran:

- ⇒ die *sofortige Ausdehnungszeit der Haut* nach Applikation der Zugkraft (Zeit 1); nach Aufzeichnung des Meßwertes der Zeit 1 wird die Meßsonde in dieser Lage 5 Minuten belassen, so daß der Haut eine Rückstellung ermöglicht wird. Anschließend wird die Messung neu gestartet (Zeit 2) und der Vorgang zweimal wiederholt (Zeit 3 und 4);
- ⇒ die *Entspannung der Haut* (Differenz zwischen Zeit 4 und Zeit 1); dieser Parameter ist verbunden mit der Anpassungsfähigkeit der Haut auf die vorangegangene Zugkraft.

## Untersuchungsergebnisse

Die Ergebnisse von Berardesca et al. (13) vom Einsatz des Extensometers zur Messung der Deformationszeit oberflächlicher Hautschichten zeigen einen Anstieg der sofortigen Ausdehnungszeit mit zunehmendem Alter. In Übereinstimmung mit Daly und Odland (62) wird dieses Ergebnis als nützlich erachtet, um die Entfaltungsfähigkeit der Haut bzw. der Hautfalten aufzuzeichnen. Es wird besonders darauf hingewiesen, daß dieses Verfahren ausschließlich die Viskoelastizität der oberflächlichen Hautschichten mißt (13).

Nach Wan Abas et al. (173) belegt das Prinzip der uniaxialen Scherbelastung die Anisotropie der Haut in den Dehnungen, die sich auf der Hautoberfläche an den Langer'schen Linien orientiert sowie das nichtlineare Verhältnis von eingeleiteter Kraft zur resultierenden Dehnung. Ein funktioneller Zusammenhang von Spannung und Dehnung ist nicht aufzustellen.

Berardesca et al. (85) evaluierten die Beziehung zwischen weiblichen Geschlechtshormonen und den Einfluß der zyklischen Hormonvariationen auf die Hautausdehnbarkeit bei Frauen unterschiedlichen Alters. Die Haut junger Frauen (Durchschnittsalter 20 Jahre) zeigt dabei eine signifikante Abnahme der Dehnungs- und Entspannungszeit in der prämenstruellen Phase am 25. Tag im Vergleich zum 10. Tag des Menstruationszyklus. Die Daten korrelieren mit einem Anstieg des Wassergehaltes, induziert durch die Zunahme der Östrogene und den dadurch verursachten höheren Gehalt an Hyaluronsäure. Hingegen tritt bei älteren Frauen (Durchschnittsalter 42 Jahre) keine bedeutende Veränderung der Hautdehnung auf. Aus den Resultaten wird geschlußfolgert, daß Hautmessungen zur Untersuchung der biomechanischen Hauteigenschaften bei Frauen den Status der Geschlechtshormone und den menstruellen Zyklus berücksichtigen müssen.

Clark et al. (175) nutzten zur Untersuchung der biomechanischen Eigenschaften normaler Haut und hypertrophischer Narben ein quasi-statisches Extensometer, mit dem auf normale Haut als auch auf hypertrophische Narben eine standardisierte Dehnungsgeschwindigkeit appliziert wurde. Erfasst wurden die biomechanischen

Eigenschaften der Haut von 15 Patienten mit Brandwunden unterschiedlicher Ausprägung. Die klinische Evaluierung von hypertrophischen Narben ist qualitativ und abhängig von der Farbe, Dicke und Härte oder Festigkeit der Haut; das Meßgerät hilft hier zur Charakterisierung durch Bereitstellung eines quantitativen Indikators (172). Eine stärkere Narbenbildung geht einher mit gesteigerter Steifheit und abnehmender Ausdehnbarkeit der Haut. Mit den viskoelastischen Eigenschaften in vivo wurde eine Korrelation mit klinischen Untersuchungen erbracht.

#### **4.1.6 Dynamische Zugbelastungen (Elektrodynamometer)**

Elektrodynamometer werden üblicherweise zur Messung elektrischer Stromstärken und Spannungen herangezogen. Der Begriff „Dynamometer“ (Kraftmesser) impliziert in technischer Hinsicht ein Gerät zur Messung von Kräften und mechanischer Arbeit oder von Strömen mit hoher Frequenz. Es involviert die Interaktion von elektrischen und mechanischen Größen als eine Art Energieumwandler. Gemessen wird der Strom in einem elektrischen Leiter und durch seine Interaktion mit einem magnetischen Feld werden die mechanischen Kräfte bestimmt. Damit kann durch die mechanische Kraft das Maß des Stromflusses in einem elektrischen Leiter angezeigt werden.

Die Kraft ist normalerweise durch das Arrangement verschiedener Spulen, magnetischer Felder und einer laufenden Messung determiniert. Der regulierbare Charakter dieser einzelnen Größen erlaubt einen großen Spielraum in der Gestaltung der Meßsysteme, die verschiedenen Zwecken genügen. Die Genauigkeit solcher Meßsysteme ist nach Hargens (77) sehr hoch, da die beteiligten Kräfte geeicht und die Ströme bzw. Stromstärken durch eine Standardisierung genau verifiziert sind.

##### Meßprinzip

Bei dynamischen Scherbelastungen wird ein kreisförmiger Stempel mit 2 mm Durchmesser eines „Elektrodynamometers“ mit Cyanoacrylatkleber auf die Haut geklebt. Er wird bei einer Amplitude von 3-4 mm und einer Frequenz von 1 oder 2 Hz zu ebenen Bewegungen angeregt. Die erforderlichen Kräfte werden aufgezeichnet. Aus den Hystereseyklen werden Federkonstante und dissipierte Energie berechnet (76).

Im allgemeinen besteht ein Elektrodynamometer aus einer gasschwebenden Armatur, die in Abhängigkeit der Magnetfeldänderung oszilliert. Das Magnetfeld wird von einer Spule erzeugt, die von einem Sinusgenerator gespeist wird. Die Verschiebung der Armatur wird mit einem linear variablen Differential Transformer (LVDT) gemessen. Die Ausgänge der Spule und des LVDT werden verstärkt. Die Darstellung erfolgt anhand eines Oszilloskops.

Aktuell wird am häufigsten das „Gas-bearing-Electrodynamometer“ (GBE) eingesetzt (76) (siehe Abbildung 25).

### Meßsonde

Die Meßsonde des GBE wird auf ein Testareal mittels Cyanoacrylatkleber befestigt. Das unmittelbar in Kontakt mit der Sonde stehende Oberflächenareal umfaßt nur wenige  $\text{mm}^2$ . Eine Bedienungstaste gewährleistet den Kontakt zwischen Sonde und Hautoberfläche. Induziert wird die Bewegung der Meßsonde durch die reziproke Verschiebung des GBE, das seinerseits auf einer kleinen Bedienungsbühne bzw. einer Art Werkbank befestigt ist (siehe Abbildung 25). Die Bewegungsamplitude beträgt für gewöhnlich 1 mm, so daß sich das untersuchte Hautareal, abhängig von seinem jeweiligen Spannungszustand, bis zu 10 mm jenseits des Befestigungspunktes ausdehnt.

Die Ankerspule des GBE besteht aus sehr feinem Kupferdraht, der sich in einem radialen magnetischen Feld bewegt. Dieses Feld wird von einem permanenten Magneten verursacht, dessen Fluß konstant und störungsunanfällig ist. Wie der Name GBR sagt, „schweben“ die Armaturen auf einem konzentrischen Luftlager. Aus diesem Grund gibt es keinen Metall-zu-Metall Kontakt und Reibungskräfte sind reduziert auf die, welche durch die Viskosität der Luft hervorgerufen werden.



Abb.25: Auflage der Meßsonde des Gas-bearing-Electrodynamometers (GBE) von Hargens et al. (77).

Sind - wie im Dynamometer - der magnetische Fluß und die Länge des Leiters konstant, ist die Kraft direkt proportional zum Strom. Diese Tatsache erlaubt die Benutzung des Stroms zur Bestimmung der Kraft, die durch die GBE-Meßsonde ausgeübt wird.

Spannungen (Verschiebungen) werden innerhalb des Elektrodynamometers durch einen linear variablen Differential Transformer (LVDT) determiniert. Der LVDT nimmt Einfluß auf die Armaturenbewegung, ohne auf sie Kraft auszuüben. Er besteht aus drei magnetisch miteinander verbundenen Spulen. Wenn ein elektronisches System mit dem LVDT assoziiert ist, um Strom zu der Hauptspule zu liefern und den Voltausstoß der verbundenen Nebenspulen gleichzuschalten, erhält man eine elektrische Spannung, deren Polarität und Größenordnung eine genaue Aufzeichnung von der gegenwärtigen Position der Armatur gibt. Dieses elektronische System, das an den LVDT angeschlossen ist, wird als „signal conditioner“ bezeichnet.

Werden durch die Meßsonde des GBE Kräfte in der Bewegungsebene ausgeübt, so kontrollieren gemäß Hargens (78, 79) elastische und viskose Kompartimente der äußeren Hautschicht die resultierende Hautverschiebung. Die beiden Größen Kraft und Verschiebung werden in Form eines typischen Spannungs-Dehnungs-Diagramms dargestellt. Zu jeder Sekunde zeichnet ein Speicheroszilloskop die in

Wiederholungszyklen auftretenden Vor- bzw. Rückbewegungen in Form eines elliptischen Diagramms digital oder analog auf. Eine Hautverschiebung von 1 mm im Testareal entspricht ca. 25 mm Punktbewegung auf dem Bildschirm des Oszilloskops bzw. Kurvenschreibers. Treten Veränderungen des Hautzustandes auf, wie beispielsweise bei Zugabe von Moisturizern beobachtet wird, so manifestieren sie sich als korrespondierende Veränderungen im Diagramm (79). Trocken- oder Steifheit der Hautoberfläche verursacht eine ansteigende Kurve bzw. einen steileren Kurvenanstieg in Bezug auf die Hauptachse der Ellipse, wohingegen eine weiche, gut durchfeuchtete Haut einen Kurvenabfall verursacht (78, 79).

### Meßparameter

Durch die Messung der Kraft und der Verschiebung produziert das GBR dynamische Spannungs-Dehnungs-Diagramme. Für ein viskoelastisches Material wie die Haut, dessen Deformation der angelegten sinusförmigen Krafftfunction naheilt, formt sich eine Ellipse aus (siehe Abbildung 26). Von dem Diagramm (Einheiten in mm oder g) werden Module berechnet. Der am meisten gebrauchte Modul ist die dynamische Federkonstante (DSR) und stellt die Neigung bzw. das Gefälle der Hauptachse der Ellipse dar ( $B/A$ ). Der Modul korreliert nach Christensen et al. (67) sehr gut mit subjektiven Beschreibungen bzw. Einschätzungen des Status von Trockenheit oder Weichheit der Haut.

Zusätzliche Informationen über die kombinierten elastischen und viskosen Parameter können durch Betrachtung der Öffnung der Ellipsenschleife erhalten werden. Beispielsweise zeigt ein rein elastisches Material (z.B. eine Stahlfeder) keine Öffnung. Degeneriert die Ellipse zu einer geraden Linie ist daraus abzuleiten, daß in diesem Fall kein Energieverlust auftritt. Das unter der Kurve integrierte Areal ist das gleiche während der Dehnung wie bei der Entspannung bzw. Rückstellung der Haut (siehe Abbildung 26). Im rein elastischen Fall wird, sofern keine viskosen Elemente beteiligt sind, Energie konserviert.

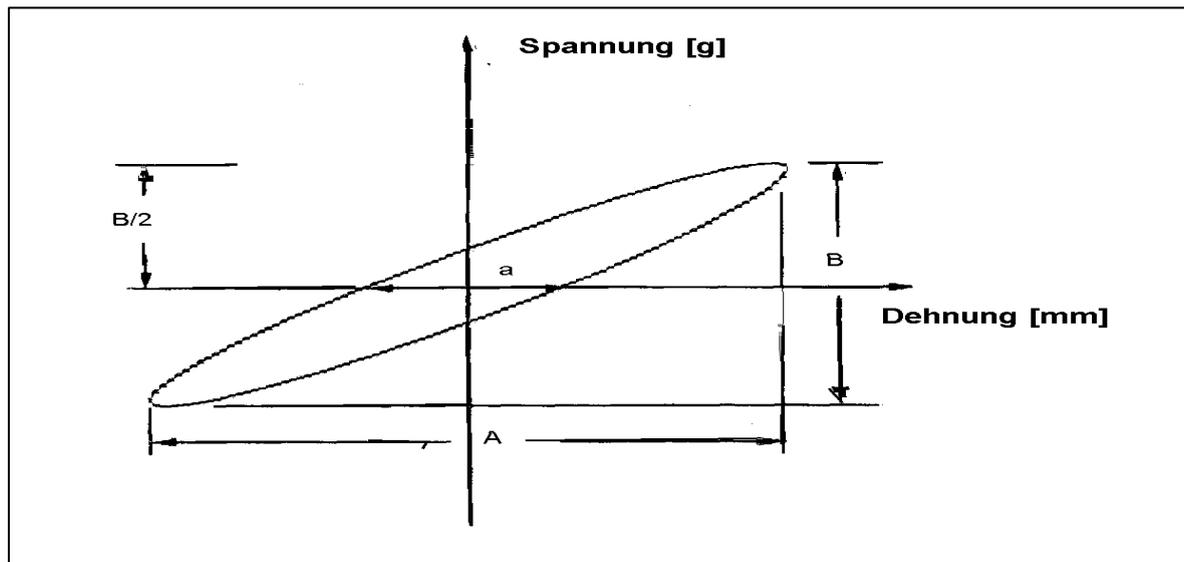


Abb.26: Dynamisches Spannungs-Dehnungs-Diagramm, aufgezeichnet durch das GBR. Es zeigt die prinzipiellen Meßgrößen: Dynamische Federkonstante (DSR) =  $B/A$ , Weite der Ellipse =  $a$ . Der numerische Wert des Verlustwinkels wird errechnet, indem die Weite der Ellipse ins Verhältnis zur totalen Verschiebung ( $A$ ) gesetzt wird, so daß sich  $\sin \theta = A/a$  ergibt; entnommen aus Hargens et al. (77).

Um den Phasenwinkel zwischen zwei Sinuswellen, in diesem Fall Spannung und Dehnung, zu messen, werden die Lissajous Figuren benutzt. Werden sie als Sinusfunktionen auf zwei parallelen Zeitachsen dargestellt, wird die Verzögerung zwischen der Dehnung hinter der applizierten Spannung ersichtlich (sog. Verlustwinkel). Der Verlustwinkel ist dementsprechend ein Maß für die Verlustenergie pro Zyklus. Im Fall eines rein elastischen Materials tritt keine Verzögerung und dadurch keine Phasenverschiebung ( $\theta = 0$ ) auf. In Bezug auf die menschliche Haut wird die Abweichung von der reinen Elastizität als viskoser Charakter oder Viskosität der Substanz bezeichnet (76).

Der numerische Wert des Verlustwinkels wird errechnet, indem die Weite der Ellipse ( $a$ ) ins Verhältnis zur totalen Verschiebung ( $A$ ) gesetzt wird, so daß sich  $\sin \theta = A/a$  ergibt (siehe Abbildung 26).

## Untersuchungsergebnisse

Die Meßergebnisse des GBR erweisen sich von folgenden Faktoren abhängig:

- ⇒ Alter
- ⇒ Proband
- ⇒ Meßort
- ⇒ Größe und geometrische Anordnung der Korneozyten
- ⇒ Faktoren, welche die feuchtigkeitsbindende Kapazität des SC beeinflussen (76).

Dynamische Zugversuche mit dem Elektrodynamometer (GBE) werden insbesondere von Christensen et al. (67) und Hargens et al. (77 - 79) vorgenommen. Untersucht werden Hydratationseffekte auf das SC und den Beitrag der Hornschicht an den viskoelastischen Eigenschaften intakter menschlicher Haut. Beispielsweise gibt sich die steife und sehr harte Haut von Patienten mit Ichthyosis anhand eines großen DSR und kleinem Verlustwinkel zu erkennen. Die topische Zugabe von Feuchtigkeit resultiert in einer Erweichung der Haut und Abnahme der DSR. Diese Änderung erfolgt innerhalb einer Minute nach Applikation von Feuchtigkeit, so daß eine Wasserdiffusion in tiefere Hautschichten weitgehend auszuschließen ist (76). Christensen et al. (67) zeigen, daß die Messungen mit dem Elektrodynamometer in erster Linie die biomechanischen Eigenschaften des SC erfassen, da sich bei äußerlicher Anwendung von Wasser oder Applikation verschiedener topischer Agenzien auf die Hautoberfläche die Dissipationsenergie deutlich erhöht.

Hargens (77) weist darauf hin, daß bei einer Dehnung der Hautoberfläche in planarer Ebene Körperbewegungen nur möglich sind, weil ein gewisser Überschuß an Haut in Form von Furchen vorhanden ist, zumal das SC sehr steif ist. Bei Bewegungen der Haut wird diese Spannung abgebaut. Mit dem GBE wird genau die Biegung bzw. Biegeumformung des SC innerhalb dieser Hautfalten bestimmt (77).

Verschiedene Messungen mit dem Elektrodynamometer bestätigen, daß im Vergleich zu einer fortschreitend atrophierten Haut eine junge, gesunde Haut die geringsten Veränderungen im Verlustwinkel zeigt.

## 4.2 Weitere Untersuchungsmethoden

<b>HAUTFUNKTION/-EIGENSCHAFT</b>	<b>MEßPARAMETER</b>	<b>UNTERSUCHUNGSMETHODE (AUSWAHL)</b>
Barrierefunktion	Transepidermaler Wasserverlust	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evaporimeter</li> <li>• Tewameter</li> </ul>
Hautfeuchtigkeit	Kapazität Kapazität u. Leitfähigkeit (HF-Strom) Impedanz  Reflektion	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Corneometer</li> <li>• Hygrometer (Skicon 200)</li> <li>• Novameter (Nova DPM 9003)</li> <li>• Surface-Characterizing Impedance Monitor (SCIM)</li> <li>• FTIR (Fourier transformierte Infrarot Spektroskopie)</li> </ul>
Talgdrüsenaktivität.	Oberflächenlipide	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sebumeter</li> <li>• Sebutape</li> </ul>
Rauhigkeit	Topografie Oberflächengröße	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mechanische u. optische Profilometrie</li> <li>• Methylenblaumethode</li> </ul>
„Säureschutzmantel“	Oberflächen pH-Wert	<ul style="list-style-type: none"> <li>• pH-Meter</li> <li>• Alkalinneutralisationsfähigkeit</li> </ul>
Hautfarbe	Lichtreflexion	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colorimeter</li> <li>• Mexameter</li> </ul>
Erythembildung	MED (minimal erythem dosis)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Photo-Patch-Test</li> </ul>
Durchlutung	kapillarer Blutfluß Hauttemperatur	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Laser Doppler Flowmetrie</li> <li>• Infrarotthermografie</li> </ul>
Hautdicke	Schallreflektion Kompression	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ultraschall</li> <li>• KD-Methode</li> </ul>
Hautreaktion	Erythembläschen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Epikutantest</li> </ul>

## 5 Voruntersuchung zur Prüfung eines Torsionsgerätes

### 5.1 Hintergrund

Das Meßsystem zur Erfassung der dynamischen Steifigkeit der Haut (MEdyS) wurde am Institut für Biomedizinische Technik und Krankenhaustechnik der Medizinischen Hochschule Hannover entwickelt (siehe Abbildung 27) (45). Es handelt sich um ein frequenzabhängiges Verfahren, das auf einer Drehmomenten- und Phasenmessung bei einer dynamischen Verdrehung der Hautoberfläche basiert (45). Bei der dynamischen Verdrehung der Haut wird bei gleichbleibend kleinem Verdrehwinkel von  $\theta_0 = 5^\circ$  die Anzahl der Verdrehungen pro Zeiteinheit in Frequenzschritten von  $f = 1$  Hz in einem vorgegebenen Frequenzbereich von  $5 \leq f \leq 70$  Hz bzw.  $31,4 \leq \omega \leq 439,8$  rad/s variiert. Das maximal zulässige Drehmoment beträgt  $M_{zul} = 12$  mNm bei einer Gesamtauflösung einschließlich Meßelektronik von  $\pm 0,01$  mNm (45).

Der Meßkopf der Apparatur (Eigengewicht von 8,9 N) koppelt die Anregungsgröße *Verdrehwinkelamplitude* über einen Verdrehstempel (Durchmesser 6 mm, Material PVC, beschichtet mit Quarzstaub) in die Hautoberfläche ein (siehe Abbildung 28). Die sich einstellende Systemantwort *Torsionsmoment* wird mit einem Drehmomentensensor erfaßt, der auf der Welle eines Gleichstrommotors befestigt ist.

Als Beurteilungsgröße für die biomechanischen Hauteigenschaften wird die *dynamische Steifigkeit der Haut* (dynS) herangezogen, die aufgrund des viskoelastischen Verhaltens der Haut eine komplexe Größe ist (45). Zur Bestimmung der dynS wird in dem vom Meßsystem MEdyS vorgegebenen Frequenzbereich (Startfrequenz: 5 Hz, Endfrequenz: 70 Hz, Frequenzschritte: 1 Hz, Messungen pro Frequenz: 5) die sich bei gleichbleibender, vorgegebener Verdrehwinkelamplitude von  $\theta_0 = 5^\circ$  einstellende Torsionsmomentamplitude gemessen. Die dynS wird getrennt nach Amplituden- [mNm/°] und Phasengang [°] dargestellt, wobei letztgenannter den zeitlichen Versatz von Verdrehung und Torsionsmoment kennzeichnet.

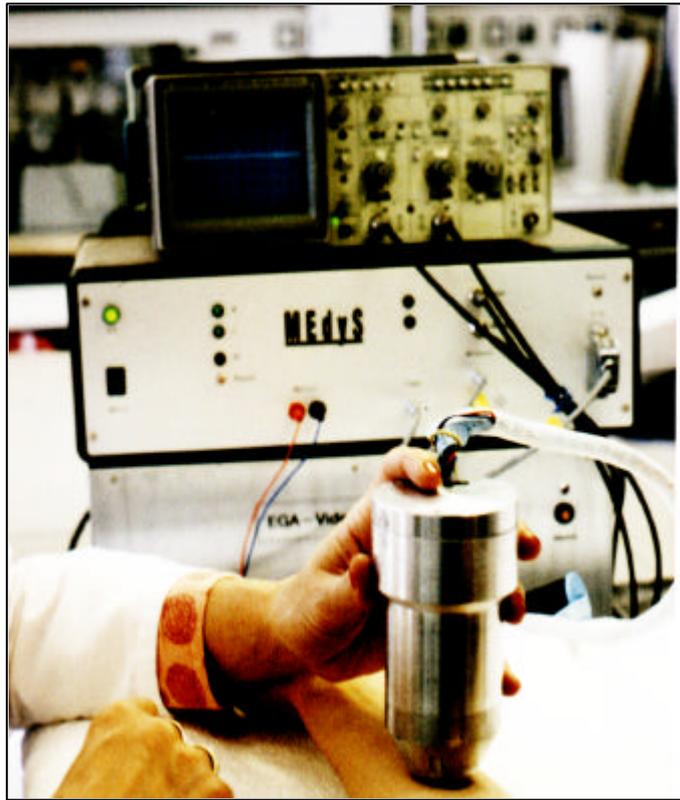


Abb.27: Meßgerät zur Erfassung der dynamischen Steifigkeit der Haut (MEdyS), entwickelt am Institut für Biomedizinische Technik und Krankenhaustechnik der Medizinischen Hochschule Hannover (45). Die Fixierung des Meßgerätes entspricht nicht der Meßpraxis. Die Haltung dient nur der besseren Veranschaulichung des Gerätedesigns. Während der laufenden Messung wird der Meßkopf vom Untersucher manuell mit beiden Händen fixiert. Die Arme des Prüfers liegen dem Meßtisch auf und der Patient befindet sich in horizontaler, bequemer Lage auf einem höhenverstellbaren OP-Tisch.

Die Amplitude des Torsionsmomentes  $M_0$  ( $U_M$ ) sowie die Phase ( $\phi$ ), d.h. die zeitliche Verzögerung zwischen Lage- ( $U_L$ ) und Momentensignal ( $U_M$ ) (siehe Abbildung 28) besitzen eine definierte zeitliche Beziehung zueinander. Bei einem masselosen, rein elastischen System besitzt die Phase  $0^\circ$ . Hingegen ist sie bei einem masselosen, viskoelastischen System aufgrund der dämpfenden Anteile ungleich  $0^\circ$  (45). Dies bedeutet, daß  $U_M$  und  $U_L$  einen zeitlichen Versatz vorweisen, wobei unabhängig von der Eingangsgröße das Momentensignal  $U_M$  stets dem Lagesignal  $U_L$  voreilt. Die Phasenmessung wird durch den Nulldurchgang von  $U_M$  gestartet und durch den Nulldurchgang von  $U_L$  gestoppt (45).

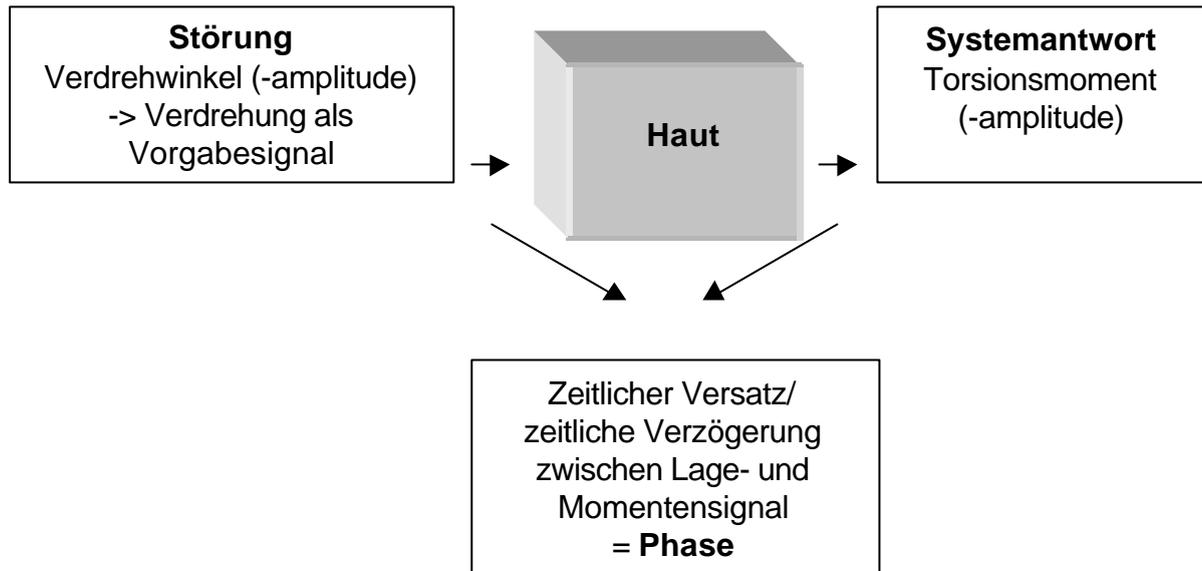


Abb.28: Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen Systemstörung und Systemantwort, bezogen auf das Meßsystem zur Messung der dynamischen Steifigkeit der Haut (MEdyS). Zur Bestimmung der dynamischen Steifigkeit wird bei vorgegebener Verdrehwinkelamplitude die sich einstellende Torsionsmoment-Amplitude gemessen. Gleichzeitig wird der zeitliche Versatz von Verdrehung und Torsionsmoment als Phasenmessung festgehalten.

Zur Gewährleistung der Mitnahme des Hautgewebes wird eine geometrische Vordehnung des Gewebes durch Verschieben der Anlageebenen am Verdrehstempel und am Haltering erzeugt. Der geometrische Versatz beträgt 0,5 mm und soll eine Mitnahme der Gewebeoberfläche sicher stellen (45). Die *Vorkonditionierung* wird auf Verdrehwinkelamplituden von  $10 \leq \theta_0 \leq 15^\circ$ , d.h. im nichtlinearen Bereich des Torsionsmomentes festgelegt, da bei  $\theta_0 < 10^\circ$  das Torsionsmoment in der sich anschließenden Messung ein quasi lineares Verhalten besitzt (45). Die Anzahl der Vordehnungen beträgt  $m = 10$ , da Werte  $m > 10$  die dynS nicht sichtbar beeinflussen (45). Keine Einflußnahme auf die dynS wird für die Frequenz der Vorkonditionierung beobachtet (45).

Für Hautmessungen ist die Verdrehwinkelamplitude auf  $\theta_0 = 5^\circ$  festgelegt, da nur hier eine lineare Beziehung zwischen Verdrehung und Torsionsmoment festzustellen ist (45). Unterhalb dieses Wertes sind die sich einstellenden Torsionsmomente zu klein, um mit dem vorgestellten Meßsystem eine kontinuierliche Phasenmessung durchzuführen. Bei Verdrehwinkelamplituden  $\theta_0 > 5,5^\circ$  zeigt das Torsionsmoment keine Linearität (45).

Als Befestigungssystem dient ein mit PVC und Quarzstaub beschichteter Haltering (Durchmesser ca. 10 mm), der ein Verrutschen des manuell gehaltenen Meßkopfes während der laufenden Messung verhindert (45).

Die Meßwiederholungen je Frequenzschritt betragen  $n = 5$ , weil mit dieser Anzahl die beste Reproduzierbarkeit bzw. Wiederholgenauigkeit bei noch relativ geringer Meßdauer von unter 1 Minute erzielt wird (45). Ein Meßvorgang inklusive der Vorkonditionierung der Haut dauert insgesamt etwa 50 Sekunden.

### - Übersicht über die Meßparameter des MEdyS -

<b><i>Parameter der Vorkonditionierung</i></b>	
Frequenz (f):	$f = 3 \text{ Hz}$
Verdrehwinkelamplitude:	$\theta_0 = 10^\circ$
Anzahl der Vordehnungen (Preconditioning Faktor):	$m = 10$
<b><i>Meßparameter der Hautmessung</i></b>	
Frequenzbereich:	$5 \leq f \leq 70 \text{ Hz}$ (bzw. $31,4 \leq \omega \leq 439,8 \text{ rad/s}$ )
Frequenzschritt:	$f = 1 \text{ Hz}$
Verdrehwinkelamplitude:	$\theta_0 = 5^\circ$
Anzahl der Wiederholungsmessungen je Frequenzwert:	$n = 5$

Die Quantifizierung der dynS liefert gemäß Kohr (45) reproduzierbare Systemparameter, die sich mit den Hautmerkmalen und/ oder Transportvorgängen in der Haut ändern. Nach ersten Tests wird die dynS als eine geeignete Beurteilungsgröße angesehen, um sowohl die biomechanischen Materialeigenschaften gesunder Haut, als auch deren Veränderungen aufgrund einer Hauterkrankung und/ oder infolge der transdermalen Diffusion von Liposomen zu erfassen (45). Folglich ist von dem Meßsystem MEdyS zu erwarten, daß es die viskoelastischen Eigenschaften der Haut hinreichend genau beschreibt, um auch geringfügige Modifikationen in oberflächlichen Hautschichten aufzudecken.

## 5.2 Experimenteller Teil

### 5.2.1 Prüfziel und Prüfhypothesen

Untersuchungsgegenstand dieser Studie war die Evaluierung des neu entwickelten Meßgerätes ME<sub>dy</sub>S hinsichtlich seiner Eignung zur Bestimmung der viskoelastischen Eigenschaften der menschlichen Haut *in vivo*. (*Anmerkung: Da es sich bei der Prüfung dieses Gerätes um ein interdisziplinäres Projekt handelte, erfolgten alle erforderlichen in vitro-Untersuchungen von Kohr (45) in der Biomedizinischen Technik der Medizinischen Hochschule Hannover*).

Eine Grundvoraussetzung für den Einsatz eines Torsionsgerätes zum Wirkungsnachweis kosmetischer Präparate ist eine einfache sowie präzise Detektion der Hautfunktionen und ausreichende Sensibilität, damit neben groben Unterschieden auch geringfügige Veränderungen des Hautzustandes erfaßt werden. Daneben muß ein solches Gerät valide Daten liefern. Deshalb waren neben *Reproduzierbarkeit* und *Validität* auch *Meßbereich* bzw. *Trennschärfe* des neuen Torsionsgerätes ME<sub>dy</sub>S *in vivo* zu überprüfen.

Für die Viskoelastizität der Haut wurden keine Hypothesen generiert, da es sich um einen explorativen Ansatz handelte. Allerdings wird angenommen, daß das Meßsystem ME<sub>dy</sub>S Unterschiede im biomechanischen Verhalten der Haut aufdeckt und die Quantifizierung der dynS (in Betrag und Phase) ausreichend reproduzierbare Meßergebnisse liefert, um zwischen verschiedenen Hautmerkmalen und Befunden zu diskriminieren.

### 5.2.2 Nutzen-Risiko-Abwägung

Bei der Messung der hier untersuchten Hautbefunde waren keine spezifischen Nachteile oder Risiken bekannt, die über das grundsätzlich immer vorhandene Risiko einer Überempfindlichkeits- bzw. Unverträglichkeitsreaktion von nicht-invasiven Hautmessungen hinausgehen.

Die Durchführung der Prüfung wurde deshalb als ethisch vertretbar angesehen.

### 5.2.3 Design

Es handelte sich um eine Querschnittsuntersuchung mit intra- und interindividuellem Vergleich verschiedener Körperstellen ( $n = 3$ ) und interindividuellem Vergleich gesunder Haut verschiedener konstitutioneller Abweichungen ( $n = 116$ ) sowie kranker Haut unterschiedlicher Pathogenese ( $n = 63$ ).

Zeitraum der Messungen waren die Monate März bis Juli 1996.

### 5.2.4 Probanden

Die Probanden rekrutierten sich aus der Medizinischen Hochschule Hannover, einer niedersächsischen Hautarztpraxis und der Haut- und Allergieklinik Borkum. Sofern möglich, wurden die Probanden zu ausbalancierten Gruppen ausgesucht, sowohl nach Geschlecht als auch nach Alter.

Abgesehen von den Probanden, bei denen Wiederholungsmessungen an verschiedenen Körperregionen vorgenommen wurden ( $n = 3$ ), sind alle weiteren Testpersonen den Probandenkollektiven 1 bzw. 2 zugewiesen worden. An der Prüfung nahmen 116 Probanden mit konstitutionellen Hautveränderungen (Kollektiv 1) und 63 Patienten mit erkrankter Haut (Kollektiv 2) teil. Eine Auswahl der Probanden erfolgte gemäß der festgelegten Ein- und Ausschlußkriterien.

#### 5.2.4.1 Einschlußkriterien

Probanden, die für die Hautmessungen vorgesehen wurden, mußten die folgenden Kriterien erfüllen

- Alter über 18 Jahre oder Einwilligung der Erziehungsberechtigten;
- Intakte gesunde Haut im Bereich der Prüfareale (Gruppe 1);
- Vorhandensein pathologischer Befallsstellen (Gruppe 2).

#### **5.2.4.2 Ausschlußkriterien**

Von der Prüfung waren Probanden auszuschließen, sobald sie eines der folgenden Kriterien aufwiesen:

- Schälbehandlungen bis zu einer Woche vor Meßbeginn;
- Einnahme von systemisch oder örtlich wirkenden Medikamenten, die dem Prüfziel entgegenstehen bzw. es stark beeinflussen könnten, innerhalb von einer Woche vor Beginn der Hautmessung;
- eine Anamnese, die auf Medikamenten- oder Alkoholmißbrauch hinweist;
- Träger von Hepatitis Antigen (HBsAG) oder ein positiver HIV-Test;
- schwere Erkrankungen innerhalb der letzten vier Wochen vor der Hautmessung;
- Schwangerschaft oder Stillperiode;
- offene Wunden;
- wenn nach Meinung des Dermatologen, der die Einschlußuntersuchung der Patienten der Gruppe 2 durchführte, eine Teilnahme an der Prüfung nicht erfolgen sollte.

#### **5.2.4.3 Einschränkungen während der Prüfung**

Kollektiv 1: Kosmetische Pflegeprodukte oder andere Externa im Bereich der Prüffelder waren eine Stunde vor Meßbeginn zu entfernen. Hautfett- oder Cremerückstände wurden vor der Messung mit Alkohol entfernt.

Kollektiv 2: 12 Stunden vor der Messung durften keine Externa im Bereich der Befallsstelle appliziert und keine balneologische Anwendung erfolgt sein. Bei notwendiger Einnahme von Medikamenten entschied der betreuende Kurarzt über eine Teilnahme an der Hautmessung.

#### **5.2.4.4 Einschlußuntersuchung**

Kollektiv 1: Vor Meßbeginn wurde eine umfangreiche kosmetische Anamnese erhoben und die Eignung zur Teilnahme an der Messung von einer Kosmetikerin (Verfasserin dieser Arbeit) festgelegt. Eine Klassifizierung der Hautzustände erfolgte gemäß einer

kosmetischen Diagnose, unter Zuhilfenahme üblicher palpatorischer und optischer Hauttests sowie zusätzlichem Einsatz diagnostischer Hilfsmittel, wie Lupenleuchte, Spatel und Objektträger.

Kollektiv 2: Vor der Hautmessung ist eine im Rahmen des Kuraufenthaltes übliche Anamnese (Medikamente, Erkrankungen) erhoben und eine dermatologisch-klinische Untersuchung auf Eignung der Patienten für die geplante Messung vom betreuenden Kurarzt vorgenommen worden.

#### **5.2.4.5 Zwischenuntersuchung**

Eine ärztliche Zwischenuntersuchung wurde nur bei Auftreten von Komplikationen vorgenommen, die unmittelbar im Zusammenhang mit den Hautmessungen standen.

#### **5.2.4.6 Gesetzliche Grundlagen und Good Clinical Practice (GCP)**

Die Planung und Durchführung der biomechanischen Hautmessung unterlag nicht den Bestimmungen des deutschen Arzneimittelgesetzes (AMG), da keine Arzneimittel im Sinne des AMG verabreicht und ausschließlich nicht-invasive Messungen ohne Verletzung der Integrität des Hautorgans vorgenommen wurden.

Jeder Proband erhielt detaillierte Informationen über Zweck und Ziel, Inhalt, Bedeutung und Ausmaß der Prüfung und wurde mündlich über die mit der Messung verbundenen Risiken unterrichtet. Zusätzlich wurde (bei Gruppe 2 im Beisein des betreuenden Kurarztes) ein ausführliches Aufklärungsgespräch geführt, in dessen Verlauf die Probanden ausreichend Zeit und Gelegenheit erhielten, noch offene Fragen zu klären. Die Probanden bekundeten mit ihrer Unterschrift die Teilnahme an der Messung, die sie jederzeit und ohne persönliche Nachteile zu erfahren, widerrufen konnten. Erziehungsberechtigte von Minderjährigen waren bei dem Aufklärungsgespräch anwesend und bekundeten ebenfalls mit ihrer Unterschrift die Bereitschaft zur Teilnahme.

### **5.2.4.7 Dekodierung**

Probanden, die die Einschlusskriterien erfüllten, erhielten nach dem Zeitpunkt des Eintritts in die Prüfung in aufsteigender Reihenfolge ihre Probandennummer. Die Prüfung sollten mindestens 115 Probanden in jeder Gruppe (Kollektiv 1 bzw. Kollektiv 2) regulär beenden.

### **5.2.4.8 Drop outs**

Probanden oder Patienten, die während der Prüfung aus nicht prüfungsbedingten Gründen ausfielen, wurden durch nachrückende Probanden ersetzt, sobald die Gesamtzahl 100 unterschritten war. Die Daten jedes Drop out wurden erfaßt und die Gründe für den Abbruch der Prüfung berichtet (siehe Appendix A). Prüfungsbedingt ausgefallene Probanden wurden nicht ersetzt.

## **5.2.5 Untersuchungsverfahren**

### **5.2.5.1 Methoden zur Probandensicherheit**

Spontan geäußerte Beschwerden wurden im Verhältnis zur Wahrscheinlichkeit des Zusammenhangs mit der Hautmessung dokumentiert. Traten in den Meßfeldern unerwünschte Wirkungen auf, wurde die jeweilige Messung abgebrochen. Unerwünschte Ereignisse, die zum Meßabbruch führten, sind unter 5.2.7.3 aufgeführt und im Anhang dokumentiert worden (siehe Appendix A).

### **5.2.5.2 Akklimatisierung**

Die Testpersonen hielten sich mindestens 15 Minuten vor und während der gesamten Messung in einem Meßraum der Abteilung Biomedizinische Technik der Medizinischen Hochschule Hannover (Gruppe 1), bzw. in einem klimatisierten Operationsraum (Temperatur:  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  und  $40\% \pm 10\%$  relativer Luftfeuchtigkeit) der Haut- und Allergieklinik Borkum auf (Gruppe 2). Die Probanden lagen auf bequemen OP-Tischen und durften diese nicht verlassen. Mehr als 3 Personen hielten sich nicht gemeinsam in

einem Raum auf. Erhöhte Feuchtigkeitswerte durch Schwitzen wurden durch diese Maßnahmen weitgehend vermieden.

### 5.2.5.3 Durchführung

Die Messung mit dem MEdyS erfolgte gemäß der vom Hersteller festgelegten Parameter (45), wobei vor jeder Messung eine Vorkonditionierung der Haut stattfand (siehe Kapitel 5.1).

Hautmessungen wurden an differenten Körperregionen bei verschiedenen Geschlechtern und Hautbefunden durchgeführt und fanden auf einer Fläche von je 50 cm<sup>2</sup> statt. Im Gesicht ergab sich aus anatomischen Gründen ein entsprechend kleineres Meßfeld. Eine Folgemessung auf bereits mechanisch beanspruchter Haut wurde durch Versetzen des Meßkopfes ausgeschlossen. Zur Erholung des Gewebes blieb die Haut zwischen zwei Meßvorgängen für mindestens 2 Minuten unbelastet. Um während der Messung den Auflagedruck des manuell (mit beiden Händen) gehaltenen Meßkopfes weitgehend zu standardisieren, stützte der Prüfer (Verfasserin dieser Arbeit) die Arme auf dem Meßtisch ab und der Proband lag horizontal in entspannter Lage auf einem höhenverstellbaren OP-Tisch. Die Meßwerte der dynS wurden in Betrag [mNm/°] und Phase [°] angegeben.

Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit des Gerätes wurde die mittlere prozentuale Abweichung je Frequenzwert, bezogen auf den Mittelwert von dynS in Betrag und Phase, in Beziehung zur Frequenz gesetzt. Sofern die Compliance der Probanden es gestattete, fanden pro Lokalisation bis zu 20 Wiederholungsmessungen statt. Bei den nachfolgenden Messungen in Kollektiv 1 und 2 wurden je Messung pro Testfeld drei Einzelwerte auf den jeweiligen Meßfeldern aufgenommen und deren Mittelwerte gespeichert.

- Zunächst erfolgten Wiederholungsmessungen bei zwei hautgesunden Probanden gleichen Alters (32 Jahre), aber unterschiedlichen Geschlechts an fünf verschiedenen Körperregionen (untere Extremitäten, obere Extremitäten, Bauch, Gesäß, Stirn), um in einem intraindividuellen Vergleich die dynS verschiedener

Lokalisationen miteinander zu vergleichen und zu prüfen, ob das Meßgerät grobe Unterschiede der Hautstruktur detektiert. Weiterhin fand ein interindividueller Vergleich der Körperstellen zwischen den Geschlechtern statt.

In Gegenüberstellung zur gesunden Haut wurde die Haut einer weiblichen Patientin (33 Jahre) mit progressiver systemischer Sklerodermie (syn. Scleroderma diffusa seu progressiva, systemische Sklerose, Systemsklerose) (176) des akralen Typs an den Extremitäten und im Gesicht untersucht. Für die Messung an Bauch und Gesäß gab die Patientin keine Einwilligung. Das "Sklerodermie-Syndrom", das wir hier betrachten, war bereits Gegenstand verschiedener nicht-invasiver Untersuchungen (104, 127, 145), so daß vergleichende Daten vorliegen. Die Erkrankung umfaßt vier Hauptmerkmale: Verhärtung und Unbeweglichkeit der Haut der tieferen Schichten, Veränderung der Struktur und/ oder der Menge an Kollagen in der Dermis, Hypodermis und Faszie, Veränderung des vaskulären Netzes des oberflächlichen und tiefen Plexus und schließlich das Vorhandensein eines inflammatorischen Infiltrats (176-178).

Die Akrosklerodermie der Patientin ist gekennzeichnet durch extrem straffe, gespannte, wachstypisch-spiegelnde Haut, die sich nicht mehr in Falten abheben läßt (sklerotische Schrumpfung). Durch die Straffung und Sklerotisierung der Haut ist das Gesicht verkleinert und ohne Mienenspiel (sklerodermatische Amimie). Die Stirn ist nicht mehr fältelbar, der Mund verkleinert (Mikrostomie). Mit der Atrophie haben sich Teleangiektasien entwickelt. Palpatorisch ist die Gesichtshaut straff und hart, ihr Farbton weißgelblich-fahl. Da sich an den unteren Extremitäten dermatogene Streckkontrakturen entwickelt haben, wurden an den Beinen auch Hautmessungen unter Anspannung der Muskulatur vorgenommen.

- Im nächsten Schritt war zu prüfen, ob und in welchem Ausmaß unterschiedliche konstitutionelle als auch krankheitsbedingte Veränderungen der Haut, die Einfluß auf ihre viskoelastischen Eigenschaften nehmen (u.a. differenter Fett- und Feuchtigkeitsgehalt, Proliferationshyperkeratose oder Parakeratose, Vorhandensein eines Infiltrates), mit dem Meßgerät aufzudecken sind und sich demgemäß im biomechanischen Befund niederschlagen. Im Kollektiv 1 wurden je Proband sowohl Hautmessungen auf dem rechten volaren Unterarm als auch im

Gesicht durchgeführt. Eine Einteilung der Probanden erfolgte in die fünf Gruppen normale Haut, trockene Haut (Sebastase), fettige Haut unterschiedlicher Ausprägung (Seborrhoe sicca bzw. Seborrhoe oleosa) sowie atrophische Haut. Eine weitere Unterteilung in Untergruppen fand nach Geschlecht und Meßstelle statt. Die Patienten im Kollektiv 2 wurden in vier Erkrankungsgruppen eingeteilt: Akne vulgaris, Psoriasis vulgaris, atopisches Ekzem und polymorphe Lichtdermatose. Die Hautmessungen fanden ausschließlich auf sehr ausgeprägten Krankheitsherden bzw. läSIONaler Haut statt, weshalb geschlechtsspezifische Unterschiede in Kollektiv 2 nicht mehr Berücksichtigung fanden und auch keine Trennung nach Alter oder Lokalisation des Befundes vorgenommen wurde. Wünschenswert war ein hoher Anteil an Patienten mit Psoriasis vulgaris und atopischem Ekzem, für die bereits Ergebnisse aus verschiedenen nicht-invasiven Untersuchungen mit biomedizinischen Techniken vorliegen (67, 114, 117, 128, 178 - 191). Insbesondere von Psoriatikern ist bekannt, daß der krankheitsbedingte Hautbefall zu einem veränderten viskoelastischen Verhalten führt (128), wobei durch das entzündete und lang anhaltende Ödem die Hautdehnbarkeit ab- und die Hysterese zunimmt.

## **5.2.6 Biometrische Planung und Auswertung**

### **5.2.6.1 Zielgröße**

Zielgröße für die explorativ-deskriptive Auswertung war die mittlere dynS in Betrag [mNm/°] und Phase [°] sowie die entsprechende Flächenberechnung des Amplituden- und Phasenganges. (Die Wiederholgenauigkeit bezieht die mittlere prozentuale Abweichung je Frequenzwert auf den Mittelwert von dynS in Betrag und Phase).

**- Tagesablaufschemata (Beispiel) -**

Tag	Zeit (Stunde:Minute)	Maßnahme
1		Einschlußuntersuchung
1	9:00	Erhebung von zusätzlichen demografischen Daten
1	9:02	Entfernung von Fettrückständen der Haut im Meßareal mit einer alkoholischen Lösung
	9:05	Einklimatisierung
1	9:20	Hautmessung mit dem Meßsystem zur Erfassung der dynamischen Steifigkeit der Haut (MEdyS)
1	10.00	Ende der Messung; Entlassung der Probanden

Für alle Probanden im Kollektiv 1 und alle Patienten im Kollektiv 2 galt der hier dargestellte Ablauf. Die in der Tabelle angegebenen Zeiten galten beispielhaft für einen Probanden.

**5.2.6.2 Hypothesen**

Es wurden keine Hypothesen generiert, da es sich um einen explorativen Ansatz handelte. Allerdings wird von dem Meßsystem MEdyS angenommen, daß die Quantifizierung der dynS ausreichend reproduzierbare Systemparameter liefert, um intraindividuell Unterschiede im biomechanischen Verhalten der Haut verschiedener Lokalisationen aufzudecken und interindividuell zwischen Hautmerkmalen verschiedener Befunde zu diskriminieren.

**5.2.6.3 Statistische Methoden****Deskriptive Statistik**

Alle Rohdaten für alle Probanden und für alle Variablen wurden aufgelistet. In Abhängigkeit vom Meßniveau der einzelnen Variablen wurden geeignete deskriptive Statistiken, zum Beispiel Häufigkeiten (absolut und/oder prozentual), Anzahl der

verfügbaren bzw. nicht verfügbaren Daten, Mittelwert, Standardabweichung, Median, Minimum, Maximum und AUC-Werte berechnet und tabellarisch dargestellt (siehe Appendix A). Eine weitere explorative Auswertung der Meßdaten erfolgte in Abhängigkeit von den Resultaten. Eine Überprüfung auf Normalverteilung fand im Kolmogorow-Smirnow Test statt.

Im Text werden alle Daten als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD) präsentiert.

### **Wilcoxon Test**

Im Falle einer nicht ausreichenden Normalverteilung wurden die Rohdaten in einem Wilcoxon Test für unabhängige Stichproben geprüft. Der explorativ-deskriptive p-Wert (zweiseitig) diente der Beschreibung der Beziehung zwischen den physikalischen Variablen der unterschiedlichen Hautbefunde. Differenzen wurden als signifikant angesehen bei einem p-Wert  $\leq 0,05$ .

Da multiple Tests mit den gleichen Variablen durchgeführt wurden, ist das Signifikanzniveau durch die Anzahl der durchgeführten Tests dividiert worden. Dadurch ergab sich im Untersuchungskollektiv 2 eine statistische Signifikanz bei  $p \leq 0,00119$  bzw. für die AUC- Berechnung bei  $p \leq 0,0083$ .

### **Diskriminanzanalyse**

Sofern die Voraussetzungen erfüllt waren, wurde zum Vergleich der Hautbefunde eine Diskriminanzanalyse vorgenommen und eine Klassifikationsmatrix erstellt.

#### **5.2.6.4 Begründung des Stichprobenumfangs**

Der Umfang der Stichprobe pro Untergruppe im Kollektiv 1 bzw. 2 sollte  $n = 5$  nicht unterschreiten. Die Festlegung des Stichprobengröße beruhte auf Erfahrungswerten bei der Vorprüfung von biomechanischen Hautmeßgeräten (192). Im Falle von  $n < 5$  wurden weitere Hautmessungen vorgenommen. Standen nicht ausreichend Probanden zur Verfügung, wurde die entsprechende Untersuchungsgruppe nicht in die statistische Auswertung aufgenommen.

## 5.2.7 Ergebnisse

### 5.2.7.1 Drop outs

Die Probanden 51, 63 und 64 (Kollektiv 1) erschienen nach Anamnese und Vergabe der Probandennummer nicht zum Meßtermin. Persönliche Gründe wurden nicht angegeben. Die Probanden 176 und 177 (Kollektiv 2) zogen ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Hautmessung ohne Angaben von Gründen kurzfristig zurück. Probandin 204 (Kollektiv 2) schied aufgrund von Kreislaufproblemen aus und verließ zu Beginn der ersten Messung den Meßraum. Die Probanden 208 und 219 (Kollektiv 2) konnten den vereinbarten Meßzeitpunkt durch Terminverlegung ihrer Kuranwendung nicht wahrnehmen.

### 5.2.7.2 Demografische Daten

Die demografischen Daten der Probanden finden sich in Tabelle 47 (Kollektiv 1) bzw. in Tabelle 74 (Kollektiv 2) im Appendix A. Das Durchschnittsalter der Probanden (MW) ist der folgenden Übersicht zu entnehmen:

<b>Kollektiv 1</b>		
<b>Hautzustand</b>	<b>Alter (in Jahren)</b>	
	Männer	Frauen
Normale Haut	29 (SD 9,98)	23 (SD 3,56)
Sebostase	27 (SD 6,66)	33 (SD 6,59)
Seborrhoe oleosa	33 (SD 8,37)	32 (SD 11,97)
Seborrhoe sicca	25 (SD 3,34)	26 (SD 7,95)
Atrophische Haut	64 (SD 8,46)	62 (SD 7,76)
<b>Kollektiv 2</b>		
<b>Hauterkrankung</b>	<b>Alter (in Jahren)</b>	
Akne vulgaris	27 (SD 9,26)	
Psoriasis vulgaris	67 (SD 11,15)	
Atopisches Ekzem	33 (SD 18,61)	
Polym. Lichtdermatose	37 (SD 17,22)	

MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung

### **5.2.7.3 Unerwünschte Ereignisse**

Während der Hautmessungen im Kollektiv 2 traten unerwünschte Wirkungen mit dem Meßverfahren MEdyS bei den Patienten 225, 226, 227 und 229 auf (siehe Anhang, Appendix A). Bei den Patienten 225 und 226 kam es zu punktförmigen Blutungen im Gesicht. Die Patienten klagten über einen "Brennschmerz", wobei die unerwünschten Ereignisse (UE) hinsichtlich der Intensität in der Stärkeskala (gering, mittel, stark) als gering eingestuft wurden. Die Definition von gering in dieser Skala ist, daß das Symptom in gewissem Maße die Funktionen des Probanden beeinträchtigt, aber seine Gesundheit nicht gefährdet. Als unerwünschte Wirkung wurde von den Patienten 227 und 229 ein "Hautbrennen" angegeben. Punktblutungen beobachtete der Prüfer in diesen Fällen nicht.

Nach Absprache mit den Prüfarzten war die Untersuchung mit dem neuen Meßverfahren aufgrund seines invasiven Charakters ethisch nicht mehr vertretbar. Die Untersuchung im Kollektiv 2 wurde vorzeitig nach dem 63. Patienten abgebrochen.

### **5.2.7.4 Ergebnisse der statistischen Analyse**

Alle statistischen Auswertungen sind mit dem Statistikprogramm SAS durchgeführt worden. Einzelbefunde und Originalergebnisse wurden in einem Prüfungsordner dokumentiert und sind im Fachbereich Chemie der Universität Hamburg abgelegt. Die einzelnen Meßwerte der Viskoelastizitätsmessungen mit dem Meßsystem MEdyS befinden sich im Appendix A.

## **I. Wiederholungsmessungen an Probanden unterschiedlichen Geschlechts an verschiedenen Körperstellen**

### **Deskriptive Statistik**

Mittelwerte und Standardabweichungen der Rohdaten wurden an den Frequenzen 10, 20, 30, 40, 50, 60 und 70 Hz berechnet und sind im Appendix A in den Tabellen 40 bis 43 dargestellt. Zusätzlich fand für die intra- und interindividuelle Untersuchung der

viskoelastischen Hauteigenschaften eine Flächenberechnung (AUC) der dynS statt (siehe Tabellen 44 - 45, Appendix A), die sich aufgrund der verhältnismäßig starken Streuung des Meßparameters dynS empfiehlt.

In die Statistik wurden alle Rohdaten einbezogen.

#### Untere Extremitäten (10 Wiederholungsmessungen)

Im vorgegebenen Frequenzgang nahm der mittlere Betrag der dynS des hautgesunden Mannes von 0,098 [mNm/°] (SD 0,039) bei 10 Hz auf 0,057 [mNm/°] (SD 0,029) bei 70 Hz und bei der hautgesunden Frau von 0,062 [mNm/°] (SD 0,01) auf 0,022 [mNm/°] (SD 0,004) ab.

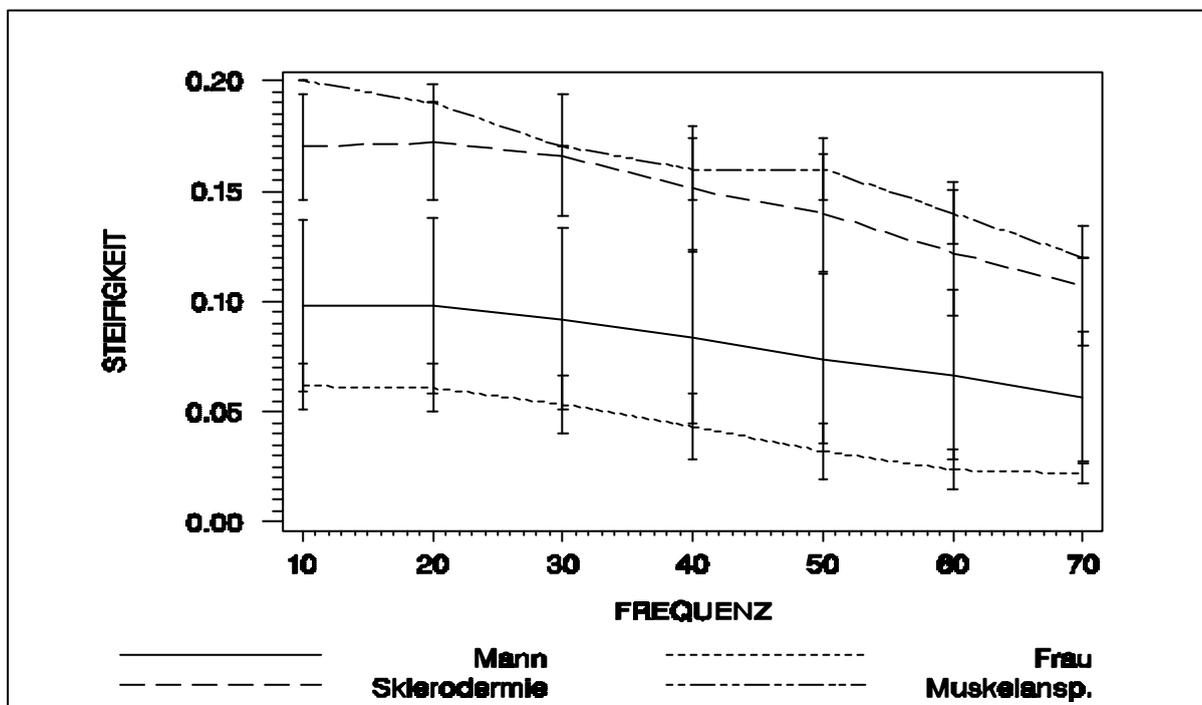


Abb.29a: Vergleich des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] der unteren Extremitäten eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre) mit normaler Haut sowie einer Frau mit progressiver Sklerodermie des akralen Typs (33 Jahre) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Bei der Patientin mit Sklerodermie wurden Hautmessungen zusätzlich unter Anspannung der Muskulatur vorgenommen. Mittlerer Betrag [mNm/°] aus 10 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

Der Patient mit Sklerodermie wies eine mittlere Abnahme von 0,17 [mNm/°] (SD 0,024) bis 0,107 [mNm/°] (SD 0,027) auf. Unter Anspannung der Beinmuskulatur erhöhten sich hier die Werte über den gesamten Meßbereich (siehe Abbildung 29a). Die dynS

verringerte sich dabei von 0,20 [mNm/°] (SD 0) auf 0,12 [mNm/°] (SD 0). Da die Patientin zu einem späteren Zeitpunkt als die hautgesunden Probanden rekrutiert wurde, ließen sich bei letztgenannten keine Vergleichsmessungen unter Muskelanspannung mehr vornehmen.

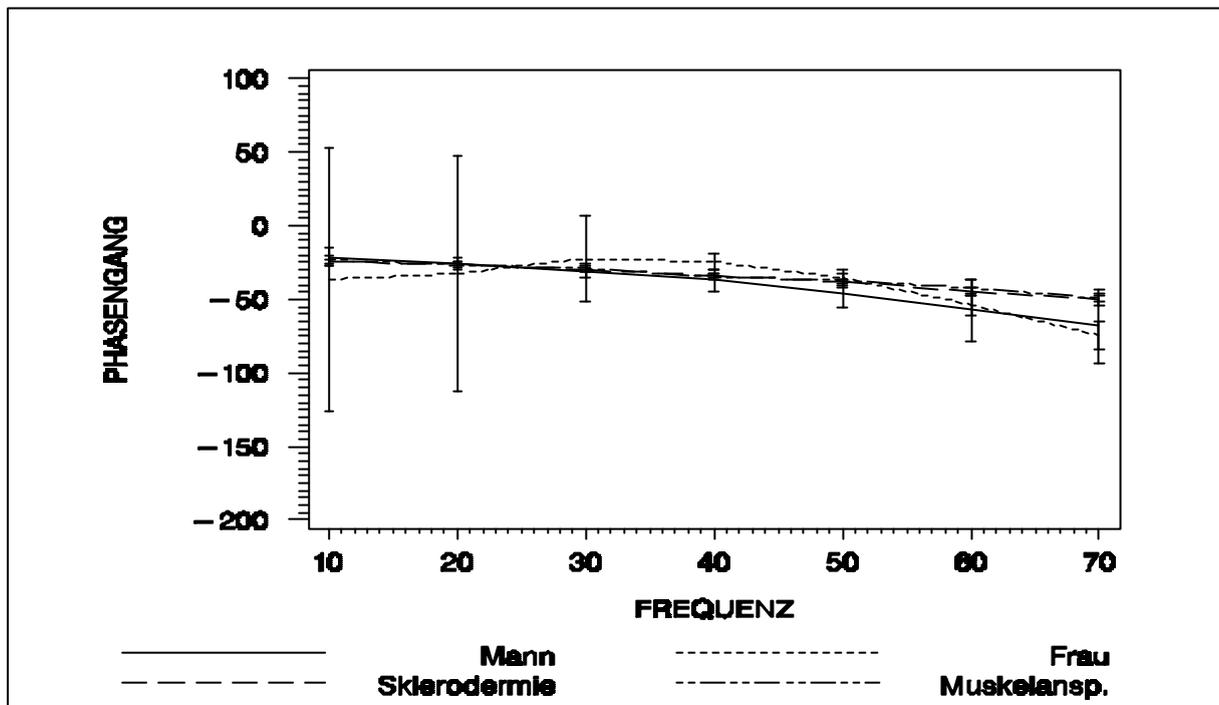


Abb.29b: Vergleich der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] der unteren Extremitäten eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre) mit normaler Haut sowie einer Frau mit progressiver Sklerodermie (33 Jahre) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Mittlere Phase [°] aus 10 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

In der AUC-Berechnung zeigte sich ein Unterschied zwischen den Geschlechtern sowie Hautbefunden: der AUC-Wert der unteren Extremitäten lag mit 9,738 am höchsten bei Sklerodermie, gefolgt von 5,365 bei der männlichen bzw. 2,863 bei der weiblichen Testperson mit normaler Haut.

Im Phasengang waren bei Sklerodermie und dem hautgesunden Mann initial die Phasenwerte ähnlich, veränderten sich aber im Frequenzgang unterschiedlich (siehe Abbildung 29b). Die Phase variierte beim Mann von -21,50 [°] (SD 6,03) bei 10 Hz bis -68,15 [°] (SD 25,14) bei 70 Hz, bei Sklerodermie im relaxierten Zustand von -24,22 [°] (SD 1,71) bis -50,06 [°] (SD 3,67) bzw. unter Muskelanspannung von -23,2 [°] (SD 3,39) bis 49,5 [°] (SD 1,84). Bei der hautgesunden Frau trat eine Veränderung von -36,45 [°] (SD 89,83) auf -74,50 [°] (SD 9,66) ein, wobei der Phasengang bis etwa 40 Hz

außerordentlich stark schwankte. Die Flächenberechnung der Phase ergab für den Mann einen AUC-Wert von -2510,46, für die Frau von -2591,50 und für die Patientin mit Sklerodermie von -2217,03. Der Unterschied zwischen den Geschlechtern oder dem Hautstatus war verhältnismäßig gering. Auffällig waren die im Vergleich zur befallsfreien Haut sehr geringe SD der Phase und des Betrages der dynS bei Sklerodermie, insbesondere unter Anspannung der Beinmuskulatur während der Messung.

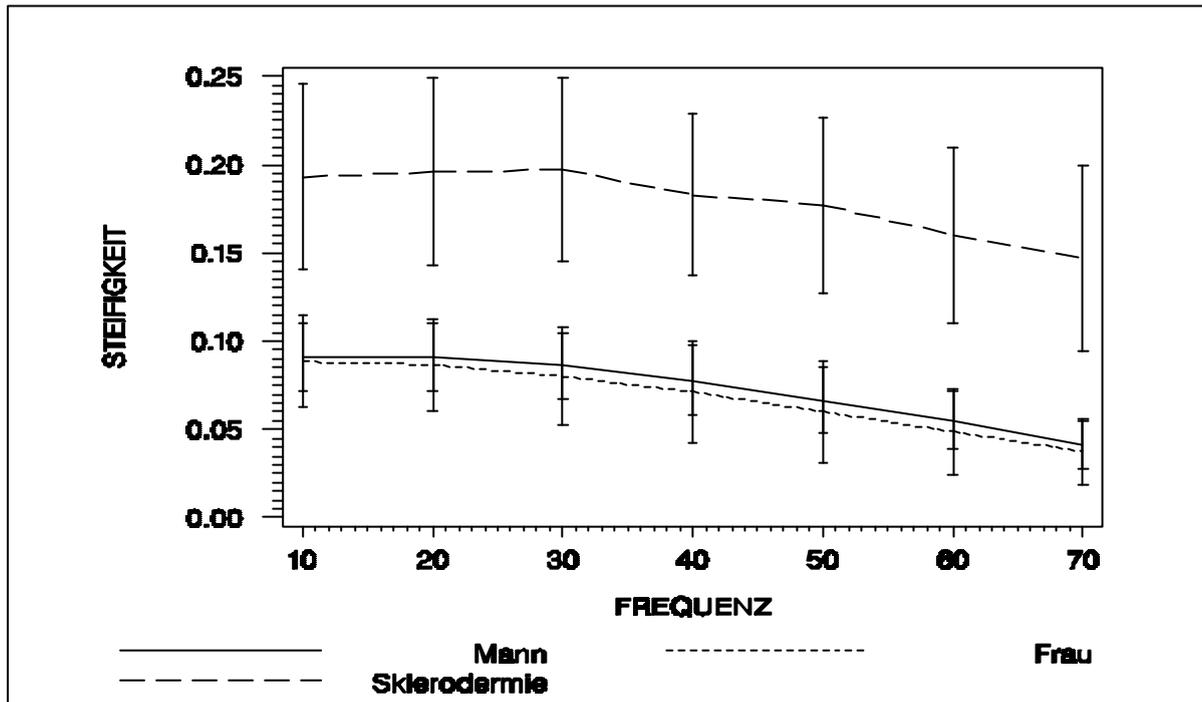


Abb.30a: Vergleich des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] der oberen Extremitäten eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre) mit normaler Haut sowie einer Frau mit progressiver Sklerodermie (33 Jahre) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Gemittelte Meßwerte aus 10 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

#### Obere Extremitäten (10 Wiederholungsmessungen)

Bei den oberen Extremitäten nahm der mittlere Betrag der dynS des hautgesunden Mannes von 0,091 [mNm/°] (SD 0,019) auf 0,041 [mNm/°] (SD 0,014) und bei der weiblichen Testperson von 0,088 [mNm/°] (SD 0,026) auf 0,038 [mNm/°] (SD 0,019) ab. Der Amplitudengang bei Sklerodermie zeigte eine Abnahme von 0,193 [mNm/°] (SD 0,052) bis 0,147 [mNm/°] (SD 0,053). Die Berechnung der AUC ergab die höchste Steifigkeit für Sklerodermie (11,739), gefolgt von der gesunden männlichen (4,878) und

weiblichen Haut (4,547). Mit diesem Resultat gab sich eine deutlich steifere Haut der Akrosklerodermie zu erkennen (siehe Abbildung 30a).

Die Haut der oberen Extremitäten des Mannes und der Patientin mit Sklerodermie wiesen bis 30 Hz ähnliche Phasenwerte auf, die im weiteren Frequenzgang unterschiedlich abfielen (siehe Abbildung 30b). Die mittleren Phasenwerte variierten beim Mann von  $-16,51$  [°] (SD 4,76) bis  $-62,32$  [°] (SD 4,19), bei Sklerodermie von  $-18,56$  [°] (SD 1,25) bis  $-38,48$  [°] (SD 2,85) und bei der gesunden Haut der weiblichen Testperson von  $-25,77$  [°] (SD 44,14) bis  $-64,32$  [°] (SD 21,43). Der Phasengang der weiblichen Probandin schwankte ab 30 Hz außerordentlich stark und wies die größten Streuungen auf. In der AUC-Berechnung zeigten sich annähernd identische Werte der hautgesunden Probanden (Mann  $-2116,54$ ; Frau  $-2243,98$ ), die sich von der Sklerodermie ( $-1689,70$ ) abgrenzten.

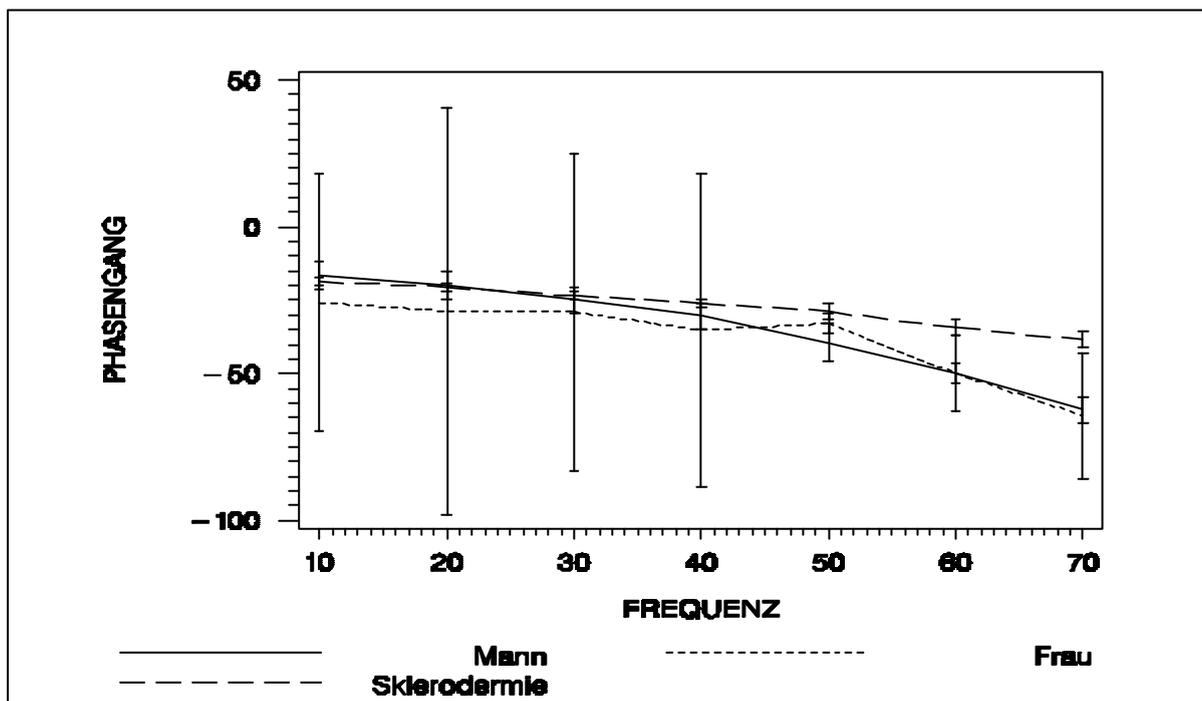


Abb.30b: Vergleich der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] der oberen Extremitäten eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters im Vergleich zu einer Patientin mit Akrosklerodermie. Gemittelte Phasenwerte aus 10 Wiederholungsmessungen.

Gesicht (10 Wiederholungsmessungen bei normaler Haut; 5 bei Sklerodermie)

Die Meßfelder im Gesicht zeigten bei Mann und Frau initial unterschiedliche Meßwerte, die sich im vorgegebenen Frequenzgang ab 60 Hz annäherten (siehe Abbildung 31a). Für die Männerhaut war eine Abnahme der mittleren dynS von

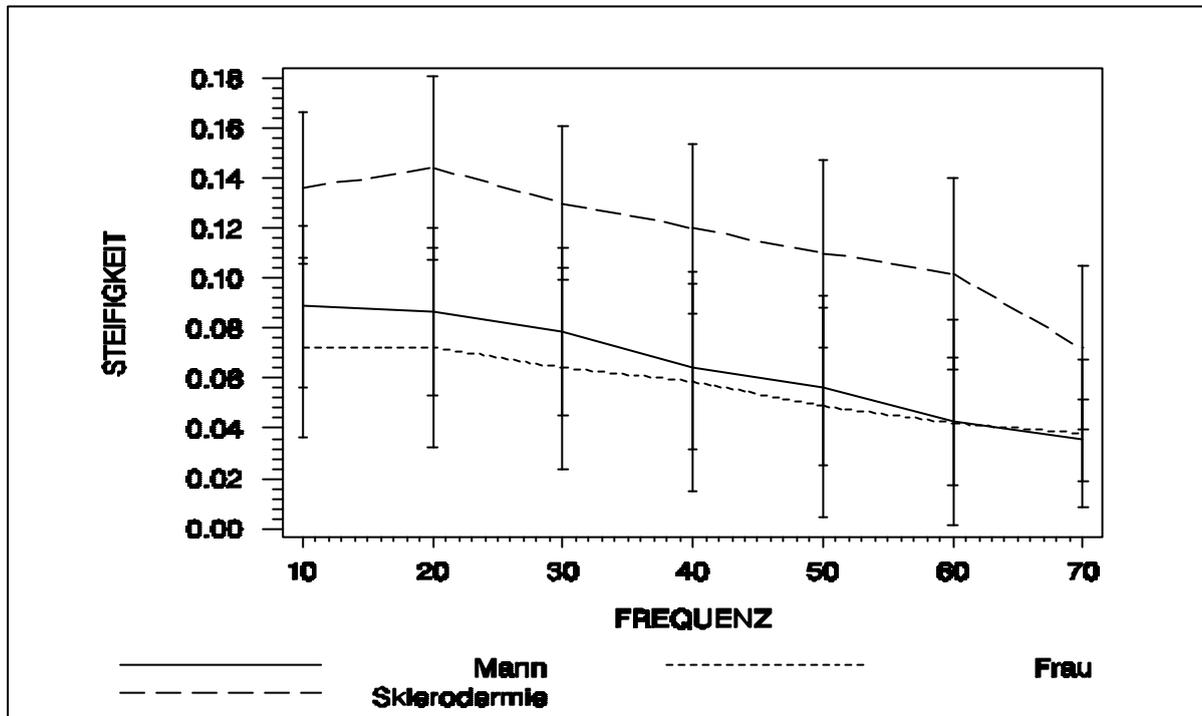


Abb.31a: Vergleich des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] der Gesichtshaut über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Gemittelte Meßwerte aus 10 bzw. 5 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

0,089 [mNm/°] (SD 0,032) bis 0,035 [mNm/°] (SD 0,016) und bei der hautgesunden Frau von 0,073 [mNm/°] (SD 0,036) bis 0,038 [mNm/°] (SD 0,030) zu beobachten.

Die Messungen der von Sklerodermie befallenen Gesichtshaut ergab einen Betrag von 0,136 [mNm/°] (SD 0,030), der über den Frequenzbereich bis 70 Hz auf 0,072 [mNm/°] (SD 0,033) abfiel. Der AUC-Wert lag mit 7,785 am höchsten bei Sklerodermie, gefolgt von dem männlichen Probanden mit einem AUC-Wert von 4,294 und der weiblichen Probandin mit 3,772. Der Unterschied zwischen normaler und erkrankter Haut sowie zwischen den Geschlechtern war damit geringer als bei den vorangegangenen Hautmessungen an den unteren Extremitäten.

Im Frequenzbereich änderten sich die Phasenwerte beim Mann von -35,06 [°] (SD 89,31) auf -69,73 [°] (SD 29,63), bei der Frau von -82,75 [°] (SD 136,00) auf -78,38 [°] (SD 39,99) und bei Sklerodermie von -19,12 [°] (SD 1,71) auf -50,24 [°] (SD 3,67). Die Flächenberechnung der Phase ergab für die männliche Stirnhaut einen AUC-Wert von -

2555, für die Frau von -3714,52 und die Probandin mit Sklerodermie von -1985,88. Auffällig war die sehr geringe SD der Phase bei Sklerodermie im Vergleich zum stark schwankenden Phasengang bei befallsfreier Gesichtshaut (siehe Abbildung 31b).

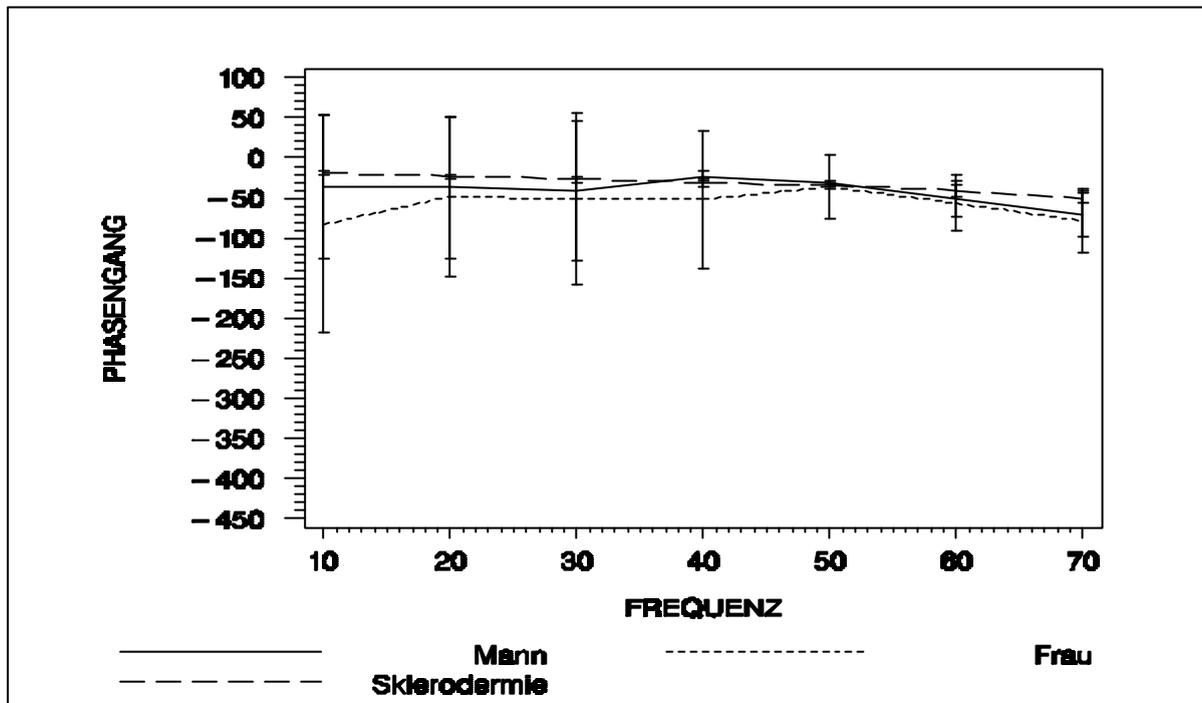


Abb.31b: Vergleich der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] der Gesichtshaut. Gemittelte Meßwerte aus 10 bzw. 5 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

### Rücken (20 Wiederholungsmessungen)

Die befallsfreien Rückenfelder des Mannes zeigten eine Abnahme der mittleren dynS von 0,081 [mNm/°] (SD 0,018) bis 0,033 [mNm/°] (SD 0,015). Bei der weiblichen Haut verringerten sich die Meßwerte von 0,056 [mNm/°] (SD 0,016) bis 0,024 [mNm/°] (SD 0,006). Anhand der AUC-Berechnung wurde wie bereits bei Gesicht und unteren Extremitäten ein Unterschied zwischen den Probanden deutlich. Auch am Rücken lag eine höhere Steifigkeit der Haut des Mannes (3,887) vor (Frau: 2,423) (siehe Abbildung 54a, Appendix A).

Die Phase veränderte sich beim Mann von -14,93 [°] (SD 3,51) bei 10 Hz auf -70,48 [°] (SD 12,40) bei 70 Hz und bei der weiblichen Probandin von -64,10 [°] (SD 108,91) auf -80,19 [°] (SD 12,60). Hier ergab die Flächenberechnung der Phase für den männlichen Probanden einen AUC-Wert von -2070,38 und für die Frau von -3992,48. Der Phasengang der dynS der weiblichen Probandin wies außerordentlich starke

Schwankungen über den gesamten Frequenzgang auf, besonders starke Variationen traten bis etwa 45 Hz auf (siehe Abbildung 54b, Appendix A).

### Bauch (10 Wiederholungsmessungen)

Im Frequenzgang fiel der mittlere Betrag der dynS der männlichen Bauchhaut von 0,042 [mNm/°] (SD 0,009) auf 0,031 [mNm/°] (SD 0,003) und bei der Frau von 0,042 [mNm/°] (SD 0,017) auf 0,028 [mNm/°] (SD 0,006). Der Verlauf der Amplitude war annähernd identisch und zeigte einen Sprung ab 50 Hz: Nach zunächst kontinuierlichem Abfall nahm nun der Betrag der dynS wieder zu (siehe Abbildung 32a). Auffällig war weiterhin die vergleichsweise starke Streuung der Meßwerte der weiblichen Bauchhaut. Die Flächenberechnung des Betrages ergab für den Mann einen AUC-Wert von 1,863 und für die Frau von 1,831. Geschlechtsspezifische Unterschiede des Betrages der dynS der Bauchhaut waren damit verhältnismäßig gering.

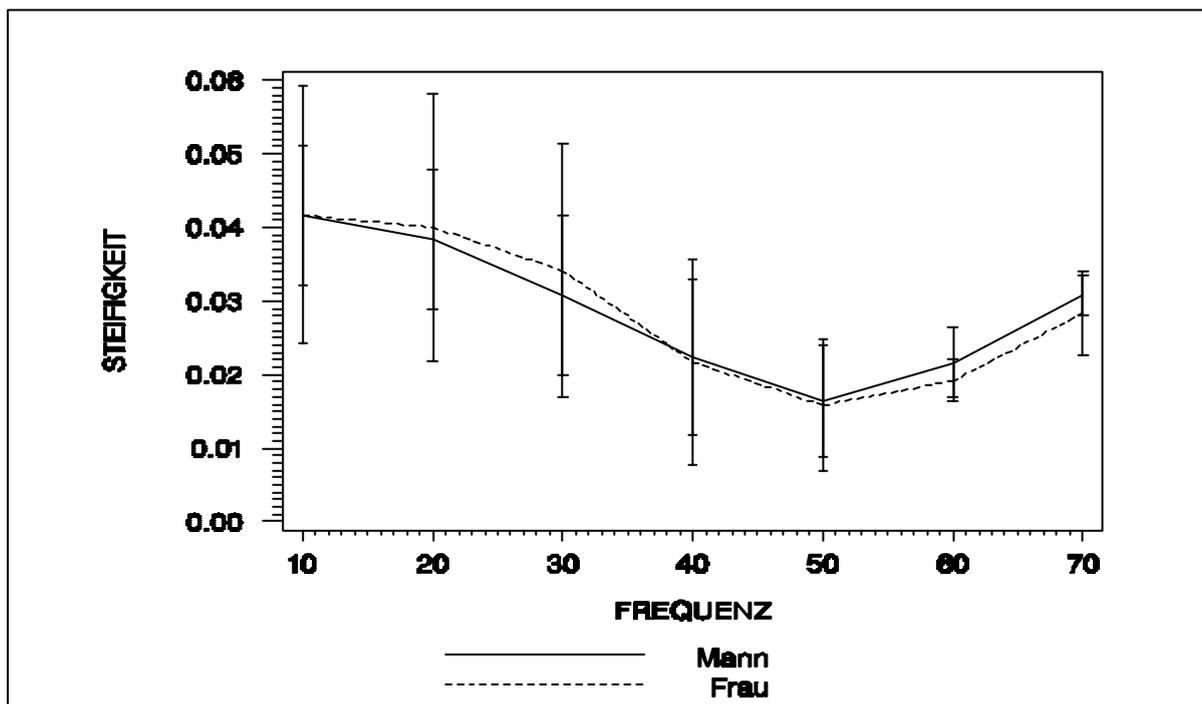


Abb.32a: Vergleich des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] der Bauchhaut eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre, normale Haut) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Gemittelte Meßwerte aus 10 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

Im vorgegebenen Frequenzgang variierten die Phasenwerte der Meßfelder des Mannes von -96,93 [°] (SD 127,85) bei 10 Hz bis -110,03 [°] (SD 2338) bei 70 Hz und bei der

weiblichen Probandin von  $-225,16$  [°] (SD 150,71) bis  $-120,38$  [°] (SD 31,28). Die Flächenberechnung der Phase ergab für den Mann einen AUC-Wert von  $-4194,38$  und für die Frau von  $-7619,83$ . Die große Diskrepanz der Meßwerte findet mit der starken Streuung der Phasenwerte der Bauchhaut der weiblichen Probandin eine Erklärung (siehe Abbildung 32b).

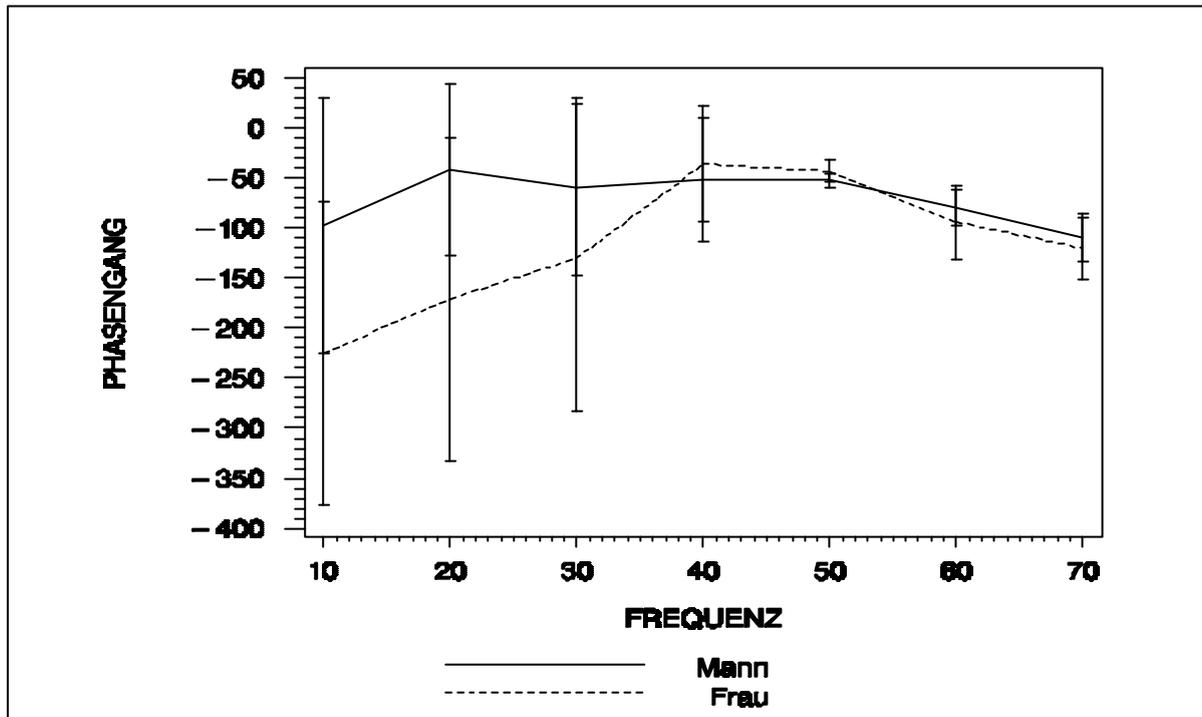


Abb.32b: Vergleich der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] der Bauchhaut eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre, normale Haut) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Gemittelte Meßwerte aus 10 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

### Gesäß (10 Wiederholungsmessungen)

Der Betrag der dynS der männlichen Gesäßhaut nahm von  $0,043$  [mNm/°] (SD 0,019) auf  $0,033$  [mNm/°] (SD 0,005) ab. Der AUC-Wert des Betrages betrug  $1,645$  und  $-8011,60$  für die Phase. Im Frequenzgang war eine Änderung der Phase von  $-270,20$  [°] (SD 172,00) auf  $-124,83$  [°] (SD 37,72) festzustellen. Der Phasenmessung lagen starke Schwankungen der Meßwerte zugrunde.

Amplituden- und Phasengang der Gesäßmessung der weiblichen Probandin erbrachten keine plausiblen Meßergebnisse. Es trat im Frequenzgang ab ca. 30 Hz eine Unstetigkeitsstelle auf, die aus erheblichen Schwankungen der Rohdaten resultierte.

Aus diesem Grund ist die Messung des Gesäßes zu verwerfen (siehe Abbildung 55a und 55b, Appendix A).

## Regression

Um den Verlauf der dynS gesunder Haut verschiedener Lokalisationen mathematisch wiederzugeben, wurde eine Regression vorgenommen (siehe Tabelle 46, Appendix A). Wie die Ergebnisse der deskriptiven Statistik verdeutlichen, kam es bei der Phasenmessung zu einem Meßfehler. Aus diesem Grund wurde von der weiteren Berechnung der Phase [°] abgesehen und der Betrag der dynS [mNm/°] herangezogen. Der Verlauf über den Frequenzgang ließ sich gut durch ein Regressionspolynom 3. Ordnung beschreiben. Es wurde dazu der Mittelwert der Wiederholungsmessungen genommen und eine Funktion gesucht, die den vorgegebenen Verlauf möglichst genau bestimmt (siehe Abbildung 33).

Abbildung 33 gibt auf den vorgegebenen x-Wert (Frequenz [Hz]) den y-Wert (dynS [mNm/°]) als Funktionswert zurück.

Hier die dazugehörigen Parameter:  $y = \text{const} + a * x + b * x^2 + c * x^3$

y = Funktionswert (dynS), der in der Grafik aufgetragen und über die aufgeführten Funktionen definiert wird;

a,b,c = Konstanten, mit denen die Frequenz (x) multipliziert wird;

const = Konstante, die den Abschnitt auf der y-Achse bei der Frequenz ab 0 angibt

Bis auf die Messungen an Bauch und Gesäß gab sich ein sinusförmiger Verlauf zu erkennen. Bei den Messungen am weiblichen Gesäß lag eine Unstetigkeitsstelle vor, die aus Schwankungen der Rohdaten resultiert.

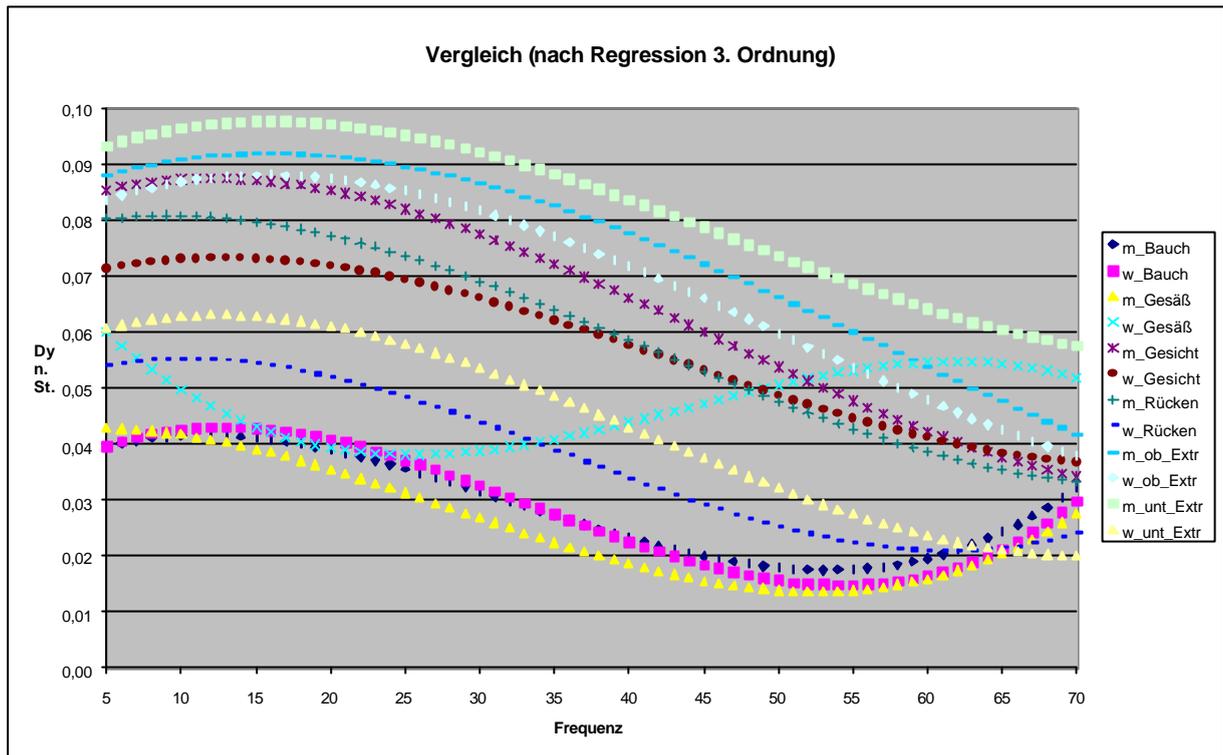


Abb.33: Regression 3. Ordnung: Gegenüberstellung der dynS verschiedener Lokalisationen hautgesunder Probanden ( $n = 2$ ) gleichen Alters und unterschiedlichen Geschlechts ( $m =$  männlich,  $w =$  weiblich). Es liegt der Mittelwert aus jeweils mindestens 10 Wiederholungsmessungen zugrunde. Bei den Messungen am weiblichen Gesäß liegt eine Unstetigkeitsstelle vor, die aus Schwankungen der Rohdaten resultiert.

### Ergebniszusammenfassung der Wiederholungsmessungen an Probanden unterschiedlichen Geschlechts an verschiedenen Körperstellen

Die getrennte Darstellung des Amplituden- [ $\text{mNm}/^\circ$ ] und Phasenganges [ $^\circ$ ] der dynS erbrachte für die Phase eine annähernd doppelt so starke Streuung. Die Meßwerte von zum Teil über  $-180^\circ$  (siehe Abbildung 31b und 32 b) lassen einen Abriß des Meßstempels annehmen (193), der auf der Hautoberfläche durchdreht. Aufgrund dieses Meßfehlers muß die Phasenmessungen verworfen werden. Die Ergebniszusammenfassung und spätere Auswertung dieser Messungen (siehe Kapitel 5.3) stützt sich demzufolge ausschließlich auf den Betrag der dynS [ $\text{mNm}/^\circ$ ], auf den der Meßfehler keinen Einfluß nimmt.

### Reproduzierbarkeit

Die Prüfung der Reproduzierbarkeit des neuen Meßsystems ergab, daß die mittlere prozentuale Abweichung je Frequenzwert - bezogen auf die mittlere dynS - in Beziehung zur Frequenz stand. In der Regel nahm mit zunehmender Frequenz die Streuung der Meßwerte zu.

Der Vergleich zwischen gesunder und sklerotischer Haut und auch die intraindividuelle Betrachtung verschiedener Lokalisationen machte deutlich, daß die Materialbeschaffenheit bzw. die Festigkeit der Unterlage einen erheblichen Einfluß auf die Wiederholgenauigkeit der Messung nahm. Neben dem Gesäß zeigten sich intraindividuell die höchsten Streuungen an den Lokalisationen Rücken und Bauch. Für den Betrag der dynS betrug die mittlere prozentuale Abweichungen am Rücken 28 % (Mann) bzw. 38% (Frau) und am Bauch 31 % (Mann) bzw. 39 % (Frau). Bei Sklerodermie betrug die mittlere prozentuale Abweichung des Betrages an den unteren Extremitäten 15%, an den oberen Extremitäten 10% und im Gesicht 17% (Betrag). Damit war an diesen Lokalisationen die mittlere Abweichung je Frequenzwert bzw. die Streuung um mindestens ein Drittel geringer als bei normaler Haut.

Das Meßsystem ME<sub>dy</sub>S zeigte bei verhärteter, sklerotischer Haut und zusätzlich unter Anspannung der Muskulatur durchweg eine bessere Wiederholgenauigkeit.

### *Intra- und interindividueller Vergleich der dynS der Haut verschiedener Lokalisationen*

Erwartungsgemäß lagen interindividuell Unterschiede der dynS der Haut vor und auch intraindividuell variierte regional betragsmäßig die dynS .

### Intraindividueller Vergleich

Am Gesäß der weiblichen Probandin erbrachte die Untersuchung mit dem Meßsystem aufgrund der stark streuenden Meßwerte kein plausibles Meßergebnis. Der Vergleich aller übrigen Lokalisationen zeigte eine Abnahme des Betrages [mNm/°] und damit der Hautsteifigkeit von den oberen Extremitäten (Unterarm, volar), über Gesicht, untere Extremitäten (Oberschenkel, lateral), Rücken bis zum Bauch, wobei der jeweilige Amplitudengang im vorgegebenen Frequenzgang weitgehend sinusförmig verlief. Nur

an den Meßstellen Rücken und Bauch erhöhte sich die dynS im oberen Frequenzgang wieder ab 50 bzw. 60 Hz.

Die Meßareale der männlichen Haut wiesen eine Abnahme im Betrag der dynS von den unteren Extremitäten, über obere Extremitäten, Gesicht, Rücken, Bauch bis zum Gesäß auf. Ausschließlich die Messungen an Bauch und Gesäß zeigten eine Abweichung vom sinusförmigen Verlauf der Meßkurve, indem die Werte ab 50 Hz erneut zunahmen.

Bei den drei verschiedenen Körperregionen der Patientin mit Akrosklerodermie gab sich ein Unterschied im biomechanischen Verhalten zu erkennen. Die Haut der Extremitäten war deutlich steifer als die Gesichtshaut, wobei die Armhaut die höchste Steifigkeit aufwies.

### Interindividueller Vergleich

Der AUC-Wert des Betrages der dynS [ $\text{mNm}/^\circ$ ] markierte in Abgrenzung zum männlichen Probanden an allen Lokalisationsstellen für die Frau eine geringere Hautsteifigkeit. Besonders ausgeprägt war der Unterschied an den Oberschenkeln.

Der Vergleich der gesunden Haut im Gesicht und an den Extremitäten mit progressiver, systemischer Sklerodermie zeigte deutlich die für diese Erkrankung typische Verhärtung der Haut. Auffällig war besonders die im Vergleich zur gesunden Haut etwa dreimal höhere Steifigkeit der oberen Extremitäten. Die unteren Extremitäten wiesen im Vergleich zum männlichen Probanden eine etwa zweimal höhere, im Vergleich zur hautgesunden Frau eine dreimal höhere Steifigkeit auf. Des weiteren ließ sich auch für die sklerotische Gesichtshaut eine um fast 50% höhere Steifigkeit ausmachen.

## **II. Hautmessungen an Probanden mit konstitutionellen Hautveränderungen (Kollektiv 1)**

### **Deskriptive Statistik**

Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Minimum und Maximum für die Rohdaten sind berechnet und für die Gesichtsmessung in Tabelle 48 - 51 bzw. für die Volarmessung in Tabelle 52 - 55 im Appendix A dargestellt worden. Zusätzlich fand eine Flächenberechnung (AUC) der dynS nach Betrag [ $\text{mNm}/^\circ$ ] und Phase [ $^\circ$ ] statt (siehe Tabelle 56 bis 63, Appendix A).

Bei den Messungen mit dem Meßsystem MEdyS wiesen die Meßfelder einiger Probanden im Kollektiv 1 sehr unterschiedliche Werte auf, so daß die Originalwerte einer Ausreißeranalyse unterzogen wurden. Bei Vorkommen eines Ausreißers wurde dieser und nicht sämtliche Daten des Probanden aus der statistischen Analyse herausgenommen. Damit stand für die Mittelwertbildung pro Kollektiv und je Proband sowie Meßstelle (volar bzw. Gesicht) je drei Wiederholungsmessungen zur Verfügung. Der deskriptiven Statistik liegen die bereinigten Daten (nach Ausreißeranalyse) zugrunde.

Die Auswertung stützt sich auf folgende Daten:

<b>Kollektiv 1</b>			
<b>Hautzustand</b>		<b>Anzahl der Probanden</b>	
		Männer	Frauen
Normale Haut	(n = 21)	7	14
Sebostase	(n = 21)	12	9
Seborrhoe oleosa	(n = 18)	10	8
Seborrhoe sicca	(n = 27)	11	16
Atrophische Haut	(n = 29)	6	23

### DynS im Gesicht nach Betrag [mNm/°] und Phase [°]

#### **Normale Haut**

##### *Frauen*

Im Frequenzgang trat bei normaler Haut eine Abnahme der dynS von 0,19 [mNm/°] (Min. = 0,11, Max. = 0,29) bis 0,146 [mNm/°] (Min. = 0,03, Max. = 0,26) ein, wobei der Betrag erst deutlich ab 50 Hz abnahm. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,06 und 0,07 [mNm/°].

Die Phase [°] fiel von -15,24 [°] (Min. = -26,10, Max. = -9,70) auf -37,24 [°] (Min. = -62,50, Max. = -19,90) ab. Eine deutliche Änderung zeigte sich erst ab 50 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte im Gesicht lag zwischen 4 und 11 [°].

##### *Männer*

Der Betrag der dynS normaler Gesichtshaut fiel bei Männern von 0,146 [mNm/°] (Min. = 0,10, Max. = 0,19) bis 0,103 [mNm/°] (Min. = 0,04, Max. = 0,15). Ein deutlicher Abfall der dynS [mNm/°] ergab sich ab 50 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] variierte von -12,33 [°] (Min. = -15,40, Max. = -7,00) auf -35,29 [°] (Min. = -48,70, Max. = -30,00), wobei sich eine deutliche Veränderung ab 50 Hz zu erkennen gab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte im Gesicht lag zwischen 3 und 9 [°].

Die Flächenberechnung ergab bei Frauen einen AUC-Wert des Betrages von 11,58 (Min. = 4,89, Max. = 17,92) und der Phase von -1380,81 (Min. = -2150,20, Max. = -1095,05). Der AUC-Wert der Männer betrug 8,79 (Min. = 5,30, Max. = 11,72) für den Betrag und -1214,15 (Min. = -1494,05, Max. = -780,50) für die Phase.

## **Sebostase**

### *Frauen*

Die Meßfelder der Probanden mit Sebostase zeigten im Frequenzbereich eine mittlere Abnahme der dynS von 0,158 [mNm/°] (Min. = 0,10, Max. = 0,22) auf 0,121 [mNm/°] (Min. = 0,06, Max. = 0,21). Wie bereits in der Gruppe "normale Haut" beobachtet wurde, fielen auch hier die Werte im Frequenzgang erst ab etwa 50 Hz auffällig ab. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,05 und 0,06 [mNm/°].

Im Phasengang trat eine Veränderung von -11,60 [°] (Min. = -16,70, Max. = -5,20) auf -37,22 [°] (Min. = -49,90, Max. = -28,50) ein, abermals auffällig ab 50 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte im Gesicht lag zwischen 4 und 7 [°].

### *Männer*

Bei den männlichen Probanden fiel die mittlere dynS der Haut von 0,116 [mNm/°] (Min. = 0,06, Max. = 0,21) auf 0,063 [mNm/°] (Min. = 0,02, Max. = 0,15). Eine kontinuierliche Abnahme trat im Frequenzgang ab 30 Hz ein. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,04 und 0,05 [mNm/°].

Die Phase [°] änderte sich im Frequenzbereich von -14,03 [°] (Min. = -42,60, Max. = -5,60) auf -53,88 [°] (Min. = -80,00, Max. = -25,20) und deutlich ab 40 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte im Gesicht lag zwischen 10 und 15 [°].

Bei Sebostase ergab die Flächenberechnung unter der Kurve bei den weiblichen Probanden einen AUC-Wert von 10,19 (Min. = 5,89, Max. = 15,26) für den Betrag und von -1183,28 (Min. = -1589,75, Max. = -519,65) für die Phase. Im Vergleich dazu betrug der AUC-Wert der männlichen Gesichtshaut 6,43 (Min. = 3,22, Max. = 11,58) für den Betrag und -1710,19 (Min. = -3636,40, Max. = -862,90) für die Phase.

### **Seborrhoe sicca**

#### *Frauen*

Die gemittelten Werte bei Seborrhoe sicca wiesen initial eine mittlere dynS von 0,155 [mNm/°] (Min. = 0,09, Max. = 0,21) auf und fielen im Frequenzgang bis auf 0,107 [mNm/°] (Min. = 0,02 Max. = 0,17) ab. In Übereinstimmung mit den Hautzuständen normale Haut und Sebostase nahm die Hautsteifigkeit im oberen Frequenzbereich ab 50 Hz auffällig ab. Für die gemittelten Daten lag eine Standardabweichung zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°] vor.

Die Phase [°] fiel im Frequenzbereich von -12,93 [°] (Min. = -17,00, Max. = -6,20) auf -38,02 [°] (Min. = -65,20, Max. = -21,10) und deutlich ab 50 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 3 und 11 [°].

#### *Männer*

Bei den männlichen Probanden fiel die mittlere dynS bei Seborrhoe sicca von 0,139 [mNm/°] (Min. = 0,05, Max. = 0,25) auf 0,095 [mNm/°] (Min. = 0,02, Max. = 0,21). Eine kontinuierliche Abnahme trat im Frequenzgang ab 40 Hz ein. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,06 und 0,07 [mNm/°].

Die Phase [°] zeigte eine Änderung von -11,39 [°] (Min. = -22,90, Max. = -2,40) auf -46,15 [°] (Min. = -123,40, Max. = -19,20). Die Phasenwerte streuten extrem ab 50 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Meßwerte lag zwischen 5 und 29 [°].

Der AUC-Wert des Betrages der weiblichen Probanden betrug 9,35 (Min. = 4,14, Max. = 13,00) und der Phase -1305,51 (Min. = -1815,20, Max. = -949,95). Im Vergleich dazu lag der Betrag der männlichen Probanden mit *Seborrhoe sicca* bei 8,53 (Min. = 2,44, Max. = 16,87) und die Phase betrug hier -1425,37 (Min. = -3821,65, Max. = -942,60).

### **Seborrhoe oleosa**

#### *Frauen*

Die Meßfelder bei *Seborrhoe oleosa* zeigten im Frequenzgang einen Abfall der mittleren dynS von 0,198 [mNm/°] (Min. = 0,15, Max. = 0,27) bis auf 0,165 [mNm/°] (Min. = 0,10 Max. = 0,25). Eine deutliche Abnahme trat ab 60 Hz ein. Die Standardabweichung lag zwischen 0,04 und 0,07 [mNm/°].

Die mittleren Phasenwerte [°] veränderten sich im Frequenzgang verhältnismäßig kontinuierlich von -14,68 [°] (Min. = -25,40, Max. = -9,90) auf -30,10 [°] (Min. = -50,80, Max. = -21,10). Die Standardabweichung der gemittelten Meßwerte lag zwischen 5 und 11 [°].

#### *Männer*

Bei den männlichen Probanden mit ölig-fettiger Gesichtshaut nahm die mittlere dynS von 0,139 [mNm [mNm/°] (Min. = 0,08, Max. = 0,24) auf 0,101 [mNm/°] (Min. = 0,06, Max. = 0,20) ab, deutlich ab 40 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag bei 0,04 [mNm/°].

Die Phasenänderung gab sich ab 60 Hz besonders zu erkennen. Die Phase [°] variierte insgesamt von -11,79 [°] (Min. = -18,60, Max. = -6,50) bei 10 Hz bis -30,22 [°] (Min. = -50,10, Max. = -8,60) bei 70 Hz. Bei den Männern mit *Seborrhoe sicca* lag die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte zwischen 3 und 14 [°].

Der AUC-Wert der Flächenberechnung lag bei Frauen mit seborrhoischer Haut wie bei allen anderen Hautzuständen über dem der männlichen Probanden. Er betrug 12,85 (Min. = 8,67, Max. = 20,16) für den Betrag und -1348,84 (Min. = -2493,95, Max. = -949,95) für die Phase der dynS. Die Flächenberechnung bei Männern erbrachte für den Betrag einen Wert von 8,66 (Min. = 4,93, Max. = 14,97) und die Phase von -1136 (Min. = -1968,05, Max. = -683,50).

## **Atrophische Haut**

### *Frauen*

Die Altershaut wies die geringste Steifigkeit auf. Der Betrag fiel von 0,132 [mNm/°] (Min. = 0,050, Max. = 0,270) auf 0,078 [mNm/°] (Min. = 0,017, Max. = 0,26). Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,06 und 0,07 [mNm/°].

In der Phase [°] trat eine Veränderung von -23,62 [°] (Min. = -123,87, Max. = -3,95) auf -50,97 [°] (Min. = -141,95, Max. = -13,50) ein, wobei sich eine Unstetigkeitsstelle bei 50 Hz ergab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 9 und 41 [°] und war damit im Vergleich zu allen anderen Kollektiven außerordentlich groß.

### *Männer*

Der Betrag der dynS atrophischer Gesichtshaut fiel bei Männern von 0,114 [mNm/°] (Min. = 0,05, Max. = 0,15) auf 0,057 [mNm/°] (Min. = 0,03, Max. = 0,08). Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,02 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm im Gesicht von -11,94 [°] (Min. = -18,70, Max. = -9,00) auf -51,28 [°] (Min. = -106,20, Max. = -31,90) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 2 und 28 [°].

Im Gegensatz zu den anderen Hautkollektiven nahm die dynS [mNm/°] bei beiden Geschlechtern im Amplitudengang verhältnismäßig kontinuierlich ab 10 Hz ab. Indessen zeigte der Phasengang insbesondere bei der weiblichen Gesichtshaut erhebliche Streuungen und Schwankungen über den gesamten Frequenzgang.

Die weiblichen Probanden wiesen einen AUC-Wert des Betrages der dynS von 7,23 (Min. = 2,04, Max. = 17,32) und die Männer von 6,20 (Min. = 3,49, Max. = 8,27) auf. Der AUC-Wert der Phase betrug -1901,87 (Min. = -6265,68, Max. = -614,50) bzw. -1413,38 (Min. = -2569,40, Max. = -1010,23).

### DynS des rechten volaren Unterarms nach Betrag [mNm/°] und Phase [°]

## **Normale Haut**

### *Frauen*

Bei normaler Haut war im Frequenzgang eine verhältnismäßig kontinuierliche Abnahme der dynS von 0,141 [mNm/°] (Min. = 0,09, Max. = 0,20) auf 0,10 [mNm/°] (Min. = 0,030,

Max. = 0,16) zu beobachten. Die Standardabweichung der gemittelten Daten betrug 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm von -18,84 [°] (Min. = -33,10, Max. = -10,0) auf -48,18 [°] (Min. = -78,10, Max. = -36,60) ab. Im Phasengang gab sich deutlich eine Abnahme der Phase ab 50 Hz zu erkennen. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 7 und 12 [°].

### *Männer*

Der Betrag der dynS normaler Gesichtshaut fiel bei Männern von 0,121 [mNm/°] (Min. = 0,09, Max. = 0,14) auf 0,09 [mNm/°] (Min. = 0,05, Max. = 0,17). Ein deutlicher Abfall der dynS [mNm/°] stellte sich ab 50 Hz ein. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] fiel im Frequenzgang relativ kontinuierlich von -20,21 [°] (Min. = -36,50, Max. = -8,80) auf -53,57 [°] (Min. = -72,60, Max. = -37,60) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 9 und 15 [°].

Die Flächenberechnung ergab bei Frauen einen AUC-Wert des Betrages von 8,37 (Min. = 4,30, Max. = 12,51) und der Phase von -1854,65 (Min. = -2691,65, Max. = -1301,10). Der AUC-Wert der Männer betrug 7,39 (Min. = 4,77, Max. = 10,20) für den Betrag und -2043,89 (Min. = -2969,30, Max. = -1064,90) für die Phase.

## **Sebstase**

### *Frauen*

Im Amplitudengang zeigte sich ein relativ konstanter Betrag der dynS [mNm/°] bis 40 Hz. Über den gesamten Frequenzbereich nahm der Betrag von 0,157 [mNm/°] (Min. = 0,11, Max. = 0,19) auf 0,121 [mNm/°] (Min. = 0,10, Max. = 0,15) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,01 und 0,03 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm von -22,77 [°] (Min. = -37,80, Max. = -15,00) auf -46,30 [°] (Min. = -74,20, Max. = -35,30) ab. Volar lag die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte zwischen 7 und 12 [°].

### *Männer*

Bei den männlichen Probanden fiel die mittlere dynS der Unterarmhaut von 0,115 [mNm/°] (Min. = 0,07, Max. = 0,15) auf 0,071 [mNm/°] (Min. = 0,02, Max. = 0,11). Eine kontinuierliche Abnahme trat im Frequenzgang ab 30 Hz ein. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,02 und 0,03 [mNm/°].

Die Phasenwerte nahmen ab 50 Hz auffällig ab. Im vorgegebenen Frequenzgang fiel dabei die Phase [°] von -15,77 [°] (Min. = -38,0, Max. = -6,70) auf -52,80 [°] (Min. = -73,10, Max. = -37,95). Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte im Gesicht lag zwischen 8 und 12 [°].

Bei Sebstase ergab die Flächenberechnung unter der Kurve bei Frauen einen AUC-Wert von 9,46 (Min. = 8,34, Max. = 11,04) für den Betrag und von -2022,78 (Min. = -3314,55, Max. = -1412,50) für die Phase. Der AUC-Wert der männlichen Gesichtshaut betrug 6,65 (Min. = 3,43, Max. = 9,60) für den Betrag und -1710,61 (Min. = -3277,75, Max. = -1234,45) für die Phase.

## **Seborrhoe sicca**

### *Frauen*

Die gemittelten Werte bei Seborrhoe sicca wiesen initial eine mittlere dynS von 0,153 [mNm/°] (Min. = 0,10, Max. = 0,21) auf und fielen im Frequenzgang bis auf 0,109 [mNm/°] (Min. = 0,04, Max. = 0,18) ab. Bis 30 Hz blieb der mittlere Betrag relativ konstant, um dann kontinuierlich abzufallen. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] fiel im Frequenzbereich von -16,76 [°] (Min. = -36,70, Max. = -5,90) auf -42,99 [°] (Min. = -62,20, Max. = -31,60) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 6 bis 8 [°].

### *Männer*

Bei den männlichen Probanden fiel die mittlere dynS bei Seborrhoe sicca von 0,123 [mNm/°] (Min. = 0,09, Max. = 0,19) auf 0,075 [mNm/°] (Min. = 0,02, Max. = 0,14). Eine kontinuierliche Abnahme trat im Frequenzgang ab 30 Hz ein. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lagen zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm im Frequenzbereich von -12,62 [°] (Min. = -22,80, Max. = -6,20) auf -51,85 [°] (Min. = -69,80, Max. = -36,00) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 5 und 13 [°].

Der AUC-Wert des Betrages der weiblichen Probanden betrug 9,10 (Min. = 5,21, Max. = 13,40) und der Phase -1639,89 (Min. = -2948,05, Max. = -1091,20). Im Vergleich dazu lag der Betrag der männlichen Probanden mit *Seborrhoe sicca* bei 7,10 (Min. = 3,63, Max. = 11,66) und die Phase betrug hier -1587,88 (Min. = -2327,10, Max. = -1010,15).

### **Seborrhoe oleosa**

#### *Frauen*

Die volaren Meßfelder der weiblichen Probanden mit *Seborrhoe oleosa* zeigten im Frequenzgang einen Abfall der mittleren dynS von 0,143 [mNm/°] (Min. = 0,10, Max. = 0,16) bis auf 0,121 [mNm/°] (Min. = 0,07 Max. = 0,19). Eine kontinuierliche Abnahme des Betrages trat erst ab 30 Hz ein. Die Standardabweichung der gemittelten Beträge lag zwischen 0,02 und 0,04 [mNm/°].

Die mittleren Phasenwerte [°] nahmen von -23,16 [°] (Min. = -45,50, Max. = -10,20) auf -46,28 [°] (Min. = -64,90, Max. = -36,60) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Meßdaten lag zwischen 12 und 13 [°].

#### *Männer*

Bei den männlichen *Seborrhoikern* nahm die mittlere dynS der volaren Unterarme von 0,129 [mNm/°] (Min. = 0,09, Max. = 0,19) auf 0,105 [mNm/°] (Min. = 0,05, Max. = 0,16) ab, kontinuierlich ab etwa 40 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag bei 0,03 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm von -21,59 [°] (Min. = -40,90, Max. = -12,40) auf -51,98 [°] (Min. = -74,20, Max. = -36,00) ab. Im Phasengang ergab sich eine deutliche Veränderung der Phase ab 50 Hz zu erkennen. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 9 und 12 [°].

In dem Kollektiv der *Seborrhoiker* lag der AUC-Wert der Frauen bei 9,20 (Min. = 6,47, Max. = 10,64) für den Betrag und bei -1993,883 (Min. = -3296,60, Max. = -1180,20) für die Phase der dynS. Die Flächenberechnung bei Männern erbrachte für den Betrag

8,16 (Min. = 5,85, Max. = 12,08) und die Phase -2020,44 (Min. = -3367,40, Max. = -1484,15).

## **Atrophische Haut**

### *Frauen*

Das Kollektiv Altershaut wies erwartungsgemäß auch an den volaren Unterarmen die geringste Steifigkeit auf. Der Betrag nahm von 0,123 [mNm/°] (Min. = 0,075, Max. = 0,203) auf 0,08 [mNm/°] (Min. = 0,02, Max. = 0,19) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,04 und 0,05 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm bei den weiblichen Probanden von -18,26 [°] (Min. = -55,60, Max. = -6,90) auf -51,64 [°] (Min. = -77,00, Max. = -33,10) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 11 und 21 [°] und war damit im Vergleich zu allen anderen Kollektiven außerordentlich groß.

### *Männer*

Der Betrag der dynS fiel bei Männern von 0,108 [mNm/°] (Min. = 0,06, Max. = 0,15) auf 0,065 [mNm/°] (Min. = 0,015, Max. = 0,11). Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] nahm volar von -20,00 [°] (Min. = -40,75, Max. = -9,97) auf -54,19 [°] (Min. = -73,75, Max. = -34,40) ab. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 7 und 16 [°].

Die weiblichen Probanden mit atrophischer Haut wiesen volar einen AUC-Wert des Betrages der dynS von 7,14 (Min. = 3,41, Max. = 11,85) und die Männer von 6,21 (Min. = 2,59, Max. = 9,37) auf. Der AUC-Wert der Phase betrug bei den Frauen -1814,24 (Min. = -3925,85, Max. = -867,75) und -1833,41 (Min. = -2407,85, Max. = -1350,10) bei den Männern.

## Wilcoxon-Test

Es zeigte sich bei den für jeden Probanden und jedes Meßareal berechneten Daten im Kolmogoroff-Smirnoff Test, daß für die Rohdaten keine ausreichende Normalverteilung vorlag.

Zur Prüfung der Differenzen der AUC der dynS fand deshalb im Rahmen einer deskriptiv-explorativen Analyse der Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben Anwendung. Markierte Differenzen waren signifikant bei  $p < 0,05$  (explorativer zweiseitiger p-Wert). Die Ergebnisse des Wilcoxon-Test sind in den Tabellen 64 bis 72 im Appendix A dargestellt. Zur Auswertung der ME<sub>dy</sub>S-Messungen wurden die AUC-Werte der Phase [°] und des Betrages [mNm/°] der dynS getrennt betrachtet.

### Untergruppe Frauen

Es ergab sich anhand des Betrages der dynS [mNm/°] sowohl volar als auch im Gesicht ein **signifikanter Unterschied zwischen atrophischer Haut und**

- **Sebostase** (Gesicht:  $p = 0,040$ ; volar  $p = 0,029$ ) (siehe Tabelle 67);
- **Seborrhoe sicca** (Gesicht:  $p = 0,017$ ; volar:  $p = 0,029$ ) (siehe Tabelle 69);
- **Seborrhoe oleosa** (Gesicht:  $p = 0,004$ ; volar:  $p = 0,046$ ) (siehe Tabelle 71).

Entsprechend der ölig-fetten Haut, war auch die Differenz zwischen atrophischer Haut und **normaler Haut** im Gesicht hochsignifikant ( $p = 0,003$ ) (siehe Tabelle 72); allerdings lagen volar keine signifikanten Unterschiede vor ( $p = 0,240$ ) (siehe Tabelle 72). Alle weiteren Hautzustände wiesen ebenfalls keine signifikanten Differenzen in der Hautsteifigkeit auf.

Die Phasenmessung erbrachte volar für **Sebostase und Seborrhoe sicca** einen signifikanten Unterschied ( $p = 0,043$ ) (siehe Tabelle 64). Darüber hinaus wurden keine Differenzen im viskoelastischen Verhalten der Hautkollektive markiert.

### Untergruppe Männer

Die Analyse des Betrages der dynS [mNm/°] erbrachte weder für die Volar- noch die Gesichtsmessung signifikante Unterschiede zwischen den Kollektiven. Allerdings zeigte sich im Gesicht ein Trend für

- Sebestase und Seborrhoe oleosa (Gesicht:  $p = 0,052$ ) (siehe Tabelle 65);
- Sebestase und normale Haut (Gesicht:  $p = 0,069$ ) (siehe Tabelle 66);
- Seborrhoe oleosa und atrophische Haut  
(Gesicht:  $p = 0,074$ ) (siehe Tabelle 71).

Ein signifikanter Unterschied der Prüffelder zeigte sich bei den männlichen Probanden anhand der Phase [°] ausschließlich für das Gesicht. Hier bestanden **signifikante Unterschiede zwischen Sebestase und**

- **Seborrhoe sicca** (Gesicht:  $p = 0,011$ ) (siehe Tabelle 64);
- **normale Haut** (Gesicht:  $p = 0,025$ ) (siehe Tabelle 66).
- **Seborrhoe oleosa** (Gesicht:  $p = 0,005$ ) (siehe Tabelle 65)

Für alle weiteren Meßfelder bzw. Hautzustände lassen sich keine Unterschiede konstatieren.

### **Ergebniszusammenfassung der Hautmessungen im Kollektiv 1**

#### Frauen - Gesichtsmessung

Bei den weiblichen Probanden wies die ölige Form der Seborrhoe an allen Frequenzpunkten absolut den höchsten Betrag des dynS [mNm/°] auf. Die Flächenberechnung ergab hier einen AUC-Wert von 12,85, gefolgt von normaler Haut (AUC: 11,58), Sebestase (AUC: 10,19), Seborrhoe sicca (AUC: 9,35) und atrophischer Haut (AUC: 7,23).

Die Betrachtung des Amplitudenganges über den Frequenzbereich ließ erkennen, daß der Betrag in der Regel bei allen Hautzuständen deutlich ab 50 Hz abnahm. Einzige

Ausnahme stellte die atrophische Haut dar, bei der sich die Steifigkeit bereits ab 10 Hz kontinuierlich reduzierte. Die Abnahme der Steifigkeit im vorgegebenen Frequenzbereich war bei Seborrhoe oleosa am geringsten (0,033 [mNm/°]), gefolgt von Sebostase (0,037 [mNm/°]), normaler Haut (0,044 [mNm/°]) sowie Seborrhoe sicca (0,048 [mNm/°]). Sie war am größten bei Altershaut (0,054 [mNm/°]).

Trotz Ausreißeranalyse streuten die Meßwerte bei allen Hautzuständen; bei der fettigen Haut am geringsten (Seborrhoe sicca: 24%, Seborrhoe oleosa: 27%), bei normaler und trockener Haut in etwa der gleichen Größenordnung (35% bzw. 32%) und bei der Altershaut am stärksten (59%). Obgleich damit die mittlere Streuung der Meßdaten im Gesicht bei etwa 35 % unter Einbeziehung aller Hautzustände lag, wurden alle Hautzustände von der Altershaut abgegrenzt. Ein signifikanter Unterschied zwischen normaler Haut, Seborrhoe und Sebostase wurde nicht ausgewiesen.

Die Phasengänge der Seborrhoe und normalen Haut waren annähernd identisch und grenzten sich von trockener Haut ab. Signifikante Unterschiede der Phasenwerte bestanden zwischen den Hautzustands-Gruppen nicht.

Im Vergleich zum Betrag der dynS [mNm/°] lag für die Phase [°] eine 5 % (Gesicht) bis 20 % (volar) höhere Streuung vor. Im Gesicht streuten die Phasenwerte am geringsten bei Seborrhoe sicca (18%), gefolgt von normaler Haut (20%), Sebostase (26%) und Seborrhoe oleosa (38%). Bei der atrophischen Haut traten Streuungen in einer Größenordnung von 84% auf.

### Frauen - Volarmessung

Volar erbrachte die Messung die höchste Steifigkeit für die trockene Haut (AUC: 9,46), deren Werte sich geringfügig von der Seborrhoe oleosa (AUC: 9,20) oder Seborrhoe sicca (AUC: 9,10) unterschieden. Die normale und atrophische Haut (AUC: 8,37 bzw. 7,14) zeigten die geringste Hautsteifigkeit. Am Unterarm wurden entsprechend der Gesichtsmessung bis auf den signifikanten Unterschied zwischen atrophischer Haut und Sebostase bzw. Seborrhoe keine weiteren Differenzen zwischen den Hautzuständen gemessen.

Gemäß der Resultate der Gesichtsmessung, zeigte sich auch bei der Volarmessung erst im oberen Frequenzbereich eine deutliche Verringerung des Betrages. Über den gesamten Frequenzgang war sie bei Seborrhoe oleosa am geringsten (0,022 [mNm/°]),

gefolgt von Sebostase (0,036 [mNm/°]), normaler Haut (0,041 [mNm/°]), atrophischer Haut (0,043 [mNm/°]) und Seborrhoe sicca (0,044 [mNm/°]).

Auffällig war die geringe mittlere Streuung der Meßwerte des Betrages [mNm/°] bei Sebostase (11%), die von der Seborrhoe (oleosa: 18%; sicca: 27%), über die normale Haut (31%) bis zur Altershaut hin zunahm (36%). In Relation zur Gesichtsmessung streuten damit die Messungen volar um etwa ein Drittel weniger.

Die Phasenmessung am Unterarm erbrachte im Verhältnis zum Gesicht - abgesehen von der atrophischen Haut - größere Streuungen (Seborrhoe sicca: 27%; Seborrhoe oleosa: 40%; normale Haut: 25%; Sebostase: 28%; atrophische Haut: 37%). Die Flächenberechnung ergab volar tendentiell größere Unterschiede der AUC-Werte als im Gesicht, obgleich ein statistisch signifikanter Unterschied nur zwischen trockener Haut und Seborrhoe vorlag.

Die Resultate der Phasenmessung zeigten unabhängig des Hautzustandes eine geringere Viskoelastizität der Gesichtshaut im Vergleich zur Unterarmhaut. Einzige Ausnahme stellte die atrophische Haut dar.

### Männer - Gesichtsmessung

Die Messung im Gesicht erbrachte für die männlichen Probanden die höchste Steifigkeit für normale Haut (AUC: 8,79), gefolgt von den beiden Erscheinungsformen der Seborrhoe (AUC: oleosa: 8,66; sicca: 8,53) und Sebostase (AUC: 6,43). Wie bereits bei den weiblichen Probanden beobachtet, wies die atrophische Haut die geringste Steifigkeit auf (AUC: 6,20), die sich auch hier im Frequenzgang bereits ab 10 Hz kontinuierlich verringerte.

Für alle übrigen Hautzustände nahm der Betrag [mNm/°] auch frequenzabhängig, aber deutlich erst ab 40 Hz ab. Analog der Gesichtshaut bei Frauen zeigte sich die geringste Abnahme der Steifigkeit im gesamten Frequenzgang bei Seborrhoe oleosa (0,038 [mNm/°]) und die größte bei Altershaut (0,057 [mNm/°]). Dazwischen lagen die Hautzustände normale Haut (0,043 [mNm/°]), Seborrhoe sicca (0,044 [mNm/°]) und Sebostase (0,053 [mNm/°]).

Die Meßwerte streuten bei Seborrhoe oleosa (30%), normaler Haut (30%) und atrophischer Haut (31%) in der gleichen Größenordnung. Hingegen war die mittlere Streuung bei Sebostase (39%) und Seborrhoe sicca (40%) außerordentlich hoch.

Unter Einbeziehung aller Hautgruppen betrug die mittlere Streuung des Betrages über 35 %. Die Prüfung der Differenzen der AUC der dynS ergab keine signifikanten Unterschiede im Gesicht. Es zeichnete sich allerdings ein Trend für Sebestase und Seborrhoe oleosa, Sebestase und normale Haut, sowie für Seborrhoe oleosa und atrophische Haut ab.

Die Phasenmessung erbrachte die größte Diskrepanz zwischen trockener Haut und allen übrigen Hautzuständen. Die Prüfung der Differenzen der AUC der Phasenwerte ergab signifikante Unterschiede zwischen Sebestase und normaler Haut sowie Sebestase und Seborrhoe sicca. Auffällig war die schlechte Wiederholgenauigkeit der Messungen im Kollektiv Seborrhoe sicca (57%), atrophische Haut (41%) und Sebestase (42%) im Vergleich zur normalen Haut (20%) oder Seborrhoe oleosa (32%). Im Gesicht streute die Phase in Relation zum Betrag der dynS [ $\text{mNm}/^\circ$ ] insgesamt betrachtet aber nur geringfügig mehr (weniger als 5%).

#### Männer - Volarmessung

Die Volarmessung erbrachte die höchste Steifigkeit für die Seborrhoe oleosa (AUC: 8,16), gefolgt von normaler Haut (AUC: 7,39), Seborrhoe sicca (AUC: 7,10), trockener (AUC: 6,65) und atrophischer Haut (AUC: 6,21).

Eine Abnahme des Betrages setzte wie im Gesicht erst in der zweiten Hälfte des vorgegebenen Frequenzbereiches ein. Sie war abermals am geringstem bei Seborrhoe oleosa (0,024  $\text{mNm}/^\circ$ ), gefolgt von normaler Haut (0,031 [ $\text{mNm}/^\circ$ ]), atrophischer Haut (0,043 [ $\text{mNm}/^\circ$ ]), Sebestase (0,044 [ $\text{mNm}/^\circ$ ]) und Seborrhoe sicca (0,048 [ $\text{mNm}/^\circ$ ]).

Die mittlere Streuung der Meßwerte des Betrages der dynS [ $\text{mNm}/^\circ$ ] war bei Seborrhoe oleosa (23%), normaler Haut (24%) und Sebestase (25%) geringer als bei Seborrhoe sicca (35%) oder Altershaut (39%). Mit diesem Ergebnis waren im Verhältnis zur Gesichtsmessung volar die Reproduzierbarkeit der Messungen um ein Fünftel besser, aber die Unterschiede zwischen den Hautzustands-Gruppen nicht signifikant.

Volar lagen bei Seborrhoe oleosa und normaler Haut annähernd gleiche Phasenwerte vor, die sich von den übrigen Hautzuständen abhoben. Entsprechend des Amplitudenganges der dynS konnten volar keine Unterschiede zwischen den Hautzuständen konstatiert werden.

Die mittlere Streuung der Phase entsprach etwa der der Messung im Gesicht. Sie betrug bei Seborrhoe sicca und atrophischer Haut 22%, bei Seborrhoe oleosa 30%, normaler Haut 32% und bei Sebostase 33%.

Bis auf die Sebostase waren bei allen Hautzuständen die Phasenwerte am rechten Unterarm höher als im Gesicht.

*Zusammenfassend bleibt festzuhalten, daß in der Regel bei allen hautgesunden Probanden (im Gesicht sowie volar) mit zunehmender Frequenz der mittlere Betrag [mNm/°] bzw. die mittlere Phase [°] der dynS abnahm - deutlich ab 40 Hz (Männer) bzw. 50 Hz (Frauen) -, die Streuung größer und folglich die Reproduzierbarkeit der Messungen im oberen Frequenzbereich schlechter wurde.*

*Die mittlere Streuung der dynS war sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern volar tendentiell geringer als im Gesicht. In Korrelation zu den Hautzuständen ließ sich die geringste Streuung des Betrages der dynS in der Regel bei Seborrhoe oleosa und die stärkste bei Altershaut feststellen. Hinsichtlich der Phasenwerte lagen bei beiden Geschlechtern ebenfalls die größten Streuungen für atrophische Haut und die geringsten bei Seborrhoe sicca (Untergruppe Frauen) bzw. Seborrhoe oleosa (Untergruppe Männer) vor.*

*In jeder Hautzustands-Gruppe wies die weibliche Haut eine höhere Steifigkeit als die männliche Haut auf, sowohl volar als auch im Gesicht.*

*Im intraindividuellen Vergleich zeigte sich bei den Frauen bei allen Hautzuständen eine höhere Steifigkeit der sonnenexponierten Haut des Gesichtes im Verhältnis zur volaren Unterarmhaut, wobei die Differenz bei der Altershaut minimal war. Das gleiche Ergebnis konnte bei den männlichen Probanden beobachtet werden. Einzige Ausnahme stellte hier die Sebostase dar, indem volar eine geringfügig höhere dynS vorlag.*

*Unabhängig des Geschlechts wies die Altershaut am Körper und im Gesicht absolut betrachtet die geringste Steifigkeit auf. Zusätzlich setzte im vorgegebenen Frequenzbereich die atrophische Gesichtshaut der Verdrehbeanspruchung am*

wenigsten Widerstand entgegen, so daß sich der Betrag im Vergleich zu allen anderen Hautbildern am stärksten verringerte. Bei beiden Geschlechtern wurde die größte Hautsteifigkeit für die normale Haut bzw. die ölige Erscheinungsform der Seborrhoe festgestellt, wobei die Hautstruktur letztgenannter der aufgeprägten Spannung den meisten Widerstand entgegensetzte.

Anzumerken bleibt, daß man wegen des explorativen Charakters der Untersuchung und der vielen Tests nicht auf kausale Zusammenhänge schließen kann. Allerdings scheint die dynS eine biomechanische Beurteilungsgröße für die Materialeigenschaft gesunder Haut zu sein, die es gestattet das Geschlecht (männlich/ weiblich) korrekt zu klassifizieren und Differenzen zwischen einigen Hautzustands-Gruppen aufzudecken. Eine Diskriminierung im Gesicht liefert bessere Resultate als volar.

### III. Hautmessungen an Probanden mit pathologischen Hautbefunden (Kollektiv 2)

#### Deskriptive Statistik

Grundlage für die statistische Auswertung waren die Meßwerte der Patienten *bei Eintritt in die Kur*.

Die Auswertung stützt sich auf folgende Daten:

<b>Kollektiv 2</b>	
<b>Hauterkrankung</b>	<b>Anzahl der Patienten</b>
Akne vulgaris	13
Psoriasis vulgaris	13
Atopisches Ekzem	16
Polym. Lichtdermatose	9

Die Meßdaten der Probanden 153, 165, 168, 215 und 217 sind aus der Auswertung herausgenommen worden, da die Stichprobe dieses sehr unterschiedlich

zusammengesetzten Krankheitskollektivs (Sammelbegriff "Sonstige Patienten") für die statistische Auswertung zu klein war (siehe Appendix A).

Entsprechend der Meßergebnisse im vorangegangenen Kollektiv 1, wiesen die Meßfelder verschiedener Patienten des Kollektivs 2 stark schwankende Meßwerte auf, so daß die Originalwerte abermals einer Ausreißeranalyse unterzogen wurden. Bei Vorkommen eines Ausreißers wurde dieser und nicht sämtliche Daten des Probanden aus der Analyse herausgenommen. Damit stand für die Mittelwertbildung pro Gruppe und je Proband eine unterschiedliche Anzahl von Wiederholungsmessungen zur Verfügung.

Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Minimum und Maximum für die Rohdaten sind berechnet und in Tabelle 76 für den Amplitudengang sowie in Tabelle 77 für den Phasengang der dynS dargestellt worden. Die Flächenberechnung (AUC) der dynS nach Betrag [ $\text{mNm}/^\circ$ ] und Phase [ $^\circ$ ] ist Tabelle 78 bzw. 79 zu entnehmen (siehe Appendix A).

Der deskriptiven Statistik liegen die bereinigten Daten (nach Ausreißeranalyse) zugrunde.

#### DynS der jeweiligen Erkrankung nach Betrag [ $\text{mNm}/^\circ$ ] und Phase [ $^\circ$ ]

Die Prädilektionsstellen verschiedener Hauterkrankungen zeigten initial unterschiedliche Meßwerte, die im vorgegebenen Frequenzgang ungleich stark abfielen (siehe Tabelle 76 und 77).

#### **Akne vulgaris**

Bei den Probanden mit Akne vulgaris nahm die dynS im Frequenzgang von 0,162 [ $\text{mNm}/^\circ$ ] (Min. = 0,077, Max. = 0,283) auf 0,119 [ $\text{mNm}/^\circ$ ] (Min. = 0,05, Max. = 0,247) ab. Ein deutlicher Abfall ergab sich im Frequenzgang ab 40 Hz. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,06 und 0,07 [ $\text{mNm}/^\circ$ ].

Die Phase [°] änderte sich von -12,77 [°] (Min. = -17,20, Max. = -9,25) auf -35,67 [°] (Min. = -53,60, Max. = -22,10). Hier lag die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte zwischen 2 und 11 [°].

Die Flächenberechnung ergab einen AUC-Wert des Betrages [mNm/°] von 10,09 (Min. = 5,30, Max. = 18,26) und für die Phase [°] von -1292,42 (Min. = -1841,25, Max. = -1008,57).

### **Psoriasis vulgaris**

Die Meßfelder mit ausgeprägten psoriatischen Läsionen zeigten im Frequenzgang einen Abfall der dynS von 0,14 [mNm/°] (Min. = 0,06, Max. = 0,237) auf 0,092 [mNm/°] (Min. = 0,02, Max. = 0,167). Wie bei Akne fiel die dynS [mNm/°] im Frequenzgang erst ab etwa 40 Hz auffällig ab. Die Standardabweichung der gemittelten Daten lag zwischen 0,05 bis 0,06 [mNm/°].

Im Phasengang trat eine mittlere Änderung von -24,52 [°] (Min. = -49,60, Max. = -6,90) auf -55,80 [°] (Min. = -80,60; Max. = -31,37) ein. Die Standardabweichung der gemittelten Phasenwerte lag zwischen 13 und 18 [°].

Bei psoriatischen Läsionen wurde ein AUC-Wert des Betrages von 8,18 (Min. = 2,46, Max. = 13,97) und der Phase [°] von -2324,29 (Min. = -4112,25, Max. = -1124,55) ermittelt.

### **Atopisches Ekzem**

Die gemittelten Werte bei atopischem Ekzem wiesen initial eine mittlere dynS von 0,122 [mNm/°] (Min. = 0,072, Max. = 0,167) auf und fielen im Frequenzgang bis auf 0,061 [mNm/°] (Min. = 0,023, Max. = 0,097) ab. Im Vergleich zu den Kollektiven Akne und Psoriasis setzte der kontinuierliche Abfall der dynS bereits ab 30 Hz ein, und zwar pro 10 Hz-Schritt um etwa 0,01 [mNm/°]. Bei den gemittelten Daten lag die Standardabweichung zwischen 0,02 und 0,03 [mNm/°].

Die Phase variierte von -22,00 [°] (Min. = -33,74, Max. = -8,63) bei 10 Hz bis -58,75 [°] (Min. = -77,26, Max. = -41,13) bei 70 Hz. Die Standardabweichung lag zwischen 8 und 10 [°].

Die Flächenberechnung ergab bei atopischem Ekzem einen AUC-Wert des Betrages von 6,66 (Min. = 3,41, Max. = 9,25) und der Phase von -2199,17 (Min. = -3013,56, Max. = -1251,90).

### **Polymorphe Lichtdermatose**

Bei den Hautarealen mit polymorpher Lichtdermatose nahm die mittlere dynS von 0,109 [mNm/°] (Min. = 0,048, Max. = 0,165) auf 0,054 [mNm/°] (Min. = 0,022 Max. = 0,125) ab. Ab 50 Hz verringerte sich der Betrag stärker als im unteren Frequenzgang. Die Standardabweichung lag zwischen 0,03 und 0,04 [mNm/°].

Die Phase [°] zeigte im gesamten Frequenzbereich eine Veränderung von -12,65 [°] (Min. = -19,63, Max. = -7,80) auf -47,75 [°] (Min. = -54,67, Max. = -27,60) und die Standardabweichung lag zwischen 4 und 8 [°].

In der Flächenberechnung wurde der im Vergleich zu allen anderen Hautbefunden geringste Betrag der dynS [mNm/°] ermittelt. Er betrug 6,01 [mNm/°] (Min. = 2,55, Max. = 10,45). Der AUC-Wert der Phase [°] lag bei -1498,08 [°] (Min. = -1947,52, Max. = -1186,40).

### **Wilcoxon-Test**

Für die deskriptiv-explorative Untersuchung fand zur Prüfung der Differenzen der dynS in Betrag und Phase sowie der AUC der dynS der Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben Anwendung. Die Ergebnisse des Wilcoxon-Test sind in Tabelle 80 bis 85 bzw. zum Vergleich der AUC in Tabelle 86 bis 91 dargestellt. Markierte Differenzen waren signifikant bei  $p < 0,001$  bzw.  $p < 0,0083$ .

Es zeigte sich anhand des Betrages der dynS [mNm/°] kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Hauterkrankungen (siehe Tabelle 80 bis 85).

Die Phasenwerte ließen ausschließlich einen hochsignifikanten Unterschied zwischen Patienten mit Akne vulgaris und atopischem Ekzem erkennen (siehe Tabelle 81). Signifikante Differenzen lagen hier an allen Frequenzschritten vor. Der Vergleich der AUC-Werte (siehe Tabelle 86 bis 91) erbrachte einen signifikanten Unterschied der Phase zwischen

- **Akne vulgaris und Psoriasis vulgaris** ( $p = 0,00059$ ) (siehe Tabelle 86);
- **Akne vulgaris und atopischem Ekzem** ( $p = 0,00007$ ) (siehe Tabelle 87);
- **Atopischem Ekzem und polymorpher Lichtdermatose**  
( $p = 0,00138$ ) (siehe Tabelle 91).

Darüber hinaus lagen keine signifikanten Differenzen vor.

## **Ergebniszusammenfassung der Hautmessungen im Kollektiv 2**

Der Verlauf des Amplitudenganges gab zu erkennen, daß sich der Betrag der dynS [mNm/°] sowohl bei flächigen Läsionen (Psoriasis, atopisches Ekzem) als auch bei punktförmigen Effloreszenzen (polymorphe Lichtdermatose, Akne) in der Regel erst deutlich im oberen Frequenzbereich reduzierte. Die Hautsteifigkeit nahm bei Akne vulgaris am geringsten ab (0,043 [mNm/°]), gefolgt von Psoriasis vulgaris (0,048 [mNm/°]) und polymorpher Lichtdermatose (0,055 [mNm/°]). Sie war am größten bei atopischem Ekzem (0,061 [mNm/°]). Betragsmäßig nahm bei allen Hautbefunden die Streuung mit zunehmender Frequenz zu. Der Betrag streute bei Akne vulgaris und Psoriasis vulgaris vergleichsweise stärker (42 bzw. 46%) als bei polymorpher Lichtdermatose (37%) oder atopischem Ekzem (23%).

Die Akne vulgaris wies an allen Frequenzpunkten absolut betrachtet die höchste Steifigkeit auf. Die Flächenberechnung des Amplitudenganges der dynS [mNm/°] ergab für dieses Hautbild den höchsten Meßwert (AUC: 10,09), gefolgt von Psoriasis vulgaris (AUC: 8,18), atopischem Ekzem (AUC: 6,66) und polymorpher Lichtdermatose (AUC: 6,01). Mit diesen Resultaten zeigten sich für die unterschiedlichen Hautbefunde bestimmte Charakteristika, wobei die viskoelastischen Hauteigenschaften von polymorpher Lichtdermatose und Akne vulgaris am stärksten voneinander abwichen. Die anschließende Prüfung der Differenzen im Amplitudengang erbrachte allerdings keine signifikanten Unterschiede im biomechanischen Verhalten der verschiedenen Hauterkrankungen.

In Relation zum Betrag streuten die mittleren Phasenwerte [°] weniger stark (Psoriasis: 39%, atopisches Ekzem: 25%; Akne sowie Lichtdermatose: 20%). Die Phase fiel bei

allen untersuchten Erkrankungen auffällig ab ca. 40 Hz ab, und zwar bis 70 Hz um etwa 20 [°]. Anhand der Veränderung der gemittelten Meßwerte im Frequenzgang ergab sich bei atopischem Ekzem und polymorphe Lichtdermatose der stärkste Abfall der Phase (-36,75 bzw. -35,1 [°]), gefolgt von Psoriasis (-31,28 [°]) und Akne (-22,9 [°]). Unter Betrachtung der AUC- sowie der Phasenwerte [°] der jeweiligen Frequenzschritte wiesen Akne und polymorphe Lichtdermatose ähnliche Meßwerte auf. Psoriasis und atopisches Ekzem zeigten anhand der Phase ebenfalls ähnliche Eigenschaften im biomechanischen Verhalten.

*Vor dem Hintergrund der unter 5.2.7.3 dargelegten unerwünschten Ereignisse im Kollektiv 2 und dem daraus resultierenden vorzeitigen Abbruch der Untersuchung, werden die statistisch signifikanten Differenzen zwischen einigen Hauterkrankungen (Akne vulgaris und Psoriasis vulgaris sowie atopischem Ekzem; atopischem Ekzem und polymorpher Lichtdermatose) unter 5.3 nicht weiter diskutiert.*

## **5.3. Diskussion der Ergebnisse**

### 5.3.1 Reproduzierbarkeit

Die experimentelle Erprobung des frequenzabhängigen Verfahrens MEdyS machte deutlich, daß die Quantifizierung der dynS nur bedingt reproduzierbare Systemparameter liefert. Insbesondere die Phasenmessung erbrachte hohe Streuungen und in vielen Fällen kein plausibles Meßergebnis. An einigen Meßstellen (vgl. Bauch, Gesäß) traten Standardabweichungen in einer Größenordnung auf, die höher als der Unterschied zwischen den erhobenen Meßdaten waren. Die Diskrepanzen waren im Verhältnis zur hohen Streuung minimal. Trotz der Reparatur des Gerätes unter Behebung eines systematischen Phasenfehlers (194), der gleich zu Beginn der Voruntersuchung auftrat (siehe 5.2.7.4: Wiederholungsmessungen an Probanden unterschiedlichen Geschlechts an verschiedenen Körperstellen), sind die Meßergebnisse des MEdyS nur eingeschränkt auswertbar.

Ankopplungsprobleme des Meßsensors waren immer wieder dann gegeben, wenn die unterliegende Hautfläche ungleichmäßig (vgl. Messungen auf der Stirn oder auf

hyperkeratotischen Läsionen) oder verhältnismäßig weich war (vgl. Streuung der Meßwerte bei Altershaut oder an den Lokalisationen Bauch und Gesäß). Die Meßgenauigkeit des Gerätes erwies sich damit abhängig von der Festigkeit und/ oder Ebenmäßigkeit der zu messenden Unterlage. Die vorliegenden Resultate stützen die Untersuchungen Kohrs (45), der bereits auf die fünf bis sieben mal bessere Wiederholgenauigkeit bei Messungen an künstlichen viskoelastischen Materialien mit schwammähnlicher Struktur (Moos-, Schaumgummi) im Vergleich zur gesunden menschlichen Haut sowie auf die vergleichsweise schlechtere Reproduzierbarkeit der Phase [°] hinwies.

Aus der praktischen Anwendung des Meßverfahrens in vivo lassen sich nunmehr verschiedene Aspekte als mögliche Ursachen für seine mangelhafte Objektivität und Validität anführen.

Ursächlich ist zum einen der Durchmesser des Meßkopfes, bei dem für eine korrekte Auflage des äußeren Halteringes (Durchmesser 10 mm) ein verhältnismäßig großes und planes Hautareal vonnöten ist. In vielen Fällen hatte der Haltering auf dem Prüffeld (beispielsweise Ellenbogen, Stirn) keinen durchgängigen Hautkontakt. Die Messungen verwackelten und räumlich begrenzte Hautareale ließen sich mit dem Meßsystem nicht untersuchen. Der lediglich partielle Hautkontakt bewirkt eine nicht reproduzierbare bzw. meßbare Reduktion des Torsionsquerschnittes, vereinfacht ausgedrückt also des Radius der Zylinderquerschnittsfläche. Dieser geht aber in die Winkelrichtgröße in der 4. Potenz ein.

$$\text{Dillwinkel } \mathbf{j} = \frac{2l}{\rho \mathbf{Gr}^4} \mathbf{M}$$

Damit liegen völlig andere Kraftverhältnisse vor.

Durch den relativ großen Abstand zwischen Verdrehstempel und Haltering und damit der Weite des Hautkreises ist - den Ausführungen von Agache (74), Escoffier (6), sowie Barbenels und Paynes (139) zufolge -, weder eine Einbeziehung umliegender Haut auszuschließen, noch kann der Einfluß der Subcutis auf die Hautmessung kontrolliert werden. Um gezielt die biomechanischen Eigenschaften der oberen Hautschichten

unter Torsion zu evaluieren, sollte nach heutigen Kenntnissen der Abstand zwischen rotierender Scheibe und äußerem Haltering so gering wie möglich sein (Both et al., 1998 (23), Challoner et al., 1997 (144); Ennen et al., 1995 (61)). Selbst bei einem Abstand von 1 mm wird ein erheblicher Anteil der Dermis "beansprucht" (195).

Das hohe Eigengewicht (8,9 N) des Meßkopfes des ME<sub>dy</sub>S verursachte zudem einen rechtwinkligen Druck auf die Hautoberfläche, welcher eine sichtbare Indentation des Meßareals unter Sensor induzierte. Der Eindruck des Gerätes zur Fixierung von ca. 0,5 mm betrifft bereits das 5fache des Epidermisdurchmessers. Die Messungen haben in dieser Hinsicht (Vorspannung, Meßtiefe) bereits einen systematischen Fehler. Insbesondere bei verminderter Hautspannung, d.h. bei einer "nachgiebigen" Haut mit schlechtem Tonus (beispielsweise Altershaut) besteht immer die Gefahr einer unkontrollierbaren Beeinflussung der Hautmechanik bzw. der Meßergebnisse (139).

Ein weiteres, sich unmittelbar aus der Gerätekonstruktion ergebendes Problem, das sich auf die Wiederholgenauigkeit der Messungen auswirkte, war die Standardisierung des Auflagedruckes durch die relativ schlechte Handhabung des Meßkopfes. Seine manuelle Führung beeinflusste durch schwer zu kontrollierende Effekte wie geringfügiges Wackeln den Meßvorgang und vor allem die Reproduzierbarkeit erheblich.

Hinsichtlich des Meßprinzips ist zu bemerken, daß das Verfahren die dynS nur anhand von Drehmoment- und Phasenmaximalwerten ermittelt (statt den tatsächlichen Momenten- und Phasenverlauf in Abhängigkeit von der Verdrehfrequenz), wobei aus technologischen Gründen zusätzlich einige gravierende systematische (Meß-) Fehlerquellen in Kauf genommen wurden (196). Ein wesentlicher Nachteil ist, daß der Meßkopf während des Meßzyklus ein Lagesignal an die *externe* Lageregelung sendet, die den Motor entsprechend ansteuert (196). Darüber hinaus erwies sich die von Kohr (45) ausgewählte Beschichtung des Halteringes sowie des Meßsensors mit Quarzstaub für Hautmessungen als ungeeignet, da es mit zunehmender Frequenz zu einer verhältnismäßig starken mechanischen Beanspruchung der Haut kam. Insbesondere Probanden mit vorgeschädigter Haut (siehe Kollektiv 2) empfanden die Untersuchung als schmerzhaft. Bei der Patientin mit Akrosklerodermie und anderen Probanden kam es regelrecht zu einem "Brennschmerz". Weder eine Reizung nozizeptiver Rezeptoren

noch die Gefahr eines KÖbner-Phänomens bei Psoriasis vulgaris (197, 198) (siehe Abbildung 34) oder die Induzierung von Mikroverletzungen kann damit ausgeschlossen werden. Aus diesen Gründen läßt sich das Gerät in seiner jetzigen Konstruktion bei bestimmten Krankheitsbildern nicht einsetzen.

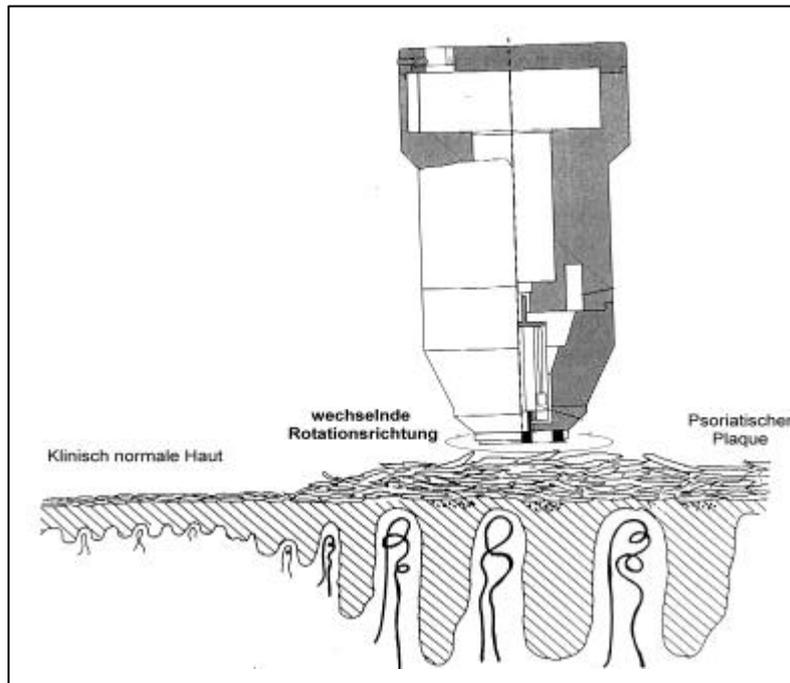


Abb.34: Schematische Darstellung der Auflage des Meßsystems MEdyS auf einem psoriatischen Plaque. Durch die raue Stempelbeschriftung ist ein isomorpher Reizeffekt nicht auszuschließen. Neue Krankheitsherde entstehen an den Stellen, die gereizt werden (KÖbner-Phänomen).

### 5.3.2 Trennschärfe des Gerätes - Änderung der Systemparameter mit den Hautmerkmalen

Die biomechanischen Werte der Humanhaut hängen neben den anatomischen Gegebenheiten (7, 10, 11, 58, 104, 111, 120, 114, 134, 199), auch vom Geschlecht (2, 130, 158, 162) und dem Hautbefund (104, 127, 145, 190, 191) ab (siehe Kapitel 4.1). Der unterschiedliche Aufbau der Humanhaut an den einzelnen Körperstellen wurde mehrfach beschrieben (200). Dementsprechend wurde erwartet, daß die Ergebnisse aus Torsionsmessungen an der Stirn anders ausfallen als an lichtgeschützten Körperstellen oder solchen mit ausgeprägtem Unterhautfettgewebe. Eine gesunde

normale Haut muß sich beispielsweise von einer xerotischen oder öligen Haut abgrenzen lassen.

Wegen der vielen Tests und des explorativen Charakters dieser Untersuchung kann nicht auf kausale Zusammenhänge geschlossen werden. Die hohe Variabilität der Meßmethode gestattet keine hinreichend sichere Evaluierung von intra- oder interindividuellen Unterschieden im viskoelastischen Verhalten. Demzufolge können die diskriminierenden Fähigkeiten des neuen Torsionsgerätes nur unter Vorbehalt beurteilt werden und es sind die detektierten Unterschiede zu relativieren.

### Intraindividuelle Unterschiede

Obgleich der Probleme, die sich aus der technischen Konstruktion ergeben und der unzureichenden Standardisierung des Meßsystems, scheint der Parameter dynS zumindest vom Ansatz her eine vielversprechende Beurteilungsgröße zu sein, um beispielsweise intraindividuell regional variierende biomechanische Materialeigenschaften zu erfassen.

Es ließen sich intraindividuelle Unterschiede der Viskoelastizität zwischen lichtexponierter und -geschützter Haut mit dem MEdyS aufzeigen (siehe Kollektiv 1). Bei den weiblichen Probanden war die Haut des Gesichtes steifer als die des volaren Unterarmes. Dieses Resultat entspricht den Elongationstests von Malm et al., 1990 (120). Ausgenommen bei Sebestatikern war auch bei den männlichen Probanden die Gesichtshaut tendentiell steifer. Der Einfluß der UV-Strahlung auf die dermalen Komponenten des Bindegewebes gab sich ebenfalls anhand der Phase [°] zu erkennen, die für die sonnenexponierte Haut eine Abnahme der Viskoelastizität unter Verminderung viskoser Anteile anzeigte. Dieses Ergebnis bestätigt die Ergebnisse von Habig et al., 1996 (125).

Hinreichend ist durch die Untersuchungen mit verschiedenen Saugmethoden (vgl. Cua et al. 1990 (58); Elsner et al. 1990 (7); Malm et al. 1990 (120); Van den Eynde 1990 (10); Van Wonterghem 1991 (11); Nishimura et al. 1992 (104); Gniadecka et al. 1994 (129); Malm et al. 1995 (134) und Barel et al. 1995 (111)) belegt worden, daß die biomechanischen Hauteigenschaften von der anatomischen Lage abhängen.

Übereinstimmend gehen die Autoren davon aus, daß viskoelastische Differenzen Unterschiede in der Struktur der papillären und retikulären Dermis reflektieren. Auch mit dem geprüften Meßsystem ME<sub>dy</sub>S wurden intraindividuell Differenzen in den biomechanischen Materialeigenschaften verschiedener anatomischer Regionen aufgedeckt. Für Bauch und Gesäß wurde die geringste, und für die Extremitäten die größte Hautsteifigkeit ermittelt. Analog der Resultate oben genannter Untersuchungen war die Haut in den akralen Regionen (u.a. Unterarme) weniger ausdehnbar bzw. steifer und unelastischer als die Haut in mehr proximal gelegenen Regionen (Oberschenkel, Oberarme, Rumpf). Es grenzte sich die Hautmechanik der Gesäß- und Bauchhaut auffällig von den übrigen Lokalisationen ab. Die vergleichsweise deutlich verzögerte Hautantwort deutet auf eine geschmeidigere, weichere Haut hin, deren dämpfende Komponenten vermutlich Energie dissipieren.

#### Interindividuelle Unterschiede der dynS zwischen gesunder Haut und einer Bindegewebserkrankung (Sklerodermie)

Entsprechend dem Design der Untersuchung von Kalis et al., 1990 (145), der die progressiv systemische Sklerodermie ebenfalls mit einer Torsionsmethode untersuchte, ist in der vorliegenden Prüfung die Patientin mit einer gesunden Kontrollperson gleichen Alters und Geschlechts verglichen worden. Obgleich die Aussagekraft dieser Untersuchung bei  $n = 1$  begrenzt ist, deckt sich das Meßergebnis mit den Resultaten von Saug- (Serup et al., 1985 (127); Enomoto et al., 1995 (104)) sowie Torsionsmethoden (Kalis et al., 1990 (145)). Das biomechanische Verhalten der Akrosklerodermie grenzte sich erwartungsgemäß von dem gesunder Haut ab: Gesicht und Extremitäten zeigten eine höhere Steifigkeit, geringere Verformbarkeit und Viskoelastizität. Die für die Akrosklerose typische Verringerung viskoser Flüssigkeitsanteile und Erhöhung der dermalen Federsteifigkeit gab sich zu erkennen. Mit fortschreitendem Stadium der Erkrankung ist der Koeffizient der Reibung zwischen den dermalen Fasern bei aufgeprägter Verformung oder angelegter Spannung erhöht, was nach Piérard-Franchimont und Lapière (177) das physikalische Phänomen der *Plastizität* aufzeigt und spezifisch für die Akrosklerose ist. Diese Trägheit, die bei der Mobilisierung der Haut unter Torsion gefunden wurde, findet eine Erklärung in der Verminderung der Kohäsion der Fasern während der Hautverdrehung. Bevor die

Faserbündel mobilisiert werden, müssen erst interfazikuläre Friktionskräfte überwunden werden.

Die Rigidität der sklerodermischen Haut läßt sich grundsätzlich auf drei Faktoren zurückführen: die Neubildung von Fasern, ihre erhöhte Kohäsion und ihre parallele Neuausrichtung an der kutanen Oberfläche (177). Charakteristisch für das Krankheitsbild der progressiven systemischen Sklerodermie des akralen Typs ist die Erkrankung des gefäßführenden Bindegewebes mit Entwicklung einer diffusen Sklerose der Haut und der inneren Organe mit begleitendem Raynaud-Syndrom. Bei letztgenannten handelt es sich um anfallsartige Gefäßspasmen mit der typischen Abfolge der drei Stadien von schmerzhafter Ischämie, lokaler Zyanose und arterieller Hyperämie. Bekannt ist von der Systemsklerose, daß die Fibroblasten eine wesentlich höhere DNS-Synthese- und Kollagensyntheserate aufweisen als solche von normaler Haut. Das bei Sklerodermiepatienten synthetisierte Kollagen ist zudem von anderer Zusammensetzung als bei Normalpersonen. Histopathologisch sind Frühveränderungen ein dichtes, vorwiegend lymphozytäres entzündliches Infiltrat, das die Gefäße des oberflächlichen und tiefen Plexus umgibt, eine ödematöse Verquellung der Kollagenfaserbündel und oft eine septale Pannikulitis mit Lymphozyten, Plasmazellen und Eosinophilen. Aus diesem entzündlichen Stadium entwickelt sich das sklerotische Stadium, in dem sich das dermale Bindegewebe auf Kosten des subkutanen Fettgewebes ausbreitet. Die Entzündungszellen verschwinden, Fibroblasten sind nur noch spärlich zwischen den meist parallel zur Hautoberfläche angeordneten homogenisierten und verbreiterten Kollagenfasern nachweisbar. Die Gefäße werden zu Schlitzfenstern verengt, die Adnexe atrophisch. Elektronenmikroskopisch findet man die regionale Neubildung kollagener Fibrillen mit einer Verringerung des durchschnittlichen Fibrillendurchmessers und einer erhöhten Variationsbreite ihrer Dicke bei ansonsten normaler Feinstruktur. An den kleinen Gefäßen werden Endothelverdickungen und Fenestrationsöffnungen, ferner Verdickungen der Basalmembran beschrieben. Die elastischen Fasern sind entweder zwischen zwei benachbarten Bündeln von Kollagenfasern verankert oder am Rande desselben Bündels. Im letzten Fall ist die Ausrichtung der elastischen Fasern und der Kollagenfasern orthogonal; die elastischen Fasern verlieren somit ihre Funktion. Gleich welcher Art sie sind, die meisten Fasern und Bündel der

Dermis sind gespannt und bei der Akrosklerodermie parallel zur Hautoberfläche angeordnet (176, 177, 201).

Neben den interindividuellen Diskrepanzen im biomechanischen Verhalten zwischen gesunder und sklerotisch veränderter Haut decken sich die mit dem MEdyS erfaßten intraindividuellen Unterschiede verschiedener Befallsstellen (Gesicht und Extremitäten) mit dem Resultat von Enomoto et al., 1995 (104), die das Cutometer<sup>®</sup> einsetzten.

### Interindividuelle Unterschiede der dynS zwischen verschiedenen Hautbefunden sowie Geschlechtern

Ogleich der Streubreite der dynS und der generellen Problematik interindividueller Vergleiche, erlaubten es die rheologischen Werte zumindest in der Untergruppe Frauen die atrophische Gesichtshaut (Durchschnittsalter > 60 Jahre) von jüngerer Haut mit dem Hautstatus normal, trocken und fettig (Durchschnittsalter 23 bis 33 Jahre) abzugrenzen. Die atrophische Haut zeigte die geringste Hautsteifigkeit und die größte Spannungsrelaxation. Sie hielt im Vergleich zur gesunden Haut Jüngerer der aufgeprägten Spannung am wenigsten Widerstand entgegen. Dieses Resultat geht konform mit den Untersuchungsergebnissen von Fazio et al., 1989 (94); Balin et al., 1989 (95); Berardesca et al., 1991 (131); Lévêque et al., 1980 (60), Lévêque et al., 1984 (132) sowie Takema et al., 1994 (122) und läßt sich auf die bekannten intrinsichen und extrinsichen Altersveränderungen der Dermis zurückführen (siehe Kap. 3.2).

Eine mögliche Erklärung für die fehlende Diskrepanz im biomechanischen Verhalten zwischen sonnengeschützter oder exponierter Haut männlicher Probanden mit dem Alter könnte die je Hautzustandsgruppe höhere Streuung der Meßwerte sein. Ob hier die Unterschiede zwischen trockener und fettiger sowie normaler Haut zufällig sind, bleibt offen.

Daß bei beiden Geschlechtern neben der normalen Haut (Durchschnittsalter 26 Jahre) die ölig-fettige Gesichtshaut (Durchschnittsalter 32,5 Jahre) im Vergleich zu allen anderen konstitutionellen Hautveränderungen die größte Steifigkeit sowie Eigenspannung aufwies, erklärt sich durch die Hautmerkmale. Die Talgproduktion ist in

den talgdrüsenreichen Arealen des Gesichtes (u.a. Stirn) über die Norm gesteigert und die Feuchtigkeitsproduktion erhöht. Die Haut ist relativ dick, verfügt über einen guten Tonus sowie Turgor und weist - analog der normalen, jungen Haut - eine im Gegensatz zur Sebostase oder Seborrhoe sicca bessere Plastizität auf (176, 202). Unter biomechanischen Gesichtspunkten ist durch den erhöhten Öl- und Wasseranteil von einer geringeren inneren Reibung der Hautelemente auszugehen, was sich in der Diskrepanz der Phasenwerte im Vergleich zur sebostatischen Haut zu erkennen gab.

Im Gegensatz zu einigen biomechanischen Messungen mit einer Saugmethode (Grahame et al., 1969 (130); Escoffière et al. 1989 (6); Piérard et al., 1989 (1); Elsner et al., 1990 (7)) erbrachte die vorliegende Untersuchung mit 71 Frauen und 47 Männern signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede im biomechanischen Verhalten der gesunden Haut. Hier liegt eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Lévêque et al., 1980 (60) (Torsionsmethode), Agache et al., 1980 (99) (Torsionsmethode), (Cua et al., 1990 (58) (Saugmethode) und Piérard et al., 1995 (2) (Saugmethode) vor.

Wurde zunächst bei den Wiederholungsmessungen gleichaltriger, hautgesunder Probanden ( $n = 2$ ) für verschiedene anatomische Regionen (Beine, Arme, Gesicht, Bauch und Rücken) eine geringere Steifigkeit [ $\text{mNm}^\circ$ ] sowie eine größere Phasenverschiebung [ $^\circ$ ], d.h. eine verzögerte Hautantwort bei der weiblichen Probandin festgestellt, erbrachte schließlich die nachfolgende Volar- und Gesichtsmessung im Kollektiv 1 ( $n = 116$ ) für beide Lokalisationen - unabhängig des Hautzustandes - eine höhere Steifigkeit der weiblichen Haut. Zu diesem Ergebnis kamen bereits Lévêque et al. und Agache et al., 1980 (60, 99), welche die biomechanischen Hauteigenschaften ebenfalls unter Torsion evaluierten. Der Vergleich des Phasenganges demonstrierte eine höhere Viskosität bzw. Viskoelastizität der weiblichen Haut, wobei geschlechtsspezifische Unterschiede volar geringer als im Gesicht waren. Es läßt sich durch die Fehlerhaftigkeit des Meßsystems nicht klären, ob es sich hier um einen Zufallseffekt, oder tatsächlich um die Erfassung strukturimmanenter Differenzen im dermalen Bindegewebe handelt. Für letzteres sprechen folgende Aspekte:

- Durch den relativ großen Abstand zwischen Haltering und Verdrehstempel der Meßapparatur MEdyS ist davon auszugehen, daß die twistometrische Messung nicht auf Epidermis und oberes Corium beschränkt bleibt. Folglich nehmen bindegewebige Strukturmerkmale des Stratum reticulare und der Subcutis einen unbestimmten Einfluß auf das Meßergebnis (6, 74, 138, 139).
- Auch die intraindividuellen Unterschiede im biomechanischen Verhalten der Haut differenter Körperregionen reflektieren in erster Linie Differenzen in der Struktur der papillären und retikulären Dermis.
- Zeigt das Meßsystem die beste Reproduzierbarkeit bei einer Sklerotisierung des Bindegewebes und nimmt selbst der Kontraktionsgrad bzw. Tonus der Muskulatur einen Einfluß auf die Messung (vgl. Meßergebnis unter willkürlicher Anspannung der Beinmuskulatur), werden verschiedene tieferliegende Gewebeschichten einbezogen und beeinflussen damit unweigerlich das Resultat der Messung (32, 58, 106).
- Differenzen im biomechanischen Verhalten zwischen lichtexponierter und -geschützter Haut, atrophischer und junger Haut sowie (der unter Vorbehalt aussagefähigen Unterschiede (siehe 5.2.7.3)) zwischen Akne und Psoriasis bzw. atopischem Ekzem und polymorpher Lichtdermatose reflektieren Strukturveränderungen, die hauptsächlich das Bindegewebe betreffen, und bestätigen den prädominierende Einfluß der Dermis auf die Messung mit dem MEdyS.

Perspektivisch empfiehlt sich für die Weiterentwicklung bzw. Verbesserung des Meßsystems

- den Durchmesser des Meßkopfes, den Abstand zwischen äußerem Haltering und Verdrehstempel sowie das Eigengewicht des Meßkopfes zu verringern;
- den tatsächlichen Momenten- und Phasenverlauf in Abhängigkeit von der Verdrehfrequenz zu messen;
- die Lageregelung im Meßkopf zu integrieren;
- das Antriebsprinzip und den Meßaufnehmer zu überarbeiten;
- die Anzahl der Verdrehungen pro Zeiteinheit, d.h. die maximale Verdrehfrequenz von momentan 75 Hz zu erhöhen;
- die Signalauflösung und -genauigkeit zu verbessern, d.h. die Phase (gegenwärtig  $0,09^\circ$ ) in geringerem Maße aufzulösen, den maximalen Phasenfehler (aktuell  $17^\circ$ ) zu

verringern und die maximale Amplitudenauflösung (bisher 7,5 Bit einschließlich aller Fehler) zu erhöhen.

*Zum gegenwärtigen Entwicklungszeitpunkt ist der Prototyp MEdyS nicht geeignet, um zwischen Hautmerkmalen verschiedener Befunde ausreichend sicher zu diskriminieren. Da primär die Situation des Bindegewebes, aber nicht die der Epidermis bzw. des SC erfaßt wird, erscheint es im Widerspruch zu der Arbeit Kohrs (45) nicht möglich, "die dynS als biomechanische Beurteilungsgröße für eine transdermale Diffusion von Liposomen" heranziehen zu können. Folglich läßt sich das geprüfte Meßsystem nicht in die klinische Studie bzw. kosmetische Wirksamkeitsprüfung einbeziehen.*

## 6 Liposomenstudie

### 6.1 Theoretischer Teil

#### 6.1.1 Einleitung

Liposomen können auf eine über 25jährige Entwicklungsgeschichte zurückblicken, in deren Anfängen zunächst das Bemühen um parenteral verabreichbare Formen lebenswichtiger Arzneimittel stand. In den letzten Jahren kam ein weiterer wissenschaftlicher Schwerpunkt der Liposomenforschung hinzu: *Die Interaktion von Liposomen mit der Haut*. Aufbau und Funktion der Liposomen sind der Natur nachempfunden. In diesem Zusammenhang sind besonders zwei interessante Analogien hervorzuheben: *Der Aufbau von Biomembranen und der der epidermalen Lipidbarriere der Haut*.

Alle biologischen Membranen des menschlichen Körpers bestehen aus einer Doppelschicht von Phospholipiden (PL) und Cholesterol, in die Proteine eingebaut sind und die durch nicht-kovalente Interaktionen in einem Lipid Bilayer zusammengehalten werden (203). Eine solche Anordnung von Lipiden besitzt große Stabilität, weil sie infolge der Eliminierung der Berührungsflächen zwischen Kohlenwasserstoffketten und Wassermolekülen einen minimalen Energiegehalt hat (204). Die Anordnung in einer Doppelschicht führt immer zu einer räumlichen Trennung von polaren und unpolaren Gruppen der Lipidmoleküle. Die polaren Kopfgruppen assoziieren sowohl miteinander als auch mit der angrenzenden wässrigen Phase. Die hydrophoben Anteile werden vom Wasser ausgeschlossen und assoziieren ebenfalls miteinander. Auch die Anordnung der Membranproteine folgt diesem Strukturprinzip, indem die polaren Segmente in Kontakt mit der wässrigen Phase stehen und die unpolaren Segmente in der Grenze zu den Lipidketten angeordnet sind. Zum Verständnis der Interaktion von Liposomen mit der Haut ist es wichtig, daß eine Plasmamembran keine passive Barriere darstellt, sondern als ein hoher selektiver Filter fungiert, der gleiche Konzentrationen ionischer Ladungen innerhalb und außerhalb des Zellmilieus sicherstellt (203) und den Ein- bzw. Austritt chemischer Stoffe gestattet.

Die Schichten der Epidermis reflektieren verschiedene Stadien der Differenzierung von Keratinozyten. Im Stratum basale neu gebildete Zellen migrieren durch verschiedene Schichten, wobei dieser Prozeß durch eine kontinuierliche Änderung ihrer biochemischen und morphologischen Eigenschaften gekennzeichnet ist. Aktive Keratinozyten enden schließlich als „tote“ Corneozyten im SC, komplett eingebettet in einer Matrix aus dicht gepackten, rigiden Lipidstrukturen mit geringer Fluidität (205). Die epidermalen Lipide werden in den Zellen des Stratum granulosum synthetisiert, wo sie zunächst noch mit einer Membran versehen sind. Nach Wanderung der Vesikel an den Zellrand und Vereinigung ihrer Hüllmembran mit der Zellmembran werden die Lipide extrazellulär abgelegt. Außerhalb des Zellraumes lagern sie sich zu einer vielschichtigen lamellaren Schicht aneinander, die als epidermale Permeabilitätsbarriere dient. An der Bildung dieser Lipidgrenze sind PL, Glykoceramide, Cholesterol und seine Ester wesentlich beteiligt (206). Parallel zur Zelldifferenzierung ändert sich auch die extrazelluläre Lipidkomposition, wobei es zur graduellen Abnahme des PL-Gehaltes und zunehmender Anreicherung von Ceramiden, Cholesterol und gesättigten freien Fettsäuren vom Stratum basale aufwärts kommt (205).

Auffällig an allen diesen Strukturen ist, daß stets ein lipophiler einem hydrophilen Anteil im Molekül gegenübersteht. Werden diese Substanzen ins Wasser gegeben, bilden sich darin ein- oder vielschichtige kugelförmige Vesikel, die Liposomen.

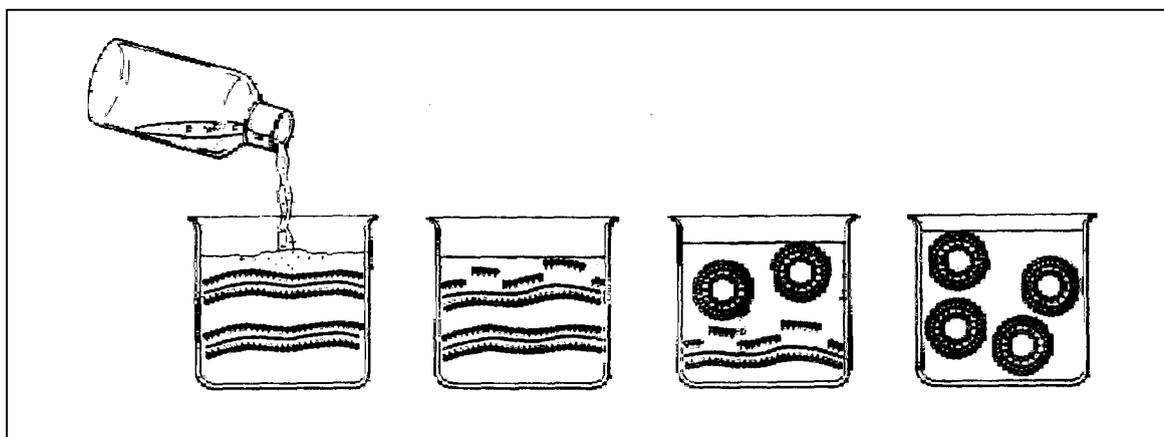


Abb.35: Spontane Bildung von Liposomen unter Zusatz von Wasser zu komplexen Phospholipiden; entnommen aus Citernesi et al. (203).

Verfeinerte physikalische, biochemische und histologische Methoden ermöglichen detailliertere Einblicke in die Ultrastruktur und den Stoffwechsel der Haut, im Speziellen der Epidermis, so daß diese Ergebnisse - gepaart mit Daten aus experimentellen klinischen Untersuchungen über dermal applizierte Liposomen - die kosmetischen Effekte von Liposomensystemen transparenter machen.

In den letzten Jahren wurde deutlich, daß neben den unbeladenen, aus Soja-Phosphatidylcholin formulierten Systemen, insbesondere mit *hydrophilen* Aktivstoffen beladene Liposomen kosmetisch wertvolle Formulierungen für Hautpflegeprodukte darstellen (43, 207), zumal die Lipidbarriere der Epidermis eine Penetration wasserlöslicher Wirkstoffe in nennenswertem Umfang nicht zuläßt (205). Die Eigenschaften der inkorporierten Wirkstoffe spielen für die Diffusion keine Rolle, da die Eindringtiefe und der Zielort des Vehikels offensichtlich nur durch die physikalischen Eigenschaften der Liposomenhülle bestimmt werden (207, 208).

## **6.1.2 Aufbau kosmetikrelevanter Transportvehikel**

### **6.1.2.1 Liposome**

Liposome (griech. liposoma: Fettkörperchen) wurden unter kontrollierten Bedingungen erstmals von Bangham in den Jahren 1961-1967 zur Untersuchung der Struktur und der Funktion von Biomembranen hergestellt (209 - 211). Der Begriff „Liposom“ wurde aber erst einige Jahre später von Sessa und Weissmann geprägt (212). Das 1974 angemeldete und 1976 erteilte US-Patent 3957971 war das Signal, über Liposome als neue Darreichungsform und Wirkprinzip für Hautpflegeprodukte zu diskutieren. 1986 ist schließlich das erste liposomale Kosmetikum eingeführt worden, und seit der ersten Kommerzialisierung von zwei weiteren Hautpflegeprodukten im Jahre 1987 sind Liposomen in immer größerem Maßstab hergestellt und international vertrieben worden.

Liposome sind verabredungsgemäß eine aus amphiphilen PL bestehende ein- oder mehrschichtige Hohlraumkugel (208, 213), deren Lipide sich mit ihren lipophilen Fettsäureketten in einer oder mehreren Lipiddoppelschichten (Lamellen) zusammenlagern. Die hydrophilen Teile sind auf die äußere wässrige Phase sowie auf

den Hohlkugellinnenraum gerichtet (208, 213 - 215) und gewährleisten nach außen hin die Wasserlöslichkeit. Durch ihren Aufbau können Liposome sowohl lipophile, hydrophile als auch amphiphile Substanzen aufnehmen und sind in dieser Hinsicht mit Emulsionen vergleichbar. Die Größe von Liposomen wird mit 25 bis 10.000 nm angegeben, wobei ihre Größe, Größenverteilung und Lamellarität im Wesentlichen von dem zur Anwendung kommenden Herstellungsverfahren abhängen (216) (siehe Kap. 6.1.5).

Die PL können natürlichen, halbsynthetischen und synthetischen Ursprungs sein (siehe Abbildung 36):

- Phosphatidylcholin (PC, ladungsneutral),
- Phosphatidylethanolamin (PE, ladungsneutral),
- Phosphatidylinosit (PI, negativ),
- Phosphatidylserin (PS negativ),
- Phosphatidsäure (PA, negativ).

Entsprechend ihrer Fettsäurebesetzung können die PL ungesättigt, teilhydriert oder hydriert sein (217). Die Hauptkomponente ist meistens Phosphatidylcholin (PC). Veresterte PC mit Öl- oder Linolsäure sind Lecithine, wobei PC den polaren zwitterionischen Molekülteil bildet (217, 218). Nach den Rohstoffressourcen unterscheidet man Lecithin zunächst nach tierischer oder pflanzlicher Herkunft (siehe Tabelle 29). Als Material tierischen Ursprungs kommt praktisch nur Ei in Frage. Pflanzliche Quellen sind u.a. Getreide, Baumwollsamensamen, Rapssamen und Sonnenblumenkerne (216). Die am Weltmarkt größte Bedeutung hat Sojalecithin, und zwar sowohl im Vergleich zu anderen Pflanzenlecithinen als auch zu Eilecithin (216).

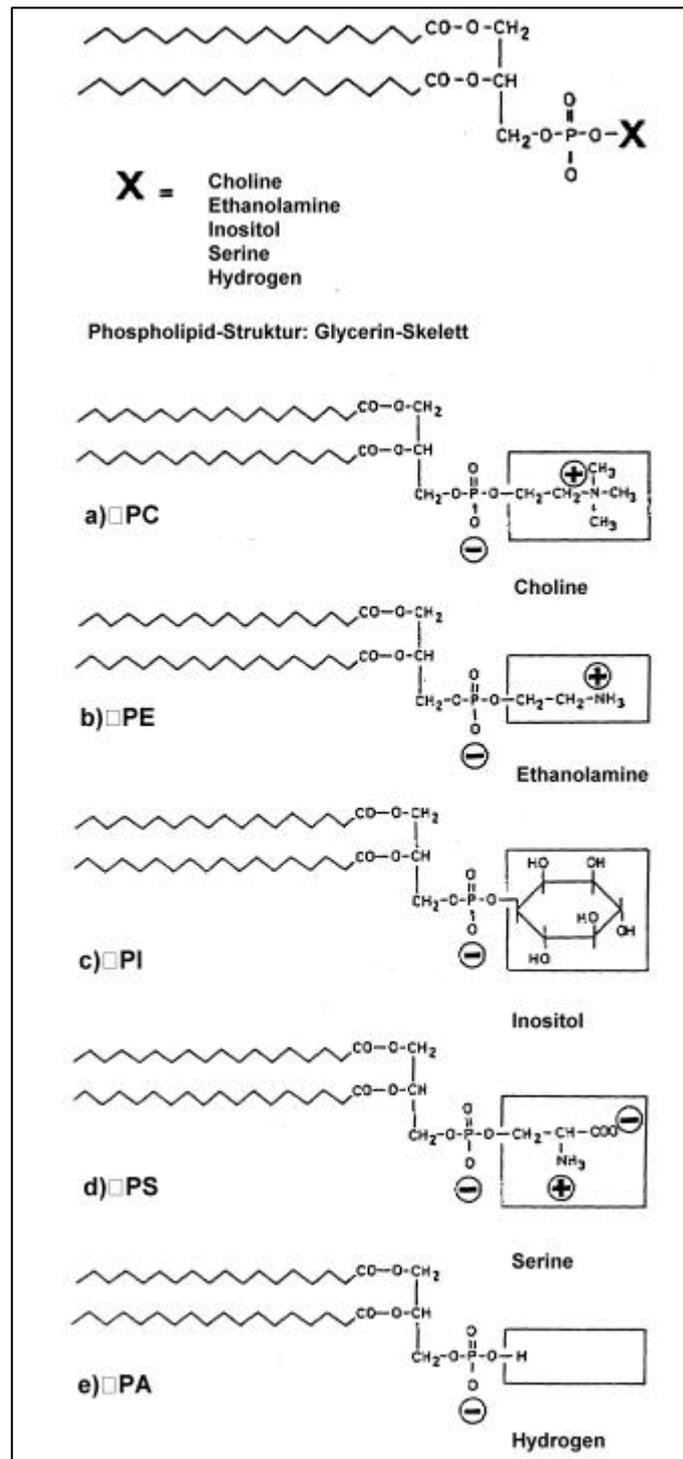


Abb.36: Phospholipid-Strukturen der fünf wichtigsten Substituenten mit Ladungsverteilung:

Phosphatidylcholin (PC, ladungsneutral); Phosphatidylethanolamin (PE, ladungsneutral); Phosphatidylinositol (PI, negativ); Phosphatidylserin (PS negativ); Phosphatidsäure (PA, negativ); entnommen Billek (219).

Tab.29: Zusammensetzung von kommerziellem Sojal- und Eilecithin [Gew. % ]; entnommen aus Wendel (220).

Zusammensetzung	Sojalecithin	Eilecithin
Phosphatidylcholin	10 - 15	65 - 70
Phosphatidylethanolamin	9 - 12	9 - 13
Phosphatidylserin	1 - 2	
Phosphatisäure	2 - 3	
Lysophosphatidylcholin	1 - 2	2 - 4
Lysophosphatidylethanolamin	1 - 2	2 - 4
Phytoglycolipide	4 - 7	
Phytosterine	0,5 - 2,0	
Andere phosphorhaltige Lipide	5 - 8	
Sphingomyelin		2 - 3
Saccharose	2 - 3	
Freie Fettsäuren	max. 1	max. 1
Mono-, Diglyceride	max. 1	Spuren
Wasser	max. 1,5	max. 1,5
Triglyceride	ca. 35 - 40	10 - 15

### 6.1.2.2 Sphingosome

Im Gegensatz zu den Liposomen ist das Hüllmaterial der Sphingosomen aus Sphingolipiden aufgebaut (207), die sich nicht wie die PL vom Glycerin, sondern vom Sphingosin, einem C<sub>18</sub>-Amino-Alkohol oder Sphingosin-Derivaten (z.B. Phytosphingosin) ableiten (221). Während Sphingosin charakteristischer Bestandteil der Säugetierlipide ist, bildet Phytosphingosin das Grundgerüst für pflanzliche Sphingolipide. Der zweite Baustein, die Fettsäuren, sind über die Aminogruppe als Amide gebunden. Diese einfachen Sphingolipide werden als Ceramide bezeichnet (221). Werden die Ceramide über eine Hydroxylgruppe durch O-glykosidische Bindung mit Zucker verknüpft, entstehen die Cerebroside. Bei Verknüpfung einer Hydroxylgruppe mit Phosphatidylcholin bildet sich Sphingomyelin (217, 222). Aufgrund des Phosphatidylanteils der Sphingomyeline gehören sie zu den PL (223). Häufig

eingesetzt werden Sphingosome in Hautpflegemittel für sebostatische und seborrhoische Hautzustände (221).

### 6.1.2.3 Niosome

Der Begriff „Niosome“ ist patentrechtlich geschützt und beschreibt aus synthetischen nichtionogenen Tensiden gebildete Vesikel (207, 224), die gewissermaßen einen Spezialfall der Liposomen darstellen (207). Sie werden von Junginger et al. (217) als nichtionogene *Surfactant Vesikel* bezeichnet. Niosome können aufgebaut sein aus:

- Polyoxyethylenalkylether (224),
- Polyoxyethylenalkylester,
- Glycosyldialkylether (225),
- Carbonsäurediester der Saccharose (226) oder
- Polyglycerolalkylether (224, 227).

Letztgenannte sind linear oder verzweigt und erweisen sich als inert gegenüber hydrolytischen Einflüssen. Die Ether sind nach Hofland et al. (217) stabiler als die Ester, haben jedoch ein höheres Irritationspotential auf die Haut. Die Saccharosediester bilden je nach Kettenlänge der Carbonsäure Vesikel mit einer mittleren Teilchengröße von 290-1080 nm (226). Niosomen können nach Handjani-Vila et al. (224) das SC mit Wasser versorgen, einer trockenen Haut vorbeugen und gewährleisten den Transport verschiedener Substanzen in die Hornschicht.

### 6.1.2.4 Nanopartikel

Die Hülle von Nanopartikeln, die auch als Nanosomen, Nanoparts, Nanobodies, Nanos, Nanofutures und Nanospheres bezeichnet werden, besteht aus Sphingolipiden, PL oder Ceramiden. Sie stellen gewissermaßen die Umkehr der Liposomen dar, da sie spontan eine wasserlösliche Membran bilden und einen lipophilen Inhalt einzuschließen vermögen. Die Beladungskapazität mit Ölen und öllöslichen Stoffen, wie beispielsweise Vitamin A,D,E,K, Nachtkerzen- oder Weizenkeimöl, ist nach Brunke et al. (207) um ein Vielfaches höher als bei den Membranen der Liposomen (etwa 30fach). Hervorgehoben

wird als Vorteil der Nanopartikel u.a. die Beladung mit UV-Filtern bei waschfesten Sonnenschutzprodukten, die Verlängerung der Entzündungsdämpfung durch Depotwirkung mit Bisabolol sowie die Beladungsmöglichkeit mit Hydrochinonderivaten bei Bleichcremes (207).

### 6.1.3 Charakterisierung von Liposomen

Die Stabilität und die Qualität von Liposomendispersionen werden anhand verschiedener chemisch-physikalischer Parameter charakterisiert (204, 228 - 233):

- mittlere Teilchengröße,
- Zahl der Bilayermembranen,
- chemische Zusammensetzung,
- Homogenität der Liposomenformulierung,
- Membranfluidität (Gel- oder Fluid-State),
- Oberflächenladung (elektrischer Status der Vesikeloberfläche),
- Vorhandensein nicht-liposomaler Partikel.

Für die Charakterisierung von Liposomen sind ihre Größe (48), Lamellarität und die Homogenität der Formulierung die aufschlußreichsten Parameter (233). Sie stellen nach Schramlova et al. (48) und Röding (228) auch das zentrale Problem dar, da sie entscheidenden Einfluß auf die Penetrations- und Permeationskinetik bei topischer Anwendung nehmen. Alle Parameter erweisen sich von der Art der Membranbausteine sowie der Herstellung abhängig, oder werden durch zusätzliche Beladung beeinflusst (228 - 231).

#### *Größe und Anzahl der Bilayermembranen*

Entsprechend der Anzahl der Bilayermembranen werden Liposomen in unilamelläre (ULV) und multilamelläre Vesikel (MLV) differenziert (234, 235), die unterschiedliche Größe haben können.

MLV bilden sich bereits durch manuelles Schütteln von Lecithin in Wasser. Bei ihnen sind mehrere Doppelschichten konzentrisch durch wasserhaltige Zwischenräume zwiebelschalenartig getrennt (204, 236). Jede Doppelschicht trägt ca. 5-7 nm und die

dazwischenliegende Wasserschicht etwa 2 nm zum Radius bei (237). Daneben existieren als Unterform der MLVs sogenannte oligolamelläre (OLV) und multilamelläre Vesikel (MVV) (204, 218). Es handelt sich um mehrere kleine Liposomen, die von einer gemeinsamen Membran umgeben sind (228). Bei Behandlung solcher MLV-Suspensionen mit Ultraschall erhält man eine Verkleinerung der Strukturen bis zur Bildung der einschichtigen Vesikel mit Durchmessern von ca. 50 nm, für die die Bezeichnung SUV (small unilamellar vesicles) gebräuchlich ist (204, 232). Werden mehrschichtige Vesikel durch Milliporfilter gepreßt, können größere einschichtige Vesikel einheitlicher Größe, sogenannte LUV (large unilamellar vesicles) erhalten werden. Die Bezeichnung Liposome wird für diese Systeme einheitlich als Sammelbegriff verwendet (siehe Tabelle 30).

Die Unterscheidung in SUV, LUV und MLV ist nach Rimpler (206) für die Qualitätsprüfung zwar aufwendig, doch für ihren kosmetischen Einsatz wichtig. Es hat sich ein für die Kosmetik interessanter Bereich einer Durchschnittsgröße der Liposome von 100 bis 400 nm herauskristallisiert, wobei man zusätzlich von einem *idealen Feinbereich* von 100-200 nm sprechen kann (208). Je weiter man sich an die untere Grenze dieser Größenordnung annähert, desto wichtiger wird die Frage der Unbedenklichkeit mittransportierter Wirkstoffe im Falle eines Übergangs in die Blutbahn. Liposome sollten, um in die Haut eindringen zu können, nicht größer als 400 nm sein, wobei die Eindringtiefe allerdings von weiteren Faktoren abhängig ist (208).

### *Chemische Zusammensetzung*

Für das Membranmaterial bzw. die chemische Zusammensetzung hat sich für die Kosmetik die Verwendung pflanzlicher PL als besonders wertvoll herauskristallisiert (216), da diese den höchsten Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere Linol- und Linolensäure aufweisen (206), was die Bilayermembran der Liposome relativ fluide und verformbar macht (216, 233). Ein Linolsäuremangel zeigt sich beispielsweise anhand verstärkter Komedonenbildung. Weiterhin sind ungesättigte Fettsäuren für den Feuchtigkeitshaushalt von großer Bedeutung, da die externe Zufuhr in kurzer Zeit die Barrierefunktion verstärkt (73, 208, 216, 238, 239), folglich den transepidermalen Wasserverlust eindämmt und indirekt auch die Elastizität der Haut erhalten soll (208). Soja-PL unterliegen allerdings durch den Gehalt an Linol- und Linolensäure den normalen Reaktionen des Lipidstoffwechsels

Tab.30: Literaturangaben zu den Größen verschiedener Liposome.

<b>SUV</b>	
25 nm	Sharma et al. 1977; Rieger 1981
20-50nm	Weinstein 1984; Maierhofer 1985; Brunke et al. 1988
bis 50nm	Rimpler 1991
20-100nm	Kaufmann-Kolle 1986; Billek 1987; Lasic 1988; Röding 1990; Engst 1992; Barenholz 1992
25-100nm	Williams et al. 1984; Gehring et al. 1991
<b>LUV</b>	
> 50nm	Brunke et al. 1988; Rimpler 1991
> 60nm	Maierhofer 1985
> 100nm	Kaufmann-Kolle 1986; Billek 1987; Engst 1992; Barenholz 1992
100-1000 nm	Sharma et al. 1977; Lasic 1988
150-250 nm	Rieger 1981
bis 1000 nm	Röding 1990
<b>MLV</b>	
> 100nm	Brunke et al. 1988; Rimpler 1991
100-500nm	Maierhofer 1985
bis 1000nm	Sharma et al. 1977; Kaufmann-Kolle 1986
80-10.000nm	Weinstein 1984
100-10.000nm	Engst 1992
500-10.000nm	Raab 1988; Gehring et al. 1991
mehrere 1000nm	Röding 1990; Barenholz 1992
<b>OLV</b>	
100-500nm	Gehring et al. 1992
100-1000nm	Bahrenholz 1992
<b>GUV</b>	
> 1000nm	Barenholz 1992
1000 - 10.000nm	Oku et al. 1982
bis 50.000nm	Lasic 1988

(240). Nach Brunke et al. (242) wird durch den Einsatz hydrierter PL in Kosmetika zwar einer potentiellen Ranzidität vorgebeugt, jedoch gleichsam aufgrund der geringeren

Fluidität und Permeabilität die Wirkstofffreisetzung aus beladenen Liposomen verhindert. Lyso-Lecithine bilden offensichtlich keine stabilen Liposome und sollten deshalb nur in geringer Menge im Ausgangsmaterial enthalten sein (242). Durch Phosphatidylethanolamin und -inositol wurde die Ausbeute an Liposomen vermindert (242).

Tab.31:Fettsäurezusammensetzung ölfreier Lecithine [%]: Soja- und Eilecithin; entnommen aus Billek (219).

TYP DER SÄURE	SOJA	EI
<i>Gesättigte</i>		
Palmitinsäure	15 - 18	27 - 29
Stearinsäure	3 - 6	14 - 17
<i>Ungesättigte</i>		
Ölsäure	9 - 11	35 - 38
Linolsäure	56 - 60	15 - 18
Linolensäure	6 - 9	0 - 1
Arachidonsäure	0	3 - 5

### *Membranfluidität und Oberflächenladung*

Die Auswahl der PL erlaubt demnach die Produktion von Liposome unterschiedlicher Fluidität und Ladung. Entsprechend der thermodynamischen Eigenschaften der Lipidmoleküle existieren sie in einem Gel- oder Flüssigzustand. Im ersten Fall haben die Membranen einen Phasenübergang oberhalb der Raumtemperatur, im Flüssigzustand tritt dies unterhalb der Raumtemperatur ein. Beispielsweise zeigen Liposomen mit ungesättigten PL hohe Fluidität; hingegen lassen sich mit gesättigten PL rigide Strukturen herstellen (233).

Ein anderer wichtiger Parameter, der ebenfalls durch den Typ der verwendeten Lipidmoleküle determiniert wird, ist die Oberflächenladung der Vesikel. Die elektrischen Eigenschaften der Liposomenoberfläche beeinflusst ihre Aggregation, Sedimentation

(233) und ebenfalls die Liposomen-Zell-Interaktionen, wie Fusion oder Endozytose (siehe Kap. 6.1.8.1).

### *Qualitätsbeurteilung*

Zur Qualitätsbeurteilung liposomaler Dispersionen kommen primär Analyseverfahren nach dem Prinzip der Photonenkorrelationsspektroskopie in Frage (216). Hierbei können die mittlere Teilchengröße und die Verteilung um den Mittelwert solcher Systeme detektiert werden. Dies gibt Aufschluß über die aktuell erzielte Qualität sowie einen Hinweis über die zu erwartende Stabilität der Dispersion. Zur weiteren Charakterisierung solcher Systeme kommen eine Vielzahl potentieller Untersuchungsmethoden in Betracht, u.a. elektronenmikroskopische Betrachtung, Gefrierbruchtestung (233), Gelchromatografie, analytische Ultrazentrifuge, Trübungsmessung und Lichtstreuung, dynamische Lichtstreuung, Lichtmikroskopie, Kernresonanzspektroskopie und negative Kontrastierung. Da sie nicht Gegenstand dieser Arbeit sind, wird auf die detaillierten Ausführungen bei Arndt/Fichtner (1986), Kaufmann-Kolle (1986), Lautenschläger et al. (1988) sowie Röding (1990) verwiesen.

### **6.1.4 Bildung von Liposomen**

Nach Billek (243) müssen für die Bildung von Liposomen verschiedene Faktoren aufeinander abgestimmt sein:

- ⇒ Temperatur,
- ⇒ pH-Wert,
- ⇒ Konzentration,
- ⇒ Energiezufuhr,
- ⇒ Größenverhältnisse der Querschnittsdurchmesser der hydrophilen Kopfgruppe zur lipophilen Endgruppe.

Einige dieser Größen lassen sich berechnen. Die Einflußgrößen bei Stoffgemischen sind jedoch unbekannt. Es kann davon ausgegangen werden, daß amphiphile Verbindungen zunächst zu einer spontanen Bildung von Bilayermembranen und dann zu Liposomen neigen, wenn die Querschnittsradien der hydrophilen Kopfgruppe und der

lipophilen Endgruppe(n) etwa gleich groß sind, wie beispielsweise bei PL (243). Nach Fuhrhop (244) ist es durch die Anwendung von Ultraschall möglich, kleinere Teile aus den Systemen herauszuschlagen, mit einer nachfolgenden Krümmung der Doppelschicht, da auf der einen Seite ein Moleküldefizit vorliegt. Auf der Innenseite bilden sich Kugeln mit weniger Molekülen als an der äußeren Oberfläche. Besteht jedoch ein großer Unterschied zwischen dem Querschnittsradius der Kopf- und Endgruppe, so bilden sich in erster Linie stäbchenförmige Flüssigkristalle (243).

### **6.1.5 Herstellung von Liposomen**

Gängige Methoden zur Liposomenherstellung sind: Filmmethode, Ultraschall, Hochdruckhomogenisation, French-Press, Resersed Phase Evaporation und Dialyse von Mischmizellen (vgl. Hauser 1982, Siciliano 1985, Arndt/Fichtner 1986). Da im Rahmen dieser Arbeit (siehe Kap. 6.2) ausschließlich die Wirkung von Liposomen pflanzlichen Ursprungs untersucht wird, werden anhand des Sojalecithins kurz die Gewinnung des Rohlecithins und die Möglichkeiten der Modifizierung aufgezeigt.

Kommerzielle Bedeutung hatten diesbezüglich über lange Zeit nur die Acetylierung, die Entölung und die hydrolytische Spaltung. Die gezielte Aufreinigung bis hin zu Produkten definierter PL-Zusammensetzung und -anteile (Fraktionierung) spielt kommerziell erst in den letzten 20 Jahren eine Rolle. Der Einsatz von Fraktionen ist sowohl in der Pharmazie als auch in der Kosmetik Stand der Technik (216). Da es weltweit keine einheitlichen Anforderungen an Rohlecithin gibt, schwankt entsprechend seiner Herkunft die Zusammensetzung erheblich. Über die Fraktionierung wird eine Standardisierung erreicht.

Im Bereich der Kosmetik werden heute hochreine Fraktionen mit einem PC-Gehalt von 80-90% hergestellt und finden Verwendung (216). Die Herstellung von Liposomen aus natürlichen PL kann sowohl im Labormaßstab als auch im industriellen Produktionsmaßstab erfolgen. Dabei kommen diskontinuierliche als auch kontinuierliche Verfahren in Frage. Die geeigneten Geräte lassen sich unterteilen in:

- Rotor-Stator-Prinzip,
- Kolloidmühlen in Kombination mit Rühraggregaten,
- schnellaufende Mischer,
- Hochdruckhomogenisatoren.

Mit dem Einzug von Liposomen in Kosmetik und Pharmazie ist auch die zum Einsatz kommende Technik erweitert worden. Ein entscheidender Durchbruch wurde mit der Anwendung der Hochdruckhomogenisation erzielt (216). Da die PL von Natur aus plastische Massen sind, werden in der Regel ihre Lösungen verwendet. Die industriell verfügbaren Produkte sind Lösungen mit definierter PL-Zusammensetzung in einem geeigneten flüssigen Träger. Der Träger kann - neben der Lösung des PL - in der Formulierung noch weitere Funktionalitäten aufweisen: er kann Lösungsvermittler für weitere Rezepturbestandteile sein (z.B. Ethanol) oder einen geeigneten kosmetischen Effekt haben, wenn es sich um ein Öl handelt (z.B. Distelöl) (216). Sowohl im Labor- als auch im industriellen Maßstab sind diese Produkte, deren Viskosität und Dichte definiert sind, einfach zu handhaben. Nach Gareiß et al. (216) ist es möglich, Liposomendispersionen aus unterschiedlichen PL-Lösungen mit unterschiedlichen Gerätetypen herzustellen. Dabei werden die physikalische Stabilität und die Eigenschaften einer Liposomendispersion von der Zusammensetzung beeinflusst. Verschiedene Faktoren determinieren die Energie, um die für dieses spezielle System charakteristische Teilchengröße und physikalische Stabilität zu erreichen:

Eigenschaften der verwendeten PL,  
Beladung,  
Hilfsstoffe,  
pH-Wert,  
Ionenkonzentration sowie das  
Mengenverhältnis der Bestandteile untereinander.

Wie bereits erwähnt, lassen sich mit Hilfe von PL nicht nur beladene und unbeladene Liposomen herstellen, sondern auch größere Mengen Öl stabilisieren. Ein geringerer Teil des Öls kann in der inneren, lipophilen Liposomendoppelschicht inkorporiert werden, wobei die Aufnahmekapazitäten hier begrenzt sind. Soll ein größerer Ölanteil

stabilisiert werden, fungieren die PL wie klassische Emulgatoren, die nach Billek (243) weder toxisch, irritativ noch allergen sind. Dabei lagert sich eine PL-Monoschicht an der Grenzfläche von Öl und Wasser an, und das hierbei entstehende System ist im klassischen Sinne eine Emulsion. Die Teilchengröße der Öltröpfchen liegt in der gleichen Größenordnung wie die der Liposome, d.h. im Nanometerbereich (Nanoemulsionen).

### 6.1.6 Beladung von Liposomen

Um die kosmetische Wirkung sogenannter „Leerliposome“ zu erhöhen, ist der Mitttransport verschiedener Wirkstoffe möglich (43). Allerdings ist dabei Vorsicht geboten, da die jeweilige Beladung - analog den Bestandteilen der Leerliposomen - absolut unbedenklich sein muß. Es sollten über die Kinetik der Stoffe bei einer möglichen Permeation durch die Haut Erfahrungen beim Gebrauch in klassischen Formulierungen vorliegen (245).

- *Amphiphile* oder *lipophile Wirkstoffe* (*Proteine, Vitamine, Öle usw.*) können in dem inneren, lipophilen Teil der Bilayermembran inkorporiert werden, wobei das Verhältnis von PL zu dem eingeschlossenen lipophilen Wirkstoff selbst, den PL, der Lamellarität und dem Einkapselungsprozeß abhängig ist. Beispielsweise können Liposomen mit 10% oder 20% Soja-PL mit 5% Sojaöl beladen werden (233, 246). Das Ausmaß der Beladung mit Ölen hängt von der Lamellarität der Liposome ab, Multilamelläre haben dabei eine höhere Beladungskapazität als unilamelläre Liposome (233). Die Beladung der Hülle mit lipophilen Wirkstoffen ist insofern interessant, als daß die Wirkstoffe bei der Mischung mit anderen Formulierungsbestandteilen weitgehend unbeeinflusst bleiben. Nach Rimpler (206) und Blume et al. (43) gestattet dies empfindliche kosmetische Wirkstoffe vor Redoxprozessen zu schützen und dem enzymatischen Abbau während der Transportstrecke zu entziehen.
- Insbesondere die Verkapselung *hydrophiler Wirkstoffe* eröffnet interessante Möglichkeiten für die Hautpflege. Polare Substanzen diffundieren per se schlechter in die Haut als unpolare und können quasi durch lipophile Zonen geschleust werden (43,

206). Hydrophile Wirkstoffe werden entweder in der eingeschlossenen flüssigen Phase oder in der peripheren Flüssigkeitsphase gelöst (228, 233). Lösungen solcher Liposomendispersionen verursachen aufgrund der Nernst'schen Verteilung einen Austritt eingekapselter hydrophiler Agenzien. Dabei wird das Maß der Ausströmung durch die Zeit, Temperatur, Bilayermoleküle, Anzahl der Lamellen sowie durch die Eigenschaften der verkapselten Substanzen beeinflusst (233). Der Ausgleich kann durch relativ gleiche Konzentrationen des Wirkstoffes in der Außenphase und im Liposom selbst möglich sein. Allerdings beträgt die Außenphase bei einer 10%-igen Liposomendispersion nicht mehr als ein Drittel des Volumens. Zu beachten ist weiterhin die Phasenumwandlungstemperatur einer liposomalen Grundformulierung: Eine niedrige Phasenumwandlungstemperatur (ungesättigte PL) ermöglicht die Beladung mit temperaturempfindlichen Substanzen und eine schnellere Freisetzung von Wirkstoffen (241). Hingegen setzt eine hohe Phasenumwandlungstemperatur (hydrierte oder synthetische PL) hier Grenzen.

Das Ausströmen bzw. Austreten eingekapselter wasserlöslicher Moleküle sinkt, wenn die Substanzen amphiphile Eigenschaften haben. Wasserlösliche Proteine zeigen zum Beispiel häufig eine hohe Affinität zu den Bilayermembranen. Sie akkumulieren in dem Zwischenraum zwischen der Membran und der flüssigen Phase innerhalb und auch außerhalb des Vesikels (233).

Änderungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften beeinflussen ebenfalls die Reaktivität der Liposome und deren Wirkstofffreigabe. Beispielsweise wird gezielt eine Wirkstofffreigabe an Stellen höherer Temperatur (247) oder mit bestimmten pH-Werten erreicht (246).

### **6.1.7 Stabilität von Liposomen**

Eines der Hauptprobleme mit Liposomen als Carriersystem war und ist ihre physikalische Stabilität bzw. ihre limitierte Stabilität (19). Die PL Bilayer können unter Bildung großer Liposome fusionieren, wobei insbesondere nach der Inkorporation in Cremegrundlagen eine ausgesprochene Neigung zur Fusion mit den Tropfen der Lipidphase besteht (19). Der Gehalt an Liposomen in Kosmetikprodukten nimmt

während der Lagerung ab, wobei der Effekt bei höheren Temperaturen, respektive bei 40°C, ausgeprägter ist (19). Im Gegensatz zu Blume et al. (43) und Rimpler (206) bescheinigen Müller und Dingler (19) den Liposomen nur eine begrenzte Fähigkeit, inkorporierte aktive Stoffe gegen einen Zerfall durch Oxidation oder Hydrolyse zu schützen. Der mangelhafte Schutz gegen einen chemischen Abbau schließt die Inkorporation einiger instabiler, aber kosmetisch interessanter Wirkstoffe in kosmetischen Produkte gänzlich aus oder benötigt kostenintensive Verpackungstechnologie (z.B. Argon als schützendes Gas) (19).

Abgesehen von sterilen Herstellungs- und Abfüllbedingungen wird versucht eine Stabilisierung der Bilayermembran von Liposome durch folgende Zusätze zu erreichen:

- ⇒ geladene Molekülen, wie Diacetylphosphat (negativ) (207, 242),  
Phosphatidylserin (negativ), Stearylamin (positiv) (217, 222, 248),  
β-Sitosterol (207);
- ⇒ Cholesterol (207, 217, 219, 222, 242, 248);
- ⇒ Antioxidantien (insbesondere Vitamin E) (228);
- ⇒ Sphingomyelin (249);
- ⇒ Konservierungsmittel (228).

#### **6.1.7.1 Mikrobiologische Stabilität**

Wässrige PL-Dispersionen stellen ein bevorzugtes Nährmedium für eine Vielzahl von Keimen dar. Da bis dato noch nicht alle Produzenten einen sterilen Herstellungsprozeß ermöglichen, fordert Röding (228) für topisch applizierte Produkte immer eine ausreichende Konservierung vorzunehmen. Problematisch ist jedoch die Fähigkeit vieler Konservierungsmittel, bei gegebenen pH-Wert mit biologischen Membranen zu reagieren. Liposomenmembranen reichern die Moleküle der Konservierungsmittel an und entziehen sie damit der wässrigen Phase, so daß eine hohe Dosierung notwendig wird. In diesem Zusammenhang führt Röding (228) Formaldehyd als gut wasserlösliches Konservierungsmittel an, das aber unter Umständen die mittlere Teilchengröße und die Lamellaritätsverteilung verändert. Gehring et al. (218) ziehen bei topischer Applikation von Liposomen in Betracht, daß bei einer Anreicherung von

Hilfsstoffen (u.a. Konservierungsmitteln) - sowohl in der Epidermis als auch im Corium - möglicherweise Sensibilisierungen vom Spättyp die Folge sein können. Lautenschläger (241) ist der Überzeugung, daß der für PL und andere Naturprodukte typische schnelle Verfall vom Verbraucher akzeptiert wird, empfiehlt aber zusätzlich die Abfüllung liposomaler Produkte in Pumpspendern oder Tuben sowie ein ersichtliches Haltbarkeitsdatum.

### **6.1.7.2 Chemische Stabilität**

Die chemische Stabilität der Liposomen entspricht grundsätzlich die ihrer Membranbausteine. PL neigen im wässrigen Milieu zur Hydrolyse der in der zweiten Stellung des Glycerins gebundenen Fettsäure (248). Dabei entstehen beispielsweise aus PC Lysophosphatidylcholin und freie Fettsäuren. Diese Reaktion ist abhängig von der Temperatur, vom pH-Wert, dem Puffer sowie der Pufferkonzentration.

PL mit ungesättigten Fettsäuren unterliegen der Oxidation (248), solange sie nicht durch Antioxidantien wie Tocopherole stabilisiert sind. Die „Vitaminisierung“ liposomaler Formulierungen mit Vitamin E, C und A oder deren Derivaten, einzeln oder in Kombination, wirkt stabilisierend. Zusätzlich handelt es sich um kosmetisch gebräuchliche Wirkstoffe. Verschiedene Öle und Duftstoffe können hingegen destabilisierend wirken (248). Lysophospholipide beeinflussen erst in hohen Konzentrationen die Morphologie der Liposomen (228), sollten aber nur in geringster Menge im Ausgangsmaterial enthalten sein (242).

### **6.1.7.3 Physikalische Stabilität**

Die physikalischen Eigenschaften von Liposomen werden durch die Kopfgruppen - die die elektrische Ladung und die Wechselwirkungen bedingen - sowie durch die Fettsäurebesetzung bestimmt, durch die die hydrophoben Wechselwirkungen und die Phasenübergangstemperatur festgelegt werden (228). Laut Brunke et al. (242) und Görlich (250) ist die Stabilität auch von der Liposomengröße abhängig. Wie Müller et al. (19) weisen die Autoren darauf hin, daß durch elektronenmikroskopische Verfahren zwar Nachweise für eine unveränderte Teilchengröße der Liposomen bei mehrwöchiger

Lagerung erbracht wurden, sich jedoch im Laufe der Lagerzeit durchaus eine Aggregation einstellen kann (242, 250).

Einen negativen Einfluß auf die physikalische Stabilität haben im allgemeinen Tenside bzw. Emulgatoren. Dieses Problem zeigt sich insbesondere bei der Formulierung liposomaler Cremepräparate. Hier kommt es in Abhängigkeit von der Tensidkonzentration zu einer Umwandlung von multilamellären über unilamellären zu Mischmizellen (251). Aus diesem Grund existieren die meisten kosmetischen Liposomenprodukte in Form von Hydrogelen. Liposome halten sich in Hydrogelen durch die geringere „Zusammenstoß-Wahrscheinlichkeit“ aufgrund der Brownschen-Molekularbewegung über längere Zeiträume stabil (242).

Stabilisierend wirkt das klassische Sterolderivat Cholesterol, das in biologischen Membranen ubiquitär ist (242). Cholesterol verringert gleichzeitig die Durchlässigkeit und Elastizität / Fluidität der Lipiddoppelschichten, die im allgemeinen durch den Übergang von der Gelphase in die flüssigkristalline Phase charakterisiert ist. In der Gelphase liegen die Alkylreste in einem kristallinen Zustand, d.h. in einem definierten Kristallgitter vor und besitzen nur geringe Beweglichkeit. Beim Übergang in die flüssigkristalline Phase nimmt hingegen die Beweglichkeit der lipophilen Alkylreste zu und sie können in der Lipidschicht den Platz mit anderen Molekülen vertauschen. Ähnlich ist es auch mit ungesättigten Fettsäuren, die eine um so stärkere Fluidität verursachen, je größer ihr Anteil in den Bilayermembranen ist (245, 252).

Die Fluidität ist nach Junginger et al. (217) nicht nur für die Stabilität, sondern darüber hinaus auch für die Freigabegeschwindigkeit inkorporierter Wirkstoffe und für die Wechselwirkungen mit Hautlipiden wichtig. Stearylamin (positiv geladen), Diacetylphosphat und Phosphatidylserin (negativ geladen) eignen sich aufgrund ihrer Ladung gleichfalls zur Stabilitätserhöhung. Durch die Ladung kann eine Aggregation der Partikel verlangsamt oder sogar verhindert werden (217).

Für Müller et al. (19, 253) und Mehnert et al. (254) stellen feste Lipidnanopartikel in Pharmazie und Kosmetik ein neuartiges und erfolgversprechendes Trägersystem zur dermalen Applikation dar, was sich im Gegensatz zu den Liposomen durch eine hohe physikalischen Stabilität auszeichnet. Lipidnanopartikel bestehen aus festen Lipiden

(mittlere Partikelgröße 50 bis 1000 nm) und gestatten die Inkorporation chemisch instabiler Wirkstoffe. Sie bilden einen adhäsiven Film auf der Haut, der zu einem okklusiven Effekt führt. Müller und Dingler (19) konnten anhand eines Stripping-Tests mit Vitamin E beladenen Lipopearls<sup>TM</sup> nachweisen, daß die Penetration der Wirkstoffe in die Haut gefördert wird.

Ebenfalls neue Möglichkeiten zur Modifizierung und Stabilisierung von Liposomen in kosmetischen Präparaten bieten nach Hilfenhaus (255) sogenannte S-Schichten. Es handelt sich hierbei um supramolekulare biologische Strukturen, die den Bereichen Molekulare Nanotechnologie und Biomimetik zugeordnet werden. Die monomolekularen Schichten aus identischen Bausteinen werden in der Natur in einer großen Vielfalt als äußerste Zellwandschicht (sogenannte S-Schicht) bei Bakterien gebildet. Im wäßrigen Milieu gelöst vorliegendes S-Schicht-Protein zeigt die Fähigkeit u.a. an geladenen und hydrophoben Oberflächen und an unilamellären Liposomen in Form einer geschlossenen Monoschicht zu kristallisieren. Bei Liposomen, die aus Diphosphatidylpalmitoylcholin, Hexadecylamin und Cholesterol hergestellt werden, ist die S-Schicht-Innenseite mit den hydrophilen Kopfgruppen der Lipide assoziiert, während die S-Schicht-Außenseite in das umgebende Milieu gerichtet ist (255). Damit weist das S-Schicht-Gitter die gleiche Orientierung wie an intakten Zellen auf. Versuche mit verschiedenen in den Liposomen eingeschlossenen Substanzen zeigten, daß die mit S-Schicht belegten Liposomen eine wesentlich höhere mechanische Stabilität als die "nackten Lipidbläschen" aufweisen (255).

### **6.1.8 Liposomen und Haut**

Bei jeder Applikationsform von Liposomenpräparaten hat nur der tatsächlich freigesetzte Wirkstoffanteil einen therapeutischen bzw. pflegenden Effekt. Dabei bestimmt das Ausmaß der Freisetzung liposomal verkapselter Wirkstoffe in einem Zielgewebe ähnlich wie bei Medikamenten die endgültige biologische Verfügbarkeit bzw. Wirksamkeit des Kosmetikums.

Drei mögliche Mechanismen werden von Betagerie et al. (256) für die Kinetik der Freisetzung des Liposomeninhaltes ins Gewebe in Betracht gezogen:

- Passive Diffusion von Wirkstoffen durch die Liposomenmembran;
- Störung der Liposomenmembran durch intra- und extrazelluläre Proteine im Gewebe;
- enzymatische Zersetzung der Liposomenmembran.

Für gewöhnlich arbeiten diese Mechanismen gleichzeitig.

Das Ausmaß der Freisetzung liposomal verkapselter Wirkstoffe auf den beiden erstgenannten Wegen ist zu bestimmen und bedingt zu kontrollieren, indem experimentelle in vitro-Versuche unter in vivo nachgestellten Bedingungen durchgeführt werden (48, 257). Dabei ist kritisch anzumerken, daß Ergebnisse aus in vitro-Versuchen (48, 257) oder in vivo-Tests mit Tieren (258) nicht immer mit den in vivo-Resultaten mit Menschen korrelieren.

Für Medikamente ist bekannt, daß die Freisetzung aus Liposomen durch enzymatische Zersetzung der Liposomenmembran stark von den involvierten Enzymen abhängt. Wird die Liposomenmembran extensiv enzymatisch abgebaut, werden die meisten der eingeschlossenen wasserlöslichen Medikamente geringen Molekulargewichtes wahrscheinlich in einem ähnlichen Umfang abgegeben wie aus zerspaltenen Liposomen (259).

Verschiedene in vitro-Versuche machen deutlich, daß die Verabreichungsform das Muster und die Kinetik des Liposomenabbaus beeinflusst. Beispielsweise erfolgt nach oraler oder intravenöser Applikation der Liposomen die Freisetzung ihres Inhaltes umgehend (256). Weiterhin beeinflusst die chemische Zusammensetzung der Liposomen die Wirkstofffreisetzung (259). Die Geschwindigkeit der Freisetzung hängt darüber hinaus auch von der Art des involvierten Gewebes ab. In diesem Zusammenhang sei auf vergleichende kinetische Untersuchungen an Leber, Venen und Subcutis hingewiesen (256).

### 6.1.8.1 Wechselwirkungen von Liposomen mit Zellmembranen

Aus zahlreichen Untersuchungen ist bekannt, daß Liposomen mit biologischen Zellmembranen auf unterschiedliche Weise in Interaktion treten können (210, 260 -277) (siehe Abbildung 37). Diese Interaktion beinhaltet: Passage durch die Zellmembranen, Lyse, Adsorption, Fusion, Phagozytose und Endozytose. Für die Pharmakokinetik spielt die Applikationsform sicherlich eine entscheidende Rolle. Welcher Mechanismus in erster Linie überwiegt, ist nicht eindeutig aufgeklärt worden, allerdings wird gegenwärtig die Fusion favorisiert.

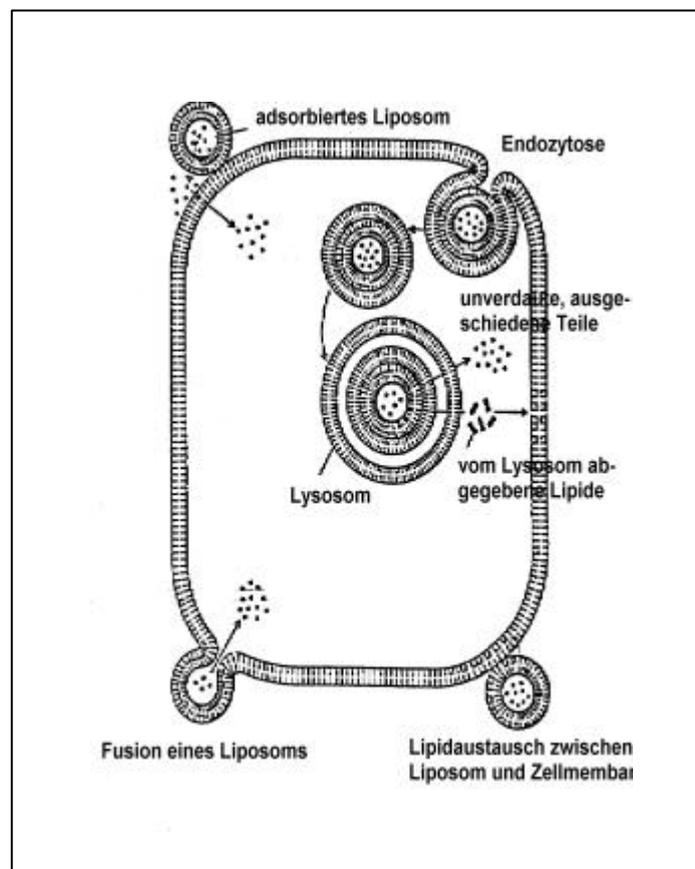


Abb.37: Wirkungsweise der Liposomen; entnommen Ziolkowsky (278).

Die Übertragbarkeit der aus *in vitro* gewonnenen Erkenntnisse auf *in vivo*-Zustände ist fragwürdig. Liposomale Strukturen, die in einigen Untersuchungen über die Phagozytose intakter Liposomen in menschliche Keratinozyten gezeigt werden, sind häufig mit einer einheitlichen Membran umgrenzt, die die gleiche ultrastrukturelle Anordnung wie die äußere Membran der umgebenen Zelle hat. So ist es bei einer

Ausdehnung der äußeren Zellmembran oft unmöglich zu unterscheiden, ob die liposomalen Strukturen intra- oder extrazellulär vorliegen (279).

Auch wenn für den *kosmetischen Einsatz* ausschließlich eine *topische Anwendung* von Liposomen vorgesehen ist, sollten alle potentiellen Interaktionen mit Humanzellen beleuchtet werden.

### 1. Transfer durch die Membranen (intermembrane transfer)

Ein Transfer von Lipidkomponenten durch die Zellmembran kann laut Betargerie et al. (256) nach starker Annäherung der PL-Bilayer auftreten. Die Integrität der Liposomen wird hierbei nicht zerstört. Dieser Transfer vollzieht sich unter kompletter Retention der Inhaltsstoffe der wässrigen Liposomenfraktion. Durch ein spezifisches Zelloberflächen-Austauschprotein soll ein Austausch der Liposomen-PL mit den Zellen erfolgen, da sich nur gewisse PL (PC und PE) untereinander austauschen. Sandra et al. (269) zeigten beispielsweise für fluoreszierende Derivate von PE (konjugiert durch die Aminogruppe) keinen Austausch, während sich diejenigen, die Fluorophore in den Fettsäureketten beinhalten, sofort austauschen.

Ein Übergang der PL wird immer nur dann eintreten, wenn Liposomen mit der Zelloberfläche in Kontakt treten und spezielle Lipid-Transfer-Proteine auf der Zelloberfläche diesen Prozeß vermitteln. Bislang ist die Existenz solcher Membranproteine nicht demonstriert worden und der genaue Mechanismus des Lipid- oder Proteintransfers von Zellmembranen und Liposomen ungeklärt.

Cholesterin durchdringt sehr schnell die Bilayer (261), so daß seine molare Konzentration durch alle existenten Membranen ausgeglichen wird. Aus diesem Grund sind Liposome zur Ergänzung oder Dezimierung von Zellmembranen aus Cholesterin für in vitro-Versuche herangezogen und die Zellen mit unterschiedlich hoher Konzentration von Cholesterin inkubiert worden. Solche Maßnahmen manipulieren aber erheblich die Zellfunktionen.

## 2. Lyse (contact release)

Bei der Lyse, von Van Renswoude et al. (264) und New et al. (265) als *contact release* bezeichnet, kommt es zu einer Auflösung des Liposoms im Perizellularbereich. Sekundär treten die freigesetzten bzw. die in den liposomalen Membranfragmenten enthaltenen Substanzen in die Zelle ein.

Die Lyse des wässrigen Inhaltes von Liposomen ist insgesamt wenig untersucht. Der Kontakt der Liposomen mit der Zelle verursacht nach Van Renswoude et al. (264) einen Anstieg der Permeabilität der Liposomenmembran. Dies führt in hoher Konzentration zur Freisetzung wasserlöslicher Substanzen in die unmittelbare Nachbarschaft der Zellmembran, durch die diese Lösungen unter bestimmten Umständen dann passieren. Das zellinduzierte „Durchsickern“ ist größer in Membranen mit Cholesterolkonzentrationen über 30 mol % (264).

Die aufgeführten Phänomene bieten die Möglichkeit Materialien in spezifische Zellen einzuschleusen, ohne eine Aufnahme der Liposomen und sind von speziellem Wert für nicht aktiv phagozytierende Zellen. Unter bestimmten Bedingungen sind diese Phänomene noch effektiver, und zwar wenn der Fluß des die Zelle umgebenden Mediums reduziert und die physikalischen Wechselwirkungen zwischen den Liposomen und den Zellen durch Rezeptor-Liganden-Bindung verstärkt sind. Ob diese Prozesse in einem bedeutsamen Umfang stattfinden, hängt nach New et al. (265) von der Zusammensetzung der Membran und der Natur der Komponenten selbst ab.

## 3. Phagozytose/ Endozytose

Zur Endozytose sind ausschließlich phagozytierende Zellen befähigt, die für gewöhnlich Fremdkörper aufnehmen. Das Liposom lagert sich an die Membran der Zellen mit phagozytischer Aktivität an und das angrenzende Cytoplasma kontrahiert sich. Nach Kellaway et al. (270) kommt es nachfolgend zu einer bläschenartigen Einstülpung der Zellmembran ins Zellinnere. Die Membran reißt auf und verschmilzt sofort wieder bei gleichzeitiger Inkorporation des gesamten Liposoms in einem Endozytosevesikel.

Korting et al. (280) berichten über die Phagozytose intakter oligolamellärer Liposomen durch menschliche Keratinozyten *in vitro*. Dabei wurden die Keratinozyten-Monolayer den mit Goldpartikel markierten unilamellaren Liposomen exponiert, um den Mechanismus der Zell-Liposomen-Interaktion zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren nicht überzeugend, so daß die Autoren bei späteren elektronenmikroskopischen Untersuchungen auf Silberpartikel als adäquate Marker zurückgriffen. Schaller und Korting et al. (279) evaluierten mit den so markierten unilamellären Liposomen ihre Aufnahme in kultivierte menschliche Epidermiszellen der Stirnhaut und bestätigten eine Phagozytose intakter Liposomen in Keratinozyten mit unbeschädigter Zellmembran.

Wie Ostro (271) geht auch Lullman-Rauch (281) davon aus, daß nach Aufnahme der Liposomen in Endosome (subzelluläre Vakuolen), die einen pH-Wert von 5 bis 5,5 haben, letztgenannte mit Lysosomen fusionieren, um sekundäre Lysosomen zu formen. Dabei tritt eine zelluläre Verdauung in einem Milieu bei einem pH-Wert von ca. 4,5 auf. Die Verarbeitung des Liposoms erfolgt durch das Lysosom, dessen Enzyme die Liposomen aufbrechen und anschließend die PL zu Fettsäuren hydrolysieren. Die Lipidbausteine werden bei diesem Prozeß quasi „recycled“ und in die Zellmembran eingebaut. Während des Zusammenbruchs der Liposome in Lysosome wird der Inhalt des wässrigen Kompartimentes freigesetzt. Die Inhalte bleiben entweder in den Lysosomen bis zur Exozytose getrennt (speziell bei hoher Beladung oder geringem pH-Wert) (256), oder sie laufen langsam aus den Lysosomen in das Cytoplasma der Zelle (270).

Zusätzlich zur Phagozytose können nach Pagano et al. (282) Liposomen auch durch rezeptorvermittelte Endozytose aufgenommen werden. Liposomen die mit Lipoproteinen geringer Dichte ummantelt sind (LDL), oder Transferrin binden sich über Oberflächenrezeptoren an die Zellen und werden dann eingeschleust. So bekommen sie Zugang zu subzellulären Kompartimenten (u.a. Golgi Apparat).

Die Endozytose ist abhängig von der Liposomengröße. Beispielsweise werden MLVs von verschiedene Zellen durch Endozytose aufgenommen (283 - 285). LUVs werden *in vitro* durch Kupferzelle endozytiert. Die optimale Größe für die Endozytose von LUVs

soll 0,05 - 0,1  $\mu$  betragen. Liposome größer als 0,4  $\mu$  können nach Dijkstra et al. (286) und Leserman et al. (287) eingekapselte Substanzen nicht in das Zytoplasma entlassen.

#### 4. Adsorption

Die Adsorption wird als eine wesentliche Voraussetzung für die Aufnahme von Liposomen in die Zellen angesehen (265, 287). Die Faktoren, die die Aufnahme determinieren, sind aber noch nicht komplett erforscht.

Eine Adhäsion hängt von physikalischen Anziehungskräften oder der chemischen Bindung spezifischer Rezeptoren an Liganden auf der Liposomenmembran ab (282). Nach Kellaway et al. (270) folgt der Anhaftung des Liposoms an die Zellmembran ein Stoffaustausch, respektive ein Lipidtransfer zwischen beiden, ohne Inkorporation oder Desintegration des Liposoms. Nach Poste (266) kann diese Adsorption, die von Fendler et al. (273) oder Weinstein (274) auch „stabile Adsorption“ genannt wird, auftreten, ohne daß wässrige oder lipophile Komponenten ins Zellinnere aufgenommen werden, wie es für große Liposome (MLVs und LUVs) beobachtet wurde (283).

Überraschenderweise ist die Aufnahme genau bei oder unterhalb der Phasenübergangstemperatur der Liposomenmembran am größten. Es wird vermutet, daß die involvierten Bindungsstellen Membrandefekte sind, die bei geringer Temperatur stabiler sind (265).

Bei liposomalen Sonnenschutzprodukten wird die Anhaftung von Liposomen an die Keratinozyten des SC ausgenutzt (275). Es werden Liposome hergestellt, die an ihrer Oberfläche lysinreiche Proteine enthalten und denen Lysyloxidase zugesetzt wird. Indem es zu einer Reaktion zwischen dem Lysin der Zellwand und dem des Liposoms kommt, wird das Liposom fest an die Hornzellmembran gebunden und der Lichtschutz relativ wasserfest (276).

Jones (232) weist 1996 ausdrücklich darauf hin, daß die physikalische Charakterisierung der Liposomenoberfläche im Vergleich zu ihrer chemischen Entwicklung unverständlicherweise vernachlässigt wurde, obgleich der elektrische Status der Oberfläche von bedeutendem praktischen Wert für Interaktionen mit Bilayern ist. Die Oberflächeneigenschaften von Lipidvesikeln lassen sich sowohl durch die

Lipidzusammensetzung des Bilayers als auch durch die Einführung von Oberflächen-Makromolekülen beeinflussen. Die Modifikation von Vesikeloberflächen in Beziehung zu ihrem Vermögen zur Adsorption, Aggregation und / oder Fusion hat das Interesse für Oberflächeneigenschaften und Interaktionen von Vesikeln angeregt und stellt gegenwärtig eine Herausforderung für die Forschungsbemühungen über kolloidale Partikel dar.

## 5. Fusion

Im Gegensatz zu früheren Annahmen (262, 264, 272) wird die Fusion aktuell als der dominierende Mechanismus der Interaktion von Zellen mit Liposomen angesehen (204, 265, 288 - 291).

Nach Arnold (204) müssen für eine Liposomenfusion folgende Kriterien erfüllt sein:

- ⇒ Mischung der Bilayermembranen;
- ⇒ Mischung der Liposomeninhalte;
- ⇒ Aufrechterhaltung der Barrierefunktion der Bilayermembranen.

Bei den meisten Fusionen setzt eine Steigerung der Liposomenpermeabilität als Folge der Instabilität des Systems nach der Fusion ein.

Die Mischung von Komponenten zweier Membranen kann das Ergebnis einer Fusion sein. Sie kann aber auch schon aus dem Übergang von Membrankomponenten resultieren, wenn die Membranen in engem Kontakt sind und die Transferrate erhöht ist. Aus der Untersuchung von Arnold (204) geht als grundlegende Erkenntnis hervor, daß die Hydrophobizität der Bilayeroberfläche ein wichtiger Faktor für die Auslösung einer Fusion ist. Die hydrophobe Wechselwirkung tritt immer dann auf, wenn lipophile Gruppen der Bilayer in Berührung mit der Wasserphase kommen. Diskutierte Möglichkeiten sind z.B. die Bindung von Kationen an die Oberfläche, lokale Änderungen der PL-Packung durch Dehnung der Bilayer infolge osmotischer Kräfte und der Einbau von Proteinen in die Bilayer. Eine weitere Bedingung für eine Fusion ist, daß zusätzlich eine Destabilisierung des Kontaktgebietes der Membranen eintreten muß, da zwei Membranen in engem Kontakt lange Zeit stabil existieren können. Daneben werden als notwendige Komponenten der natürlichen Fusionsprozesse  $\text{Ca}^{2+}$  und Proteine

angeführt. Die PL-Zusammensetzung der Liposomen hat einen großen Einfluß auf die Fusion, während  $\text{Ca}^{2+}$  besonders wirksam ist, wenn PS und PE vorhanden sind.

Es ist deshalb nach Devaux (288) nicht überraschend, daß diese PL überdurchschnittlich häufig in der Membranhälfte vorkommen, die an intrazellulären Fusionsprozessen beteiligt sind. Auch für Herrmann et al. (289) hat die unsymmetrische Verteilung der PL in natürlichen Membranen eine besondere Bedeutung für die Fusion.

Für New et al. (265) stellt in vivo neben der Phagozytose die Fusion eine zweite Möglichkeit dar, die eine zelluläre Aufnahme induziert. Allerdings kann bei medizinischen Anwendungen unter Verabreichung von Liposomen ins Corium davon ausgegangen werden, daß viel zu schnell ein Abtransport mit dem Blut erfolgt, als daß die Liposomen in einem bedeutsamen Ausmaß fusionieren könnten.

Nach Kellaway et al. (270) und Weinstein et al. (274) erfolgt der Eintritt von Liposomeninhalten ohne Zellmembrangrenzung in das Zytoplasma der Zelle, in dem es zu einer totalen Mischung der Lipide kommt.

Blume et al. (290) unternahmen physikalische Tests an Modellhautlipiden in vitro, und Braun-Falco et al. (291) untersuchten die Mikrostruktur von menschlicher Kadaverhaut zum Verständnis der Interaktion von Liposomen mit der Haut. Beide Untersuchungsansätze zeigen, daß die auf der Basis von angereichertem Soja-PC hergestellten Formulierungen schnell und vollständig mit der lamellaren Lipidstruktur der Hornschicht fusionieren. Diese Fusion findet nahezu vollständig in den äußeren Schichten der Hornhaut statt, so daß topisch aufgetragene liposomale Formulierungen zu mehr als 99% im SC verbleiben, eine für kosmetische Anwendungen essentielle Voraussetzung. Aus diesen und weiteren hier nicht zitierten Arbeiten (zur Übersicht vgl. New et al. (265)) läßt sich schlußfolgern, daß durch die hohe Fluidität von Soja-PC eine vollständige Integration der aufgetragenen PL in den lamellaren Lipidstrukturen der Haut stattfindet. Dabei ist die vesikuläre Struktur der applizierten Liposomen elektronenmikroskopisch nicht mehr von der Mikrostruktur der Lipidschutzschicht des SC zu unterscheiden (265). Meßtechnisch läßt sich nach Blume et al. (290) die Fusion anhand der Phasenübergangstemperatur bzw. der Erhöhung der Hautfeuchtigkeit und Verbesserung der Hautrauhigkeit nachweisen. Letztere ist hierbei sicherlich ein

Ergebnis der Fluidisierung der Hornschicht, wobei Fluidisierungsgrad und auch Penetrationstiefe funktionell von der aufgetragenen Menge des PC abhängen. Interessant ist, daß bis zu einer Dosis von 1 mg PL pro cm<sup>2</sup> eine dosisabhängige Erhöhung der PL-Konzentration in der Haut nachweisbar ist. Hingegen wird bei höheren Dosierungen keine weitere meßbare Erhöhung der in der Haut akkumulierten PL beobachtet („Sättigungsgrenze“) (265).

### 6.1.8.2 Effekte von Liposomen

Für die Interaktion von Liposomen mit der menschlichen Haut in vivo werden als beeinflussende Größen folgende Faktoren angeführt (292):

- Größe der Vesikel,
- Größenverteilung,
- Einschlußrate,
- Zusammensetzung,
- Inkorporation von Wirkstoffen,
- Typ der Liposomen,
- Interaktionen mit anderen Formulaturbestandteilen.

Die Wechselwirkung läßt sich in 4 Phasen einteilen (241):

*Interaktion mit der*  
*Hautoberfläche*  
*Hornschicht*  
*Epidermis*  
*Dermis*

Eine eindeutige Antwort auf die Frage, ob intakte Liposome oder Fragmente mit den einzelnen Hautschichten interagieren, kann nicht gegeben werden (256). Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt gibt es zumindestens keinen hinreichenden Beweis für die Diffusion *intakter Liposome* durch die Hornschicht.

### Wechselwirkungen mit der Hautoberfläche

Bei Interaktionen mit der Hautoberfläche werden PL teilweise an das Keratin der Hornschicht gebunden. Dabei kommt es gemäß verschiedener Autoren (241, 275, 293 - 295) zu einer Filmbildung mit leicht okklusiver Wirkung, wobei die natürliche Barrierefunktion des SC unterstützt und der transepidermale Wasserverlust (TEWL) verringert wird.

Im Gegensatz dazu vermuten Gehring et al. (296), daß es durch die penetrationsfördernde Eigenschaft bestimmter liposomaler Formulierungen eher zu einer passageren Barrierschädigung als zu einer Stärkung kommt. Sie konnten in Abhängigkeit von der liposomalen Formulierung ein bis zwei bzw. drei bis vier Stunden nach offener Anwendung eines Leerliposoms einen gut reproduzierbaren, peakartigen Anstieg des TEWL messen. Trotzdem scheint die Anwendung von Liposomen und die Ausbildung eines Films die Hautoberfläche zu lipophilisieren. Nach Jocham (248) ist eine relativ hohe Liposomenkonzentration erforderlich, um tiefergehende Wirkungen zu erhalten, da ein Teil der Liposome durch das Spreitverhalten abgebaut wird.

Junginger et al. (297) weisen unter Zuhilfenahme elektronenmikroskopischer Untersuchungen darauf hin, daß Interaktionen von Liposomen (und Niosomen) mit der Hautoberfläche von den physikochemischen Eigenschaften abhängig sind, wobei dem polaren Teil dieser amphiphilen Moleküle eine immanente Rolle zuzuschreiben ist.

### Wechselwirkungen mit der Hornschicht

Die Möglichkeit einer molekulardispersen Anreicherung in den Korneozyten des SC und eine sich anschließende erneute Ausbildung von Liposomen kann nach Artmann et al. (298) bislang weder ausgeschlossen noch bestätigt werden.

Nach Junginger et al. (294, 297) ist ein Eindringen *intakter* Liposome in die Hornschicht praktisch unmöglich, da die Plasmamembran der Korneozyten aus kovalent an die Keratinmatrix gebundenen Ceramiden besteht (sog. Enveloppe). Es wird angenommen, daß intakte Vesikel in die Hornschicht ausschließlich auf dem interzellulären Weg über die Lipiddoppelschichten der Hautlipide penetrieren. In tieferen Schichten des SC

konnten vesikuläre Strukturen entdeckt werden, die aber eine ähnliche Dicke wie die der interlamellären Hautlipide hatten. Aufgrund der unterschiedlichen Größe der vesikulären Strukturen und der von Hautlipiden scheint ein intakter Transport unmöglich zu sein. Die Autoren vermuten, daß die Liposomen mit den Lipiden der Hautoberfläche in Interaktion treten und entlang der interzellulären Route molekulardispers in die Hornschicht eindringen. An definierten Stellen folgt eine Akkumulation der Liposomenbestandteile, wodurch sich erneut vesikuläre Strukturen ausbilden. Dieser Prozeß wird vermutlich durch den Wassergehalt der Haut beeinflusst.

Röding (299) und Jocham (248) kamen zu dem Ergebnis, daß die Größe von Liposomen für ihre intakte Penetration sowie ihre Penetrationsgeschwindigkeit maßgeblich ist. Liposome unter 30 nm diffundieren schneller als große, multilamellare Vesikel. Im Gegensatz dazu bestätigen Röding und Ghyczy (300) in einer vierwöchigen Studie keinen schnelleren Transport für kleinere Liposomen (150-200 nm). Mit mehrschichtigen Liposomen größeren Durchmessers (ca. 200 nm) wurde schneller eine maximale Hautbefeuchtung als vergleichsweise mit kleineren uni- oder multilamellären Liposomen (ca. 150 nm) erzielt.

Röding und Ghyczy (300) gelang mittels quantitativer Bestimmung radioaktiv markierte PC der Nachweis der Penetration von PL-Liposomen in das SC (100 mg/g Hornschicht). Auch Untersuchungen von Lasch et al. (301) zeigen, daß intakte Liposomen bis zur Hornschicht, aber nicht tiefer penetrieren. Verursacht durch die hohe Affinität und die Fusionsneigung von Soja-PC Liposomen in der Hornschicht, wird durch eine kosmetische Formulierung ausschließlich diese Schicht in ihren Eigenschaften beeinflusst (240, 291). Neben den Verbesserungen der Hautrauhigkeit und Hautfeuchtigkeit wird dem SC eine verbesserte Akkumulationskapazität für lipophile Verbindungen verliehen (240).

Im Gegensatz dazu wurden von Egbaria et al. (302) Hinweise gefunden, daß intakte Liposome die Lipidbarriere überwinden können. Allerdings resultiert das Ergebnis aus tierexperimentellen Untersuchungen an haarlosen Meerschweinchen und Mäusen, denen cholesterinhaltige PL-Liposomen appliziert wurden. Weiterhin belegt eine Studie an Schweinehaut von Artmann et al. (303) die Penetration von Liposomen sowohl bis in die Epidermis als auch in die Dermis. Hier wurde ein 10%-iges Liposomenkonzentrat

(hochungesättigte PL mit einer Fettsäurebesetzung von ca. 70% Linolsäure) mit monoklonalen Antikörpern beladen. Nach 20minütiger Applikation ist der Antikörperkomplex, der per se nicht in der Lage ist in die Haut einzudringen, durch Anfärbung in den tieferen Hautschichten nachgewiesen worden.

Hwang et al. (259) konnten aufzeigen, daß die topische Anwendung von Triamcinolone, eingeschlossen in Liposome, eine drei bis vier mal höhere Konzentration in der Haut nach 5 Tagen ergibt im Vergleich zu einer Salbenformulatur ohne Verkapselung des Wirkstoffes. Für diese beiden Anwendungsformen lagen ähnliche systemische Konzentrationen vor.

Die chemische Struktur der zur Anwendung kommenden PL scheint einen maßgeblichen Einfluß auf die Interaktion mit der Hornschicht und das Penetrationsverhalten der Liposome zu nehmen. Esser et al. (304) wiesen bereits 1972 auf die Resorption hochungesättigter, aber nicht liposomaler PL hin. Gesättigte, liposomale PL mit kürzeren Fettsäureketten (305) und Niosome (306) verbleiben im Gegensatz dazu in der Hornschicht. Junginger et al. (297) konnten feststellen, daß die Applikation von PL zu einer Fluidisierung der Hautlipide führt, wobei flüssigkristalline Lamellarstrukturen bessere Interaktionen als kristalline Strukturen zeigten. Da Sphingosome kristallinen Charakter ausweisen, werden derart gute Wechselwirkungen mit Hautlipiden bezweifelt. Neben der flüssig kristallinen Struktur beeinflusst ebenfalls der lipophile Charakter der PL die Interaktion der Liposome mit den Hautlipiden. Bouwstra et al. (2307) bestätigen mit ihrer Untersuchung, daß mit zunehmender Lipophilie der Liposomenbestandteile mehr Interaktionen mit den Hautlipiden eintreten.

In vitro-Experimente von Blume et al. (290) zeigen bei Wechselwirkung der PL mit SC-Modell-Lipiden eine Vermischung der Lipid-Komponenten auf. Es wird vermutet, dieses Phänomen könnte auch in vivo eintreten und zu stärker hydrierten Lipidschichten führen. Die strukturellen Veränderungen bewirken die Ausbildung vornehmlich gestapelter, abgeflachter Vesikel, so wie sie auch im Stratum granulosum existent sind. Durch die interlamellare Bindung können Löcher in den Lipidschichten entstehen, die ihrerseits das Eindringen anderer Lipidvesikel in tiefere Hautschichten begünstigen. Der Mechanismus ist spekulativ. Es kann aber in Erwägung gezogen werden, daß eine

lokale Vermischung applizierter PL mit den Lipiden des SC möglich ist, wobei dieser Prozeß u.a. von der Zusammensetzung der Liposomen sowie der Lipidschichten abhängig zu sein scheint. Dadurch wird verständlich, daß differente kosmetische Formulierungen auch unterschiedliche Penetrationseigenschaften zeigen.

### Wechselwirkungen mit der Epidermis

Junginer et al. (297) schließen zwar gänzlich aus, daß in vivo intakte Liposome die Barriere des SC über die inter- oder intrazelluläre Route (257) Route durchdringen, ziehen jedoch eine Penetration über die Hautanhangsgebilde („shunt routes“) bis zur lebenden Epidermis durchaus in Betracht, die in vivo durch Tierversuche auch gezeigt wurde (48, 258). Allerdings ist die Menge der Vesikel die über diese Routen diffundieren überaus klein.

Der Nachweis von radioaktiv markiertem Lecithin 30 Minuten nach Applikation in der Epidermis und 300 Minuten nach Applikation in der Dermis gelang Wohlrab et al. (308). Mezei (309) glaubt dabei an eine Penetration unveränderter intakter Liposome durch die Hornschichtbarriere, wohingegen Gehring et al. (218) vermuten, daß Liposome nur fragmentarisch lebende Epidermisschichten erreichen.

Eine in vivo-Untersuchung mit 22 Probanden bestätigt diese Annahme (310). Es wurden drei verschiedene Formulierungen mit Leerliposomen (Durchmesser von ca. 220 nm) 30 Minuten okklusiv aufgetragen. In verschiedenen Zeitabständen (30, 60, 90, 120 Minuten) ist die Durchblutungssituation beurteilt worden. In allen Fällen kam es zu einer Abnahme der Durchblutung (das Maximum wurde nach 90 Minuten erreicht). Die isolierte Okkludierung durch Applikation einer klassischen Rezepturgrundlage hat keinen vergleichbaren Effekt erbracht. Die Autoren bezeichneten dieses Ergebnis als einen Beweis für zumindestens eine fragmentarische Überwindung des SC, die die Voraussetzung für eine vaskuläre Antwort ist.

Im Fall einer Penetration der fragmentarischen oder intakten Liposomen in die lebenden Epidermisschichten kann die chemisch gebundene Linolsäure die Funktion der Talgdrüsen unterstützen, indem die Komedonenbildung gehemmt wird (241, 310).

Entscheidend ist deshalb nach Umbach (311) für die Auswahl des Liposoms seine chemische Fettsäurezusammensetzung, zumal topisch applizierte gesättigte Fettsäuren komedogen wirken.

### Wechselwirkungen mit der Dermis

Laut Junginger et al. (297) können effektive Wechselwirkungen von Liposomen mit der humanen Dermis nicht erwartet werden; vereinzelt können aber kleine unilamelläre Vesikel entlang der Hautanhangsgebilde die Dermis erreichen. Lautenschläger (241) erwähnt in diesem Zusammenhang die mögliche Synthese weiterer hochungesättigter Fettsäuren. Beispielsweise entsteht aus der Linolsäure, die zunächst durch Phospholipasen freigesetzt wird, über  $\gamma$ -Linolensäure und Dihomo- $\gamma$ -Linolensäure die Arachidonsäure mit ihren Metaboliten, und aus  $\alpha$ -Linolensäure über Eicosapentaensäure die Docosahexaensäure und ihre Metabolite. Inwieweit sich hieraus Ansätze zur lokalen Therapie verschiedener Hautkrankheiten ergeben, bleibt noch offen.

### 6.1.8.3 Sicherheit liposomaler Produkte

Nach Gareiß et al. (240) ist unter Bezugnahme auf die Untersuchungen von Braun-Falco et al. (291) widerlegt, daß liposomale Formulierungen durch die Epidermis diffundieren. Die Autoren gehen davon aus, daß mit systemischen Effekten und Nebenwirkungen nicht zu rechnen ist.

Bereits 1986 haben Komatsu et al. (305) publiziert, daß als liposomale Dispersion formulierte Parabene die Haut weniger penetrieren, als dies für nicht-liposomale Formen beobachtet werden konnte.

Auch die auf dem dermatologischen Markt befindliche liposomale Form des Antipilzmittels Econazol (Pevaryl-Lipogel, Cilag) macht sich die erhöhte Produktsicherheit und Verbesserung des therapeutischen Index einer auf Soja-PC basierenden Formulierung zunutze (240). Aufgrund der weit zurückreichenden Historie von pharmazeutischen Anwendungen hochaufgereinigter PC aus der Sojabohne ist ebenfalls ein hohes Maß an Produktsicherheit gegeben. Beispielsweise wird auf PL-Basis formuliertes Heparin für die topische Therapie der Thrombophlebitis seit Jahren vermarktet. Zusätzlich liegen unzählige Daten aus klinischen Studien vor, selbst für die parenterale Anwendung von Soja-PC-Applikationsformen, ohne daß sich Anhaltspunkte auf Toxizität oder unerwünschte Begleiteffekte ergeben (240).

Die Unbedenklichkeit von Lecithin wird für Parnham et al. (312) ebenfalls dadurch bestätigt, daß die Weltgesundheitsorganisation (WHO) keine ADI-Werte (Acceptable Daily Intake) für Lecithin als Lebensmittel festlegt. Soja-PC entspricht den hierbei festgelegten Charakteristika auch im Hinblick auf die von der FDA (Food and Drug Administration) festgelegten Normen, und sie erhalten daher den sogenannten GRAS-Status (Generally Recognized As Safe). Auch in der EG unterliegen Lecithin und die der Monografie E 322 entsprechenden Lecithin-Fractionen keinerlei Restriktionen bei der Anwendung im Lebensmittel- und Kosmetikbereich (240).

### 6.1.9 Untersuchungsergebnisse der Anwendung liposomaler Formulierung in der Kosmetik

Auf die Frage, *welche Liposomen am besten für kosmetische Anwendungen geeignet sind*, kann bis heute keine allgemeingültige Antwort gegeben werden. In den letzten Jahren wurde in der Liposomentechnologie besonders auf die Entwicklung von Liposomen mit *hoher Beladungseffizienz* (205) sowie auf die *optimale Inkooperation hydrophiler Aktivstoffe* hingearbeitet (205, 207), was für die Verbesserung konstitutioneller Hautveränderungen erfolgversprechend zu sein scheint. Durchgesetzt haben sich für kosmetische Anwendungen mittlere Liposomengröße von 100 - 500 nm, die als besonders geeignet angesehen werden, um tief in die Hornschicht zu penetrieren (301), sowie der Gebrauch von „fluid-state“ Liposomen auf der Basis von Soja-PL.

PL sind per se hygroscopisch und führen zu einer Wasserbindung. Nach Gareiß et al. (216, 240) und anderen Autoren (205, 312 - 315) ist aufgrund der hohen Affinität von auf Soja-PC basierenden Liposomenformulierungen zur Haut eine natürliche Möglichkeit gefunden, die Hautfeuchtigkeit signifikant zu erhöhen und über eine Plastifizierung der Hornschicht das Hautoberflächenprofil zu glätten. Darüber haben Linol- und Linolensäure eine wichtige Funktion bei dem Aufbau und der Erhaltung der Lipidbarriere (314). Einerseits dienen sie als Vorläufermodel für die Synthese wichtiger Signalstoffe, die sowohl die Zellproliferation als auch die Zellaktivität steuern. Auf der anderen Seite sind sie nach Hansen et al. (3147) unerlässlich für die Synthese von Acylglycosylceramiden, die bekanntlich durch ihre Funktion als „molekulare Nieten“ die Ausbildung abgeflachter Lipidvesikel und der daraus entstehenden lamellaren Lipidstruktur zur Ausbildung der Barrierschicht im SC ermöglichen. Vor allem die im klinischen Bereich beobachteten Vollbilder krankhafter Hautveränderungen (vgl. Akne, atopisches Ekzem) zeigen, daß eine ausreichende Versorgung der Haut mit essentiellen Fettsäuren eine Grundvoraussetzung für eine intakte Lipidbarriere und einen normalen Lipidstoffwechsel sind (314).

Aus diesem Grund werden Liposomenformulaturen in der Kosmetikpraxis häufig für *feuchtigkeitsarme, sebostatische und atrophische Haut* eingesetzt.

Der Gehalt von Liposomen in flüssigen Dispersionen reicht normalerweise von 0,1% bis 10%. Die Liposomenkonzentration in solchen Dispersionen kann ebenfalls ausgedrückt werden als Prozent des eingekapselten Flüssigkeitsvolumens. Aus diesem Grund ist Vorsicht bei dem Vergleich der Konzentrationen verschiedener Liposomendispersionen geboten.

### Messungen der Hautfeuchtigkeit / Wasserbindungskapazität

Artmann et al. (298) nahmen für eine klinische Kurzeitstudie mit 10 hautgesunden Probanden drei vergleichbare Liposomenformulaturen unterschiedlicher PL-Zusammensetzung (PC, PE, PA, PI, N-Acetyl-Phosphatidethanolamine) und eine Kochsalzlösung als Referenz. In verschiedenen Zeitabständen (30, 60, 120 und 180 Minuten) nach einmaliger Applikation auf die volaren Unterarme wurde die Hautfeuchtigkeit mittels Corneometrie bestimmt. Es zeigte sich, daß der Hydratationseffekt von Liposomen essentiell von ihrer Zusammensetzung abhängt. Die signifikante, aber temporäre Erhöhung der Hautfeuchtigkeit für die mit Soja-PC angereicherte liposomale Probe, läßt sich nach dem Autor durch die hohe Bindungsaffinität der Cholingruppe für Wasser erklären. Lecithine bzw. Lecithinfraktionen mit einem natürlichen oder subnormalen PC-Gehalt führten hingegen zu keiner Verbesserung der Hautfeuchtigkeit. Ein Präparat mit relativ hohem Anteil an Phosphatidylinositol (negativ geladen) verursachte sogar einen austrocknenden Effekt.

Röding et al. (233) berichten, daß es nach einer einmaligen Applikation von Liposomen auf der Basis von Soja-PL zu einer Akkumulation im SC kommt, was nach Jakobs et al. (316) und Ghyczy et al. (313) den Transport aktiver hydrophiler Substanzen erleichtert. Die Langzeiteffekte von ungeladenen Liposomen mit unterschiedlicher Größe und Anzahl der Bilayermembranen wurden von Röding et al. (233) und Ghyczy et al. (313) über einen Zeitraum von 4 Wochen auf dem volaren Unterarm bei 20 Probanden evaluiert. Die Applikation der Produkte erfolgte zweimal täglich (1,2 mg/cm<sup>2</sup>). Der

Hydrationsstatus wurde jeweils 30 Minuten nach der Applikation abermals mittels Corneometrie ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, daß

- ⇒ PC am stärksten die Hautfeuchtigkeit ansteigen lassen;
- ⇒ der maximale Effekt bei zweimaliger Applikation pro Tag sich bereits nach ca. 7 Tagen einstellt;
- ⇒ 2 Tage nach der letzten Applikation die Hautfeuchtigkeit langsam wieder absinkt;
- ⇒ mit multilamellaren Liposomen schneller das Maximum der Hydratation erreicht wird;
- ⇒ ein schnellerer Transport kleinerer Liposome nicht festgestellt werden kann.

Die hautfeuchtigkeitsverbessernde Wirkung liposomaler, mit Soja-PC angereicherter Systeme konnte in diesen Fällen verifiziert werden. Um zusätzlich den Einfluß von Ethanol auf den Wassergehalt der Haut zu überprüfen, setzten die Autoren vergleichsweise Liposomen mit und ohne Ethanol ein, wobei aber kein Einfluß deutlich wurde. Darüber hinaus zeigten die Autoren anhand der mittleren Rauigkeitstiefe (Rz-D), daß infolge der verbesserten Befeuchtung des SC gleichsam eine Hautglättung eintritt.

Gehring/Gloor (296) gingen der Frage nach, inwieweit eine einmalige oder repetitive Anwendung eines liposomalen Gels mit multilamellären Liposomen (durchschnittliche Partikelgröße 200 nm) die Hydratation des SC beeinflusst. Die Bestimmung der Hornschichtfeuchtigkeit nach einmaliger Anwendung und die der Wasserbindungskapazität nach repetitiver Anwendung erfolgte an unterschiedlichen Probandenkollektiven. Für die Untersuchung der SC-Feuchtigkeit (über 4 Stunden nach der Applikation) wurde vergleichend NaCl aufgetragen. NaCl und das liposomale Gel verursachten nach 15 Minuten einen maximalen Anstieg der Hautfeuchtigkeit, wobei die Werte für die mit dem liposomalen Gel behandelten Hautstellen signifikant über den Werten von NaCl lagen. 30 Minuten nach der Applikation von NaCl entsprach die Feuchtigkeit des SC wieder den initialen Werten, wohingegen die Werte nach 30 und 60 Minuten für das Gel noch signifikant über denen des NaCl lagen. Hinsichtlich der Wasserbindungskapazität konnte kein signifikanter Einfluß des Gels nachgewiesen werden.

Garcia-Anton et al. (205) untersuchten die feuchtigkeitsspendende Wirkung plurilamellarer Multivesikel (PML) aus Sojabohnenlecithin im Vergleich zu Standard DRV (Dehydration Rehydration Vesikel) und MLV (Multilamellare Vesikel) in unterschiedlichen Formulierungen. Bei PMLs handelt es sich um hoch beladene Liposomen, die mit einem hydrophilen Polymer ummantelt sind, das die Aggregation der Vesikel verhindern und eine Stabilität in verschiedenen Emulsionsgrundlagen sicherstellen soll. In dieser Untersuchung wurden unterschiedliche, mit Liposomen beladene Formulierungen (Carbomer, O/W-, als auch W/O-Emulsion, Hispagel 200) bei 10 hautgesunden Probanden am volaren Unterarm eingesetzt. Die Messungen wurden mit dem Corneometer® (CM 820) sowie mit dem Tewameter® (TM 810 PC) bei W/O-Emulsionen durchgeführt. Die Ablesungen erfolgten 0,5, 1, 1,5, 2,3 und 4 Stunden nach einer einmaligen Applikation. Die Resultate zeigen, daß bei einer Dispergierung in Hispagel der maximale Anstieg der Feuchtigkeit nach einer Stunde eintrat, wobei dieses Level vier Stunden konstant blieb. Die höchsten Werte erzielten plurilamellare Multivesikel. Bei den Formulierungen, in denen die Liposomen in einer Mischung von Acrylpolymeren (Carbomer) oder aber in Polysaccharidpolymeren (Xanthan Gum, Hydroxypropylmethylcellulose, Carageen) dispergiert waren, erzielten PML und MLV eine maximale Hydratation nach einer Stunde, wohingegen bei DRV das Maximum bereits nach 30 Minuten auftrat. Abermals blieben die Feuchtigkeitslevel über vier Stunden konstant. In beiden Formulierungen zeigten PMLs die höchsten Werte. Bei Anwendung einer O/W-Grundlage zeigten PMLs im Vergleich zu den anderen Liposomen deutlich höhere Feuchtigkeitswerte über vier Stunden.

Wichrowski et al. (315) evaluierten die Moisturizer-Effekte verschiedener kosmetischer Formulierungen bei hautgesunden Probanden am Unterarm. Zur Messung wurden zwei nicht-invasive Hautfeuchtigkeitsmeßgeräte (Corneometer versus Fourier Transform Infrarot Spektroskopie) eingesetzt, deren Ergebnisse in dieser Studie gute Übereinstimmung zeigten. Die Messungen erfolgten nach einmaliger Produktapplikation (Massage für 35 Sekunden) nach 0,5, 1, 2, 3, 5, 7 oder 8 Stunden. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

- ⇒ *Produkt 1* (leichte O/W-Emulsion mit Glycerin und Propylenglykol): Kein ausgeprägter Hydratationseffekt, das Maximum wurde nach 2 Stunden erreicht und sank nach 5 Stunden auf den Ausgangswert zurück.
- ⇒ *Produkt 2* (konzentrierte NMF-Liposomenlösung; formuliert als „Effekt-Gesichtsmaske“): Gleicher Hydratationseffekt wie Produkt 1, allerdings ein Kurzzeiteffekt, Werte erreichen nach zwei Stunden wieder Baseline.
- ⇒ *Produkt 3* (O/W-Nachtcreme mit - im Vergleich zu Produkt 2 - geringerem NMF- und Liposomenanteil, aber zusätzlich Harnstoff und Polyglycerylmethacrylaten): Höchster Hydratationseffekt und am längsten anhaltend; erst nach acht Stunden Abfall auf ein Level, daß bei Produkt 1 und 2 als Maximalwert gemessen wurde.

### Messungen der Hautrauigkeit

Ghyczy und Blitz (317) untersuchten den Einfluß von PL-Liposomen mit geringem und höheren PC-Gehalt auf die Hautrauigkeit bei 20 Probanden im Vergleich zu einer Basiscreme. Die Applikation erfolgte über 28 Tage zwei mal täglich. An den Tagen 0, 3, 7, 14, 28 und 30 wurde die Hautrauigkeit zwei Stunden nach Applikation der Präparate gemessen (Skin-Episcope CD 200). Die Basiscreme hatte nur am dritten Tag einen hautglättenden Effekt, wohingegen ein deutlicher hautglättender Effekt der liposomalen Formulierung mit relativ geringem PC-Gehalt bis zum siebten Tag gemessen werden konnte, der jedoch im weiteren Verlauf der Studie abnahm und zwei Tage nach der Behandlung nicht mehr nachweisbar war. Die Liposomen mit einem relativ hohen PC-Gehalt zeigten einen anderen Wirkungsverlauf. Ab dem siebten Tag wurde die hautglättende Wirkung der liposomalen Formulierung besonders deutlich und hielt bis zum Ende der Behandlung an. Am dritten Tag war die Wirkung allerdings ähnlich der Basiscreme und lag deutlich unter der Wirkung der liposomalen Formulierung mit geringerem PC-Gehalt.

### Messungen des TEWL

Schöbel (318) untersuchte den Einfluß von zwei verschiedenen Liposomendispersionen mit einer mittleren Teilchengröße von 300 nm in unterschiedlicher Applikationsmenge auf den TEWL bei 10 hautgesunden Probanden (Durchschnittsalter ca. 25 Jahre) am

volaren Unterarm. Die Anwendung erfolgte über 6 konsekutive Tage. Täglich fand nach Auftragen der Produkte über zwei Stunden alle 10 Minuten eine Messung des TEWL (Evaporimeter EP1) statt. 4, 8 und 12 Stunden nach der Anwendung wurden erneut TEWL-Messungen durchgeführt. Die liposomalen Formulierungen erhöhen bei längerer Anwendung signifikant die Permeabilität der Haut für Wasser. Dabei ließen sich sowohl qualitative als auch quantitative Abhängigkeiten nachweisen. Die Applikation der Liposomen (NAT, PDS) bewirkte zunächst eine Verringerung des TEWL und unterstützt mit diesem Ergebnis die These, daß es zu einer Lipophilisierung der Haut und damit Verringerung des Wasserverlustes kommt. Bei längerer Behandlungsdauer erhöhten hingegen die Liposomendispersionen im Vergleich zur Kontrolle den TEWL signifikant. Geschlußfolgert wird eine Interaktion mit dem SC, die einen stärkeren Wasserverlust verursacht.

#### Messungen der Hautdurchblutung

Gehring et al. (316) untersuchten drei verschiedene, für 30 Minuten okklusiv applizierte Leerliposome an der Volarseite der Unterarme bei 22 Probanden. Es handelte es sich um oligolamelläre Liposomen mit einer Teilchengröße von ca. 220 nm. Die Liposome kamen als 3%-ige PL-Fraktionen in wäßriger Dispersion zur Anwendung. Ohne Ausnahme haben alle Leerliposomen zu einer Abnahme der corealen Durchblutung geführt, wobei das Maximum bereits nach 90 Minuten erreicht wurde. Die Messung erfolgte mit der Laser-Doppler-Flowmetrie (Periflux PI 2, Fa. Servomed, Schweden). Ein vergleichbarer Effekt konnte durch alleinige Okklusion oder durch 30minütige Anwendung einer klassischen Rezepturgrundlage nicht erzielt werden. Vergleichend wurde die Basiscreme DAC untersucht. Aus der Untersuchung wurde als Fazit gezogen, daß Liposome zumindestens fragmentarisch die Barriere überwinden und in die lebende Epidermis gelangen.

#### Messungen des Lichtschutzes

Thiele et al. (319) prüften mittels Ultraviolett-B induzierter Erythembildung bei Patienten unterschiedlicher Hautzustände die Wirkung von topisch applizierten Liposomen und

kamen zu dem Ergebnis, daß liposomal behandelte Haut eine geringere Erythembildung aufzeigt.

Die folgenden Tabellen (siehe Tabelle 32-33) geben einen kurzen Überblick der wesentlichen Ergebnisse aus in vivo-Untersuchungen der letzten Jahre wider. Die Untersuchungen sind in Hinblick auf die unter 6.2 relevante Fragestellung nach der Wirksamkeit liposomaler Hautpflegeprodukte auf die Hautfunktionen (nach einmaliger oder repetitiver Anwendung) ausgesucht worden. In diesem Kontext waren besonders Studien von Interesse, welche auf die Prüfung der Barrierefunktion (Meßparameter: transepidermaler Wasserverlust), der Hautfeuchtigkeit (Meßparameter: Kapazität, Leitfähigkeit oder Impedanz) (siehe Kapitel 4.2) oder Hautviskoelastizität abzielten. Weiterhin wurde sich auf die Untersuchungen beschränkt, in denen in einem intraindividuellen Vergleich am volaren Unterarm die Wirksamkeit der Liposome in Abgrenzung zum Grundlageneffekt, Referenzprodukt oder einer Leerkontrolle evaluiert wurde.

Ein Anspruch auf Vollständigkeit kann nicht erhoben werden.

Tabelle 32: Kosmetische in vivo-Studien mit Liposomen.

Parameter	Liposomenformulierung	Vergleichspräparat	Ergebnisse	Autor
<b>Hautfeuchtigkeit Wasserbindungs- kapazität</b>	Nat 106, 50, 89	Kochsalzlösung	Abnahme des Hydratationseffektes mit abnehmendem PC-Gehalt der Liposomen; lipophile Anteile der PL-Fractionen erhöhen die Hautfeuchtigkeit.	Artmann et al., 1990 (298)
<b>Hautdurchblutung</b>	3 verschiedene Leerliposome: Phospholipon 80; NAT 50; Phospholipon NCP 45	Okklusion DAC-Basiscreme	Alle Leerliposomen führen zur Abnahme der corealen Durchblutung; Maximum wird nach 90 Min. erreicht; weder alleinige Okklusion noch Basiscreme bringen vergleichbare Ergebnisse	Gehring et al., 1990 (320)
<b>Hautrauhigkeit</b>	Natipide II; Phorsal 75 SA	DAC-Basiscreme	Liposomale Formulierung zeigt deutlichen hautglättenden Effekt; Liposomen mit unterschiedlichem PC-Gehalt zeigen differente Wirkungen	Ghyczy et al., 1991 (252)
<b>Hautfeuchtigkeit</b>	NAT 108; 50; 89	leere Kontrolle	Deutliche Erhöhung der Hautfeuchtigkeit; maximaler Effekt nach 7 Tagen; MLV bewirken schneller eine maximale Hautbefeuchtung; schnellerer Transport kleiner Liposome ist nicht feststellbar.	Röding et al., 1991 (300)
<b>Hautfeuchtigkeit/ Wasserbindungs- kapazität</b>	MLV; NAT 8257	Kochsalzlösung	Deutliche Erhöhung der Hautfeuchtigkeit sowohl durch Liposome; als auch NaCl; länger anhaltender Feuchtigkeitseffekt nur durch das Liposomenpräparat; weder Verum noch Referenzprodukt haben Einfluß auf die Wasserbindungskapazität der Haut.	Gehring et al., 1993 (296)
<b>Lichtschutz</b>	Natipide II	Leere Kontrolle	Liposomal vorbehandelte Haut zeigt eine geringere Erythembildung	Thiele et al., 1993 (319)

Tabelle 33: Kosmetische in vivo-Studien mit Liposomen.

Parameter	Liposomenformulierung	Vergleichspräparat	Ergebnisse	Autor
<b>Hautfeuchtigkeit</b>	Wäßrige NMF-Liposomenlösung (20% NMF, 10% Liposomen, 10% Butylen Glykol, 61,5% Wassergehalt (total)); O/W-Nachtcreme: 13% NMF, 0,6% Liposome, 12% Polyglycerylmethacrylate, 3,5% Butylen Glykol, 5% Harnstoff, 44% Wasser	leichte O/W-Emulsion mit Glycerol und Propylenglykol	O/W-Emulsion ohne Liposome u. konz. Liposomenlösung verbessern die Hautfeuchtigkeit nicht signifikant; Liposomenlösung zeigt nur einen Kurzeffekt: nach 2 Std. liegt wieder Baseline vor; Vergleichsemulsion erzielt erhöhte Hydratation über 5 Stunden; Nachtcreme steigert Feuchtigkeit am längsten; nach 8 Stunden Abfall auf ein Level, das dem Maximalwert der anderen Produkte entspricht.	Wichrowski et al., 1995 (315)
<b>TEWL</b>	Phospholipon 90/90 G; Phorsal, Nat-50-PG (Kombipack)	leere Kontrolle	Zunächst Verringerung des TEWL; längere Liposomenanwendung steigert Durchlässigkeit der Haut für Wasser; durch Interaktion mit dem SC stärkerer Wasserverlust; Barriereeinfluß abhängig von Zusammensetzung der PL.	Schöbel, 1995 (318)
<b>Hautfeuchtigkeit</b>	Plurilamellare multivesikuläre Liposomen (PML), hoch beladen, mit hydrophilem Polymer ummantelt -	Standard DRV MLV (in unterschiedlichen Formulierungen)	Beladene PML (dispergiert in Hispagel) steigern Hautfeuchtigkeit am stärksten; deutlicher Anstieg des Feuchtigkeitslevels über 4 Stunden nach einmaliger Applikation der Liposomenformulierungen; Multivesikel zeigen insgesamt die besten Resultate.	Garcia-Anton et al., 1996 (205)
<b>TEWL, Barrierefunktionstest (Penetration von Nikotinsäureamid)</b>	Ceramide in Liposomen	Ceramide in O/W- und W/O-Emulsion (einmalige Applikation)	Einfluß auf Barrierefunktion hängt vom Hautzustand und der Vehikelwahl ab; Stabilisierung der Barriere nur bei primärer Schädigung (Atopiker) oder sekundärer Schädigung durch Lipidextraktion; W/O-Emulsion ist als Vehikel ungeeignet; liposomale Ceramide in der O/W-Emulsion führen zu rascherem Anstieg der SC-Feuchtigkeit.	Gehring, 1997 (182)



## 6.2 EXPERIMENTELLER TEIL

### 6.2.1 Hintergrund

Bei kosmetischen Pflegeprodukten, deren Wirksamkeit auf der Packung ausgelobt werden soll, verlangt der Gesetzgeber einen Wirknachweis. Ein wichtiges Kriterium für Pflegeprodukte ist ihre hautbefeuchtende und viskoelastizitätsbeeinflussende Wirkung, die in der vorliegenden Studie für zwei Präparate (Liposomencreme versus Feuchtigkeitsemulsion) mit neu entwickelten sowie bereits validierten Hautmeßgeräten im Vergleich untersucht wurde. Die Dicke des SC ist ein weiterer, im Rahmen kosmetischer Wirknachweise wichtiger Parameter. Von einem der neu entwickelten Geräte wird angenommen, daß es Aussage über die Hornschichtdicke liefert.

Die Prüfung ergab eine gute Möglichkeit, die Anwendungseigenschaften eines optischen Bilddokumentationssystems unter den Bedingungen einer klinischen Studie zu untersuchen. Aus diesem Grund wurde zu beiden Meßzeitpunkten eine Bilddokumentation der Meßfelder vorgenommen.

Durch einen intraindividuellen Vergleich wurde mit allen verwendeten Prüfmethode die Wirksamkeit der Liposomen (Verum, Prüfprodukt B) in Abgrenzung zum Grundlageneffekt (Vehikel, Prüfprodukt A), sowie das Vehikel im Vergleich zum unbehandelten Kontrollfeld untersucht und der Grad ihrer Wirksamkeit ermittelt. Aus der Literatur liegen vergleichbare Studien vor, die belegen, daß Liposomenpräparate gute hautbefeuchtende und hautglättende Eigenschaften besitzen. Hinweise auf Veränderungen der Viskoelastizität durch Liposomen wurden in der Literatur nicht gefunden. Aus diesem Grund wurde die viskoelastischen Eigenschaften der Haut hier explorativ untersucht.

Die Studie fand im Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung BioSkin in Hamburg-Poppenbüttel in den Monaten November bis Dezember 1997 statt. Alle Meßparameter wurden vor Behandlungsbeginn und 21 Tage nach repetitiver Applikation der Testprodukte durch die Probanden erhoben.

## 6.2.2 Prüfziel und Prüfhypothesen

Ziel der Studie war die Klärung, ob das liposomale Wirkprodukt und das Vehikel nach repetitiver Heimanwendung über 21 Tage die Hautfeuchtigkeit signifikant erhöhen und ob sie die Viskoelastizität beeinflussen. Für die Viskoelastizität der Haut wurden keine Hypothesen generiert, da es sich um einen explorativen Ansatz handelte. Allerdings wird von den Präparaten eine hautstraffende Wirkung angenommen. Im Cutometerbefund sollte nach 21 Tagen Anwendung der Präparate im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle das Verhältnis der elastischen im Vergleich zur plastischen Hautverformung zunehmen.

Untersuchungsgegenstand dieser Studie war weiterhin die Evaluierung der neu entwickelten Meßgeräte MEF und MEDSC hinsichtlich ihrer Eignung zur Bestimmung der Wirksamkeit pflegender Kosmetik im Anwendungstest. Dabei war zu überprüfen, inwieweit die beiden Neuentwicklungen sowohl miteinander als auch mit anderen validierten Meßverfahren korrelieren. Das Gerät zur Hautdickenprüfung (MEDSC) wurde in dieser Studie mitgeprüft, um den Einfluß der Hautfeuchtigkeit auf die Dickenmessung zu untersuchen. Beim Bilddokumentationssystem (Beauty Scope) wurden die Anwendungseigenschaften unter den Bedingungen einer klinischen Studie untersucht.

## 6.2.3 Nutzen-Risiko-Abwägung

Bei der topischen Applikation der hier untersuchten Formulierungen waren keine spezifischen Nachteile oder Risiken bekannt, die über das grundsätzlich immer vorhandene Risiko einer Unverträglichkeitsreaktion bei bestehender Vorsensibilisierung gegen Bestandteile der Formulierung hinausgehen. Der Nutzen für den späteren Verbraucher, ein Produkt mit nachgewiesener Wirkung zu erhalten, überwiegt nach heutigem Kenntnisstand die potentiellen Risiken der Untersuchung. Die Durchführung der Prüfung wurde deshalb als ethisch vertretbar angesehen.

## 6.2.4 Design

Es handelte sich um eine doppelblinde, placebokontrollierte, randomisierte Prüfung mit intraindividuellem Vergleich von zwei Prüfpräparaten und zwei unbehandelten Prüffeldern. Die Produktapplikation fand auf den volaren Unterarmen statt. Die Zuordnung der Behandlungen zu den Prüfarealen erfolgte nach einem Permutationsschlüssel individuell für jeden Probanden, wobei das Vehikel immer auf dem kontralateralen Feld geprüft wurde. Alle Probanden erhielten die gleichen Behandlungen. Eine Unterteilung in Untergruppen erfolgte nicht.

Danach erhielt jede Probandin die mit Produktcode und Testareal gekennzeichneten Prüfprodukte zur Heimanwendung. Am 22. Tag wurde am Morgen kein Produkt mehr appliziert, und es erfolgten 12 bis 16 Stunden nach der letzten Produktapplikation die Hautmessungen.

## 6.2.5 Material

Die Prüfprodukte wurden im Herbst 1997 im Labor des Kosmetik Kontors, Wedemark im 5 kg Ansatz gefertigt. Bei dem Vehikel (Prüfprodukt A) handelt es sich um eine handelsübliche Feuchtigkeitsemulsion (O/W-Emulsion), von der 20% der Wasserphase durch eine angereicherte Liposomendispersion (Lipocutin®AQ) im Wirkprodukt (Produkt B) ausgetauscht wurde (siehe Tabellen 35 und 36: Produktdaten der Prüfprodukte).

Lipocutin®AQ (Firma Henkel, Düsseldorf) stellt eine Nachahmung einer Biomembran auf der Basis des pflanzlichen Rohstoffes Sojalecithin dar. Zur physikalischen Stabilisierung wurden das in Hautmembranen vorkommende Cholesterol, Dicytylphosphat und  $\alpha$ -Tocopherol eingesetzt. Nach Angaben des Herstellers enthält Lipocutin®AQ Liposomen in der Größenordnung von 100-500 nm, der Hauptanteil liegt bei ca. 200 nm. Ein Nachweis wurde durch Photonenkorrelations-Spektroskopie erbracht (321). Eine Beladung erfolgte mit Aquaderm®, einem Feuchthaltefaktor, der auf den wasserbindenden Eigenschaften des Lactat-Pyroglutaminat-Komplexes aufbaut. Wichtigste Bestandteile sind das Natriumsalz der DL-2-Pyrrolidon-5-carbonsäure (entspricht Natrium PCA) und Natriumlactat. Die außerordentlich hohe Feuchtigkeitsaufnahme dieser Verbindung im Vergleich zu Sorbitol, Propylenglykol

und Glycerol wurde durch Untersuchungen über eine Anwendungsdauer von 50 Tagen nachgewiesen (322 - 324).

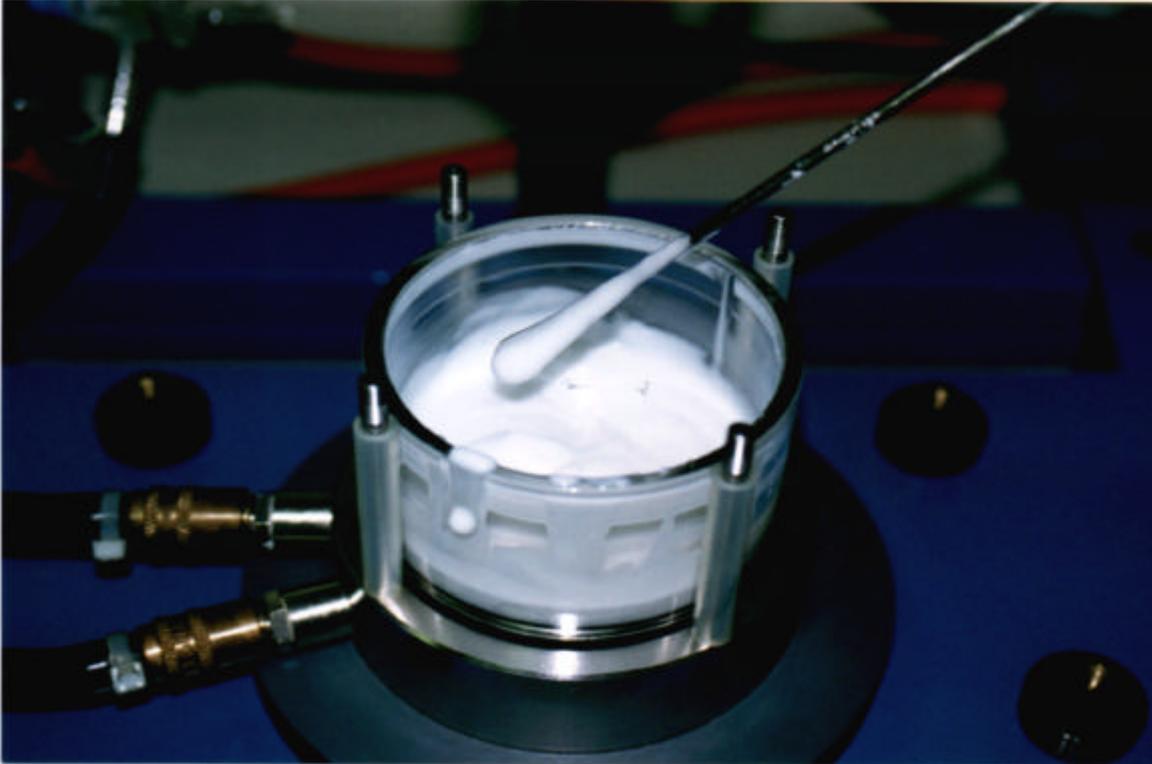


Abb.38: Konsistenzprobe der Liposomenformulatur nach Abkühlung der Emulsion auf 30°C (Rühren mit einem Laborreaktor für Laboransätze bis 250 g).

Lipocutin<sup>®</sup>AQ kann in Gele, Emulsionssysteme und alkoholische Lösungen eingearbeitet werden. Die Stabilität der Liposome wurde nach dem Beladen, nach Einarbeitung in verschiedene Formulierungen und nach Lagerung mit Hilfe der Negativkontrastierung mit Uranylacetat und anschließender Transmissionselektroskopie überprüft (321). Zur Erhaltung der Stabilität der Liposome wurde bei der Produktion der Prüfprodukte - gemäß Herstellerempfehlungen - darauf geachtet, daß vor einer Zugabe in die Emulsionsgrundlage die Temperatur von 30°C nicht überschritten wurde und der pH-Wert in einem Bereich von 5 - 7 lag, um eine Hydrolyse auszuschließen.

Tab.34: Rohstoffdaten zur Liposomendispersion Lipocutin®AQ.

	<b>LIPOCUTIN AQ</b>
Bestandteile nach INCI EU:	Water (and) Lecithin (and) Cholesterol (and) Dicetyl Phosphate
CAS-Nr.:	8002-43-5, 57-88-5, 2197-63-9, 122-99-6, 35691-65-7
Int. Standard:	JCID VI-17: Hydrogenated soybean phospholipid JSCI: Cholesterol
Qualitätskontrolldaten:	Trockensubstanz (105°): mind. 2,0% Asche: max. 0,6% PH-Wert (Konzentrat): 6,3-6,7
Zusätzl. Produktbeschreibende Kenndaten:	Liposomendurchmesser 100-500 nm Beladung: Feuchtigkeitsfaktor Aquaderm®; wichtigste Bestandteile: Na-Salz der DL-2-Pyrrolidon-5-Carbonsäure (INCI: Sodium PCA), Natrium-lactat
Herstellungsprozess:	Filmbildnermethode

Tab. 35: Produktdaten der Feuchtigkeitsemulsion (Vehikel, Prüfprodukt A).

	<b>FEUCHTIGKEITSEMULSION (VEHIKEL PRÜFPRODUKT A)</b>
Chargen-Bez.:	9710G1
pH-Wert:	7,0
Formulierung:	O/W-Emulsion
Verpackungsart:	Kunststoffiegel
Lagerung:	Zimmertemperatur
Haltbarkeit:	> 30 Monate
Bestandteile nach INCI:	Aqua, Glycerin, Coco-Caprylate/Caprates, Glyceryl Stearate, Octyldodecanol, Cetareth-20, Phenoxyethanol, Cetareth-12, Cetearyl Alcohol, Cetyl Palmitate, Carbomer, Sodium Hydroxide, Tetrasodium EDTA, Methylparaben, Ethylparaben, Butylparaben, Propylparaben, Isobutylparaben
Beschriftung:	Die Prüfprodukte wurden wie folgt beschriftet: 97916BS, Produkt XY, Proband Nr. XX (1 bis 48), YYY (Unterarm unten/oben, links/rechts)

Tab. 36: Produktdaten der Liposomencreme (Verum, Prüfprodukt B).

	<b>LIPOSOMENCREME (VERUM, PRÜFPRODUKT B)</b>
Chargen-Bez.:	9710G2
pH-Wert:	6,0
Formulierung:	O/W-Emulsion
Verpackungsart:	Kunststoffiegel
Lagerung:	Zimmertemperatur
Haltbarkeit:	> 30 Monate
Bestandteile nach INCI:	Aqua, Glycerin, Coco-Caprylate/Caprates, Glyceryl Stearate, Octyldodecanol, Cholesterol, Dicetyl Phosphate, Lecithin, Sodium Lactate, Sodium PCA, Cetareth-20, Phenoxyethanol, Cetareth-12, Cetearyl Alcohol, Cetyl Palmitate, Carbomer, Sodium Hydroxide, Tetrasodium EDTA, Methylparaben, Ethylparaben, Butylparaben, Propylparaben, Isobutylparaben, Methylidibromo Glutaronitrile
Beschriftung:	Die Prüfprodukte wurden wie folgt beschriftet: 97916BS, Produkt XY, Proband Nr. XX (1 bis 48), YYY (Unterarm unten/oben, links/rechts)

## 6.2.6 Probanden

An der Prüfung nahmen 48 weibliche Probanden mit gesunder Haut im Bereich der Testareale (Unterarme) teil. Die Probanden wurden entsprechend den festgelegten Ein- und Ausschlusskriterien ausgewählt. Jede Probandin verwandte 2 Testprodukte. Bei jeder Testperson wurde ein unbehandeltes Kontrollfeld mituntersucht.

### 6.2.6.1 Einschlusskriterien

Probanden, die in die Prüfung eingeschlossen wurden, mußten den folgenden Kriterien entsprechen:

- Weibliche Probanden mit einem Alter > 50 Jahre;
- Hautfeuchtigkeitswert, Corneometer  $\leq 75$  Einheiten;
- intakte gesunde Haut im Bereich der Prüfareale (Unterarme).

### 6.2.6.2 Ausschlußkriterien

Von der Prüfung waren Probanden auszuschließen, sobald sie eines der folgenden Kriterien aufwiesen:

- Alter unter 50 Jahre;
- Hautfeuchtigkeitswert, Corneometer  $\geq 75$  Einheiten;
- Sonnenbrand, Hyperpigmentierung, Keloide oder Tätowierung im Prüfareal;
- bekannte allergische Reaktionen auf die verwendeten Inhaltsstoffe der Prüfprodukte;
- Einnahme von systemisch oder örtlich wirkenden Medikamenten, die dem Prüfziel entgegenstehen bzw. es beeinflussen könnten, innerhalb von zwei Wochen vor Beginn der Prüfung;
- eine Anamnese, die auf Medikamenten- oder Alkoholmißbrauch hinweist;
- Träger von Hepatitis Antigen (HBsAG) oder ein positiver HIV-Test;
- schwere Erkrankung innerhalb der letzten vier Wochen vor dem Behandlungsbeginn;
- Schwangerschaft oder Stillperiode;
- wenn nach Meinung des Leiters der Prüfung oder des Arztes, der die Einschlußuntersuchung durchführt, eine Teilnahme an der Prüfung nicht erfolgen sollte.

### 6.2.6.3 Einschränkungen während der Prüfung

Weitere Pflegeprodukte oder andere Externa im Bereich der Testfelder waren drei Tage vor und während der gesamten Untersuchung nicht erlaubt. Weiterhin durfte keine Sonnen- oder Solariumbestrahlung der inneren Arme erfolgen. Bei notwendiger Einnahme von Medikamenten während der Prüfung entschied der Prüfarzt über eine weitere Teilnahme.

#### **6.2.6.4 Einschlußuntersuchung**

Bei Prüfungsbeginn wurde eine Anamnese (Medikamente, Erkrankungen) erhoben und eine dermatologisch klinische Untersuchung auf Eignung für die geplante Prüfung vorgenommen.

#### **6.2.6.5 Abschlußuntersuchung**

Eine klinische Abschlußuntersuchung wurde am letzten Prüfungstag durchgeführt.

#### **6.2.6.6 Gesetzliche Grundlagen und GCP**

Die Planung und Durchführung dieser klinischen Prüfung unterlag nicht den Bestimmungen der §§ 40 und 41 des deutschen Arzneimittelgesetzes, da es sich bei den Prüfpräparaten nicht um Arzneimittel im Sinne des AMG handelte. Die Prüfung wurde in Anlehnung an die Empfehlungen der Deklaration von Helsinki (i.d.F. von Hongkong, 1989) und die europäischen GCP-Richtlinien vom 11. 7. 1990 durchgeführt.

Jeder Proband erhielt detaillierte Informationen über Zweck und Ziel, Inhalt, Bedeutung und Ausmaß der Prüfung sowie über mögliche mit der Prüfung verbundene Risiken. Dazu stand eine ausführliche schriftliche Probandeninformation zur Verfügung. Zusätzlich wurde ein ärztliches Aufklärungsgespräch geführt, in dessen Verlauf die Probanden ausreichend Zeit und Gelegenheit erhielten, noch offene Fragen zu klären. Durch Unterschrift bekundeten sie ihre Bereitschaft zur Teilnahme an der Prüfung, die sie jederzeit und ohne persönliche Nachteile zu erfahren, widerrufen konnten. Qualitätskontrollen erfolgten nach den GCP-Richtlinien.

#### **6.2.6.7 Behandlungen**

Die Heimanwendung erfolgte morgens und abends eigenverantwortlich von den Probanden und wurde in die gewohnheitsmäßige Körperpflege integriert. Eine praxisgerechte Crememenge, d.h. eine Fingerkuppe voll (ca. 0,2 ml) wurde dem jeweiligen Tiegel entnommen, auf das in der Speziellen Probandeninformation

vermerkte Hautareal appliziert und mit dem Finger eingerieben. Zur weitgehenden Sicherstellung der Compliance erhielten die Probanden nach Beendigung der Studie eine angemessene Aufwandsentschädigung. Darüber hinaus wurden die Probanden am Tag der Produktausgabe gründlich in die korrekte Produkthanwendung eingewiesen. Die Produkte wurden mit den Anwendungsarealen beschriftet.

Die Testareale waren während der Anwendungsphase nicht markiert. Um das Areal zu finden, wurde der innere Unterarm zwischen Handwurzel und Ellenbeuge optisch in zwei Teile geteilt. Als unteres Areal wurde der untere Abschnitt der Unterarminnenseite bezeichnet (der Bereich in der Nähe des Handgelenks blieb ausgespart). Oberes Areal war der obere volare Unterarm (der Bereich in der Nähe der Armbeuge blieb ausgespart). Im Bereich zwischen den Arealen blieb ein Streifen von ca. 3 cm Breite (2 Finger breit) unbehandelt.

Beim Produktauftrag war zu beachten, daß die Testfelder genau einzuhalten waren, um Produktübertrag in das unbehandelte Kontrollfeld zu vermeiden.

#### **6.2.6.8 Permutation und Dekodierung**

Die Permutationsliste umfaßte die Probandennummern 1 bis 48. Probanden, die die Einschlußkriterien erfüllten, erhielten nach dem Zeitpunkt des Eintritts in die Prüfung in aufsteigender Reihenfolge ihre Probandennummer. Mindestens 42 Probanden sollten die Prüfung regulär beenden. Es wurden pro volarer Unterarmseite zwei Testfelder betrachtet, ein unbehandeltes Kontrollfeld und ein Prüffeld mit Produkt A bzw. B. Die vier Behandlungen wurden per Losverfahren den Buchstaben A bis D zugeordnet. Die Zuordnung findet sich in der Produktliste im Appendix B. Die Feuchtigkeitsemulsion (Vehikel) wurde immer auf der zugehörigen gegenüberliegenden Unterarmseite - kontralateral zum Wirkprodukt - geprüft.

Die Zuordnung zu den Testarealen erfolgte durch Randomisierung der Behandlungsbezeichnungen A bis D. Die Permutation wurde mit einem Softwareprogramm erstellt, welches jede Behandlung gleich häufig jedem der vier Testfelder zuordnete. Die vorgesehene Zuordnung wurde in einer Randomisierungsliste festgehalten und in einem Prüfungsordner in einen versiegelten Umschlag abgelegt. Nach Beendigung der Studie öffnete eine studienunabhängige Person den Randomumschlag nach der Datenanalyse und nahm die Dekodierung vor.

### **6.2.6.9 Drop outs**

Probanden, die während der Prüfung aus nicht prüfungsbedingten Gründen ausfielen, wurden durch nachrückende Probanden ersetzt, sobald die Gesamtzahl 42 unterschritt. Dabei erhielten nachrückende Probanden die Nummer der ausgefallenen Person addiert mit 100 und übernahmen deren Behandlungszuordnung. Die Daten jedes Drop out wurden erfaßt und berichtet, sie wurden jedoch nicht in die Auswertung einbezogen, da alle Meßdaten für einen intraindividuellen Vorher-Nachher-Vergleich benötigt wurden. Die Gründe für den Abbruch der Prüfung wurden im Ergebnisbericht aufgeführt. Prüfungsbedingt ausgefallene Probanden wurden nicht ersetzt.

## **6.2.7 Untersuchungsmethoden**

### **6.2.7.1 Methoden zur Probandensicherheit**

Spontan geäußerte Beschwerden wurden zeitlich im Verhältnis zur Applikation mit Dauer, Intensität und Wahrscheinlichkeit des Zusammenhangs mit der Prüfsubstanz dokumentiert. Traten in den Testfeldern unerwünschte Wirkungen auf, wurde die jeweilige Behandlung abgebrochen. Der Randomumschlag wurde jedoch nicht geöffnet, und die Zuordnung der unerwünschten Wirkung erfolgte erst nach Ende der Studie.

### **6.2.7.2 Kontrolle der Compliance**

Zur weitgehenden Sicherstellung der Compliance wurden die Probanden am Tag der Produktausgabe gründlich in die Produkthanwendung eingewiesen. Die Präparate wurden mit den Anwendungsarealen beschriftet. Alle Gebinde wurden vor der Ausgabe gewogen und am Testende nach 21 Tagen zurückgewogen, um den Verbrauch zu ermitteln und die Anwendungssorgfalt zu kontrollieren.

### **6.2.7.3 Akklimatisierung**

Die Prüfung fand in den Klimaräumen der Firma BioSkin, Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung in Hamburg, statt. Die Testpersonen wurden an jedem Meßtag bei  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  und  $40\% \pm 10\%$  relativer Luftfeuchtigkeit für 40 Minuten einklimatisiert. Während der Einklimatisier- und Meßzeit saßen die Probandinnen auf bequemen Stühlen und durften diese nicht verlassen. Erhöhte Feuchtigkeitswerte durch Schwitzen wurden durch diese Maßnahmen weitgehend vermieden.

#### **6.2.7.4 Hautmessungen**

##### **Corneometer**

Bei der Corneometer-Meßmethode (siehe Kapitel 4.2) wird genutzt, daß sich Wasser in der Dielektrizitätskonstante von den meisten Stoffen deutlich unterscheidet.

Der flächige Meßkondensator reagiert bei der Messung auf die in sein Streufeld eingebrachte menschliche Haut mit einer Kapazitätsänderung, die weitgehend nur vom Wassergehalt des SC abhängig ist. Die Kapazitätsänderung des Meßkondensators wird vom Gerät vollautomatisch zu einem digitalen Meßwert verarbeitet, der dem Feuchtigkeitsgehalt der Haut proportional ist. Es besteht zwischen dem Meßobjekt und dem Meßgerät keine leitende (galvanische) Verbindung, deswegen fließt durch die Haut nahezu kein Strom. Ionenleitfähigkeit der Haut und Polarisierungseffekte bleiben praktisch ohne Einfluß auf das Meßergebnis. Die Einzelmessung dauert eine Sekunde. Eine Beeinflussung der Ergebnisse durch unwillkürliche Bewegungen der Testperson oder Feuchtigkeitsstau während der Messung sind dadurch weitgehend ausgeschaltet.

Der Flächenkondensator ist mit Glas bedampft, um eine Reinigung nach jeder Messung mit Alkohol zu ermöglichen. Die aktive Stirnfläche wird durch eine Feder im Gehäuse vorgespannt. Bei 3,5 N Andruck auf die Haut wird die Messung ausgelöst. Das Gerät verfügt über eine automatische Datenübernahme mit Speicherung der Ergebnisse in einer D-Base Datei.

Je Messung wurden pro Testfeld 5 Einzelwerte auf verschiedenen 5 Feldern aufgenommen und deren Mittelwerte ab gespeichert. Die Meßwerte wurden in „Arbitrary Units“ [arb. units] angezeigt.

Meßgerät: Corneometer CM 825<sup>®</sup> der Firma Courage und Khazaka in Köln.

### **Bilddokumentation der Testareale mit Beauty Scope**

Beim Beauty Scope (siehe Abbildung 39) handelt es sich um ein Hautanalysegerät zur fotografischen Dokumentation des Hautareals, das gemessen werden soll. Die Dokumentation kann auf Videoprinter und/oder PC erfolgen und dient zusätzlich der optischen Erfassung eines Meßareals von  $1 \text{ cm}^2$  in 30facher Vergrößerung.

Ein eingebauter Polarisationsfilter blendet den Glanz der Hautoberfläche aus und ermöglicht einen Blick in tiefere Hautregionen. Die Kamera benötigt für die Erstellung eines Bildes weniger als 1/10 Sekunde. Pro Testfeld wurde jeweils eine Bilddokumentation vorgenommen. Die fotografische Dokumentation erfolgte unter Ausschaltung des Polarisationsfilters vor und nach der Behandlung mit den Testprodukten.

Meßgerät: Beauty Scope der Firma IONTO-COMED in Eggenstein.

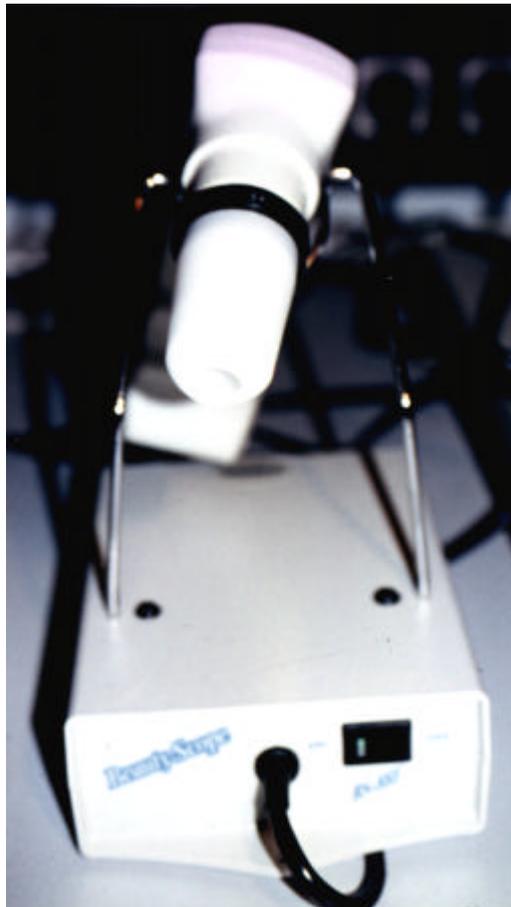


Abb.39: Hautanalysegerät Beauty Scope zur fotografischen Dokumentation der Hautfelder (Firma IONTO-COMED, Eggenstein).

## **Cutometer-Messung**

Das Meßverfahren des Cutometers ist Kapitel 4.1.1 zu entnehmen.

Für die Untersuchung mit dem neuen Modell des Cutometers SEM 575<sup>®</sup> wurde das Gerät über eine serielle Schnittstelle RS-232-C an einen IBM-kompatiblen PC, Version AT angeschlossen. Es wurde das aktuelle Softwareprogramm (Cuto, Version 5.3) benutzt, das eine Speicherung folgender Daten ermöglichte: Probanden, Datum, Zeit der Untersuchung, relative Luftfeuchtigkeit, Umgebungstemperatur, Typ der Meßsonde und Modus der Meßtechnik. Zusätzlich gestattete das grafische Display unter Benutzung eines variablen Cursors die Berechnung von individuellen Mittelwerten auf den Meßkurven.

Für die Studie wurde der Dehnungs-Zeit Modus (Deformation der Haut als Funktion der Zeit) bei einem Unterdruck von 200 mbar unter Anwendung der 2 mm Meßsonde ausgewählt. Eine Vorkonditionierung erfolgte über 0,1 Sekunden. Je Meßfeld wurden auf verschiedenen Hautarealen 3 Wiederholungsmessungen vorgenommen. Pro Messung erfolgten 5 Saugzyklen (Phasenzeit: Ansaugphase 5 Sekunden/Relaxationsphase 5 Sekunden), so daß sich pro Messung eine Gesamtzeit von 50 Sekunden ergab. Berechnet und explorativ untersucht wurden

- der absolute Parameter UF (im gewählten Modus als R0 bezeichnet), d.h. die maximale Hautausdehnung bzw. Gesamtauslenkung der Haut im ersten Meßzyklus und
- der relative Parameter UR/UF (im gewählten Modus als R7 bezeichnet), d.h. das Verhältnis zwischen der sofortigen elastischen Rückstellung nach Belastung und der maximalen Hautausdehnung im ersten Meßzyklus.

Um während der Messung den Auflagedruck der manuell gehaltenen Meßsonde zu standardisieren, wurde die Sonde mit 250 g Blei beschwert. Das Gewicht war so bemessen, daß das Federsystem des Meßkopfes noch vollständig aktiv war und kein zusätzlicher Andruck auf die Haut ausgeübt wurde.

Meßgerät: Cutometer SEM 575<sup>®</sup> der Firma Courage und Khazaka in Köln.

## **IONTO HANA - Meßsystem zur Messung von Hautfeuchtigkeit (MEF) und Hornschichtdicke (MEDSC)**

Das Kombinationsmeßgerät IONTO HANA (siehe Abbildung 40) stellt ein neu entwickeltes Verfahren dar, das am Markt noch nicht kommerziell verfügbar ist. Es

besteht aus einem Meßsystem zur Erfassung der Hautfeuchtigkeit (MEF) sowie der Hornschichtdicke (MEDSC).

### **MEF-Messung**

Das Meßsystem zur Erfassung der Hautfeuchtigkeit (MEF) basiert gemäß Herstellerangaben auf der sogenannten „Bio-elektrischen Impedanzanalyse“ und stellt eine Gleichstrommessung im Bereich von 50 pA (Dynamik 66.02 dB) dar. Gemessen wird der Hautwiderstand (Ohmscher Widerstand), der für gewöhnlich zwischen 1-15 KOhm liegt (325). Da die Feuchtigkeit der Haut Einfluß auf die Leitfähigkeit hat, soll sich eine Korrelation zwischen der gemessenen Hautimpedanz und der tatsächlichen Feuchtigkeit in der Hautoberfläche feststellen lassen (325). *(Anmerkung: Auf die widersprüchliche und fachlich unkorrekte Beschreibung des Meßsystems MEF, wird in Kapitel 6.4 eingegangen ).*

Die Meßsonde des MEF hat einen Durchmesser von 25 mm (326). Sie besteht aus einem Außenring (Außenelektrode) und Innenkreis aus 5 gefederten Elektroden (Innenelektrode), die ein kreisförmiges Hautareal erfassen und deren Signale zu einem Signal gemittelt werden (siehe Abbildung 41). Die Spannung zwischen beiden Elektroden, d.h. der Widerstand zwischen Außen- und Innenelektrode, stellt das Meßsignal dar. Wird Gleichstrom durch die Haut gesendet, so fällt über der Haut analog ihres Widerstandes eine Spannung entsprechender Höhe ab. Da im hochohmigen Bereich gemessen wird, können Störspannungen durch umgebende elektrische Felder verschiedenster Sender auftreten (326). Durch die unterschiedliche Erdung besteht eine Potentialdifferenz, die sich durch den Kontakt zwischen Proband und messender Person nivellieren soll; aus diesem Grund ist der MEF-Sensor mit Metall ummantelt worden. Der Proband ist während der Hautmessung immer zu berühren (327).

Ein vierstufiger Wahlschalter ermöglicht eine Meßbereichsumschaltung, wobei der Eingangswiderstand des Sensors über eine Empfindlichkeitseinstellung verändert wird:

<i>Meßstufe 1:</i>	<i>1 MOhm</i>
<i>Meßstufe 2:</i>	<i>500 KOhm</i>
<i>Meßstufe 3:</i>	<i>100 KOhm</i>
<i>Meßstufe 4:</i>	<i>10 KOhm</i>



Abb.40: IONTO HANA (Firma Ionto Comed in Eggenstein); Meßsystem zur Messung der Hornschichtdicke (roter Wahlschalter) und der Hautfeuchtigkeit (blauer Wahlschalter mit Meßbereichswahlstufen 1 - 4).

Für Hautmessungen wird die Meßstufe 1 empfohlen, bei welcher der eingebaute Widerstand am größten ist. Hingegen werden bei Einstellung der Meßstufe 4 sehr viele Zusatzeffekte mitgemessen.

Der relative Fehler des Gerätes wird nicht angegeben. Eine Kalibrierung des Hautfeuchtigkeitssensors ist vom Hersteller an technischen Materialien bei Widerständen von 1 bis 10 MOhm vorgenommen worden (325).

Das Gerät startet automatisch einen Meßzyklus mit einer voreingestellten Zeit von 10 Sekunden, nachdem der Sensor auf die Hautoberfläche aufgesetzt wird. Die Erfassung der Hautimpedanz erfolgt in „Arbitrary Units“ [arb. units] (Auflösung 2000 [arb. units]).

Die Dauer einer Messung betrug 10 Sekunden. Je Messung wurden 5 Einzelwerte auf 5 Feldern in jedem Testfeld aufgenommen. Die jeweilige Meßstufe wurde zusätzlich mit angegeben.

Meßgerät: MEF der Firma IONTO-COMED in Eggenstein.



Abb.41: Meßsonde des Meßverfahrens zur Bestimmung der Hautfeuchtigkeit (MEF). Die Meßsonde hat einen Durchmesser von 25 mm und besteht aus 5 gefederten Elektroden, die ein kreisförmiges Hautareal erfassen. Die fünf Signale werden zu einem Signal gemittelt.

### **MEDSC-Messung**

Die Messung der Hornschichtdicke (MEDSC) basiert auf einer kapazitiven Messung der relativen Dielektrizitätskonstante der Hautoberfläche (Dynamik von 66.02 dB) mit einem Wechselstrom einer Meßfrequenz von 7 kHz (325).

Ein radialsymmetrischer Sensor mit einem Durchmesser von 15,8 mm besteht aus einer Mittenelektrode sowie einem Zylindermantel und bildet einen Kondensator (326) (siehe Abbildung 42). Beim Aufsetzen des Sensors auf die Hautoberfläche wird die Haut in das elektrische Feld zwischen Innenelektrode und Zylindermantel eingebracht, d.h. dem Sensor-Kondensator wird die Haut als Dielektrikum hinzugefügt. Dadurch ändert sich die Kapazität des Sensors. Die Veränderung der Kapazität wird über den Meßwechselstrom gemessen (325).

Da der Wassergehalt im SC einen wesentlichen Anteil an der Leitfähigkeit der Haut hat, soll sich eine Korrelation zwischen der gemessenen Kapazitätsänderung und der tatsächlichen Hornschichtdicke feststellen lassen (325).

Gemäß Herstellerangaben wurde die Kalibrierung entsprechend der Patentschrift vorgenommen. Vor den Sensorkopf wurde ein metallischer Gegenpol gesetzt, der

Abstand zwischen Sensor und metallischer Platte in Schritten von wenigen  $\mu\text{m}$  verändert und eine Eichkurve aufgenommen.

Der relative Fehler des Gerätes wurde anhand von 20 Wiederholungsmessungen am volaren Unterarm einer Probandin ermittelt. Bezogen auf den absoluten Anzeigewert des Gerätes [arb. units] wird er mit 0,2 % angegeben (326).

Das MEDSC startet automatisch einen Meßzyklus mit einer voreinstellbaren Zeit von 10 Sekunden, sobald der Sensor auf die Haut aufgesetzt wird. Der Meßwert wird in „Arbitrary Units“ [arb. units] auf einem LCD-Display angezeigt. Die Zuordnung zu der entsprechenden Hornschichtdicke soll gemäß Herstellerangaben über eine Korrelationstabelle vorgenommen werden.

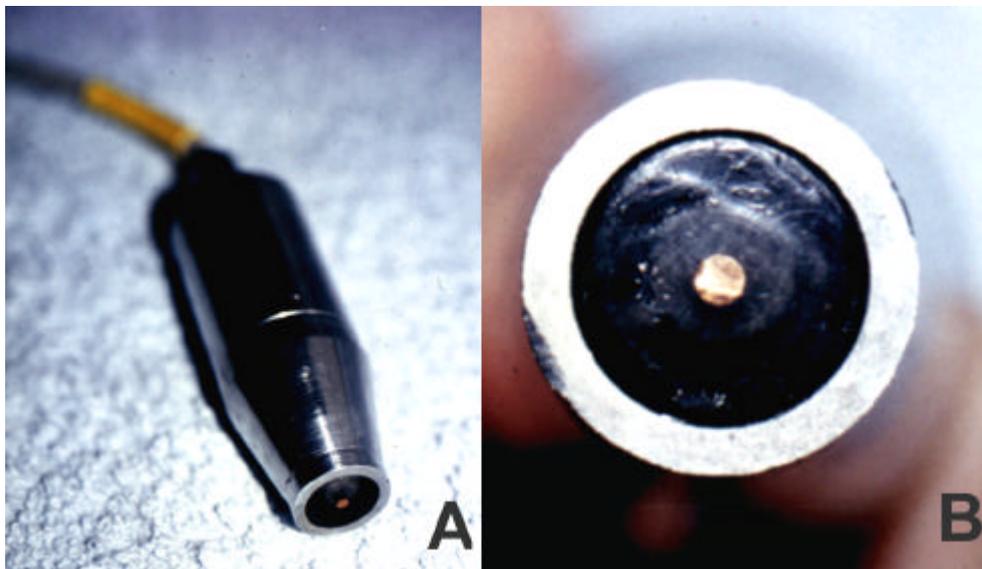


Abb.42: Meßsonde des Meßverfahrens zur Bestimmung der Hornschichtdicke (MEDSC). A = Meßkopf des MEDSC; B = radialsymmetrischer Sensor aus Mittenelektrode und Zylindermantel; der Durchmesser des Sensors beträgt 15,8 mm.

Je Messung wurden 3 Einzelwerte auf 3 Feldern pro Testareal aufgenommen. Die Dauer einer Messung betrug 10 Sekunden. Zielkriterium war bei diesen Messungen die Hautdicke in „Arbitrary Units“ (Auflösung 2000 [arb. units]).

Die prinzipielle Funktionsweise des IONTO HANA ist im einzelnen dem Strukturdiagramm (siehe Abbildung 43) zu entnehmen.

Meßgerät: MEDSC der Firma IONTO-COMED in Eggenstein.

### 6.2.7.5 Voruntersuchungen zum IONTO HANA

Vor Beginn der klinischen Studie wurden mit den neu entwickelten Meßgeräten MEF und MEDSC verschiedene Testmessungen vorgenommen, um neben der praktischen Einarbeitung einen Einblick in die Verfahrensweise und die Meßgenauigkeit der Geräte zu bekommen. Die Einklimatisierung der Probanden erfolgte bei  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  und  $40\% \pm 10\%$  relativer Luftfeuchtigkeit für 40 Minuten.

#### **Testmessung mit dem Meßsystem zur Erfassung der Hautfeuchtigkeit (MEF)**

Der linke volare Unterarm einer Probandin (BK 01, 62 Jahre, gesunde Haut) wurde in vier gleichgroße Felder (F1 bis F4) eingeteilt, wovon zwei Felder (F2 und F4) mit Leitungswasser befeuchtet wurden und zwei weitere zu Kontrollzwecken unbehandelt blieben (F1 und F3). In jedem der vier Hautfelder wurden nacheinander 20 Wiederholungsmessungen durchgeführt.

Die gesamte Meßzeit betrug ca. 7 Minuten.

Für F1, F3 und F4 ist der Bereichswahlschalter auf 1 (höchste Empfindlichkeitsstufe) eingestellt worden. Für F2 wurde eine Meßbereichsumschaltung des vierstufigen Wahlschalters auf Meßstufe 3 notwendig, da in diesem Hautareal sowohl bei Meßstufe 1 als auch der nachfolgenden Wahlstufe 2 auf dem Display eine 1 [arb. units] erschien, die stets eine Umschaltung in eine höhere Wahlstufe erforderlich macht (328).

#### *Beobachtungen*

- In der Regel erwies sich die Stufenwahl 1 (eingebauter Widerstand: 1 MOhm) für die Feuchtigkeitsmessungen mit dem MEF als ausreichend sensibel. Nur in Ausnahmefällen wurde eine Umschaltung notwendig.
- Bei der Messung relativ weicher und nachgiebiger Haut, zum Beispiel an der Ulnarseite, ließen sich während der praktischen Durchführung tendentiell höhere Meßwerte beobachten als an der Radiusseite des volaren Unterarmes. Der Meßsensor bzw. die gefederten Elektroden versanken in Hautfalten, in denen die Hautfläche größer und die Haut relativ weich ist. Folglich wurden der Übertragungswiderstand und das Sensorsignal wesentlich kleiner und der Meßwert des MEF größer. Nur bei verhältnismäßig fester Unterlage war der Anpreßdruck gleichmäßig. Im Gegensatz zu technischen Werkstoffen konnte bei

Hautmessungen trotz der standardisierten Armhaltung keine plane Auflagefläche gewährleistet werden. Der relativ große Durchmesser des Sensors von 25 mm und die Konstruktion der Elektrode behinderten die Messung.

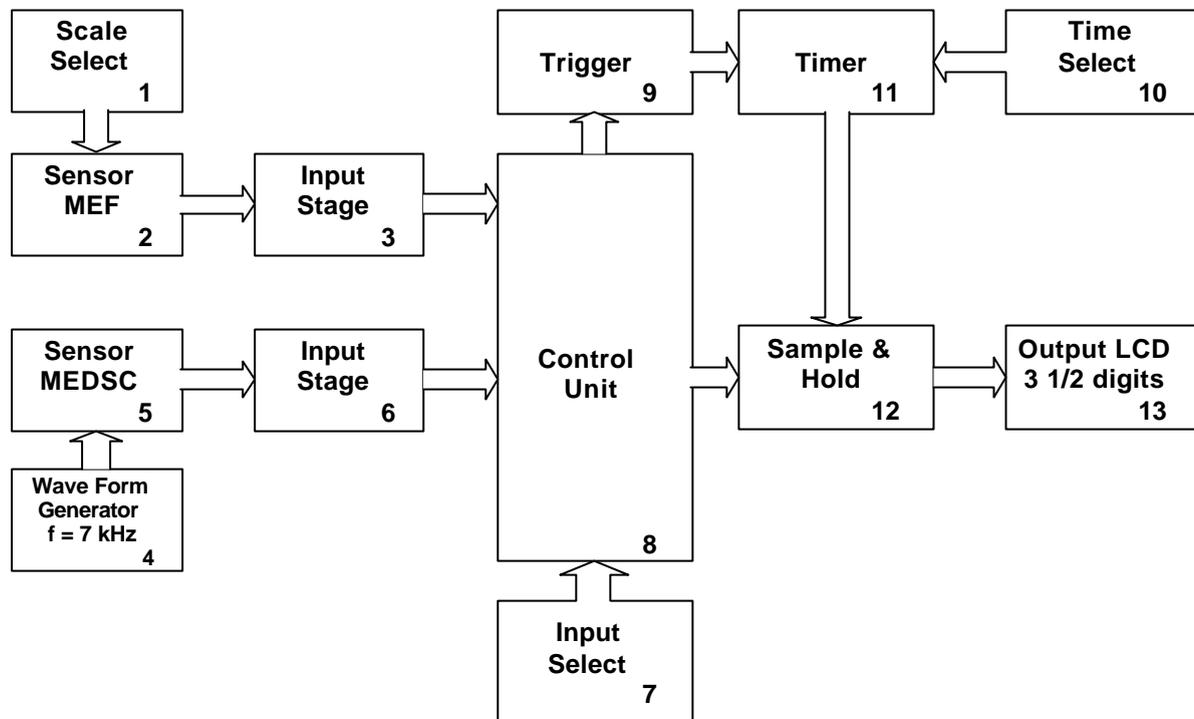


Abb.43: Strukturdiagramm des Meßsystems IONTO HANA.

1. **Scale Select:** Vierstufiger Wahlschalter des MEF zur Meßbereichumschaltung bei der Feuchtigkeitsmessung.
2. **Sensor MEF:** Feuchtigkeitssensor zur Messung des Ohmschen Widerstandes der Haut anhand der Gleichstrommessung im Bereich von 50 pA; Meßsignal stellt der Widerstand zwischen Außen- und Innenelektrode dar. Je nach Hautwiderstand tritt ein Spannungsabfall über der Haut ein.
3. **Input Stage:** Anpassung bzw. Umwandlung des MEF-Signals von wenigen mV auf 0-2 Volt, d.h. Verstärkung des ankommenden Signals etwa um den Faktor 1000.
4. **Wave Form Generator:** Schwingungsgenerator (Erzeugung eines Wechselstroms mit einer Frequenz von 7 kHz).
5. **Sensor MEDSC:** Sensor des Meßgerätes zur Dickenmessung der Hornschicht; Spannung beträgt im Ruhezustand (d.h. unbedeckter Sensorkopf) 1,3 Volt. Kommt der Sensor in die Nähe eines Dielektrikums, wird das Signal gesenkt.
6. **Input Stage:** Differenz zwischen der Ruhespannung des Meßsensors und dem Meßwert wird ermittelt. Anschließend Verstärkung entsprechend des Input Stage beim MEF auf 0-2 Volt.
7. **Input Select:** Wahlschalter und Anzeige Rot (für MEDSC-Messung) und Blau (für MEF-Messung).
8. **Control Unit:** Kontrolleinheit die registriert, ob Haut angelegt und welcher Wahlschalter eingestellt wurde.
9. **Trigger:** Schalter bzw. Starter, der ab einem bestimmten Wert den Meßzyklus startet.
10. **Time Select:** Interne Wahl der Zeitbasis von 1, 4, 10 oder 20 Sekunden (gilt für beide Meßsysteme).
11. **Timer:** Zeitgeber, der nach 10 Sekunden die Messung stoppt.
12. **Sample and Hold:** Speicherung des ankommenden Anzeigewertes.
13. **Output LCD:** Visualisierung des Meßwertes in „Arbitrary Units“ anhand einer Flüssigkristallanzeige.

- Ungünstig erwies sich die interne Wahl der Zeitbasis. Bereits 10 Sekunden nach Auflage des Meßkopfes auf die Hautoberfläche wurde durch die Ankündigung eines akustischen Signals der Meßwert festgehalten, schwankte aber bei der Mehrzahl der Probemessungen noch erheblich.
- In den mit Wasser befeuchteten Hautfeldern (F2 und F4) waren bis zur 14. bzw. 15. Wiederholungsmessung hohe und erheblich schwankende Meßwerte zu beobachten, die in einem Bereich von ca. 1320 bis 1800 [arb. units] lagen (siehe Abbildung 44). Sie fielen anschließend stark ab und erreichten zum Ende der Meßreihe nach etwa 7 Minuten den Level der unbefeuchteten Hautfelder F1 und F3. Eine Erklärung der Resultate könnte sein, daß bei Vorliegen freien Wassers auf der Hautoberfläche die Meßwerte auf über 1500 [arb. units] ansteigen. Sobald aber dieses freie Wasser von der Oberfläche verdunstet, keine elektrische Leitfähigkeit mehr gegeben ist. Deutlich ist der Abfall der MEF-Werte nach der 14. (F4) bzw. der 15. (F2) Messung ab, wobei etwa 5 Minuten nach der externen Befeuchtung Werte in der Größenordnung der nicht hydratisierten Kontrollfelder gemessen wurden.
- Die Meßwerte der unbefeuchteten Hautfelder (F1 bzw. F3) zeigten ebenfalls starke Schwankungen. Die gemittelten Werte lagen zwischen 75 [arb. units] (SD 68) bzw. 89 [arb. units] (SD 154) (siehe Tabelle 37). Die Meßwerte von F3 lassen einen Meßfehler annehmen.

*Bei einer Streuung von 90 % (Feld 1) bzw. 173 % (Feld 3) wird das Gerät MEF vorerst als nicht valide befunden. Ob es sich tatsächlich um einen Fehler im Meßsystem oder um einen Zufallseffekt handelt, muß in der klinischen Studie anhand einer größeren Fallzahl verifiziert werden.*

*(Anmerkung: Weitere Voruntersuchungen konnten nicht durchgeführt werden, da die Wirksamkeitsprüfung langfristig anberaumt, das neue Meßsystem aber verspätet und damit erst kurz vor Beginn der Prüfung angeliefert wurde).*

Tab.37: Wiederholungsmessungen mit dem Feuchtigkeitsmeßgerät MEF auf dem volaren Unterarm (Probandin BK01) auf 4 verschiedenen Hautfeldern. Feld 1 (F1) und Feld 3 (F3) sind unbehandelt, Feld 2 (F2) und 4 (F4) wurden mit Leitungswasser intensiv befeuchtet.

ANZAHL DER MESSUNGEN	F1 (PURUM)	F2 (NACH H <sub>2</sub> O)	F3 (PURUM)	F4 (NACH H <sub>2</sub> O)
1	26	1520	14	1799
2	128	1658	12	1749
3	133	1582	11	1709
4	159	1538	15	1622
5	94	1482	12	1520
6	231	1436	18	1639
7	15	1344	15	1643
8	13	1324	13	1706
9	43	1505	23	1662
10	213	1505	22	1678
11	130	1502	27	1605
12	43	1375	28	1657
13	15	1445	12	1610
14	93	1440	18	1348
15	41	1583	16	846
16	17	293	39	257
17	25	218	283	216
18	22	168	559	193
19	33	163	299	173
20	40	128	348	169
<b>MW</b>	<b>75,7</b>		<b>89,20</b>	
<b>SD</b>	<b>68,3</b>		<b>153,94</b>	

MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

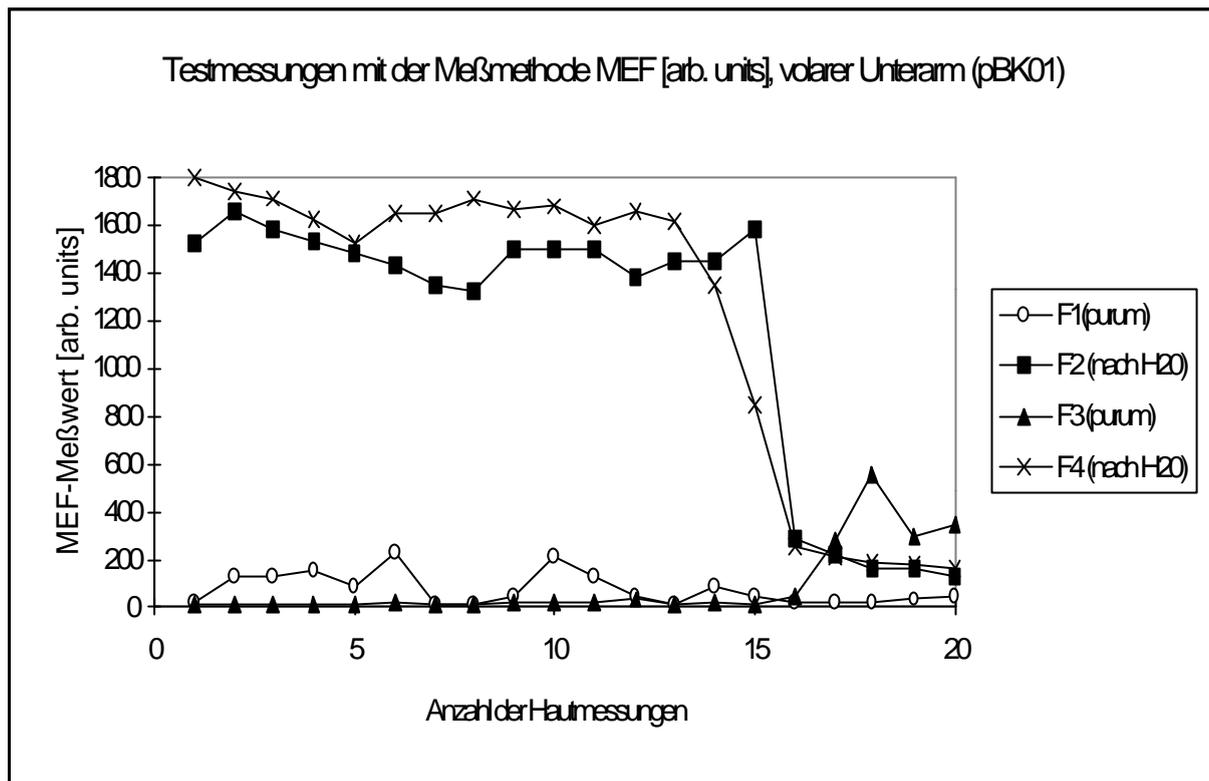


Abb.44: Testmessungen mit der Meßmethode MEF auf dem volaren Unterarm, Probandin BK01. Das Untersuchungsareal wurde in vier Felder eingeteilt: Feld 1 und 3 sind unbehandelt, Feld 2 und 4 wurden mit Leitungswasser befeuchtet. Es erfolgten 20 Wiederholungsmessungen. Meßwerte in [arb. units].

### Testmessung mit dem Meßsystem zur Erfassung der Hornschichtdicke (MEDSC)

Mit herkömmlichen Adhäsiv-Tesastreifen wurden auf dem volaren Unterarm einer Probandin (BK01, 62 Jahre) ohne vorgeschädigte Haut 20 Strippings durchgeführt. Nach jedem Abriß erfolgte eine Messung mit dem MEDSC.

Parallel zur Messung von Baseline und Endwert der Hornschichtdicke wurde zu Kontrollzwecken der transepidermale Wasserverlust (TEWL) mit dem Evaporimeter (siehe Kapitel 4.2) erfaßt.

#### Beobachtungen

- Vor dem Stripping wurde mit dem MEDSC ein Ausgangswert von 1637 [arb. units] gemessen (siehe Tabelle 38). Dieser Wert korrespondierte mit einem TEWL-Wert von 4 [g/m<sup>2</sup>h]. Letztgenannter gilt als Indikator für eine intakte epidermale Barriere (329). Zum Ende des Strippingtests wurde ein MEDSC-Wert von 1578 [arb. units] und ein TEWL-Wert von 10 [g/m<sup>2</sup>h] gemessen. Der TEWL-Wert zum Ende der

Strippingversuche zeigte, daß das SC noch nicht komplett entfernt worden war (329).

- Mit zunehmender Zahl an Strippings, d.h. einer kontinuierlichen Reduktion der Zellschichten und damit Abtragung der obersten Epidermislagen, trat kontinuierlich eine Kapazitätsänderung ein, die sich anhand der abnehmenden MEDSC-Werte bemerkbar machte (siehe Abbildung 45).

Durch die induzierte Ausdünnung der Epidermis fielen die MEDSC-Werte ab. Eine Erklärung für diese Beobachtung ist, daß bei Annäherung des elektrischen Streufeldes an tieferliegende, zunehmend feuchtere Epidermisschichten der kapazitive Widerstand abfällt.

- Gemäß der vorliegenden Meßdaten erwies sich die vom Hersteller vorgenommene Eichung des Hornschichtdickensensors als ungünstig. Bei der Eichung wurde eine zunehmende Zahl von Haushaltsfolien herangezogen, um reproduzierbare Materialdicken zu erhalten, wobei die Dicke des Materials von 14 bis 253  $\mu\text{m}$  variierte und mit MEDSC-Werten von 1640 bis 1880 [arb. units] korrespondierte (325, 327, 328). Der Zusammenhang zwischen Meßwert und Foliendicke war logarithmisch. Nach den Resultaten empfiehlt sich, für eine neue Kalibrierung des MEDSC-Sensors den unteren Meßwertbereich zwischen 1550 und 1700 [arb. units] stärker aufzusplitten und statt einer logarithmischen Regression linear zu approximieren.

Tab.38: Testmessungen mit dem Meßverfahren zur Bestimmung der Hornschichtdicke (MEDSC). Es erfolgten 20 Strippings. Parallel zu Baseline- und Endwert wurden TEWL-Messungen mit dem Evaporimeter vorgenommen.

STRIPPING	MEDSC - MESSG.	TEWL - MESSG.
0	1637	4
1	1620	
2	1611	
3	1609	
4	1593	
5	1599	
6	1598	
7	1601	
8	1596	
9	1592	
10	1597	
11	1591	
12	1583	
13	1588	
14	1584	
15	1583	
16	1584	
17	1580	
18	1572	
19	1576	
20	1578	10

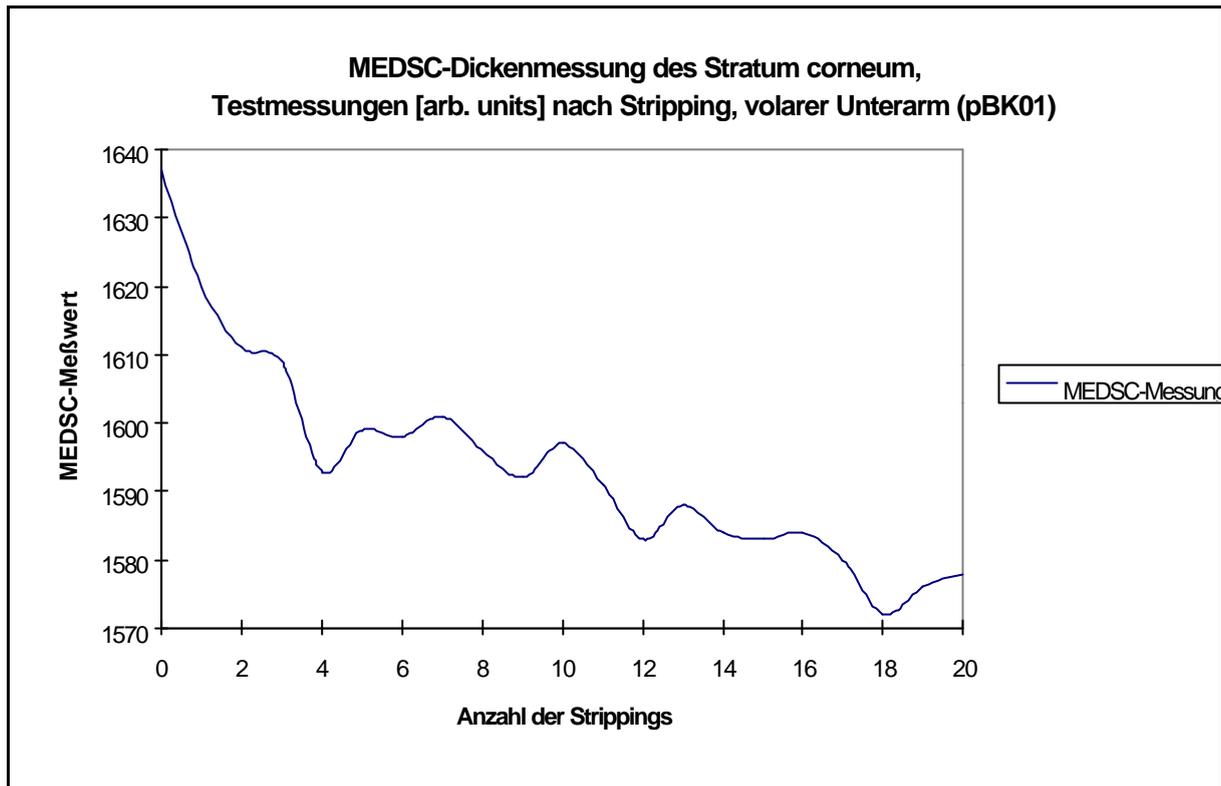


Abb.45: Strippingversuche mit dem Meßverfahren zur Bestimmung der Hornschichtdicke (MEDSC). Mit zunehmender Zahl an Strippings und einer Annäherung an feuchte Epidermisschichten nimmt die elektrische Kapazität ab.

### 6.2.7.6 Prüfungsablauf

Die Bilddokumentation und die Messungen der Hautfeuchtigkeit, der Dicke des SC und der Viskoelastizität der Haut erfolgten vor Beginn der Anwendungsphase. Beim zeitlichen Ablauf des Geräteeinsatzes wurden Hautfeuchtigkeits- und Hautdickenmessungen den biomechanischen Messungen vorangestellt. Die Abschlußmessungen sind am 22. Tag der Prüfung durchgeführt worden. Alle Messungen erfolgten jeweils 12 bis 16 Stunden nach der letzten Produktapplikation zu Hause (siehe Tagesablaufschema).

An den Prüfungstagen 1 und 22 war eine Anwesenheit der Probandinnen von jeweils ca. 95 Minuten erforderlich.

## 6.2.8 Biometrische Planung und Auswertung

### 6.2.8.1 Zielgrößen

Zielgrößen für die konfirmatorische statistische Auswertung waren die mittleren prozentualen Meßparameter Befeuchtung<sub>tb</sub> [%], Elastizität<sub>tb</sub> [%]; der Prüfprodukte bzw. des Standardproduktes zu jedem Meßzeitpunkt bezogen auf den zum selben Zeitpunkt gemessenen Mittelwert des unbehandelten Kontrollareals.

#### - Tagesablaufschema (Beispiel) -

Tag	Zeit (Stunde:Minute)	Maßnahme
1		Einschlußuntersuchung, Wiegen der Produkte
1	10:30	Erhebung von zusätzlichen demografischen Daten (BMI-Index, Rauchgewohnheiten, Beruf)
1	10:32	Einklimatisierung
1	11:12	Messung der Ausgangswerte (Baseline)
1	12:07	Erste Anwendung der Prüfprodukte unter Aufsicht; Ausgabe der Produkte
2-21	morgens u. abends	Auftragen der Prüfprodukte durch die Probanden (Heimbehandlung)
22	10:30-12:07	Keine Produkthanwendung am Morgen, Wiegen der Produkte, Einklimatisierung, Messung, Ende der Anwendungsphase
22		Abschlußbefund, Ende der Prüfung

Für alle Probanden galt der hier dargestellte Ablauf. Die in der Tabelle angegebenen Zeiten galten beispielhaft für eine Probandin.

### 6.2.8.2 Hypothesen

Zur Prüfung der Hypothesen wurden die unter Punkt 6.2.8.3 definierten Quotienten  $Q_{tbi}$  benutzt, um Leerfeldeffekte auszuklammern.

Bei Prüfungsbeginn wurde erwartet, daß für die Testfelder eine homogene Ausgangssituation vorlag. Dazu wurde für die 4 Meßparameter Hautfeuchtigkeit (Gerät Corneometer), Hautfeuchtigkeit (Gerät MEF), Hautdicke (Gerät MEDSC) und Viskoelastizität (Gerät Cutometer) und für einen festen Zeitpunkt  $t$  die Nullhypothese

$H_{01}$ : Die Quotienten  $Q_{tbi}$  gehören zur gleichen Grundgesamtheit

gegen die Alternativhypothese

$H_{11}$ : Die Quotienten  $Q_{tbi}$  gehören nicht zur gleichen Grundgesamtheit

getestet. Es wurde davon ausgegangen, daß die Nullhypothese  $H_{01}$  bei Prüfungsbeginn ( $t = 1$ ) beibehalten werden kann. Für den Meßzeitpunkt nach der Behandlung ( $t = 2$ ) wurde erwartet, daß die Nullhypothese  $H_{01}$  mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  (zweiseitige Fragestellung) abgelehnt werden kann.

Zur Feststellung der Wirksamkeit der Prüfprodukte wurden die Meßwerte nach Produktanwendung ( $t = 2$ ) mit den Meßwerten bei Prüfungsbeginn ( $t = 1$ ) verglichen. Dazu wurde für den Meßparameter (Hautfeuchtigkeit/Viskoelastizität) und für ein festes Produkt  $b$  die Nullhypothese

$H_{02}$ : Die Quotienten  $Q_{tbi}$  gehören zur gleichen Grundgesamtheit

gegen die Alternativhypothese

$H_{12}$ : Die Quotienten  $Q_{tbi}$  gehören nicht zur gleichen Grundgesamtheit

getestet. Es wurde davon ausgegangen, daß für die Prüfpräparate die Nullhypothese  $H_{02}$  mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha = 0,05$  (zweiseitige Fragestellung) abgelehnt werden kann.

### 6.2.8.3 Statistische Methoden

#### Deskriptive Statistik

Alle Rohdaten für alle Probanden und für alle Variablen wurden aufgelistet. In Abhängigkeit vom Meßniveau der einzelnen Variablen wurden geeignete deskriptive Statistiken, zum Beispiel Häufigkeiten (absolut und/oder prozentual), Anzahl der verfügbaren bzw. nicht verfügbaren Werte (non-missing bzw. missing data), Mittelwert, Standardabweichung, Median, unteres und oberes Quartil, sowie Minimum und Maximum berechnet und tabellarisch dargestellt. Diese Art der Darstellung wurde auch für die während der Auswertung sinnvoll zu berechnenden Quotienten für die Variablen Hautfeuchtigkeit und Viskoelastizität verwendet. Eine

weitere explorative Auswertung der Meßdaten erfolgte in Abhängigkeit von den Resultaten.

### Varianzanalyse

Es wurde eine zweifaktorielle Varianzanalyse durchgeführt mit Festlegung der Irrtumswahrscheinlichkeit bei  $\alpha = 0,05$ . Für die Meßparameter Hautfeuchtigkeit, Hornschichtdicke und Viskoelastizität wurde das Verhältnis behandeltes zu unbehandeltes Testfeld für jeden Zeitpunkt nach der folgenden Formel individuell für jeden Probanden berechnet:

$$Q_{tbi} = V_{tbi} / U_{ti}$$

b = Behandlung

t = Zeitpunkt

i = Probandennummer

$U_{ti}$  = Meßwert des unbehandelten Testfelds zum Zeitpunkt t; Proband i

$V_{tbi}$  = Meßwert des mit b behandelten Testfelds zum Zeitpunkt t; Proband i

$Q_{tbi}$  = Quotient für Behandlung b zum Zeitpunkt t; Proband i

Die mittlere prozentuale Meßparameteränderung durch Behandlung b am Prüfungstag t wurde berechnet durch:

$$\text{Meßparameter}_{tb} [\%] = \left( \bar{Q}_{tbi} / \bar{Q}_{0bi} - 1 \right) * 100$$

Meßparameter = Hautfeuchtigkeit (Gerät Corneometer)

Hautfeuchtigkeit (Gerät MEF)

Hautviskoelastizität (Gerät Cutometer)

Hornschichtdicke (Gerät MEDSC)

b = Behandlung

t = Zeitpunkt

i = Probandennummer

$U_{ti}$  = Meßwert des unbehandelten Testfelds zum Zeitpunkt t; Proband i

$V_{tbi}$  = Meßwert des mit b behandelten Testfelds zum Zeitpunkt t; Proband i

$Q_{tbi}$  = Quotient für Behandlung b zum Zeitpunkt t; Proband i

$Q_{0bi}$  = Quotient für Behandlung b bei Prüfungsbeginn; Proband i

Zum Testen der Hypothesen  $H_{b1}$  und  $H_{b2}$  wurden für jeden Probanden individuell Quotienten Prüfprodukt/ Leerfeld ( $Q_{tbi}$ ) für jeden Zeitpunkt  $t$  und jedes Prüfprodukt  $b$  aus den Rohdaten je Gerät berechnet. Diese transformierten Daten wurden mittels eines Kolmogorow-Smirnow Tests auf Normalverteilung hin überprüft. Im Falle ausreichender Normalverteilung sollte jeder Parameter in einer MANOVA mit Prüfprodukt und Zeitpunkt als Faktoren getestet werden. Wurden signifikante Unterschiede bei den Prüfprodukten oder den Zeitpunkten festgestellt, so wurde eine weitere Kontrastierung für den entsprechenden Faktor durchgeführt.

Im Gerätevergleich wurden nur die Hautfeuchtigkeitsgeräte untereinander verglichen. Im Falle einer nicht ausreichenden Normalverteilung wurden die nicht transformierten Rohdaten in einem Wilcoxon Test für gepaarte Stichproben geprüft.

### **Korrelationsanalyse**

In der Korrelationsanalyse wurde die lineare Korrelation der vier Meßverfahren Corneometer, MEF, MEDSC und Cutometer verglichen, um die Beziehung zwischen den physikalischen Variablen der unterschiedlichen Meßverfahren zu evaluieren.

Für die Korrelationsanalyse wurden sowohl die Daten des ersten Meßzeitpunktes als auch die des zweiten Meßzeitpunktes und aller Testfelder verwendet. Es wurden die pro Testfeld und Zeitpunkt gemittelten Daten aus 3 bzw. 5 Einzelmessungen für die Korrelationsanalyse herangezogen. Die Signifikanz der Korrelation wurde im t-Test bestimmt. Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde  $\alpha = 0,05$  gewählt.

#### **6.2.8.4 Begründung des Stichprobenumfangs**

Da bislang keine Untersuchungen zu den hier geprüften Testprodukten vorliegen, beruht die Festlegung des Stichprobenumfangs auf Erfahrungswerten bei der Prüfung der Hautfeuchtigkeit von topischen Zubereitungen. Sie resultierte zudem aus der balancierten Zuordnung der Prüfbehandlungen zu den Testarealen.

## 6.2.9 Ergebnisse

### 6.2.9.1 Relevante Abweichungen vom Prüfplan

Der Prüfungsablauf ist in allen relevanten Punkten in Übereinstimmung mit dem Prüfplan durchgeführt worden.

### 6.2.9.2 Drop outs

Bei Probandin 44 trat während des Prüfzeitraumes eine Arthrose am rechten Handgelenk auf, die nach ärztlicher Anweisung mit entsprechender Salbengrundlage 8 Tage okklusiv behandelt wurde. Die Probandin erschien verabredungsgemäß zum zweiten Untersuchungstermin am Tag 22 ohne Benachrichtigung der Prüfungsleitung. Erst nach Abschluß aller Meßreihen wurde die Leiterin der Prüfung informiert. Proband 44 ist trotz vollständiger Daten als Drop out behandelt worden, da die medizinische Behandlung bedeutenden Einfluß auf die Messung nahm und die Meßergebnisse verfälschte.

Die übrigen 47 eingeschlossenen Probanden beendeten die Prüfung regulär.

### 6.2.9.3 Demografische Daten

Die demographischen Daten der Probanden finden sich in **Tabelle 1** im Appendix B. Es handelte sich um 48 weibliche Probanden über 50 Jahre mit gesunder Haut im Bereich der Prüfareale. Der mittlere BMI-Wert lag bei 24,85 und zeigt damit ein normalgewichtiges Kollektiv an. Der Anteil der Raucher war gering (2,9%). Erwartungsgemäß waren die meisten Testpersonen Hausfrauen oder im tertiären Sektor beschäftigt. Damit lag eine verhältnismäßig homogene Stichprobe vor.

### 6.2.9.4 Nachuntersuchung

Bei der Abschlußuntersuchung waren alle Probanden klinisch unauffällig.

### **6.2.9.5 Untersuchungen zur Probandensicherheit**

Unerwünschte Wirkungen wurden während der Prüfung weder beobachtet noch von den Probanden angegeben.

### **6.2.9.6 Ergebnisse der statistischen Analyse und der Bilddokumentation**

Alle statistischen Auswertungen sind mit dem Softwarepaket STATISTICA durchgeführt worden. Einzelbefunde und Originalergebnisse wurden in einem Prüfungsordner dokumentiert und sind bei der Firma BioSkin, Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung, Hamburg-Poppenbüttel, abgelegt.

Die einzelnen Meßwerte zu Hautfeuchtigkeits-, Hautdicken- und Viskoelastizitätsmessungen befinden sich im Appendix B.

Durch die Prüfung neuer Geräte, ist eine Ausreißeranalyse vorgenommen worden, wobei der Mittelwert  $\pm 3$  Standardabweichungen als Grenze gesetzt wurde (siehe Auswertung zum Gerät MEF).

### **Deskriptive Statistik**

Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Minimum und Maximum, unteres und oberes Quartil für die Rohdaten und die Quotienten sind berechnet und tabellarisch in Tabelle 96 und 97 dargestellt worden. Für die MEDSC-Daten wurden sowohl die Rohdaten als auch die korrigierten Daten (Subtraktion von 1570) in die Statistik mit einbezogen.

#### Corneometerbefund

Die Produkt- und die Leerfelder wiesen initial ähnliche Werte auf (siehe Tabelle 96). Im Anwendungstest stieg die mittlere Hautfeuchtigkeit durch das Vehikel (Produkt A) von 43,30 [arb. units] (Min. = 31, Max. = 57) auf 55,53 [arb. units] (Min. = 41, Max. = 71). Unter Anwendung des liposomalen Wirkproduktes (Produkt B) war ein mittlerer Anstieg von 42,96 [arb. units] (Min. = 28, Max. = 56) auf 54,66 [arb. units] zu verzeichnen (Min. = 38, Max. = 68).

Ebenfalls wurde ein Anstieg in den beiden unbehandelten Kontrollfeldern bemerkt, und zwar von 42,41 [arb. units] (Min. = 31, Max. = 53,5) auf 45,71 [arb. units] (Min. = 32,5, Max. = 64).

Die Standardabweichungen der gemittelten Corneometer-Rohdaten lagen zwischen 5,13 bis 7,23 [arb. units].

Die relative Betrachtung zum Leerfeld (siehe Tabelle 97) ergab für das Vehikel eine Steigerung des Mittelwertes von 1,0252 [arb. units] (Min. = 0,8052, Max. = 1,2222) auf 1,2310 [arb. units] (Min. = 0,9138, Max. = 1,6000). Das liposomale Wirkprodukt erzielte eine relative Steigerung von 1,0125 [arb. units] (Min. = 0,7273, Max. = 1,2099) auf 1,2115 [arb. units] (Min. = 0,8542, Max. = 1,6232). Die Standardabweichungen der Quotienten lagen zwischen 0,09 bis 0,18 [arb. units].

Im Corneometerbefund zeigte sich kein deutlicher Unterschied zwischen Produkt A und B.

### MEF-Befund

Schon vor der Produktanwendung wiesen die Produkt- und Leerfelder initial sehr unterschiedliche Werte auf (siehe Tabelle 96). Die Originalwerte des MEF wurden folglich einer Ausreißeranalyse unterzogen. Bei Vorkommen eines Ausreißers wurde dieser und nicht sämtliche Daten des Probanden aus der Analyse herausgenommen (siehe Tabelle 97). Damit standen 46 bzw. 47 Daten zur Verfügung.

Produkt A verursachte einen Abfall der MEF-Werte von 94,46 [arb. units] (Min. = 76, Max. = 20) auf 86,19 [arb. units] (Min. = 71,7, Max. = 28,6), und das Wirkprodukt (Produkt B) von 95,69 [arb. units] (Min. = 93,20, Max. = 27,0) auf 81,52 [arb. units] (Min. = 76,50, Max. = 28,40).

Die Standardabweichungen der gemittelten MEF-Rohdaten lagen trotz Ausreißeranalyse noch zwischen 98,8 bis 117,6 [arb. units].

Der Ausreißereliminierung folgend, wurden für die relative Betrachtung unter Quotientenbildung bei einem Ausreißer sämtliche Daten des Probanden für diese Messung aus der Analyse herausgenommen (siehe Tabelle 96). Damit standen 43 Daten zur Verfügung.

Das Vehikel (Produkt A) bewirkte eine Abnahme von 0,9889 [arb. units] (Min. = 0,5176, Max. = 1,8446) auf 0,9479 [arb. units] (Min. = 0,4123, Max. = 1,9955). Das Verum induzierte eine Abfall von 1,0397 [arb. units] (Min. = 0,4177, Max. = 2,3165) auf 0,9524 [arb. units] (Min. = 0,4938, Max. = 1,5797).

Die Standardabweichungen der relativen MEF-Daten lagen zwischen 0,29 bis 0,34 [arb. units].

Das Feuchtigkeitsmeßgerät MEF zeigte für das Verum eine größere Abnahme als für das Vehikel.

### MEDSC-Befund

Alle Ergebnisse des Hornschichtdickenmeßgerätes MEDSC lagen deutlich über 1570 [arb. units]. Zur besseren Veranschaulichung der Meßwerte sind in der statistischen Auswertung die Originalwerte um diesen Zahlenbetrag durch Subtraktion korrigiert wurden. Korrigierte Meßwerte sowie Originalwerte sind in den Tabellen 96 und 97 aufgeführt. Die deskriptive Statistik stützt sich auf die korrigierten Daten.

Behandelte und unbehandelte Hautfelder zeigten initial gleiche Meßwerte, die im Prüfzeitraum unterschiedlich stark abfielen. Für die mit Produkt A behandelten Hautareale war eine Abnahme von 76,35 [arb. units] (Min. = 41,3, Max. = 123,3) auf 46,14 [arb. units] zu verzeichnen (Min. = 12, Max. = 80). Das liposomale Wirkprodukt (Produkt B) führte zu einer Abnahme von 78,04 [arb. units] (Min. = 39,3, Max. = 132,0) auf 50,43 [arb. units] (Min. = 23, Max. = 94,7). Eine vergleichsweise geringfügigere Abnahme war für die unbehandelten Kontrollfeldern eingetreten, und zwar von 76,84 [arb. units] (Min. = 39,2, Max. = 145) auf 60,26 [arb. units] auf (Min. = 31,5, Max. :104,8).

Unter Berechnung der Quotienten erzielte das Vehikel einen Abfall von 1,0161 [arb. units] (Min. = 0,6176. Max. = 1,8213) auf 0,7850 [arb. units] (Min. = 0,2869, Max. = 0 1,3408). Produkt B (Verum) führte zu einer Veränderung von 1,0321 [arb. units] (Min. = 0,6413, Max. = 1,9830) auf 0,8774 [arb. units] (Min. = 0,3887, Max. = 2,3089).

Die Standardabweichung lag zwischen 0,2258 und 0,3337 [arb. units].

Der MEDSC-Befund zeigte für das Vehikel eine größere Abnahme als für das Verum an.

### Cutometer-Befund

*Parameter UF (im gewählten Modus als R0 bezeichnet):*

Die gemittelten Werte der Produkt- und Leerfelder waren identisch (0,185 mm) und zeigten initial niedrige Werte. Der Parameter R0 stieg bei Anwendung des Vehikels geringfügig von 0,185 mm (Min. = 0,125, Max. = 0,250) auf 0,187 mm (Min. = 0,135, Max. = 0,240) an. Im Gegensatz dazu kam es über die Dauer des Meßzeitraumes

bei Produkt B (Verum) zu einer Abnahme von UF von 0,185 mm (Min. = 0,120, Max. = 0,260) auf 0,183 mm (Min. = 0,120, Max. = 0,235). In den unbehandelten Kontrollfeldern trat eine vergleichbare Abnahme von UF von 0,185 mm (Min. = 0,138, Max. = 0,243) auf 0,178 mm ein (Min. = 0,130, Max. = 0,218).

Die relative Betrachtung zum Leerfeld ergab für das Produkt A eine Veränderung des Quotienten von 1,0191 mm (Min. = 0,6804, Max. = 1,5556) auf 1,0564 mm (Min. = 0,7294, Max. = 1,3929), und unter Anwendung der Liposomencreme (Produkt B) von 1,0182 mm (Min. = 0,6598, Max. = 1,5273) auf 1,0338 mm (Min. = 0,6944, Max. = 1,4333).

Die Standardabweichung lag zwischen 0,14 bis 0,21 [mm].

*Parameter UR/UF (im gewählten Modus als R7 bezeichnet):*

Produkt- und die Leerfelder wiesen initial ähnliche Werte auf. Das Vehikel führte zu einer unwesentlichen Steigerung der relativen elastischen Erholung von 0,538 mm (Min. = 0,398, Max. = 0,692) auf 0,539 mm (Min. = 0,415, Max. = 0,747). Das liposomale Wirkprodukt (Präparat B) verursachte einen Anstieg von 0,512 mm (Min. = 0,369, Max. = 0,659) auf 0,531 mm (Min. = 0,385, Max. = 0,667). Im Gegensatz dazu war in den unbehandelten Kontrollfeldern eine Abnahme von 0,525 mm (Min. = 0,345, Max. = 0,707) auf 0,521 mm (Min. = 0,396, Max. = 0,653) zu verzeichnen.

Unter relativer Betrachtung zum Leerfeld erzielte das Placebo eine Veränderung des Quotienten von 1,0394 mm (Min. = 0,6766, Max. = 1,5601) auf 1,0411 mm (Min. = 0,5315, Max. = 1,4420) und das Wirkprodukt (Produkt B) von 0,9894 mm (Min. = 0,5315, Max. = 1,4420) auf 1,0244 mm (Min. = 0,7459, Max. = 1,2798).

Die Standardabweichungen lagen bei den relativen Meßwerten zwischen 0,13 bis 0,18 [mm].

## **Varianzanalyse**

Es zeigte sich bei den für jeden Zeitpunkt und jedes Prüfprodukt aus den Rohdaten je Gerät berechneten Quotienten (Prüfprodukt/ Leerfeld ( $Q_{tbi}$ )) im Kolmogoroff-Smirnoff Test, daß für alle Hautmeßgeräte ausreichend normal verteilte Daten vorlagen.

### Corneometerbefund

Mittelwerte und Quotienten der Hautfeuchtigkeitsmessungen sind in Tabelle 98 dargestellt.

Tabelle 99 gibt eine Übersicht aller Effekte (Zeitpunkts-, Produkt-, Interaktionseffekt) der MANOVA. Der Zeitpunktseffekt war hoch signifikant ( $p = 0,000$ ) und bei dem Produkteffekt bestand kein Unterschied ( $p = 0,0588$ ). Der Interaktionseffekt zwischen Zeitpunkt und Produkt ( $p = 0,7151$ ) war nicht signifikant.

Der Vergleich zum Prüfungsbeginn und die mittlere prozentuale Befeuchtung bezogen auf Baseline ist für die einzelnen Produkte in Tabelle 100 dargestellt. Die MANOVA-Kontrastierung ergab für Produkt A (Vehikel) einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den Quotienten an den Tagen 1 und 22 ( $p = 0,000$ ). Das Produkt erzielte eine mittlere Hautbefeuchtung von 20,07%. Produkt B (Verum) wies ebenfalls hochsignifikant unterschiedliche Quotienten an den Tagen 1 und 22 auf ( $p = 0,000$ ). Die Hautfeuchtigkeit war im Mittel um 19,65% erhöht.

Tabelle 101 zeigt Produktvergleiche an den Tagen 1 und 22. Am Tag 1 unterschieden sich die Produktfelder nicht signifikant ( $p = 0,2879$ ). Auch nach 3 Wochen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen Vehikel und Wirkprodukt ( $p = 0,1392$ ).

### Cutometerbefund

Zur Auswertung der Viskoelastizitäts-Daten wurden die Meßwerte des absoluten Parameters UF (R0) und des relativen Parameters UR/UF (R7) getrennt betrachtet. Mittelwerte und Quotienten der Viskoelastizität sind für den *Parameter UF* in Tabelle 102 dargestellt.

Eine Übersicht aller Effekte der MANOVA ist in Tabelle 103 aufgeführt. Weder der Zeitpunktseffekt ( $p = 0,2398$ ) noch der Produkt- ( $p = 0,04309$ ) oder der Interaktionseffekt zwischen Zeitpunkt und Produkt ( $p = 0,4720$ ) waren signifikant.

Tabelle 104 stellt die Zeitpunktsvergleiche der einzelnen Produkte und die mittlere prozentuale Viskoelastizitätsänderung bezogen auf den Ausgangswert dar. Die Kontrastierung ergab weder für Produkt A (Vehikel) noch für Produkt B (Verum) einen signifikanten Unterschied zwischen Tag 1 und Tag 22 ( $p = 0,1530$  bzw.  $p = 0,5777$ ). Folglich führten beide Prüfpräparate zu keiner signifikanten Veränderung der maximalen Hautdeformation. Produkt A erzielte eine mittlere Änderung von 3,66%, Produkt B von 1,53%.

Der Vergleich beider Prüfprodukte für jeden Meßtag ist Tabelle 105 zu entnehmen. Weder am Tag 1 ( $p = 0,9683$ ) noch am Tag 22 ( $p = 0,2176$ ) unterschieden sich Placebo und Wirkprodukt signifikant voneinander.

Für den *Parameter UR/UF* sind Mittelwerte und Quotienten der Viskoelastizität Tabelle 106 zu entnehmen.

Tabelle 107 gibt eine Übersicht aller Effekte der MANOVA. Der Produkteffekt war hochsignifikant ( $p = 0,0063$ ). Sowohl der Zeitpunktseffekt ( $p = 0,3322$ ) als auch der Interaktionseffekt zwischen Zeitpunkt und Produkt ( $p = 0,1632$ ) erwiesen sich als nicht signifikant.

Der Vergleich zum Prüfungsbeginn für die Produkte A und B und die mittlere prozentuale Änderung der Viskoelastizität bezogen auf Baseline ist in Tabelle 108 dargestellt. In der MANOVA-Kontrastierung wurde für das Vehikel (Produkt A) kein signifikanter Unterschied zwischen den Quotienten an den Tagen 1 und 22 ( $p = 0,9374$ ) festgestellt. Das Produkt erzielte eine mittlere Änderung von 0,17%. Das Liposomenpräparat (Produkt B) führte zu einer mittleren Änderung der relativen elastischen Erholung von 3,54% und wies gleichsam keine signifikant unterschiedlichen Quotienten an den beiden Meßtagen auf ( $p = 0,1241$ ).

Tabelle 109 zeigt Produktvergleiche an den Meßtagen 1 und 22. Am Tag 1 unterschieden sich die Testprodukte hochsignifikant ( $p = 0,0021$ ), allerdings zu Studienende nicht mehr signifikant voneinander ( $p = 0,3483$ ).

### MEF-Befund

Mittelwerte und Quotienten der Feuchtigkeitsmessung (MEF) sind Tabelle 110 zu entnehmen.

Die Meßdaten des MEF-Gerätes sind einer Ausreißeranalyse unterzogen und der Mittelwert  $\pm 3$  Standardabweichungen ist als Grenze gesetzt worden. Bei einem Ausreißer wurden sämtliche Daten des Probanden aus der Analyse herausgenommen, so daß zur Berechnung der mittleren Quotienten  $n = 43$  Probanden zur Verfügung standen.

Der Zeitpunkts- ( $p = 0,1787$ ), der Produkt- ( $p = 0,3843$ ) und der Interaktionseffekt ( $p = 0,4793$ ) waren nicht signifikant (siehe Tabelle 111).

Für die einzelnen Produkte ist der Vergleich zum Prüfungsbeginn und die mittlere prozentuale Befeuchtung bezogen auf den Ausgangswert in Tabelle 112 dargestellt. Die MANOVA-Kontrastierung ergab für beide Testprodukte keinen signifikanten

Unterschied zwischen den Quotienten an den Tagen 1 und 22 ( $p = 0,4426$  bzw.  $p = 0,1588$ ). Produkt A führte zu einer mittleren Abnahme der Hautfeuchtigkeit von 4,15% und Produkt B von 8,40%.

Der Vergleich der Produkte über die Dauer des Prüfzeitraumes (siehe Tabelle 113) zeigte, daß sich am Tag 1 die Produktfelder nicht signifikant voneinander unterschieden ( $p = 0,2990$ ) und auch nach dreiwöchiger Anwendung kein signifikanter Unterschied zwischen Vehikel und Liposomencreme eintrat ( $p = 0,9158$ ).

### MEDSC-Befund

Mittelwerte und Quotienten der Dickenmessung (MEDSC) sind in Tabelle 114 dargestellt.

Tabelle 115 macht deutlich, daß der Zeitpunktseffekt ( $p = 0,001$ ) hochsignifikant, der Produkteffekt ( $p = 0,0400$ ) signifikant, aber der Interaktionseffekt zwischen Zeitpunkt und Produkt nicht signifikant ( $p = 0,1397$ ) waren.

Der Vergleich zum Prüfungsbeginn und die mittlere prozentuale Änderung bezogen auf Baseline ist für die einzelnen Produkte in Tabelle 116 dargestellt. Die MANOVA-Kontrastierung ergab für Produkt A einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den Quotienten an den Tagen 1 und 22 ( $p = 0,000$ ). Das Produkt erzielte eine prozentuale Abnahme von 22,74 %. Produkt B (Liposomencreme) wies ebenfalls einen hochsignifikanten Unterschied zwischen den beiden Meßtagen auf ( $p = 0,0092$ ). Die prozentuale Abnahme betrug in diesem Fall 14,99 %.

Tabelle 117 zeigt den Vergleich des Vehikels mit dem Wirkprodukt zu Beginn und Ende des Prüfzeitraumes. Kein signifikanter Unterschied der Prüffelder bestand am Tag 1 ( $p = 0,5372$ ). Nach dreiwöchiger Anwendung der Präparate war ein signifikanter Unterschied zwischen Produkt A und Produkt B auszumachen ( $p = 0,0414$ ).

Die prozentualen Änderungen der einzelnen physikalischen Parameter bei den jeweiligen Meßmethoden sind in Abbildung 46 dargestellt.

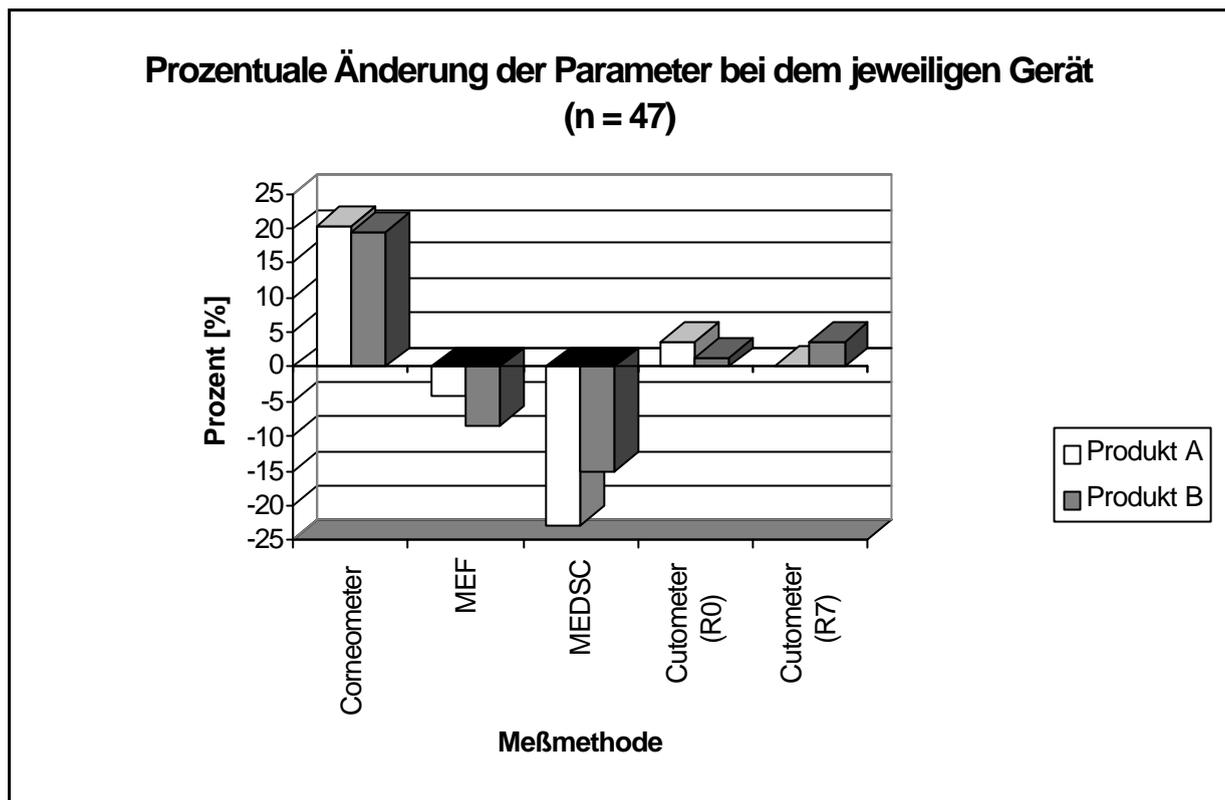


Abb.46: Prozentuale Änderung der physikalischen Parameter bei der jeweiligen Meßmethode. Die Geräte zur Messung der Hautfeuchtigkeit (MEF) und der Dicke des SC (MEDSC) ermittelten eine prozentuale Abnahme der entsprechenden Parameter für beide Prüfprodukte. Signifikante Ergebnisse liegen ausschließlich im Corneometer- und im MEDSC-Befund vor.

## Korrelationsanalyse

Um die Beziehung zwischen den physikalischen Variablen der verschiedenen Meßgeräte zu evaluieren, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Zur Berechnung der Korrelationen sind die gemittelten Rohdaten ohne Ausreißer herangezogen worden und die Daten der Leerfelder ohne Mittelung in die Analyse eingeflossen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 118 aufgeführt. Für das Gerät MEDSC wurden für die gesamte Korrelationsanalyse die nicht korrigierten Daten herangezogen. Zwischen dem Feuchtigkeitsmeßgerät MEF und den Geräten Corneometer ( $r = -0,1792$ ), MEDSC ( $r = -0,0994$ ) und Cutometer ( $r = -0,1557$  für UF(R0) bzw.  $r = -0,0444$  für UR/UF (R7)) war die lineare Regression so gering, daß von einer eher zufälligen Verteilung der Daten ausgegangen werden konnte.

Zwischen den physikalischen Variablen des Feuchtigkeitsmeßgerätes Corneometer und des MEDSC bestand eine negative Korrelation ( $r = -0,7282$ ;  $p = 0,000$ ). Bei bei

einem Anstieg der Kapazitätswerte des Corneometers fallen die MEDSC-Werte ab (siehe Abbildung 47).

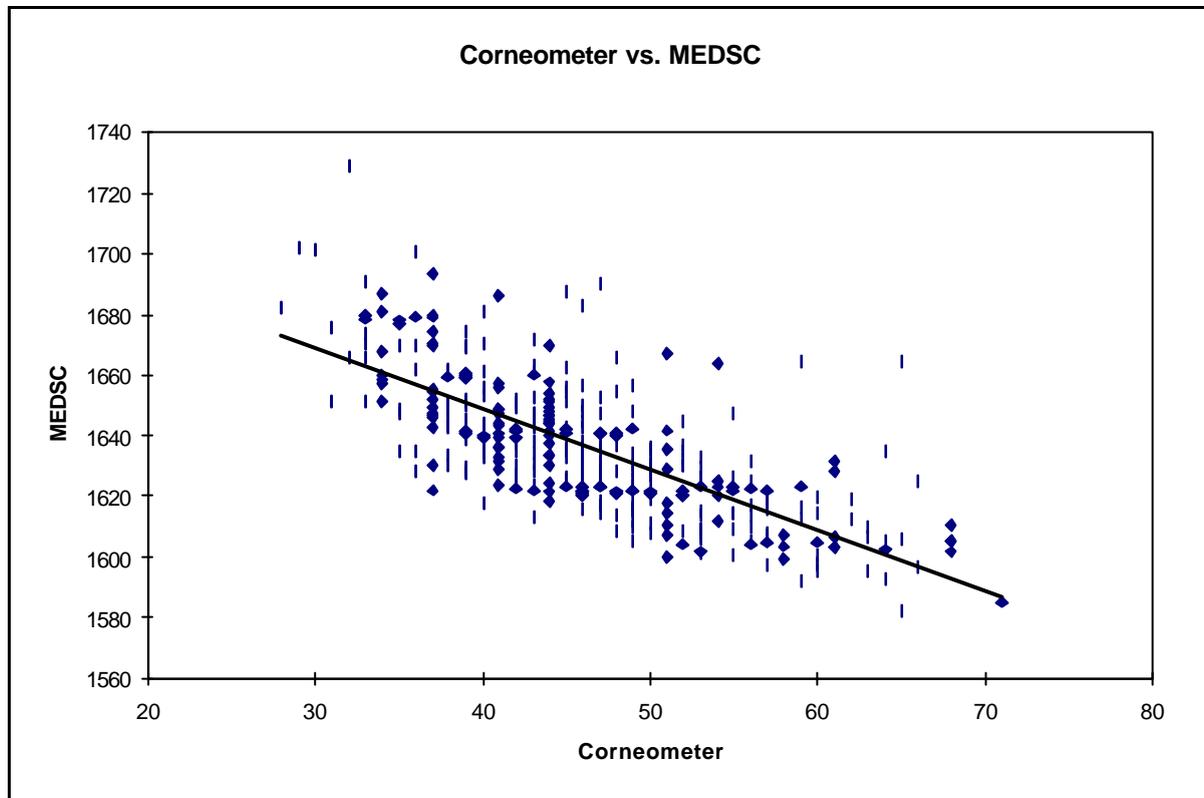


Abb.47: Korrelation des Feuchtigkeitsmeßgerätes Corneometer [arb. units] mit dem Dickenmeßgerät MEDSC [arb. units]. Zwischen beiden Meßmethoden besteht hochsignifikant eine negative Korrelation ( $p = 0,000$ ).

Die Korrelation des biomechanischen Parameters UF (R0) des Cutometer mit dem Corneometer ( $r = 0,1963$ ) (siehe Abbildung 56, Appendix B) sowie mit dem MEDSC ( $r = -0,0017$ ) (siehe Abbildung 62, Appendix B) war so gering, daß auch in diesem Fall von einer eher zufälligen Verteilung der Daten ausgegangen werden kann. Für die Korrelation dieser Meßverfahren galt das gleiche bei Betrachtung des Parameters UR/UF (R7) ( $r = 0,0133$  bzw.  $r = 0,0677$ ) (siehe Abbildung 57 bzw. 61, Appendix B). Zwischen den Parametern der Viskoelastizität wurde eine lineare Korrelation von  $r = 0,3921$  ( $p = 0,000$ ) herausgefunden (siehe Abbildung 48).

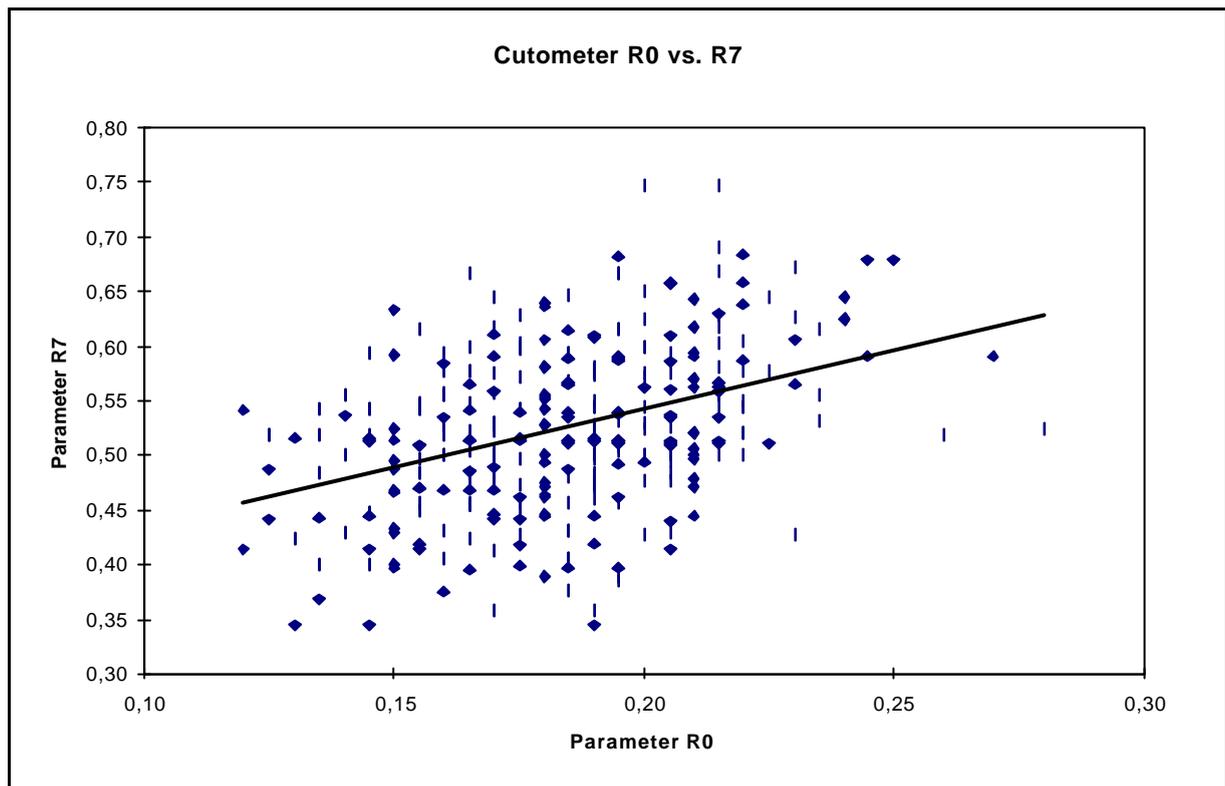


Abb.48: Korrelation der Parameter UF (R0) [mm] und UR/UF (R7) [mm] des Cutometer. Zwischen beiden Parametern besteht eine positive Korrelation ( $p = 0,000$ ).

## Ergebnisse der Bilddokumentation

Die Ergebnisse des zur fotografischen Dokumentation der untersuchten Hautareale eingesetzten Hautanalysegerätes Beauty Scope sind anhand ausgesuchter Beispiele dem folgenden Bildmaterial zu entnehmen (siehe Abbildung 49 - 52). Die Einteilung der Testareale (Unterarm, volar) erfolgte in vier Felder. Zwischen den Arealen blieb ein Streifen von ca. 3 cm Breite (2 Finger breit) unbehandelt.

### Abkürzungen

Feld 1 (F1):	Rechter volarer Unterarm, oberes Areal
Feld 2 (F2):	Rechter volarer Unterarm, unteres Areal
Feld 3 (F3):	Linker volarer Unterarm, oberes Areal
Feld 4 (F4):	Linker volarer Unterarm, unteres Areal
V:	vor der Behandlung (Baseline)
N:	nach dreiwöchiger Behandlung
BMI:	Body Mass Index

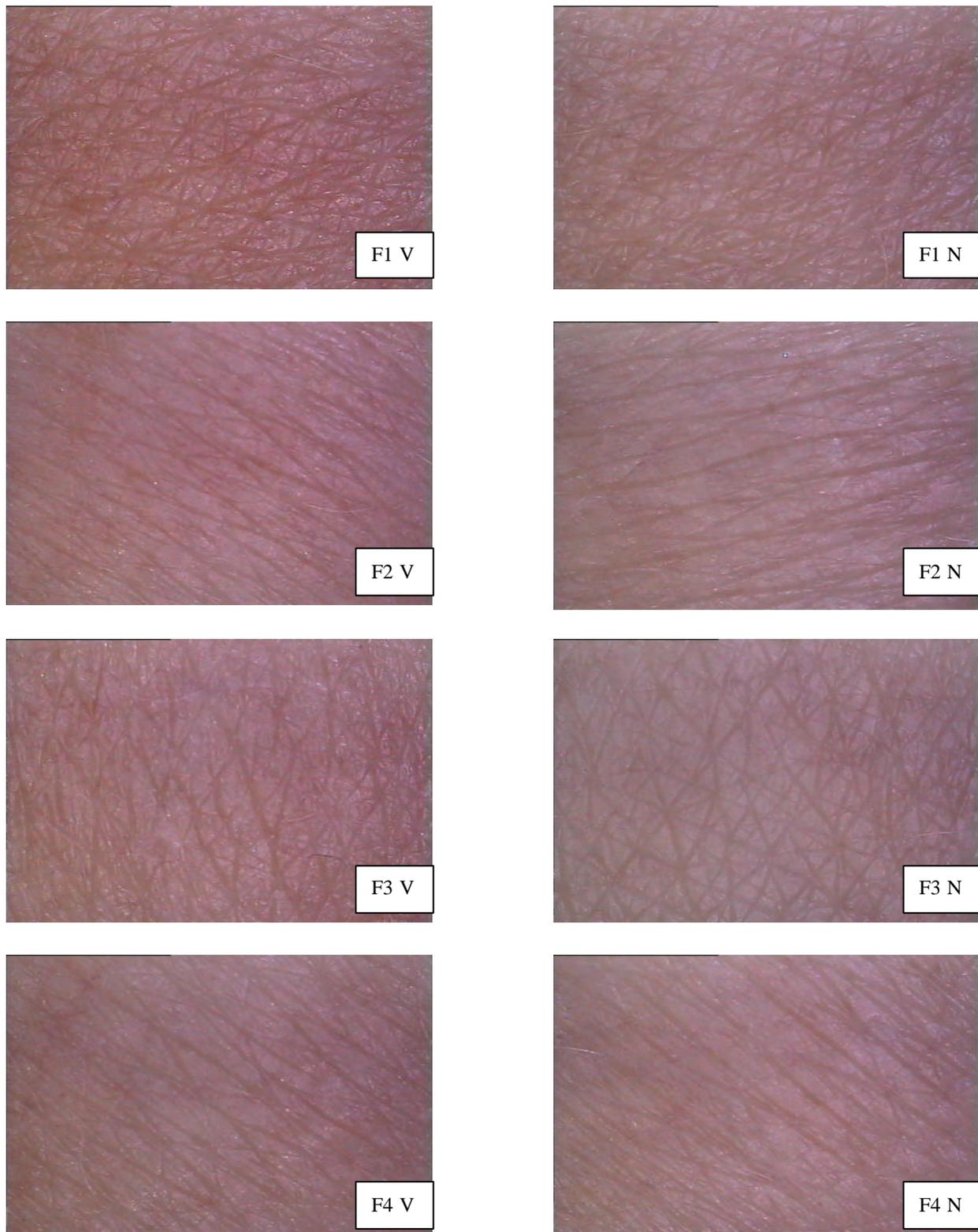


Abb. 49: Probandin 01 BK, Nichtraucherin, BMI 25, Hausfrau.

Feld 1: Vehikel

Feld 2: Leerfeld

Feld 3: Liposomencreme

Feld 4: Leerfeld

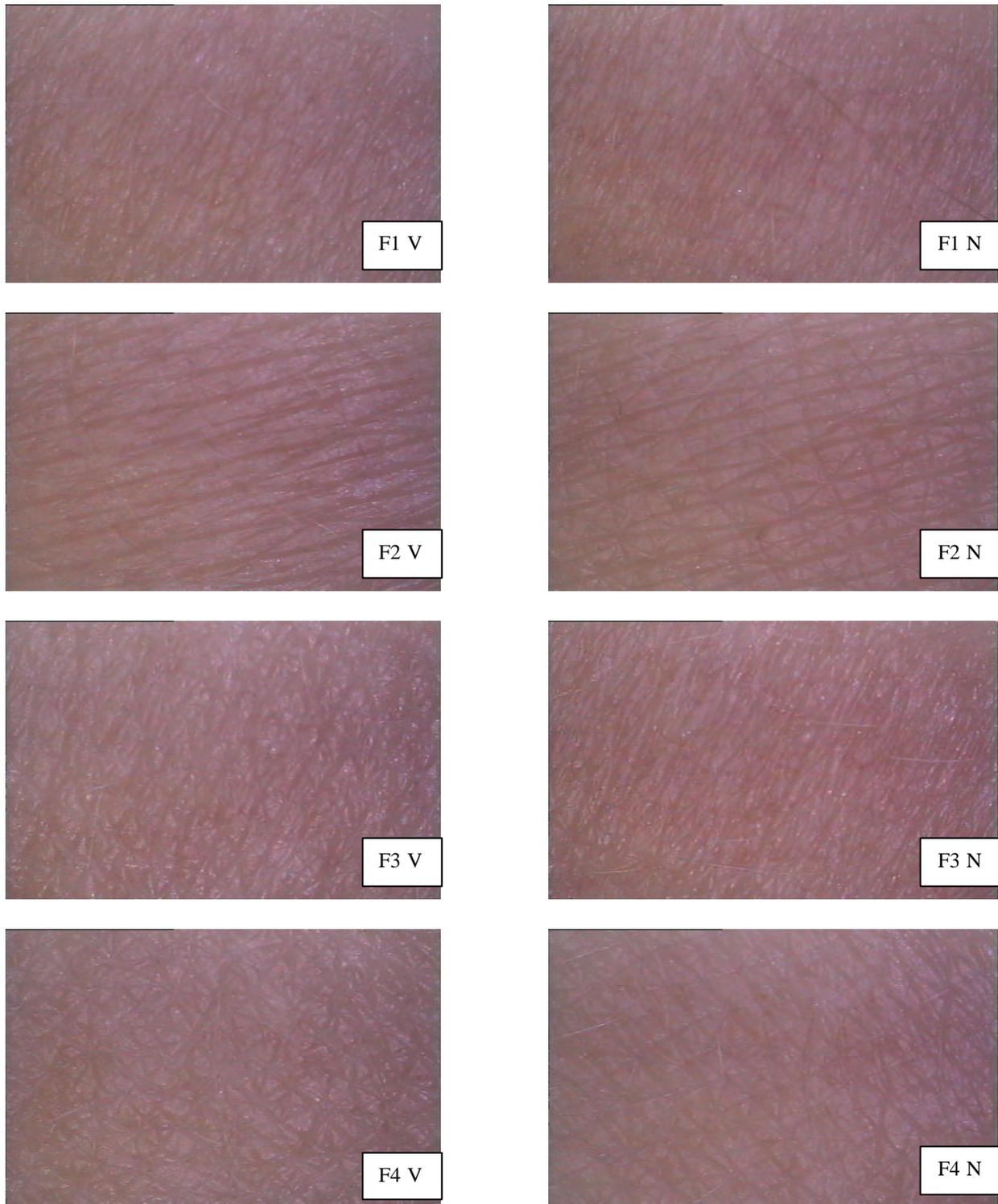


Abb. 50: Probandin 25 BP, Raucherin, BMI: 20, Kosmetikerin.

Feld 1: Vehikel

Feld 2: Leerfeld

Feld 3: Liposomencreme

Feld 4: Leerfeld

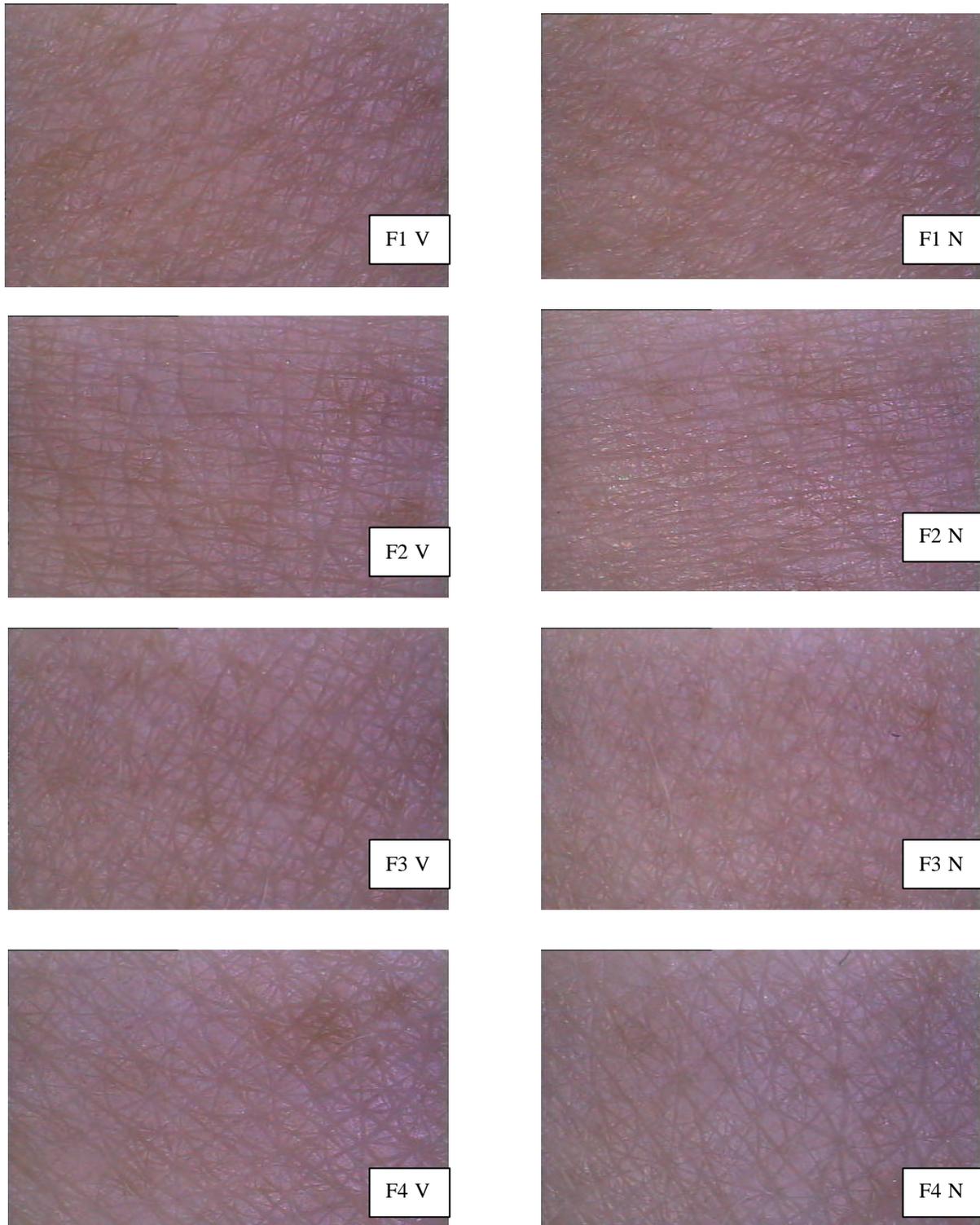


Abb. 51: Probandin 32 EG, Raucherin, BMI: 26, Journalistin  
Feld 1: Leerfeld      Feld 2: Liposomencreme  
Feld 3: Leerfeld      Feld 4: Vehikel

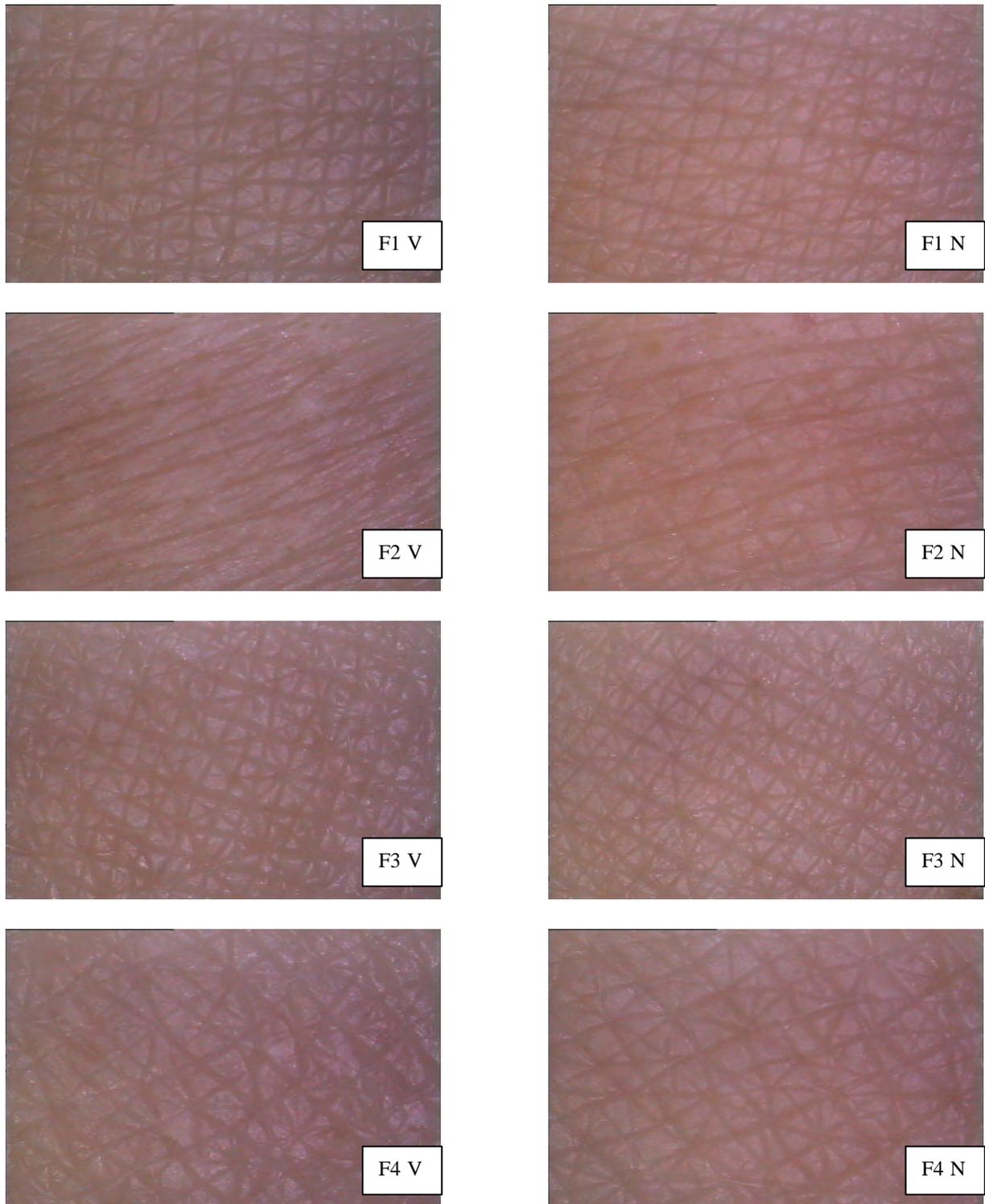


Abb. 52: Probandin 48 UJ, Nichtraucherin, BMI: 25, Hausfrau.

Feld 1: Liposomencreme

Feld 2: Leerfeld

Feld 3: Vehikel

Feld 4: Leerfeld

### 6.2.9.7 Compliance

Tabelle 95 im Appendix B enthält den durch Rückwiegen ermittelten Verbrauch der Prüfprodukte. Von Produkt A (Vehikel) und Produkt B (Verum) wurden in der dreiwöchigen Anwendungsphase im Mittel 29,50 g (SD 14,72) bzw. 28,04 g (SD 13,71) verbraucht. Der geringste Verbrauch lag für Produkt A bei 9,44 g, der Maximalverbrauch bei 74,62 g; für Produkt B zwischen 8,71 g und 65,50 g. Die Streuung war damit erwartungsgemäß groß. Bei einem wöchentlichen Verbrauch von jeweils mindestens ca. 3 g waren Hinweise auf eine fehlende Compliance nicht gegeben, und es lag für beide Testpräparate ein annähernd gleicher Produktverbrauch vor.

### 6.2.9.8 Ergebniszusammenfassung

In der vorliegenden Anwendungsstudie wurden die untersuchten Prüfpräparate über den gesamten Behandlungszeitraum von drei Wochen ohne unerwünschte Wirkungen vertragen.

Die Produkte **Feuchtigkeitsemulsion** (Vehikel, Produkt A) und **Liposomencreme** (Verum, Produkt B) bewirkten eine hochsignifikante Hautbefeuchtung von jeweils ca. 20% (Corneometerbefund). Mit diesem Ergebnis sind beide Produkte als sehr gut hautbefeuchtende Pflegepräparate einzustufen. Das Liposomenpräparat zeigte wider Erwarten in der statistischen Auswertung keine Wirksamkeit, die über die Grundlage hinausging. Der über den Prüfzeitraum eingesetzte Anstieg der Hautfeuchtigkeit in den Kontrollfeldern läßt vermuten, daß jahreszeitliche Klimaschwankungen oder unsachgemäßer Produktübertrag in die unbehandelten Felder in geringem Ausmaß Einfluß genommen haben. Durch rigide Einhaltung der Klimatisierungszeit von 40 Minuten war der Einfluß von psychischen Faktoren oder Transpirationsprozessen weitgehend auszuschließen.

Im Verhältnis zum Corneometer erbrachte die Messung mit dem Hautfeuchtigkeitsgerät MEF keine plausiblen Meßergebnisse. Die Wirksamkeit der Prüfprodukte konnte mit diesem Gerät nicht evaluiert werden. Bereits bei den

Vorversuchen kamen Zweifel an der Validität des Gerätes auf, die durch die klinische Studie verifiziert wurden. Durch den Wassereintrag der Prüfprodukte nahmen die Meßwerte zwar ab, aber die aufgezeigte Veränderung der Hautfeuchtigkeit war im Verhältnis zur hohen Streuung der Meßwerte minimal. Paarige Effekte gingen in der Streuung gänzlich unter. Die Streuung der Meßwerte fiel im Vergleich zu allen anderen Untersuchungsmethoden um ein Vielfaches höher aus. Die Resultate lassen vermuten, daß das Meßsystem im für Hautmessungen relevanten Feuchtigkeitsbereich keine ausreichende Sensitivität aufweist und folglich eine Messung des Feuchtigkeitsstatus der Haut nicht möglich war. Mit hoher statistischer Wahrscheinlichkeit besteht zwischen dem Feuchtigkeitsmeßgerät MEF und dem Corneometer sowie dem Cutometer kein Zusammenhang. Eine Korrelation des MEF mit dem MEDSC-Meßsystem wurde ebenfalls nicht nachgewiesen.

Das Meßsystem zur Erfassung der Hornschichtdicke (MEDSC) stellt wie das Corneometer ein kapazitives Meßverfahren dar, das die elektrische Kapazität auf einer anderen Frequenz mißt. Zwischen beiden Geräten besteht erwartungsgemäß eine Verbindung. Die produktabhängigen Veränderungen der Werte des MEDSC und des Corneometers zeigten eine negative Korrelation, indem mit zunehmender Befeuchtung der Haut die Corneometerwerte anstiegen und die initialen MEDSC-Werte abfielen. Die Wirksamkeit des Placebo wurde mit dem MEDSC bestätigt und stellte sich in der Größenordnung des Corneometers dar. Auch für das liposomale Wirkprodukt wurde eine deutliche, aber vergleichsweise schwächere Wirksamkeit nachgewiesen. Damit differenzierte im Vergleich zum Corneometer das MEDSC zwischen den Effekten der Prüfprodukte tendentiell stärker. Die Streuung der Meßwerte war allerdings ca. doppelt so hoch wie beim Corneometer. Zwischen dem MEDSC und anderen Meßverfahren außer der Corneometrie bestand kein statistisch abgesicherter Zusammenhang.

Die Saugmethode zur Bestimmung der viskoelastischen Hauteigenschaften Cutometer korrelierte nicht mit anderen Meßverfahren. Es zeigte eine geringe Streuung der Meßwerte, die in der Größenordnung derer des Corneometers lagen und lieferte valide Daten. Im Cutometerbefund stieg nach dreiwöchiger Applikation der Testprodukte die maximale Hautausdehnung (UF) nur geringfügig an, so daß sich kein signifikanter Einfluß beider Prüfprodukte auf die Gesamtauslenkung der

Haut nachweisen ließ. Das Verhältnis zwischen sofortiger elastischer Rückstellung und der maximalen Deformation der Haut (Relative Elastische Erholung; UR/UF), das als Maß für die elastische Erholung angesehen wird, wurde ebenfalls nicht signifikant beeinflusst. Damit ließ sich in dieser Prüfung die von beiden Testprodukten angenommene hautstraffende Wirkung und Einflußnahme auf die Rückstellungsfähigkeit der Haut anhand der gewählten biomechanischen Parameter nicht bestätigen. Die durch die MANOVA-Kontrastierung aufgedeckten Unterschiede der Ausgangswerte (siehe Parameter UR/UF) der Prüffelder am Tag 1 lassen darauf schließen, daß zu Beginn der Meßreihe ein systematischer Fehler Einfluß genommen hat, der allerdings nicht aufgedeckt werden konnte. Eventuell handelte es sich dabei um einen seltenen Zufallseffekt.

Das Bilddokumentationssystem Beauty Scope erwies sich in dieser Studie als gut einsetzbar. Es ließ sich gut handhaben, war einfach zu bedienen und zeichnete sich durch eine gute Bildqualität aus. Die Oberflächenstruktur der Haut wurde wiedergegeben und altersbedingte Veränderungen wie Trockenheit, Schuppung oder Rauhung sichtbar. Die feuchtigkeitsspendende Wirkung beider Testprodukte ließ sich visuell anhand der Hautglättung erkennen. Hilfreich wäre eine Softwareerweiterung, mit deren Unterstützung die Bilder übersichtlich verwaltet und zum Beispiel zur besseren Orientierung Probanden und Testarealen zugeordnet werden. Zur besseren Dokumentation kosmetischer Pflegeeffekte wäre es vorteilhaft, wenn mehrere Bilder am Bildschirm zum Vergleich gegenübergestellt werden könnten. Da beide Prüfpräparate im Anwendungstest gleichsam als sehr gut feuchtigkeitsspendend bewertet wurden, blieb die Frage offen, inwieweit sich differente Oberflächeneffekte von unterschiedlich wirksamen Kosmetikprodukten anhand des Bildmaterials zu erkennen geben.

***Zusammenfassend bleibt festzuhalten, daß es sich bei den Prüfprodukten Feuchtigkeitsemulsion und Liposomencreme um ausgezeichnete Feuchtigkeitspräparate handelt. Die Wirksamkeitsprüfung erbrachte aber keinen besseren Effekt der Liposomenformulatur.***

***Sowohl zwischen dem Gerät zur Dickenmessung des SC (MEDSC) und dem Feuchtigkeitsmeßgerät Corneometer als auch zwischen den Parametern des***

***Cutometers bestand eine signifikante Korrelation. Zwischen allen anderen physikalischen Variablen wurden keine evidenten Zusammenhänge gefunden. Trotz der stark hydratierenden Wirkung der kosmetischen Prüfpräparate gab sich wider Erwarten kein Einfluß auf die biomechanischen Hauteigenschaften zu erkennen. Um diesen Zusammenhang genauer zu prüfen und gegebenenfalls zu verifizieren, wurden zusätzlich weitere biomechanische Parameter herangezogen und einer deskriptiv-explorativen Auswertung unterzogen.***

### 6.3 Auswertung weiterer biomechanischer Parameter

Wird sich der Annahme angeschlossen, daß der Hydratationsgrad des SC einen entscheidenden Einfluß auf die viskoelastischen Eigenschaften intakter menschlicher Haut hat (66, 74 - 81), da die biomechanischen Funktionen der Epidermis hauptsächlich der Hornschicht zugeschrieben werden, müßten unter starkem Feuchtigkeitseintrag die Reibungswiderstände in der Oberhaut abnehmen und die Zellen besser aneinander vorbei gleiten. Für die erweiterte Wirksamkeitsprüfung der Testpräparate erschien deshalb besonders die Analyse viskoser Anteile der Viskoelastizität von Relevanz, um differenziert den Effekt auf fließfähige Stoffsysteme zu evaluieren.

Dazu wurden beim Cutometer die Spannungs-Dehnungs-Beziehungen des ersten im Vergleich zum fünften Meßzyklus berechnet und das Verschieben bzw. das Kriechen der Haut unter Last sowie ihr hysteretisches Verhalten (viskoelastisches Fließen) untersucht. In Ergänzung zu der für die Studie geplanten Parameter UF (entspricht R0) und UR/UF (entspricht R7) im Dehnungs-Zeit-Modus sind als biologisch relevante Verhältnisse

- im ersten Saugzyklus die relativen Parameter  $X/UF$  sowie  $UV/UE$ , und
- im letzten, d.h. im fünften Saugzyklus, die Parameter  $X_{(5)}/UF_{(5)}$  und  $UV_{(5)}/UE_{(5)}$  berechnet worden.

Letztgenannte wurden in der gesichteten Literatur in dieser Form noch nicht als Berechnungsgrundlage herangezogen.

Alle weiteren Berechnungsgrößen (siehe Tabelle 39) wurden der Vollständigkeit halber mit in die Analyse aufgenommen.

Für die Auswertung standen  $n = 46$  Probanden zur Verfügung.

Da für die Daten keine Normalverteilung vorlag, fand zur Prüfung der Wirksamkeit im Rahmen einer deskriptiv-explorativen Analyse der Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben Anwendung. Die prozentuale Änderung pro Parameter und Prüfprodukt im Vergleich zum ersten Meßzeitpunkt wurde als Quotient zum unbehandelten

Kontrollfeld berechnet. Die Quotientenbildung berücksichtigt Leerfeldeffekte sowie die Balanciertheit der Werte und macht paarige Vergleiche sichtbar. Zusätzlich wurde der Zeitpunktsvergleich sowohl für die Prüfprodukte als auch für die Leerfelder ohne Quotientenbetrachtung vorgenommen. Das gleiche gilt für den Test gegen das Leerfeld am Tag 1 bzw. Tag 22.

Die Zeitpunktsvergleiche der beiden Prüfprodukte und die mittlere prozentuale Änderung des jeweiligen Parameters bezogen auf den Ausgangswert stellen Tabelle 119 - 127 (siehe Appendix B) dar. Eine ergänzende Darstellung liefert Abbildung 53.

### **Parameter $UF_{(5)}$** (entspricht R3)

Die maximale Hautauslenkung im letzten Meßzyklus wird durch den Parameter  $UF_{(5)}$  gekennzeichnet. Nach dreiwöchiger Anwendungsphase unterschied sich die Feuchtigkeitsemulsion (Produkt A) signifikant vom Kontrollfeld ( $p = 0,018$ ), nicht aber das liposomale Wirkprodukt ( $p = 0,461$ ).

Dieses Ergebnis wird bestätigt durch den unter Quotientenbildung durchgeführten Zeitpunktsvergleich, bei dem ausschließlich das Vehikel eine signifikante Zunahme der Gesamtauslenkung  $UF_{(5)}$  von 5,39% ( $p = 0,012$ ) über den Prüfzeitraum bewirkte. Die unter Anwendung der Liposomencreme (Produkt B) eingetretene mittlere Zunahme von 1,35% war ohne Signifikanz ( $p = 0,747$ ).

Der Produkteffekt am Tag 22 war signifikant ( $p = 0,034$ ), d.h. nach dem Behandlungszeitraum unterschieden sich Vehikel und Wirkprodukt deutlich voneinander.

Der Zeitpunktsvergleich ohne Quotientenbetrachtung erbrachte keine signifikanten Unterschiede.

### **Parameter $UR/UE$** (entspricht R5)

Der Parameter  $UR/UE$  beschreibt das Verhältnis zwischen unmittelbarer elastischer Erholung und sofortiger elastischer Ausdehnung im ersten Saugzyklus. Die Prüfprodukte erbrachten hier keine signifikanten Produkt- oder Zeitpunktseffekte.

### **Parameter $X$ und $X_{(5)}$** (entspricht R1 bzw. R4)

Der Parameter  $X$  kennzeichnet den niedrigsten Meßpunkt der Meßkurve zum Ende der Entspannungsphase der Haut nach vorangegangener Belastung. Die

Berechnung des Parameter X im ersten bzw. im letzten Saugzyklus ( $X_{(5)}$ ) ergab für beide Prüfprodukte keine signifikanten Produkt- oder Zeitpunktseffekte.

Tab.39: Cutometerbefunde unter Quotientenberechnung: Zeitpunktsvergleiche der beiden Prüfprodukte und mittlere prozentuale Änderung des jeweiligen biomechanischen Parameters. Tag 1 zu Tag 22, n = 46

Parameter	% Prod. A (Placebo)	% Prod. B (Verum)
UF	3,78	1,23
UF <sub>(5)</sub>	<b>5,39</b>	1,35
UR/UF	0,26	3,62
UA/UF	1,57	1,87
UR/UE	-0,63	2,85
X	-1,43	-4,28
X <sub>(5)</sub>	-1,05	-3,48
UV/UE	-7,56	-2,16
UV/UE <sub>(5)</sub>	-16,39	0,14
X/UF	-7,24	-7,79
X/UF <sub>(5)</sub>	<b>-8,08</b>	<b>-6,35</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

### **Parameter UA/UF** (entspricht R2)

Der Parameter beschreibt das Verhältnis von kompletter Rückstellung der Haut nach Belastung zur Gesamtauslenkung der Haut im ersten Meßzyklus. Die Kalkulation ohne Quotientenbildung ergab ausschließlich für Produkt A einen signifikanten Unterschied zum unbehandelten Leerfeld ( $p = 0,022$ ).

Bis auf diesen Effekt erzielten beide Produkte keine weiteren statistisch gesicherten Zeitpunkts- oder Produkteffekte.

### **Parameter UV/UE** (entspricht R6)

Der Quotient UV/UE beschreibt das Verhältnis von verzögerter viskoelastischer Ausdehnung zu sofortiger elastischer Ausdehnung im ersten Meßzyklus. Nach dem Behandlungszeitraum unterschied sich das Vehikel (Produkt A) signifikant vom unbehandelten Leerfeld ( $p = 0,022$ ), nicht aber die Liposomencreme ( $p = 0,943$ ).

Der Zeitpunktvergleich unter Quotientenbildung zeigte, daß die durch beide Prüfprodukte eingesetzte Abnahme des viskoelastischen Verhältnisses von 7,56% (Vehikel) bzw. 2,16% (Liposomencreme) nicht signifikant ist ( $p = 0,207$  bzw.  $p = 0,731$ ).

Der Produkteffekt nach 3-wöchiger Anwendungszeit ist allerdings signifikant ( $p = 0,047$ ).

Im Zeitpunktvergleich ohne Quotientenbildung trat keine statistisch abgesicherte Änderung der behandelten Prüffelder ein. In den Kontrollfeldern stellte sich eine Veränderung ein ( $p = 0,063$ ), die aber nicht signifikant war.

### **Parameter $UV/UE_{(5)}$**

Das Verhältnis von verzögerter elastischer Ausdehnung zu sofortiger elastischer Ausdehnung im fünften Meßzyklus wird durch den Parameter  $UV/UE_{(5)}$  gekennzeichnet.

Nach dem Anwendungszeitraum unterschied sich die Liposomencreme nicht signifikant vom Leerfeld ( $p = 0,167$ ). Für die Feuchtigkeitsemulsion wurde ein Trend deutlich ( $p = 0,071$ ).

Der Zeitpunktseffekt unter Quotientenbildung erbrachte entsprechend der Parameterberechnung im ersten Meßzyklus, daß weder die vom Placebo bewirkte Abnahme von 16,39% ( $p = 0,731$ ) noch die durch das Wirkprodukt erzielte Zunahme von 0,14% ( $p = 0,935$ ) signifikant ist.

Der Produkteffekt ist ebenfalls nicht signifikant ( $p = 0,608$ ).

Interessant ist der Zeitpunktvergleich der Wirksamkeit ohne Quotientenbetrachtung. Sowohl das Placebo ( $p = 0,000$ ) als auch die Liposomencreme ( $p = 0,003$ ) haben zu einer signifikanten Veränderung des Parameters  $UV/UE$  im fünften Meßzyklus geführt. Allerdings setzte ebenfalls in den unbehandelten Kontrollfeldern eine signifikante Veränderung ein ( $p = 0,004$ ). Dadurch blieben die Effekte unter Quotientenberechnung ohne Signifikanz.

### **Parameter $X/UF$** (entspricht $R1/R0$ )

Der relative Parameter  $X/UF$  beschreibt das Verhältnis von niedrigstem Meßpunkt nach der Erholungsphase zu maximaler Hautausdehnung im ersten Saugzyklus.

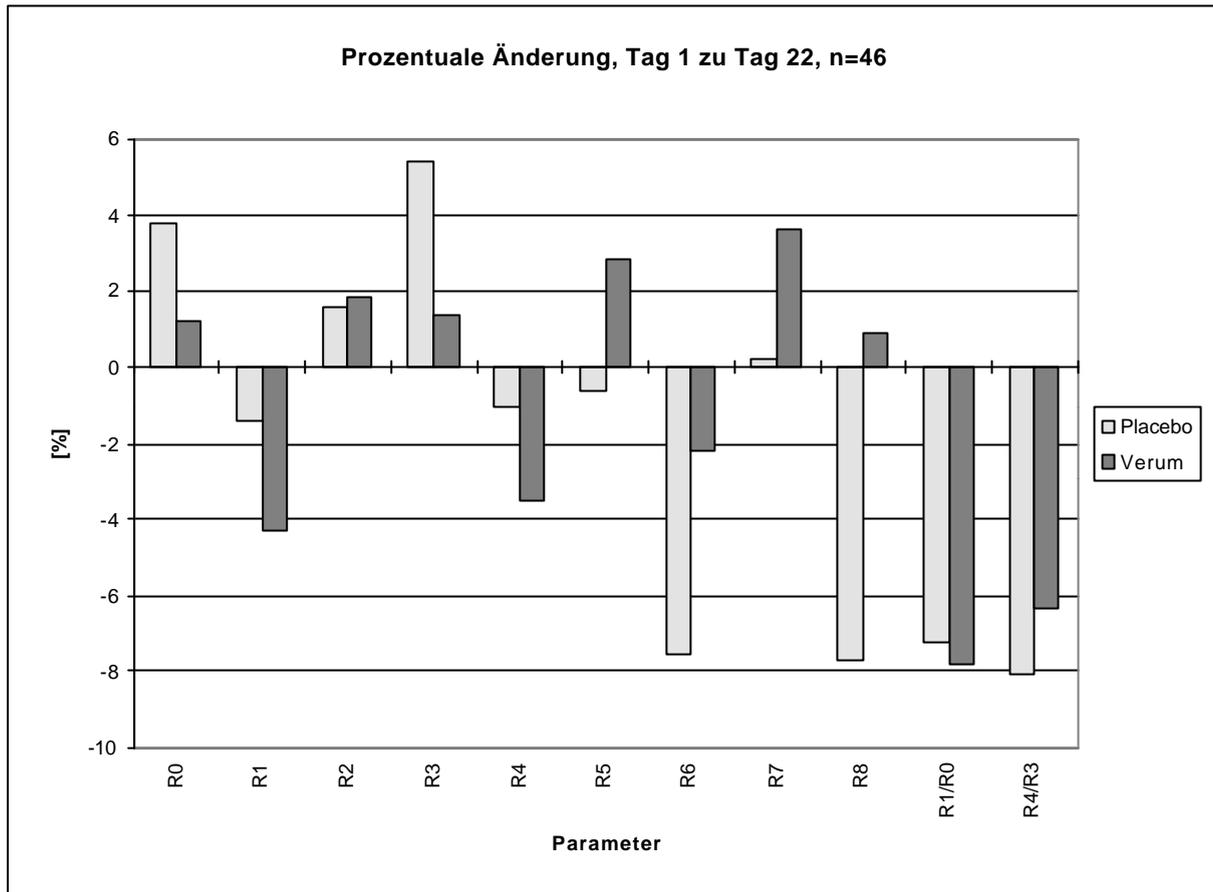


Abb.54:Übersicht der prozentualen Änderung (Tag 1 zu Tag 22) aller berechneter biomechanischer Parameter des Cutometer®. Signifikante Veränderungen (\*) lagen nur für  $UF_5$  (entspricht R3) und  $X_5/UF_5$  (entspricht R4/R3) vor.

R0	= UF
R1	= X
R2	= UA/UF
R3 (*)	= $UF_5$
R4	= $X_5$
R5	= UR/UE
R6	= UV/UE
R7	= UR/UF
R1/R0	= X/UF
R4/R3 (*)	= $X_5/UF_5$

Analog den Ergebnissen für die Parameter  $UF_{(5)}$  und UV/UE unterschied sich am Tag 22 das Vehikel signifikant vom Leerfeld ( $p = 0,032$ ), nicht aber das Wirkprodukt ( $p = 0,125$ ).

Der unter Quotientenberechnung durchgeführte Vergleich der Zeitpunkte erbrachte für das Produkt A eine prozentuale Abnahme gegenüber Baseline von 7,24 % und für das Produkt B (Verum) von 7,79 %. Beide Ergebnisse sind statistisch nicht

signifikant ( $p = 0,170$  bzw.  $p = 0,096$ ), lassen jedoch für das liposomale Wirkpräparat (Produkt B) einen Trend erkennen.

Am Tag 22 war der Produkteffekt für beide Prüfpräparate nicht signifikant ( $p = 0,731$ ). Die Berechnung der Wirksamkeit im Zeitpunktsvergleich ohne Quotientenberechnung erbrachte sowohl für die Produkte als auch die Leerfelder keine signifikanten Veränderungen.

**Parameter  $X/UF_{(5)}$**  (entspricht R4/R3)

Am Tag 22 unterschieden sich sowohl das Vehikel ( $p = 0,016$ ) als auch das Wirkprodukt ( $p = 0,045$ ) signifikant vom Kontrollfeld.

Dieses Ergebnis wird durch den unter Quotientenberechnung durchgeführten Zeitpunktsvergleich bestätigt. Das Vehikel bewirkte eine prozentuale Abnahme gegenüber Baseline von 8,082 % ( $p = 0,047$ ) und das Verum von 6,346 % ( $p = 0,023$ ). Die Ergebnisse sind statistisch signifikant.

Hingegen war der Produkteffekt beider Prüfpräparate nicht signifikant ( $p = 0,307$ ).

Die Berechnung der Wirksamkeit im Zeitpunktsvergleich ohne Quotientenbildung erbrachte ausschließlich für die Leerfelder eine signifikante Veränderung über den Prüfzeitraum ( $p = 0,002$ ).

## 6.4 Diskussion der Ergebnisse

### 6.4.1 Hydratierender Effekt

Biomechanische Eigenschaften der menschlichen Haut sind von beträchtlichem Forschungsinteresse, und die Fähigkeit differenter Substanzklassen diese Eigenschaften zu modifizieren, sind nicht nur von praktischem Wert, sondern offerieren zusätzlich wichtige Informationen über das Wesen grundlegender Mechanismen, welche die Hautmechanik beeinflussen (330, 331). Unter kosmetischen Gesichtspunkten stellt das SC den bedeutendsten Part dar, da der Hautzustand maßgeblich durch physiochemische Modifikationen dieser Schicht beeinflusst wird.

Seit den klassischen Arbeiten von Blank (332, 333) ist der Stellenwert von Wasser im SC erkannt worden. Ein ausreichender Wassergehalt ist wichtig für das Vorhandensein einer weichen, gut durchfeuchteten, flexiblen Haut (5, 23, 73, 179, 239), die nötige Plastizität (81, 128, 334 - 337) sowie intakte Barrierefunktion (81, 182 - 184, 186), die unter trockenen Bedingungen einen langsamen transepidermalen Wasserverlust erlaubt (33). Da der Feuchtigkeitsgehalt direkt oder indirekt die Repairprozesse der Hautbarriere beeinflusst (41, 181, 184, 348 - 341), resultiert ein mit zunehmendem Alter fortschreitender Feuchtigkeitsabfall in brüchiger und rauher Hornschicht (87, 95, 333), einer Beeinträchtigung der Wasserhomöostase und verminderter Hautgeschmeidigkeit (3, 4, 60, 67, 75, 76, 132, 179, 342).

Einen Einfluß auf den elektrischen Widerstand des Keratins und den E-Modul des SC nimmt die relative Luftfeuchtigkeit (343, 344). Durch ihre starke dipolare Natur können Wassermoleküle Bindungen mit vielen Keratinseitenketten eingehen und eine innere Umbildung der hydrophoben Gruppen bewirken. Durch die strukturelle Wechselwirkung der Polypeptidketten mit Wassermolekülen kann die Dicke der Hornschicht erheblich - und zwar um bis zu 100 % - zunehmen (344). Bereits die präzise Arbeit von Watt und Leeder (345) zeigte beispielhaft, daß der Prozentsatz der Wassermoleküle, die an Carboxyl- oder Aminogruppen gebunden sind, bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 65 % nur 46 % beträgt. Die zu Beginn des Sorptionsprozesses eintretende Kondensation der Wassermolekülen an hydrophile Bindungsstellen (z.B. Peptidgruppen oder freie

OH-Gruppen) erklärt den graduellen Abfall in der Bindungsenergie (344). Der Prozeß erlaubt den Wassermolekülen, sich zwischen Polypeptidketten zu schieben, was zu einer Abnahme der Wechselwirkungen zwischen den Ketten führt und in Folge die Plastifizierung der Struktur ermöglicht. In den Fällen, wo Wassermoleküle relativ locker über Wasserstoffbrücken gebunden sind, können sie Protonen abgeben, die ins Netzwerk der Wasserbindungen einwandern. Dieser Mechanismus erklärt, warum *elektrische Leitfähigkeit und Gehalt an gebundenem Wasser im SC in Beziehung zueinander stehen* (344). Da Wasser bei weitem die höchste dielektrische Konstante in der Haut hat, wird eine Feuchtigkeitsakkumulation den kapazitiven Widerstand ansteigen lassen, so daß ein Anstieg der Kapazität eine verbesserte Hautkondition reflektiert (346 - 350).

Von der Vielzahl der Techniken zur Messung der Hautfeuchtigkeit basieren die meisten in vivo-Verfahren auf elektrische Messungen (siehe Kap. 4.2), wie der Messung des elektrischen Widerstandes, des kapazitiven Widerstandes und der Impedanz (81, 334, 336, 337, 351 - 354). Unglücklicherweise geben diese Techniken nur qualitative Informationen über Veränderungen im Wassergehalt an ungenau definierten Stellen (355) und liefern keine Informationen über die Menge oder Verteilung des Wassers in der Haut (356). Ein weiterer Nachteil von Feuchtigkeitsmessungen ist, daß die Meßwerte durch Unebenheiten der Hautoberfläche (357) sowie die elektrische Polarität der in einer Kosmetikformulatur enthaltenen Moleküle, d.h. durch nicht absorbierte Agenzien beeinflusst werden (81, 352, 358, 359), da diese drastische Veränderungen in den elektrischen Eigenschaften hervorrufen können. Vor dem Hintergrund der potentiellen Schwierigkeiten bei der Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes, wird die Messung der *Hautkapazität* favorisiert, um zwischen unterschiedlichen Graden klinischer Trockenheit (348) zu unterscheiden und die Wirksamkeit kosmetischer oder dermatologischer Produkte zu prüfen (81, 346 - 350, 359, 360).

In der kosmetischen Hautpflege gibt es zwei Hauptprinzipien, den Wassergehalt der Haut zu steigern und einer trockenen Haut entgegenzuwirken:

- ➔ *Reduktion des Wasserverlustes* aus der Haut durch okkludierende Substanzen (Emollients, z.B. Paraffin);

→ *Erhöhung der Wasserbindungskapazität* durch die Anwendung befeuchtender Agenzien (Moisturizer).

Feuchtigkeitsspendende Pflegepräparate, denen eine Wirksamkeit nachgewiesen wurde, enthalten Moisturizer wie Natrium Lactat (360), Pyrrolidincarbonsäure (360, 362), Glycerin (330, 360, 363, 364, 365, 366) oder Harnstoff (348). Ob Glycerin als eine Art okkludierendes Agens wirkt, ist umstritten. Es wurde von Batt et al. (367) und Wilson et al. (368) eine Reduktion des transepidermalen Wasserverlustes, hingegen von Lieb et al. (370) auch eine Steigerung festgestellt.

Daneben kann - sozusagen als drittes Wirkprinzip - der *Einsatz von Liposomen* angeführt werden, deren Wirksamkeitsuntersuchung immer wieder eine Herausforderung darstellt. Im Gegensatz zu ersten Berichten aus in vitro-Versuchen erbringt die zunehmende Zahl an in vivo-Tests in der Kosmetik differente und zum Teil widersprüchliche Resultate hinsichtlich der Fragestellung, ob Liposomen ein besserer Pflegeeffekt bzw. eine bessere Wirksamkeit auf die Hautfunktionen als den in Hautcremes üblicherweise eingesetzten Moisturizern zugesprochen werden kann. Häufig ist die Validität solcher Untersuchungen u.a. durch unzureichende Stichprobengrößen, fehlende Verblindung und sehr kurze Klimatisierungszeiten in Frage zu stellen. Auch tragen unterschiedliche Studiendesigns (Kurzzeit- versus Langzeittests) eher zur Verwirrung, als denn zur Klärung der Frage nach der Wirksamkeit bei. Besonders fragwürdig sind Kurzzeitprüfungen mit einer einmaligen Applikation (233) oder mehreren Anwendungen über wenige Stunden (205, 296, 298, 315, 316), bei denen durch die kurzen Zeitabstände keine ausreichende Distanzzeit zwischen Produktapplikation und Hautmessung sichergestellt werden kann. Dadurch werden eher die elektrischen Eigenschaften der Formulatur als die der Haut bestimmt (81, 352, 358, 359).

Als ein Hauptproblem der Liposomen in ihrer Funktion als Carrier ist ihre limitierte Stabilität sowie ihre ausgesprochene Neigung zur Fusion anzusehen, wobei offensichtlich der Gehalt an intakten Liposomen in einer Formulatur mit der Lagerung abnimmt (19, 242, 250 - 255), weshalb gegenwärtig alternative Möglichkeiten zur

Modifizierung oder Stabilisierung von Liposomen in kosmetischen Präparaten gesucht werden (19, 252 - 255).

Der Mechanismus um die Penetration von Vesikeln, Liposomen oder Nanoemulsionen wird trotz langjähriger Forschung und weitverbreiteter Anwendung nach wie vor kontrovers diskutiert (43, 371 - 373). Der Wirkmechanismus der Liposomen ist im einzelnen noch nicht geklärt. Dabei wird oft die Frage in den Vordergrund gestellt, ob Vesikel intakt in das SC bzw. in die Haut penetrieren oder nicht. Der Trend geht heute in die Richtung, die vesikuläre Form zwar gewissermaßen als initiale Transportform anzusehen, wobei aber das Vesikel auf dem Weg in die Haut rasch seine definierte Struktur verliert (43). Als unstrittig kann angesehen werden, daß Formulierungen auf Basis geeigneter PL und ausreichender Dosierung die Penetration von Wirkstoffen in die Haut fördern. Geeignete PL sind Phosphatidylcholin in seiner reinen Form oder für die topische Anwendung Fraktionen mit einem hohen Anteil an Phosphatidylcholin und einem geringen Anteil an Begleitphospholipiden. Da der Effekt unstrittig, die Penetration intakter Vesikel aber eher verneint wird (43, 371), muß die Frage aufgeworfen werden, wie weit es unter dieser Prämisse denn überhaupt sinnvoll ist, vesikulär zu formulieren.

Nachdem das Liposom in der Forschung lange Zeit als Modell für Biomembranen diente, war eine resultierende Überlegung, es aufgrund seiner Ähnlichkeit zu Biomembranen als Transportvesikel zur Einschleusung von Wirkstoffen in Zellen zu verwenden. Transferierte zunächst die Kosmetik, dann auch die pharmazeutische Industrie die Erfahrungen der parenteralen Anwendung von Liposomen auf die der kutanen, was an der Manifestation der Ansprüche an vesikuläre Struktur und Teilchengröße abzulesen war, so ist heute in beiden Bereichen zumindest teilweise ein Umdenken festzustellen. In der Kosmetik werden *heute* Systeme propagiert, die auf *hydriertem* Phosphatidylcholin basieren und sich gezielt der lamellaren Ausbildung der PL bedienen (43, 371). Auch in der Pharmaindustrie zeigen neuere Entwicklungen, daß nicht auf eine liposomale Struktur hin entwickelt wird, und dies anscheinend ohne Effektivitätsverlust der penetrationsverstärkenden Wirkung der eingesetzten PL.

Im Allgemeinen wird der Mechanismus der Penetrationsverstärkung durch PL als Fluidisierung der Lipidmembranen des SC durch Zutritt der extern applizierten PL

diskutiert (371). Betrachtet man Fusionsmodelle wird klar, daß die ablaufenden Mechanismen, der Lipidaustausch und die einhergehende Fluidisierung der Lipidschichten der Hornschicht nicht primär durch die Struktur der verabreichten PL bedingt sein kann. Vielmehr bestimmen die physikochemischen Eigenschaften der eingesetzten PL den Fluidisierungsgrad und nehmen somit Einfluß auf das Penetrationsverhalten topisch verabreichter Wirkstoffe. Ein weiterer Gesichtspunkt bei der Frage, ob die Effekte der PL strukturgebunden sind, ist die von verschiedenen Autoren (374) gezeigte Sättigungskonzentration der PL im SC. Die Arbeiten machen deutlich, daß auch nach Absättigung der Hornschicht PL nicht in tiefere Schichten der Epidermis penetrieren. Daß die Penetrationskinetik der PL nicht gleichzusetzen ist mit der des applizierten Wirkstoffes, wird auch beschrieben. Die oben angeführte Assoziation des Wirkstoffes an PL kann somit nur als eine Forderung für die initiale Phase der Penetration angesehen werden. Auch die Entkopplung der Kinetiken wird als ein deutliches Indiz für die nicht strukturgebundene, sondern substanzimmanente Eigenschaften der PL angesehen (43).

Der befeuchtende Effekt von Liposomen (205, 216, 240, 312 - 315) ist gemäß Gareiß (371) nicht, wie fälschlicherweise oft angenommen vom Gehalt ungesättigter FS abhängig (208, 216, 228, 233), sondern wird durch das Cholin bestimmt (298), das eine hohe Bindungsaffinität für Wasser hat. Ob topisch applizierte PL eine Steigerung des TEWL induzieren, ist neben der Dosierung eine Frage der FS-Besetzung. Zu diesem Resultat kamen bereits Artmann et al., 1990 (298); Ghyczy et al., 1991 (313); Wichrowski et al., 1995 (315) und Schöbel, 1995 (318). Akkumulieren *ungesättigte PL* in der Hornschicht, kommt es zu einer Fluidisierung der SC-Lipide und damit temporär zu einer gesteigerten Passage von Stoffen in und aus der Haut (371). Die Evaporation von Wasser resultiert in einem Feuchtigkeitsverlust, der bei kosmetischen Wirksamkeitsprüfungen in vivo gemessen wurde und unerwünscht ist (vgl. Schöbel, 1995; Gehring 1997). Hingegen ist er für die perkutane Absorption von Pharmaka hilfreich, da hier die Passage topisch applizierter Stoffe in die Blutbahn erleichtert werden soll, um systemische Effekte zu entfalten.

Damit stellen sich für den Kosmetikerhersteller hinsichtlich der Wahl der geeigneten Liposomendispersion vor allem Fragen nach dem Hüllenmaterial (FS-Besetzung), der

Konzentration bzw. Dosierung an PC, der Komposition der Ingredienzen sowie der chemischen Struktur des inkorporierten Wirkstoffes. Im Gegensatz zu früheren Annahmen (206, 208, 234, 235) scheinen die Größe [nm] oder Lamellarität [Uni- versus Multilamellarität] der Liposomen von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit im Anwendungstest geprüften unilamellaren, auf der Basis von *hydriertem Soja-PC* formulierten Liposomen (Lipocutin<sup>®</sup> AQ, Henkel GmbH, Düsseldorf) ist in Anlehnung an die Untersuchungen von Esser (1972), Komatsu et al. (1986) und Handjani-Vila et al. (1979) davon auszugehen, dass sie in der Hornschicht verbleiben und nicht tiefer penetrieren. Eine intakte Passage durch die Barriere der Hornschicht wird damit ausgeschlossen, so daß nach Fusionierung mit den SC-Lipiden eine Freisetzung des inkorporierten Feuchthaltefaktors Aquaderm<sup>®</sup> in dieser Schicht anzunehmen ist. Demzufolge bleiben die Effekte auf die obersten Epidermislagen beschränkt.

Der eingekapselte Feuchthaltefaktor Aquaderm<sup>®</sup>, der auf den wasserbindenden Eigenschaften des Lactat-Pyroglytaminat-Komplexes basiert und als wichtigste Bestandteile das Natriumsalz der DL-2-Pyrrolidon-5-carbonäure (INCI: Sodium PCA) sowie Natriumlactat enthält (321), bindet sich vermutlich durch die elektrostatischen Effekte der Carboxylgruppe an die Oberfläche des Bilayers. Damit steht er in direkter Beziehung zum PL, was das Eindringen bzw. seine Diffusion in die Haut theoretisch erleichtert. Der Feuchthaltefaktor ist - ausschließlich in unverkapselter Form - in einer Anwendungskonzentration von 5% bzw. 6% geprüft worden (322), wobei die außerordentlich hohe Feuchtigkeitsaufnahme dieser Verbindungen im Vergleich zu Sorbitol, Propylenglykol und Glycerin belegt wurde. Der Liposomenanbieter bezieht seine Auslobungen auf die angeführte Untersuchung (322) und darin zitierte Arbeiten (323, 324), unterschreitet allerdings bei der liposomalen Verkapselung deutlich die empfohlene Anwendungskonzentration (< 1%).

Die Datenlagen und Spezifikationen der vom Anbieter gelieferten Liposome sind als äußerst mangelhaft zu bezeichnen. Es werden offene Grenzwerte für die Inhaltsstoffe des Lipocutin<sup>®</sup> AQ von unter 1% angegeben, die theoretisch zulassen, daß nur wenige Promille der angegebenen Substanzen enthalten sind. Cholesterol und Lecithin liegen in Konzentrationen von jeweils < 1% vor. Im Vergleich zu gebräuchlichen Dosierungen in

der Kosmetik ist die Konzentration außerordentlich gering (371) und sie reicht nicht aus, um Membranen fluide zu machen (371). Die Einsatzkonzentration entspricht beispielsweise der kosmetischer Liposomen-präparate von vor über 8 Jahren.

Durch die geringe Dosierung von Feuchthaltefaktor und Lipidkomponente hat sich das liposomale Wirkprodukt nicht gegenüber seinem Vehikel durchgesetzt, dessen gleichsam guter Feuchtigkeitseffekt sicherlich auf die Anwesenheit des Glycerins zurückzuführen ist. Als dreiwertiger Alkohol vermag letzterer mehrere Wasserstoffbrückenbindungen gleichzeitig auszubilden und die Wasserbindungsfähigkeit zu erhöhen. Aufgrund seiner hygroskopischen Eigenschaften wird das Abdampfen von Feuchtigkeit aus der Haut verhindert und die Retention von Wasser begünstigt (376). Die biochemischen Effekte des Glycerins haben offensichtlich die Wirkung des Lactat-Pyroglutaminat-Komplexes mit Natrium PCA und Natriumlactat überdeckt, so wie es auch andere Untersuchungen im Vergleich zu differenten Feuchthaltemitteln bescheinigen (vgl. Rawlings et al., 1995, Mattai et al., 1993, Froebe et al., 1990, Brisett et al., 1984). Die Bedeutung des Glycerins in Hautpflegemitteln ist unzweifelhaft (358, 376), seine biologische Wirkungsweise aber bislang noch nicht bis ins Detail geklärt. (363). Um die in vivo-Wirkung zu evaluieren, haben die meisten Studien die aktive Befeuchtung bzw. passive Hydratierung über einen Okklusiveneffekt (364, 377) sowie die modulierenden Eigenschaften auf die Lipidphase fokussiert (365, 375), welche sich alle in der Befeuchtung des SC oder der Verbesserung der Barriereigenschaften ausdrücken. Froebe et al. (365) und Mattai et al. (375) zeigten beispielsweise, daß Glycerin die kristalline Anordnung der Bilayerlipide beeinflusst. Es moduliert das Phasenverhalten der SC-Lipide und verringert die Kristallisation ihrer lamellaren Strukturen bei relativ geringer Feuchtigkeit. Daneben konnten Rawlings et al. (363) die Wirkung von Glycerin auf die wichtigsten interkorneozytären Verbindungsstrukturen im SC, die Desmosomen, aufzeigen (siehe 6.4.2).

Daneben erzeugen vermutlich die Acrylate der Grundlage (3,5%) per se eine hohe Feuchtigkeitzunahme (378). Bei dem Carbomer (Polyacrylic acid, Carboxypolymethylen, Carboxymethylcellulose, Carbopol®) handelt es sich um eine Polyacrylsäure, die gelbildend und ein optimaler Feuchtigkeitsträger ist (361). Der verzweigten Verbindung kommt aufgrund ihrer hygroskopischen Eigenschaft ebenfalls eine hohe Bindungs- und Aufnahmefähigkeit für Feuchtigkeit zu (379).

Mit dem vorliegenden Befund der Corneometrie wurde bestätigt, daß beide Produkte fähig sind die verminderte Wasserbindungsfähigkeit der atrophische Haut temporär zu steigern. Der Wirkungsgrad von Liposomen auf den Parameter Hautfeuchtigkeit hängt deutlich von dem Gehalt und der Qualität der PL ab. Bei natürlichem oder subnormalen PC-Gehalt ist keine Verbesserung der Hautfeuchtigkeit über den hydratierenden Effekt der glyzerinhaltigen Grundlage hinaus zu erwarten.

Ausdrücklich ist darauf hinzuweisen, daß die Meßwerte des neuen Modells Corneometer CM 825<sup>®</sup> um mindestens 10 Einheiten [arb. units] unter denen des Vorlaufmodells CM 820<sup>®</sup> liegen. Diese Tatsache ist sowohl für die Festlegung von Einschlußkriterien für weitere klinische Prüfungen als auch für die Auswertung von Meßergebnissen zu berücksichtigen (380). Weiterhin hat die neue Meßsonde des Corneometers CM 825<sup>®</sup> eine geringere Detektionstiefe als das Vorlaufmodell, die mit etwa 20 - 40 µm (380) bzw. 30 - 100 µm (81) angegeben wird. Dies ist zur Evaluierung der Wirksamkeit kosmetischer Produkteffekte vorteilhaft. Auch wenn gemäß Khazaka (360) der Einfluß von Ionen auf die Kapazitätsmessung (im Gegensatz zur Leitfähigkeitsmessung mit dem Dermal Phase Meter DPM 9003) geringfügig ist, sollte - in Übereinstimmung mit Wilhelm (81) - bei Wirksamkeitsprüfungen mindestens eine Distanzzeit von 12 Stunden zwischen Messung und letzter Produktapplikation eingehalten werden, zumal eine exakte Angabe über die Meßtiefe des Signals nicht möglich ist (81).

#### 6.4.2 Beziehung zwischen dem hydratierenden Effekt und viskoelastischen Parametern

Soll bei Wirksamkeitsprüfungen der Einfluß kosmetischer Pflegepräparate auf die Hautmechanik mittels Sauggeräten evaluiert werden, stellen sich dem Untersucher zunächst Fragen zur Wahl

- der Einstellung von Phasenzeit und Anzahl der Saugzyklen,
  - der Größe der Meßsonde [mm],
  - des Unterdruckes [mbar],
    - der Phasenzeit,
    - des Meßmodus.

Darüber hinaus sind Überlegungen anzustellen, welche definierten Anteile der Dehnungs-Zeit-Kurve für das Untersuchungsziel von Bedeutung sind und der Beschreibung viskoelastischer Eigenschaften dienen.

In Anlehnung an die Empfehlungen von Piérard et al., 1995 (2) und die Untersuchungen von Cua et al., 1990 (58) sowie Takema et al., 1994 (122) wurde in dieser Arbeit ein Unterdruck von 200 mbar bei einem Sondendurchmesser von 2 mm favorisiert, um vorrangig die Wirksamkeit der Testpräparate auf die biomechanischen *Eigenschaften der Epidermis* zu evaluieren. Die gewählte Phasenzeit (5 Sek. Dehnung, gefolgt von 5 Sek. Relaxation) entspricht den Untersuchungen von Cua et al., 1990 (58), Deleixhe-Mauhin et al., 1994 (100), Ennen et al., 1995 (61), Viatoure et al., 1995 (106) und Piérard et al., 1995 (2). Wie bei den meisten Prüfungen ist auch hier der Dehnungs-Zeit-Modus gewählt worden. Die Analyse der verschiedenen Kurvenanteile des Cutometer betrifft Aspekte, die wichtig zur Charakterisierung der Verformbarkeit, Geschmeidigkeit und elastischen Erholungsfähigkeit der Haut sind.

Im Gegensatz zu anderen Tests mit dem Cutometer (siehe Kapitel 4.1) wurde in der Anwendungstudie die Anzahl der Meßzyklen auf *fünf* erhöht und erstmals die Änderung relevanter Parameter vom ersten zum fünften Meßzyklus betrachtet. Die Berechnung der Relativen Parameter  $UV/UE_{(5)}$  und  $X/UF_{(5)}$  diene der Analyse der

Differentialausdehnung, auch als Hysterese beschrieben, um das Kriechphänomen der Altershaut mit ihrer wachsenden, zeitabhängigen Verformung (Fließen) unter Produktanwendung zu verfolgen.

Veranlassung zur Auswahl dieser Meßparameter gaben die jüngsten Untersuchung von Piérard et al. (2) und Enomoto et al. (105), die zeigten, daß die Parameter UF bzw. X/UF zur Untersuchung der Eigenschaften gesunder Haut am ehesten geeignet sind und die höchste Reproduzierbarkeit haben. Insbesondere der Quotient X zu UF untersucht am genauesten das Vermögen der Haut, sich nach vorangegangener Verformung wieder zurückzuziehen (2). Die größten Veränderungen der Hautmechanik im Alter betreffen den Anstieg des Verhältnisses UV/UE und die Abnahme der Relativen Elastischen Erholung, charakterisiert durch den Quotienten UR/UF (45). Aus diesem Grund wurden diese Parameter ebenfalls mit untersucht. In biomechanischer Hinsicht ist die atrophische Haut durch eine abnehmende Elastizität und zunehmende Viskosität bzw. Viskoelastizität charakterisiert (6 - 9, 13, 32, 58, 122).

#### *Gesamtviskoelastische Verformbarkeit*

Anhand des Parameter **UF**, der die Verformung der Haut nach einmaliger Zugbelastung markiert, ließ sich zu Beginn der Untersuchung für das vorliegende Alterskollektiv eine mittlere Hautausdehnung von unter 0,2 mm ausmachen. In Gegenüberstellung der Meßdaten mit Daten aus vergleichbaren Untersuchungen mit ähnlicher Parametereinstellung an jüngerer Haut (vgl. Takema et al., 1994 (122); Cua et al., 1990 (58)), kann damit für die atrophische Haut des untersuchten Kollektives eine leichte Zunahme der maximalen Hautausdehnung bestätigt werden.

Durch die dreiwöchige Produktanwendung war die Gesamtauslenkung der Haut nicht signifikant zu beeinflussen. Wurden hingegen die Produkteffekte auf die Hautmechanik nach mehrfacher Zugbelastung untersucht, stellte sich unter Anwendung des Vehikels eine signifikante Zunahme der Gesamtviskoelastischen Verformung (**UF<sub>5</sub>**) von über 5% heraus. Wider Erwarten erzielte das Liposomenprodukt keine signifikante Veränderung.

Zweifelsfrei kann das Ausmaß der absoluten Hautverformung für kosmetische Wirksamkeitsuntersuchungen oder gerontologische Hautforschung nicht hauptsächlich von Interesse sein, da die maximale Dehnungsfähigkeit direkt proportional der Hautdicke ist (6). Veränderungen sind nach Korrektur der Hautdicke auffälliger (Takema et al., 1994 (122)). Bedauerlicherweise ließ sich durch die Fehlerhaftigkeit des Meßsystems IONTO HANA in dieser Untersuchung entgegen der Zielsetzung keine exakte Hornschichtdicke (in  $\mu\text{m}$ ) bestimmen. Ohne Betrachtung der korrespondierenden Hautdicke bleibt damit - in Bezugnahme auf die kritischen Anmerkungen von Escoffier et al. (6) - die isolierte Betrachtung des absoluten Parameters UF ohne Aussage. Die von Piérard et al. (2) zugesprochene klinische Relevanz dieses Parameters für die Beurteilung des Hautzustandes, wird unter Voraussetzung einer Hautdickenbestimmung sowie Parameterberechnung nach mehrmaliger Zugbelastung zugestimmt. Im Verständnis einer guten Geschmeidigkeit der Haut zeigt sich ein verbessertes Gleiten der Hautelemente anhand der Zunahme von UF, sofern unter wiederholter Verformung das viskoelastische Fließen der Haut zum Tragen kommt. Bei ausreichender Hydratierung wird die Epidermis aufgeweicht, es kommt durch die Aufweicheffekte zu einer vermehrten Hautquellung und folglich zu einer Abnahme von Reibungswiderständen und Zunahme der Verformbarkeit. Dieses Resultat bestätigen u.a. die Untersuchungen von Aubert et al. 1985 (5) und Krusche et al., 1995 (64) zum Einfluß des Sonnenlichtes auf die Haut bzw. von Steroide auf Keloidläsionen sowie die Experimente von Enomoto et al., 1995 (105) zur Verformbarkeit sklerotisch veränderter Haut (siehe Kapitel 4.1).

#### *Relative Elastische Erholungsfähigkeit der Haut*

Von der Relativen Elastischen Erholungsfähigkeit der Haut ist bekannt, daß sie in Abhängigkeit vom gewählten Unterdruck (58) mit dem Alter abnimmt (2, 6 - 8, 60, 99) und beispielsweise bei postmenopausalen Frauen verhältnismäßig gering ist (59). Im vorliegenden Probandenkollektiv lag die mittlere Relative Elastische Erholung (**UR/UF**) zu Beginn der Behandlung bei 0,54 [mm]. Dieses Ergebnis bestätigt die für die Altershaut ermittelten Erholungswerte der Untersuchung von Cua et al. (58), in der - unter identischer Parametereinstellung - bei älteren Probanden 0,58 mm für die Unterarmhaut ermittelten wurden. Keine Übereinstimmung zeigt sich mit den

Ergebnissen von Takema et al., 1994 (122). Eine Erklärung für die Diskrepanz könnte die differente Phasenzeit sein (8 Sek. Deformation versus 2 Sek. Relaxation).

Im Anwendungstest verursachten beide Prüfpräparate keine statistisch gesicherte Veränderung des Verhältnisses zwischen sofortiger elastischer Rückstellung und der maximalen Hautdeformation, d.h. die elastische Erholungsfähigkeit blieb unbeeinflusst. Dieses Resultat stützt die aktuellen Untersuchungen von Barel et al., 1998 (381), die vergleichend den Einfluß eines Moisturizers (mit Glyzerin) und eines Paraffinöls auf verschiedene biomechanische Parameter evaluierten. Wird für die Elastische Erholung in erster Linie der Zustand von elastischen (58, 59, 122) und / oder kollagenen Fasernetzwerken (64) in der Dermis postuliert, so verwundert dieses Ergebnis angesichts der auf die Hautoberfläche bzw. das SC beschränkten Wirksamkeit der Prüfprodukte nicht.

Der Parameter UR/UF mag sich zur Untersuchung sowohl der Einflüsse des UV-Lichts auf die biomechanischen Hauteigenschaften als auch der intrinsischen Alterungsprozesse auf das Bindegewebe gut eignen. Nach den vorliegenden Ergebnissen ist er allerdings zur Prüfung von Kosmetikeffekten wenig geeignet. Bereits Piérard et al. wiesen 1995 in einer Parameterbeurteilung des Meßsystems auf die große Variabilität der Werte von UR/UF hin (2).

### *Elastische Funktion*

Das Verhältnis zwischen unmittelbarer elastischer Erholung und sofortiger elastischer Ausdehnung (**UR/UE**), für gewöhnlich als Elastische Funktion bezeichnet, nimmt gemäß verschiedener Untersuchungen mit dem Alter ab (10 - 12) und wird als biologisch wichtiger Faktor zur Charakterisierung der Hautelastizität angesehen (58, 105).

Erneut konnten beide Prüfprodukte keinen deutlichen Einfluß auf das Elastische Erholungsverhältnis nehmen. Darüber hinaus stellte sich durch die dreiwöchige Cremeanwendung auch keine statistisch abgesicherte Veränderung der Relation von kompletter Rückstellung der Haut zur Gesamtverformung (**UA/UF**) ein. Mit diesen und den unter Parameter UR/UF dargelegten Resultaten läßt sich deutlich herausstellen,

daß weder das Liposomenpräparat noch das Vehikel signifikante Änderungen der Hautelastizität und der elastischen Erholung bewirkten.

Aus der Überlegung heraus, daß mit feuchtigkeitsspendenden Pflegepräparaten in erster Linie viskose Anteile des gesamtviskoelastischen Verhaltens beeinflussbar sind, ist es naheliegend, die relative Elastische Nachwirkung der Haut (auch als Biologische Elastizität beschrieben) und das Viskoelastische Verhältnis sowohl unter einmaliger als auch unter mehrfacher Zugbelastung zu untersuchen. Konsequenterweise flossen die Parameter  $X/UF$  und  $X_5/UF_5$  sowie  $UV/UE$  und  $UV_5/UE_5$  in die Auswertung ein. Sie beleuchten die Kriechfunktion als Konsequenz der viskosen Dehnung und die Hysterese als Folge der Viskosität. Als viskose Anteile im SC werden der Wassergehalt (Wasser als mobiles Fluid) und der Lipidgehalt (interzelluläre Lipide als immobiles Fluid) angenommen.

#### *Relative Elastische Nachwirkung/ Biologische Elastizität*

Die Biologische Elastizität wird erst in jüngster Zeit von Deleixhe-Mauhin et al., 1994 (100) und Ennen et al., 1995 (61) für Untersuchungen mit der Saugmethode Cutometer herangezogen.

Zur Evaluierung der Effekte beider Testpräparate auf die Relative Elastische Nachwirkung wurde zunächst der Parameter  $X$  (bzw. unter mehrfacher Zugbelastung  $X_5$ ), isoliert betrachtet. Bekanntlich bilden sich nach angelegter Spannung die Deformationen, die in Form einer quasiplastischen Verformung vorliegen, nur vergleichsweise sehr langsam zurück. Die Entspannung der Haut nähert sich immer einem Grenzwert an, der aber ungleich Null ist. Demzufolge gibt der Parameter Aufschluß über die Irreversibilität des Verformungsprozesses und kann quasi als ein Maß für die nicht wieder abgegebene Energie angesehen werden, die in Verformungsenergie umgesetzt wurde (61). Anhand des Wertes kann beurteilt werden, wie weit die Haut vom elastischen Bereich in den Fließbereich hinein gekommen ist (61).

Unter Anwendung beider Prüfprodukte stellte sich abermals keine signifikante Veränderung ein.

Anders verhielt es sich bei der Kalkulation des die "endgültige" Biologische Elastizität repräsentierenden Quotienten ( $X_5/UF_5$ ), dessen Effekt auf der Hysterese basiert. Der Quotient markiert das Potential der Haut, auf äußere biomechanische Einflüsse in angemessener Weise zu reagieren (61). Wird die Haut mehrfacher Zugbelastung ausgesetzt, tritt unter Verformung innerhalb viskoser Anteile eine Haftreibung auf, die eine komplette Rückstellung der Haut verhindert. Unter energetischen Gesichtspunkten kennzeichnet die Fähigkeit, Energie bei Verformung aufzunehmen und nach der Deformation wieder abzugeben, vermutlich eine junge Haut (36) mit guten biomechanischen Eigenschaften. Es ist ein interessanter Parameter, wenn die Effizienz des Systems Haut zur Freisetzung gespeicherter Energie mengenmäßig bestimmt werden soll. Ziel kosmetischer Pflege muß eine Verkleinerung dieses Quotienten sein.

Der Parameter machte deutlich, wie wichtig es für die Beurteilung kosmetischer Pflegepräparate ist, mehrere Saugzyklen durchzuführen: Unter einmaliger Zugbelastung kam es zu keiner Veränderung - hingegen ließ sich nach Mehrfachbelastung ( $X_5/UF_5$ ) unter Anwendung des Vehikels eine signifikante Abnahme von 8%, bzw. für die Liposomencreme von 6% nachweisen. Das vorliegende Ergebnis stimmt mit den Untersuchungen von Olsen et al., 1993 (330) überein, die neben Wasser, Ethanol und Paraffinöl ebenfalls den Einfluß von Glycerin auf die biomechanischen Hauteigenschaften mit einer Saugmethode (Dermaflex A) evaluierten. Die Autoren bestätigen ebenfalls eine signifikante Veränderung des Kriechphänomens, indem unter Produktanwendung eine verlässliche Veränderung der Hysterese eingetreten ist (330).

Damit wurde durch die dreiwöchige Anwendung der Prüfpräparate die Flexibilität der Haut in ihrer Gesamtheit positiv beeinflusst und ihre Erholungsfähigkeit verbessert, so daß sie nach Belastung schneller in ihren Ausgangszustand zurückkehrte. Beim „Fließen“ unter Belastung, sichtbar an dem Anstieg der Meßwerte vom ersten bis zum fünften Saugzyklus, pendelte sich ein dynamisch-stationärer Zustand ein. Der Parameter X blieb unbeeinflusst, die Gesamtviskoelastische Verformung nahm aber zu. Das Resultat deutet auf die oberflächliche epidermale Absorption der Wirkstoffe ohne

Einflußnahme auf tiefere Hautschichten hin. Dieser Schlußfolgerung liegt zugrunde, daß bei Mehrfachbelastung der relative Einfluß der Elastizität an der Viskoelastizität zunimmt, da den viskosen Elemente noch keine Zeit zur vollständigen Erholung blieb; d.h. man hat hier quasi immer noch eine Auslenkung vorliegen.

Die eingetretenen Veränderungen können das Resultat eines direkten Einflusses auf die interzelluläre Matrix, oder eine Begleiterscheinung, verursacht durch regulative Mechanismen, wie zum Beispiel einer physiologischen Verlagerung bzw. Verschiebung von Wasser zwischen den Zellschichten sein. Es ist möglich, daß Glycerin durch Osmose Wasser aus tieferen Epidermisschichten anzieht (330) und die Haut dadurch geschmeidiger macht, da dieser Parameter quasi in Bezug zur Leichtigkeit steht, mit der mechanische Bewegung stattfindet (respektive der "Schmierung"). Unter Rückgriff auf die Resultate von Rawlings et al., 1995 (363) ist eine Wirkung des Glycerins auf interkorneozytäre Verbindungsstrukturen im SC anzunehmen. Ein gesteigerter Feuchtigkeitsgehalt in der Hornschicht beeinflusst die Aktivität hydrolytischer Enzyme, erleichtert bzw. beschleunigt darüber die Degradation von Desmosomen, wodurch die interkorneozytären Kräfte reduziert werden. Durch eine Schwächung des Zusammenhaltes der Epithelzellen wird die Desquamation der Korneozyten signifikant beschleunigt (363). Damit liegt die Hauptwirkung von (glyzerinhaltigen) Moisturizern in einer Beeinflussung der strukturellen Integrität des SC durch Modifizierung proteinhaltiger Haftplatten zwischen den Epithelzellen. Die Kohäsion wird reduziert, das SC mechanisch schwächer und die Steifigkeit dieser Schicht geringer, was sich anhand der Differentialausdehnung  $X_5/UF_5$  bemerkbar macht.

### *Viskoelastisches Verhältnis*

Der Parameter UV markiert die verzögerte Deformation bzw. das vorübergehende Kriechen der Haut und beschreibt den Fließbereich, in dem die innere Reibung der Hautelemente besonders zum Tragen kommt (74). Je größer der Meßwert ist, desto viskoser bzw. viskoelastischer ist das untersuchte Material. Bekannt ist aus Untersuchungen mit Altershaut, daß die verzögerte Deformation besonders in sonnengeschützten Arealen zunimmt (58, 112). Entsprechend steigt auch das viskoelastische Verhältnis, repräsentiert durch die Deformation viskoser Elemente zur

Deformation elastischer Elemente (**UV/UE bzw. UV<sub>5</sub>/UE<sub>5</sub>**) mit dem Alter an (Takema et al., 1994 (122) sowie Cua et al., 1990 (58), und deckt gemäß der Autoren die physikalischen Eigenschaften des intrinsischen Alters besser auf als beispielsweise absolute Parameter.

Nehmen kosmetische Produkte auf die Viskosität der Oberhaut Einfluß, muß sich dies über die Verminderung innerer Reibungswiderstände anhand der Abnahme des Meßwertes UV zu erkennen geben. Demgemäß ist der mit der Corneometrie bestätigte Wassereintrag der Prüfprodukte anhand einer Abnahme des Viskoelastischen Verhältnisses zu erkennen.

Tatsächlich wurde unter Betrachtung der Wirksamkeit *ohne* Quotientenbildung im fünften Meßzyklus der Effekt belegt. Indessen verursachten beide Präparate keine Veränderungen, sofern der Zeitpunktsvergleich unter Quotientenberechnung zugrunde gelegt wird. Dieses Ergebnis zeigt den großen Einfluß von jahreszeitlichen Schwankungen hinsichtlich Temperatur und Luftfeuchtigkeit im Winter, die zu einer Veränderung der unbehandelten Kontrollfeder führen. Solche Beobachtungen wurden u.a. in den Arbeiten von Wilhelm (81), Manschot et al. (102), Frödin et al. (382) oder Loden et al. (348) gemacht. Sie untermauern erneut die Bedeutung einer Quotientenberechnung zur Wirksamkeitsuntersuchung von Kosmetika.

Aus den Berechnungen der ausgewählten biomechanischen Parameter ist der Schluß zu ziehen, daß

- ausschließlich das Placebo eine signifikante Zunahme der maximalen Hautverformbarkeit bewirkte;
- beide Prüfprodukte zu keiner Veränderung der elastischen Erholungsfähigkeit führten und auf elastische Anteile keinen bedeutsamen Einfluß nahmen;
- viskose Eigenschaften durch beide Präparate etwa in gleichem Maß beeinflusst wurden.

Mit diesem Ergebnis werden die Resultate der Corneometrie insofern gestützt, als daß durch den Wassereintrag die gegenseitigen Bindungskräfte zwischen den

Keratinocyten vermindert werden, was in biomechanischer Hinsicht in einer Abnahme der Reibungswiderstände resultiert (vermutlich primär in der Epidermis) und die Geschmeidigkeit der Haut im Verständnis einer besseren Flexibilität verbessert.

Weiterhin wird belegt, daß die Menge an hydriertem PL im Verum offensichtlich nicht ausreichte, um den Anteil des "Immobilien Fluids Lipid" in der Epidermis deutlich zu erhöhen. Eine durch die Akkumulation von PL induzierte Fluidisierung der Lipidschichten des SC hätte sich stärker anhand der viskosen Parameter und Dämpfungskomponenten und folglich der Hysterese widerspiegeln müssen. Dies bestätigen auch die Untersuchungsergebnisse von Both et al. (23), die kürzlich mit einer Torsionsmethode die topische Wirkung eines Placebos im Vergleich zu einer ceramidähnlichen Verbindung evaluierten. Im Vergleich zum Placebo beeinflusste das Verum signifikant die Weichheit der Haut (im Verständnis einer verbesserten inneren Flexibilität) und führte bei gleichem Drehmoment zu größeren Drehwinkelverschiebungen als das Placebo (23).

Da in der vorliegenden Arbeit im Feuchtigkeitsbefund für Liposomen und Vehikel gleiche Wirksamkeit nachgewiesen wurde, aber die Resultate im biomechanischen Befund divergieren, müssen noch andere Faktoren eine Rolle spielen, die nicht aufzuklären sind. Das Vorkommen von Zufallseffekten oder jahreszeitlich bedingte Variationen von Temperatur und Luftfeuchtigkeit, die nicht durch die Akklimatisierung von 40 Minuten aufgefangen werden konnten, sind nicht auszuschließen.

Nach den vorliegenden Resultaten der Liposomenstudie scheint es unter kosmetikrelevanter Fragestellung und der damit verbundenen Frage nach den geeigneten Meßgeräten sowie Meßparametern schwierig zu sein, Korrelationen zwischen elektrischen und biomechanischen Parameter zu finden. Bereits Murray et al., 1996 (385) wiesen darauf hin, daß in den meisten Fällen keine Korrelationen zwischen den Parametern des Cutometer und dem Hautfeuchtigkeitsmeßgerät DPM 9003 (Dermal Phase Meter) bestehen. Ein Grund für dieses Ergebnis und das der vorliegenden Untersuchung mit der Corneometrie könnte eventuell die unterschiedliche Meßtiefe der gewählten Instrumente sein. Trotz der kleinsten Meßsonde (2 mm) und des geringen Unterdruckes (200 mbar) sowie der damit korrespondierenden geringen Hautdeformation, involviert diese Saugmethode offensichtlich nicht ausschließlich die

Hornschicht, sondern auch tieferliegende Strukturen der Dermis. Somit ist als wesentlicher Nachteil des Verfahrens herauszustellen, daß mehrere Hautschichten bewegt werden und der Anteil des außerordentlich dünnen SC von etwa 20 - 30 µm sich kaum auswirkt (23). Kosmetische Effekte schlagen sich nur geringfügig in den Messungen mit der Saugmethode nieder. Hautveränderungen werden offensichtlich mit der 8 mm Sonde (100) oder 6 mm Sonde (381) besser als mit der 2 mm Sonde erfaßt, weshalb letztgenannte trotz der Empfehlungen Piérards (2) in klinischen Prüfungen vernachlässigt wird.

Die Wahl der geeigneten Parameter ist für eine Untersuchung elementar und bedarf einer sehr differenzierten Prüfung. Für die *Evaluierung kosmetischer Produkteffekte empfehlen sich zweifelsfrei die Parameter  $X_5/UF_5$  und  $UV_5/UE_5$ , da sie das viskoelastische Verhalten der Haut am besten charakterisieren*. Soll der Einfluß sehr lipidreicher Formulierungen auf die viskoelastischen Hauteigenschaften eruiert werden, ist letztgenannter Parameter zu favorisieren. Nur anhand der Differentialausdehnung mit ihrer zeitabhängigen wachsenden Verformung lassen sich Produkteffekte nachweisen. Aus diesem Grund sollten für Wirksamkeitsuntersuchungen von Kosmetika im Dehnungs-Zeit-Modus immer mehrere aufeinanderfolgende Deformationskurven für die Auswertung herangezogen werden.

In der Anwendungsstudie ließ sich trotz des integrierten Federsystems in der Meßsonde eine Abhängigkeit der Meßwerte vom Anpreßdruck feststellen. Durch Veränderung des Sondenandrucks auf die Hautoberfläche sind die Meßwerte leicht zu manipulieren. Zur Standardisierung der Hautmessung sollte der Hersteller eine Halterung konstruieren und mitliefern, insbesondere dann, wenn in klinischen Prüfungen mit einem geringen Unterdruck von 200 mbar gemessen wird. Unterhalb dieses Saugdruckes sind ohnehin keine reproduzierbaren Hautmessungen zu erwarten (384).

Ein weiteres Problem stellt die laterale Verschiebung des der Öffnung der Meßsonde unmittelbar anliegende Hautareal dar, auf das bereits Barel et al. (111) hingewiesen haben. Durch eine Vorkonditionierung kann die Hautverschiebung minimiert, aber nie ganz vermieden werden. Bei topischer Behandlung mit Feuchtigkeits- oder Fettcremes rutscht die angrenzende Haut unwillkürlich in größerem Ausmaß in die Sondenöffnung.

Dieser Artefakt ("Rutscheffekt") ist bei Kosmetikprüfungen immer gegeben und besonders nachteilig, wenn Kurzzeiteffekte gemessen werden (381). Es empfiehlt sich dringend, zukünftig in Richtlinien zu biomechanischen Hautmessungen, einen zeitlichen Mindestabstand zwischen Produktapplikation und Hautmessung vorzugeben, um ein mögliches Rutschen der Meßsonde auf der vorhydratierten Haut und damit Verfälschungen des Meßergebnisses zu vermeiden.

Zu kritisieren ist die bedienungsunfreundliche und überholte Software des Gerätes, die trotz des neuen Modells nicht entscheidend verbessert wurde. In der Praxis wird die Studiendurchführung und Datenauswertung durch umständliche Ablage von Probandendateien behindert. Wünschenswert für die Zukunft ist neben einer übersichtlicheren und schnelleren Verwaltung von Meßdaten eine probandenspezifische Bedienungsmaske, die u.a. die Eintragung zusätzlicher Informationen zum Meßfeld erlaubt.

In der Studie konnte die Reproduzierbarkeit der Messung verbessert werden, indem vor der eigentlichen Hautmessung eine Vorkonditionierung (0,2 Sekunden im Modus 1) vorgenommen wurde. Dies bestätigt die Ergebnisse von Barel et al. (111) und Vandenbussche (118). Dennoch wurde in der statistischen Auswertung deutlich, daß die Verformungswerte der ersten Messung durchgehend höher und auffällig variabler ausfielen als die der Folgemessungen im gleichen Testareal. Aus diesem Grund wurden für die Mittelwertbildung nur zwei, statt der ursprünglich beabsichtigten drei Wiederholungsmessungen je Meßfeld genommen. Die erste Messung wurde als "erweiterte" Vorkonditionierung angesehen und nicht in die Berechnung einbezogen. Wird bei einem geringen Unterdruck die Wirksamkeit von kosmetischen Mitteln auf die Epidermis evaluiert, empfehlen sich deshalb mindestens vier Wiederholungsmessungen, von denen die erste Messung zu verwerfen ist.

### 6.4.3 Beurteilung des Kombinationsgerätes IONTO HANA

#### Messung der Feuchtigkeit (MEF)

Die hautbefeuchtenden Eigenschaften der Prüfprodukte konnten mit dem neu entwickelten Meßsystem zur Feuchtigkeitsbestimmung der Haut (MEF) nicht evaluiert werden, da außerordentlich hohe Streuungen (um 100%) vorlagen und das Gerät keine reproduzierbaren Meßdaten lieferte. Es korrelierte mit keinem Gerät und ist in seiner jetzigen Entwicklungsstufe für Hautmessungen unbrauchbar. Gemäß der Produktinformation des Herstellers mißt der Hautfeuchtigkeitssensors im unteren Bereich bis etwa 4 MOhm relativ genau, wird aber bei hochohmiger Messung ungenauer. Störgrößen von anderen Sendern wie Radiowellen oder Lichtemissionen können sich deutlich niederschlagen.

Wird nach den Gründen für die Fehlerhaftigkeit des Meßsystems gesucht, so gehen aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen folgende hervor:

- Kalibrierung des Meßsystems,
  - Größe der Meßsonde,
    - Meßprinzip.

Der Hersteller zog für die Eichung des Gerätes Meßwiderstände bekannter technischer Materialien (z.B. Metalle) von 1 bis 10 MOhm heran (326), wobei sich die Kalibrierung des Sensors bei den in vivo-Messungen an menschlicher Haut als ungeeignet herausstellte. Daneben erwies sich auch die Größe der Meßsonde als ungünstig. Bei einem Durchmesser von 25 mm, der vergleichsweise etwa dreimal so groß wie der des Corneometers ist, konnte bei zahlreichen Hautarealen (beispielsweise Ulnabereich des volaren Unterarmes) keine korrekte Auflage ermöglicht werden. Ein vollständiger Hautkontakt war nicht gegeben. Der Sensor versank in Hautfalten, in denen die Dermis augenscheinlich weicher ist, so daß der Übertragungswiderstand und das Sensorsignal kleiner und der Meßwert folglich größer wurden. Die Beobachtungen zeigten, daß der Neigungswinkel der Sonde maßgeblich Einfluß auf das Meßergebnis nahm.

Lobenswert sind die Öffnungsschlitz an der Außenelektrode, durch die eine Okklusion des Meßareals unter der Sonde weitgehend zu vermeiden ist.

Grundlegend ist an dem Meßsystem MEF das Meßprinzip zu kritisieren, das laut Herstellerangabe "auf der bioelektrischen Impedanzanalyse basiert, wobei über einen kleinen Meßgleichstrom von 50 pA der Hautwiderstand gemessen werden soll" (325). Physikalisch ist zunächst die Beschreibung der Untersuchungsmethode schlichtweg falsch. Die Impedanz ist die geometrische Summe von Wirk- und Blindwiderstand. Blindwiderstände treten jedoch nur in Wechselstromkreisen auf. Es wird in der Gerätebeschreibung auf Wechselstromwiderstände Bezug genommen, aber mit einem Gleichstrom (geringer Stärke von 50 pA) gearbeitet. Ein Gleichstrom ist völlig ungeeignet, um den Feuchtigkeitsstatus der Haut überhaupt und dazu noch ausreichend genau zu erfassen (329). Bei einer Gleichstrommessung und dem Vorhandensein von Wasser und Salzen auf der Hautoberfläche ist davon auszugehen, daß Polarisierungseffekte auftreten, die zu einer Elektrolyse führen. Unter der Anode setzt eine Dehydratierung und unter der Kathode eine Hydratierung der umgebenden Hautregion ein. Mit großer Wahrscheinlichkeit zeigen die Meßdaten ausschließlich den Erfolg bzw. den Fortgang einer Elektrolyse an. Je länger die Messung dauert, desto stärker manipuliert das System das Meßobjekt. Dies ließ sich deutlich durch eine verhältnismäßig lange Dauermessung von 10 Minuten zeigen.

Auffällig war die erhebliche Beeinflussung der Meßwerte vom Anpreßdruck des Meßsensors (Schwankung um ca. 100 [arb. units]). Alle Fehler zusammen genommen erbrachten eine Variation des Meßwertes um mehr als 200%. Ein solches Ergebnis ist nicht verwertbar.

Aktuell arbeiten Impedanzgeräte mit hochfrequenten Wechselströmen. Es sind bereits einige Meßsysteme kommerziell erhältlich und werden mit Erfolg zur Hautfeuchtigkeitsbestimmung eingesetzt. Anzuführen sei beispielsweise der Surface-Characterizing-Impedance Monitor (SCIM), oder das Nova<sup>TM</sup> Dermal Phase Meter (DPM) (siehe tabellarische Übersicht Kapitel 4.2), die eine Abhängigkeit der elektrischen Impedanz vom Feuchtigkeitsgehalt der Haut sowie von der Gewebzusammensetzung und ihren spezifischen Eigenschaften aufzeigen. Das DPM liefert impedanz- bzw. widerstandsbasierende Kapazitätswerte durch Integration

ausgesuchter Messungen bei unterschiedlichen Frequenzen des angewandten Wechselstromes. Es nimmt eine Anzahl von Meßwerten bei vorgewählten Frequenzen über eine kontrollierte Zeit bis zu 1 MHz auf. Das SCIM basiert auf dem Multifrequenz-Widerstands-Modell. Es mißt Ausmaß (in Ohm) als auch Phase (in %) der Impedanz bei 31 Frequenzen zwischen 1 KHz und 1 MHz. Dieses einzigartige Merkmal macht beispielsweise eine elektrische Impedanz-Spektroskopie für ausgesuchte Hautschichten möglich. Es erfolgt eine Selektion der Hauttiefe, indem die Ausdehnung des elektrischen Feldes in der Nachbarschaft der Meßsonde kontrolliert wird. Dies ermöglicht die Tiefe der Untersuchung in fünf Schritten über einen Bereich von 0 bis annähernd 2 mm auszusuchen.

### **Messung der Hornschichtdicke (MEDSC)**

Das im IONTO HANA weiterhin integrierte Meßverfahren MEDSC beruht entsprechend der Corneometrie auf einer kapazitiven Messung und ermittelt die dielektrische Konstante (325). Mit steigender Frequenz des Wechselstroms verringert sich die Eindringtiefe der elektrischen Feldlinien in die Haut, so daß gemäß Herstellerangaben bei der vorgegebenen Meßfrequenz von 7 kHz ausschließlich das SC elektrisch durchflutet und die Kapazität der Hornschicht gemessen wird (327).

Der relative Fehler des Meßsystems lag im Gegensatz zur Feuchtigkeitsmethode MEF im Toleranzbereich. Bei 20 Wiederholungsmessungen an benachbarten Hautstellen des gleichen Areals (volarer Unterarm;  $n = 1$ ) lag der relative Fehler bei 0,2%, bezogen auf den absoluten Anzeigewert von 1662 [arb. units]. Bei einer Korrektur der Meßwerte um den Faktor 1570 betrug der relative Fehler des Meßsystems 4,8%.

Das MEDSC ließ sich gut bedienen. Die Durchführung ist einfach, erfordert aber eine gewisse Einarbeitungszeit, um das Vermeiden stärkerer Druckschwankungen beim Aufsetzen des Meßkopfes zu erlernen.

Die Abnahme der Meßwerte des MEDSC signalisiert nur *scheinbar* eine dünnere Hornschicht. Indem die Prüfprodukte einen Wassereintrag in die Oberhaut erzielen, werden die eiweißhaltigen, rigiden Korneozyten als Dielektrikum quasi "kurzgeschlossen" und ihr Widerstand gegenüber Strom nimmt ab. Der MEDSC-

Befund weist die Hydratierung der Prüfprodukte nach und unterstützt den Feuchtigkeitsbefund des Corneometers. Darüber hinaus markiert er eine schwächere Wirksamkeit des liposomalen Wirkproduktes, wodurch das Resultat der biomechanischen Messung (vgl. Parameter  $UF_5$ ;  $X_5/UF_5$ ) bestätigt wird. Erneut wird eine vermehrte Einlagerung nur für Wasser belegt. Das die Wirkprodukte eine oberflächliche und keine Tiefenwirkung haben, geht zudem aus der Meßfrequenz des MEDSC hervor.

Entsprechend des MEF wurde der Hornschichtdickensensor vom Hersteller nicht an menschlicher Haut kalibriert (326). Erwartungsgemäß ergab sich auch hier ein Meßbereich, der für Messungen an der Haut ungünstig ist (etwa 1600 bis 1900 [arb. units]). Die Studienergebnisse lassen einen sinnvollen Bereich für Hautmessungen unterhalb der gegenwärtigen Eichung, und zwar in einem Bereich zwischen 1500 bis maximal 1700 [arb. units] annehmen. Zur besseren Veranschaulichung der Ergebnisse wurde deshalb in der vorliegenden Untersuchung eine Subtraktion von 1570 [arb. units] für die Meßwerte vorgenommen, wobei die Meßwerte noch im linearen Bereich der Kalibrierungskurve lagen. Für eine neue Kalibrierung - die außerhalb der Zielsetzung dieser Arbeit liegt -, kann für weiterführende Untersuchungen der Vorschlag eines in vivo-Saugblasentests unterbreitet werden: Zunächst sollte mit dem Meßgerät die Dicke des SC ausgesuchter Meßfelder auf dem Unterarm sowie auf dem Rücken von Probanden erfaßt werden. Exakt auf diesen Arealen wird anschließend jeweils eine Saugblase gezogen. Die Saugblasendecke enthält unbeschädigt die komplette Epidermis und auch das SC. Sie sollte histologisch aufgearbeitet und die Hornschichtdicke anhand von geeigneten Dünnschichtpräparaten im Mikroskop gemessen werden. Die histologischen Befunde von insgesamt 20 Saugblasen sollten dann mit den vorher bestimmten in vivo-Meßdaten korreliert und daraus eine Eichkurve erstellt werden, die es ermöglicht, in Zukunft für das Meßgerät direkt SC-Dicken in  $\mu\text{m}$  anzugeben.

Soll die Meßmethode zur Messung der Dicke des SC zukünftig in der Kosmetik Einsatz finden, so ist zu bedenken, daß der Feuchtigkeitsgehalt der Hornschicht direkt in die Messung eingeht und eine bedeutende Störgröße darstellt. Um zuverlässig die Hornschichtdicke messen zu können, muß diese Störgröße kompensiert werden, d.h.

es müßte eine unabhängige Bestimmung der Hautfeuchtigkeit erfolgen, um Feuchtigkeitseffekte, die eine Dickenmessung beeinflussen, zu korrigieren. Ist der MEDSC-Meßwert um den Betrag Hautfeuchtigkeit zu berichtigen, muß eine Verbesserung des Kombinationsgerätes IONTO HANA zunächst bei der Veränderung des Feuchtigkeitssystems MEF anknüpfen, das sich zur Feuchtigkeitsbestimmung der menschlichen Haut in seiner derzeitigen Ausführung nicht eignet.

Um eine post-hoc Powerabschätzung vorzunehmen, wurde der Einfachheit halber angenommen, daß der Gruppenvergleich zwischen jeweils zwei Produkten auf Basis eines t - Tests erfolgt. Unter dieser Voraussetzung ergibt sich in allen betrachteten Situationen eine Power von weniger als 17%.

## 7 Zusammenfassung

Änderungen in den Kosmetik-Richtlinien sowie gestiegene Verbraucherinteressen haben die Bemühungen um einen Nachweis der Wirksamkeit kosmetischer Hautpflegeprodukte vorangetrieben. Im Rahmen der Entwicklung moderner Emulsionssysteme mit verbesserter perkutaner Absorption ist es wichtig, selbst geringfügige Veränderungen der Hautfunktionen zu erfassen. Dies erfordert eine Auswahl geeigneter Meßverfahren mit hoher Reproduzierbarkeit. Die vorliegende Arbeit fokussiert die Untersuchung von Methoden für die nicht-invasive Messung biomechanischer Hautparameter, insbesondere unter Anwendung kosmetischer Präparate zur Hautpflege.

In ersten Voruntersuchungen ist die Reproduzierbarkeit, Validität und Trennschärfe eines neuen Torsionsgerät zur in vivo-Messung der dynamischen Steifigkeit der Haut (MEdyS) geprüft worden. In einer Untersuchung mit 3 Probanden (eine Frau, ein Mann, eine Patientin mit systemischer Sklerodermie) wurden Wiederholungsmessungen (5 - 10) an verschiedenen Körperstellen vorgenommen und intra- und interindividuelle Differenzen untersucht. In nächsten Schritt wurden interindividuelle Unterschiede gesunder Haut bei 116 Probanden mit konstitutionellen Hautveränderungen (Seborrhoe, Sebostase, normale Haut, atrophische Haut; Kollektiv 1) und 63 Patienten mit läsionaler Haut verschiedener Pathogenese (Psoriasis vulgaris, Atopisches Ekzem, Akne vulgaris, polymorphe Lichtdermatose; Kollektiv 2) evaluiert. Die Hautmessungen erfolgten auf der Stirn und der Volarseite des rechten Unterarmes (Kollektiv 1) bzw. auf multiplen Läsionen verschiedener Körperregionen (Kollektiv 2). Pro Testfeld wurden drei Wiederholungsmessungen ausgeführt. Signifikante Unterschiede ergaben sich bei den Frauen anhand des Betrages der dynamischen Steifigkeit [ $\text{mNm}/^\circ$ ] für atrophische Haut und Sebostase (*Gesicht*:  $p = 0,040$ ; *volar*:  $p = 0,029$ ), Seborrhoe sicca (*Gesicht*:  $p = 0,017$ ; *volar*:  $p = 0,029$ ), Seborrhoe oleosa (*Gesicht*:  $p = 0,004$ ; *volar*:  $0,046$ ) und normale Haut (*Gesicht*:  $p = 0,003$ ) und anhand der Phase [ $^\circ$ ] ausschließlich volar für Sebostase und Seborrhoe sicca ( $p = 0,043$ ). Bei den Männern erbrachte die Kalkulation des Betrages [ $\text{mNm}/^\circ$ ] weder für die Volar- noch die Gesichtsmessung signifikante Unterschiede zwischen den Hautzustands-Gruppen. Ein signifikanter

Unterschied der Phase [°] bestand ausschließlich volar zwischen Sebstase und Seborrhoe sicca ( $p = 0,011$ ), normale Haut ( $p = 0,025$ ) und Seborrhoe oleosa ( $p = 0,005$ ). Durch die hohe Variabilität der Resultate in allen Untersuchungen war es nicht möglich, viskoelastische Eigenschaften der Haut mit ausreichender Genauigkeit zu determinieren. Vor allem die Quantifizierung des Phasenganges der dynamischen Steifigkeit lieferte in den meisten Fällen keine reproduzierbaren Meßergebnisse. Vor dem Hintergrund unerwünschter Ereignisse im Kollektiv 2 und der Variabilität der Meßergebnisse, wurde der Prototyp MEdyS als ungeeignet angesehen, um zwischen verschiedenen Hautmerkmalen und Befunde ausreichend sicher zu diskriminieren. Aus diesem Grund ist das Gerät nicht in die kosmetische Anwendungsstudie einbezogen worden.

Ein wichtiges Kriterium für kosmetische Pflegeprodukte ist ihre hautbefeuchtende und viskoelastizitätsbeeinflussende Wirkung, die in der kosmetischen Wirksamkeitsprüfung für zwei Pflegepräparate (Liposomencreme versus Vehikel) mit neu entwickelten sowie bereits validierten Hautmeßgeräten im Vergleich untersucht wurde. Die Dicke der Hornschicht ist ein weiterer, im Rahmen kosmetischer Wirknachweise wichtiger Parameter. Neben den validierten Geräten zur Messung der Hautfeuchtigkeit (Corneometer CM 825<sup>®</sup>) und Viskoelastizität (Cutometer SEM 575<sup>®</sup>), ist ein Prototyp zur Messung der Hornschichtdicke sowie der Hautfeuchtigkeit (Kombinationsmeßgerät IONTO HANA) eingesetzt worden. Eine fotografische Dokumentation der untersuchten Hautareale erfolgte mit einem neuartigen optischen Bilddokumentationssystem (Beauty scope), dessen Anwendungseigenschaften unter den Bedingungen einer klinischen Studie zu prüfen war.

Die topische Applikation von Liposomen verbessert die Wasserbindungskapazität und den Feuchtigkeitsgehalt des Stratum corneum. Der therapeutische Nutzen von Phospholipiden bei jeder Form von trockener Haut, einschließlich Altershaut, basiert auf diesem pharmakodynamischen Effekt. Das Testprodukt, eine O/W-Emulsion mit beladenen Liposomen, wurde in einer doppelblinden, placebokontrollierten, randomisierten Prüfung mit intraindividuellem Vergleich der Behandlungseffekte getestet. 48 Frauen über 50 Jahre mit trockener, aber gesunder Haut der Prüfareale (volarer Unterarm) nahmen an der Studie teil und behandelten sich mit dem Testprodukt

und dem Vehikel zweimal täglich über drei Wochen. Die Messung der Hautfeuchtigkeit, der Dicke des Stratum corneum, der Viskoelastizität sowie die Fotodokumentation wurden zu Beginn (Tag 1, Baseline) und nach der dritten Behandlungswoche (Tag 22) durchgeführt. Über den Behandlungszeitraum wurden die untersuchten Prüfpräparate ohne unerwünschte Wirkungen vertragen. Beide Produkte bewirkten eine hochsignifikante Hautbefeuchtung ( $p = 0,000$ ) von jeweils ca. 20 % (Corneometerbefund). Der Vergleich am Tag 22 erbrachte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Produkten ( $p = 0,1392$ ). Die produktabhängigen Veränderungen der Werte des Hornschichtdickenmeßgerätes und des Corneometer CM 825<sup>®</sup> zeigten eine negative Korrelation ( $r = -0,7282$ ;  $p = 0,000$ ), indem mit zunehmender Hautbefeuchtung die Werte der Corneometrie anstiegen und die der Hornschichtdicke abfielen. Das neue Hautfeuchtigkeitsmeßgerät erbrachte keine plausiblen Meßwerte. Die Wirksamkeit der Prüfprodukte konnte mit diesem Verfahren nicht evaluiert werden. Signifikante Korrelationen dieses Gerätes zu den anderen Meßverfahren wurden nicht nachgewiesen. Da die Meßwerte des Hornschichtdickenmeßgerätes in "arbitrary units" ausgedrückt werden, aber keine Korrelation zum neuen Feuchtigkeitsmeßgerät bestand, konnte die absolute Dicke des Stratum corneum nicht bestimmt werden.

Durch die Produktanwendung wurde kein signifikanter Einfluß auf die relativen elastischen und viskoelastischen Parameter UA/UF, UR/UF, UR/UE, UV/UE, UV<sub>5</sub>/UE<sub>5</sub> und X/UF ermittelt. Eine signifikante Verringerung stellte sich ausschließlich für den Parameter X<sub>5</sub>/UF<sub>5</sub> bei beiden Produkten ein (*Verum*: -6,4%,  $p = 0,023$ ; *Vehikel*: -8,1 %,  $p = 0,047$ ). Dieses Ergebnis korrespondiert mit der Verbesserung der inneren Flexibilität und Weichheit der Haut, die vermutlich auf eine Verringerung der interkorneozytären Verbindungen und folglich leichteren Verschiebbarkeit der Korneozyten zurückzuführen ist. Die Korrelation der biomechanischen Parameter mit den anderen Meßgeräten war so gering, daß von einer eher zufälligen Verteilung der Daten ausgegangen werden kann. Eine positive Korrelation bestand zwischen den Parametern UF und UR/UF ( $r = 0,3921$ ;  $p = 0,000$ ). Unter Anwendung der kleinsten Meßsonde (2 mm) und einem geringen Unterdruck von 200 mbar, scheint die Saugmethode zur objektiven Untersuchung der Wirksamkeit von Kosmetika nicht

geeignet zu sein. Geringfügige Veränderungen des Hautzustandes lassen sich nicht ausreichend aufdecken.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Arbeit, daß andere biomechanische Verfahren benötigt werden, um die Effekte von Moisturizern auf die viskoelastischen Hauteigenschaften zu prüfen.

## 8 Ausblick und persönliche Anmerkungen

### **Eine kritische Auseinandersetzung mit nicht-invasiven Verfahren in der Kosmetik**

Die Geräte, die in der Literatur zum *"Bioengineering of the Skin"* beschrieben werden, entstanden aus dem breiten Feld der Materialwissenschaft, die u.a. in der Qualitätskontrolle der Metallproduktion unverzichtbar ist. Oftmals werden die Verfahren technisch geringfügig modifiziert für hautphysiologische Untersuchungen herangezogen, wodurch sich bereits Probleme in der praktischen Anwendung ergeben. Wie die vorliegenden Untersuchungen gezeigt haben, handelt es sich häufig um ungeeignete Kalibrierungsmethoden sowie konstruktionsbedingte Mängel bei der Meßwerterfassung.

In einer Bestandsaufnahme hat Lévêque bereits 1989 von der schnellen Akkumulation von Meßgeräten berichtet (386), die sich bis zur Gegenwart fast vervierfacht hat. Die Bemerkungen R. Marks von 1985 sind aktuell angebracht: *"One could well argue that it is a time for a pause. We are confronted by a plethora of instrumentation which is simply overwhelming"* (387). Wie Marks warnt auch Lévêque vor der Vielzahl von Apparaten mit unklaren Funktionen sowie vor Messungen, deren Signifikanz fragwürdig ist und die zum weiterführenden Studium der Haut nicht beitragen. Eine hohe Komplexität der Meßmethode muß nicht zwangsläufig zu guten Ergebnissen führen. Es muß das Ziel sein, bessere Methoden zu entwickeln und sie gezielt einzusetzen, denn mit Kligman gesprochen *"...not everything that can be measured is interesting"* ... und *"...not everything that ist interesting can be measured"*.

Durch das zunehmende Interesse an biomedizinischen Untersuchungen der Haut ist das Ausmaß von Publikationen in der letzten Dekade exponentiell gestiegen (386, 388, 389). Damit sich ein neues Forschungsgebiet wie *Bioengineering of the Skin* gegenüber den orthodoxen Wissenschaften etablieren kann, bedarf es fähiger Wissenschaftler, deren interdisziplinäre Ausrichtung ein besonders hohes Maß an Kritikfähigkeit voraussetzt. Eine Überbewertung der Meßgenauigkeit und damit der diskriminierenden Möglichkeiten nicht-invasiver Methoden führt zu einem Verlust an

Glaubwürdigkeit und schadet letztlich dem Ansehen dieser Disziplin. Messungen dürfen nicht zur Religion werden. Die Meßgeräte können trotz fortlaufender technischer Innovationen mangels Eignung eine falsche Darstellung der Hautstruktur bzw. der Hautfunktionen geben.

Die angebrachten Techniken kritisch zu sondieren und auf ihre Relevanz für ein Untersuchungsziel hin zu überprüfen, ist genauso wichtig, wie sie zu beherrschen. Nach Meinung der Mitglieder der *Internationalen Gesellschaft für Biomedizinische Technik der Haut* ergeben sich in praxi viele Schwierigkeiten dadurch, daß die Mehrheit der Kosmetologen und Dermatologen nicht ausreichend unterrichtet und geschult ist, um die Vorteile nicht-invasiver Methoden im klinischen Gebrauch nutzen zu können. Da in klinischen Prüfungen nicht exakt die gleichen Methoden herangezogen werden und die Parametereinstellungen stark divergieren, tauchen viele Kontroversen auf. Aus diesem Grund bemüht sich seit einigen Jahren ein Komitee unter Vorsitz von Dr. J. Serup, zur Standardisierung der Meßmethoden international strenge Richtlinien durchzusetzen. Nur für einige Meßsysteme wurde mittlerweile eine Übereinstimmung bzw. Standardisierung der Messungen erreicht. Dies betrifft die Erfassung des cutanen Blutflusses durch Laser-Doppler-Strömungsmessungen sowie die Messung des transepidermalen Wasserverlustes der Haut mittels Evaporimeter (390, 391).

Auch wenn zur Evaluierung der Wirksamkeit kosmetischer Pflegeprodukte heute verschiedene Parameter herangezogen werden (Feuchtigkeit, Oberflächenstruktur, Barrierefunktion, Dicke, biomechanische Eigenschaften der Haut), können wir uns nicht mit Untersuchungen zufrieden geben, welche nur indirekt physiologische Attribute reflektieren (392, 393), die vermeintlich quantifiziert sind.

Beispielsweise hat die Prüfung des *Wassergehaltes des SC* bei Untersuchungen der Altershaut viel Aufmerksamkeit erhalten, da die Weichheit und Glätte der Hautoberfläche stark vom Hydratationslevel abhängt (356, 394). Ein Hauptproblem elektrischer Feuchtigkeitsmessungen resultiert in der Tatsache, daß die Ergebnisse in "arbitrary units" [arb. units] ausgedrückt werden, die nicht direkt in Beziehung zu realen elektrischen Einheiten oder zum Wassergehalt des SC stehen. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist immer zu berücksichtigen, daß die Feuchtigkeitsmeßgeräte nur relative Informationen über den Wassergehalt und keine

absoluten Werte geben (393). Daneben liefern alle Techniken unglücklicherweise nur wenig definitive Informationen über die Verteilung des Wassers in der Haut (812), so daß nur unbefriedigende Kenntnisse über den genauen Wassergehalt vorliegen (356, 395, 396). Jedes Meßsystem zur Erfassung der Hautfeuchtigkeit (Kapazitäts-, Leitfähigkeits- oder Impedanzmessung) vereinfacht die Situation. Da in der Hornschicht ein abfallender Wassergradient von der unteren bis zur oberen Schicht vorliegt, wird je nach Strommessung der Hydratationsgrad irgendwo in der Nähe der oberen SC-Schichten reflektiert. Keine einzelne Darstellung kann wirklich repräsentativ sein. Zudem werden die Meßwerte von Umgebungsfaktoren und deren zeitlichem Wechsel beeinflusst, weshalb einige Untersucher sich hinsichtlich kosmetischer Wirksamkeitsprüfungen für Kurzzeitstudien aussprechen (392, 393), bei denen Veränderungen der relativen Luftfeuchtigkeit oder der Außentemperatur nicht zum Tragen kommen. Ein weiteres Problem bei Feuchtigkeitsmessungen ist die Manipulation der Meßwerte durch die Konstruktion der Meßsonde, deren okklusive Auflage den transepidermalen Wasserverlust blockiert und in der Haut zu einem Aufbau von Wasser führt. Ein wirkliches Profil des Wassergehaltes benötigt für die Zukunft andere Technologien, die weitaus komplexer sind.

Daneben ist es wichtig zu verstehen, was man eigentlich mißt und wie die Ergebnisse zu interpretieren sind.

Beispielsweise wird der faltenreduzierende Effekt von kosmetischen Pflegeprodukten häufig mit biomechanischen oder optischen profilometrischen Methoden quantifiziert (397 - 401). Es wurden Versuche unternommen, mehrdimensionale Konstrukte von der Mikrotopografie der Hautoberfläche zu erhalten. Dazu muß ein Replica mit einem Silikonpolymer hergestellt werden, das durch eine computergestützte Bildanalyse gescannt wird, um detaillierte Oberflächenmusterungen aufzuzeigen (402). Bei dem Verfahren treten mehrere Schwierigkeiten auf, die das Meßergebnis verfälschen können. Wird der Silikonlack appliziert, kann es durch eine exothermische Reaktion auf der Haut zu einer Blasenbildung kommen (403), wobei multiple Blasen eine erhöhte Hautrauhigkeit vortäuschen. Darüber hinaus führt eine zu kurze Aushärtung des Materials zu Rissen im Silikonabdruck oder einem Anhaften von Teilen des Silikonfilms an der Hautoberfläche. Bei zu spätem oder mengenmäßig zu geringem Auftragen der Silikonmasse erhält man zumeist nur unzureichend auswertbare

Hautabdrücke (403). Silfflo Replikas können die Hautoberfläche erheblich verziehen und die mikrotopographischen Muster verfälschen. Bei der Aushärtung kontrahiert das Polymer und läßt feine Linien verschwinden. Daneben generiert es etwas Hitze, der gewöhnlich eine leichte Hautrötung folgt. Schließlich kleben beim Abriß von der Hautoberfläche insbesondere bei Probanden mit atrophischer, dünner Haut kleine Schuppen an der Replica. Auch ist nicht auszuschließen, daß bei der Aushärtung des Silikons auf der Haut (je nach Material bis zu 12 Minuten) möglicherweise ein artifizieller Okklusionseffekt entsteht, der durch die Quellung der Hornschicht u.U. niedrigere Werte erzeugt (403). Dieses sind alles durch die Prozedur induzierte Artefakte, die in der gesamten Literatur zur Profilometrie nur spärlich diskutiert werden. Zu viele Untersuchungen favorisieren die Replicamethode für kosmetische Wirksamkeitsprüfungen oder Untersuchungen an der Altershaut, ohne die verfälschenden Faktoren zu eruieren. Dorogi (404) wies bereits 1990 ausdrücklich darauf hin, daß die "nackte Abbildung" selbst nicht immer das aussagt, was eigentlich anatomisch oder physiologisch gemessen wurde. Dieses kann eine ernsthafte Falle sein und läßt immer zur Vorsicht bei der Interpretation von Meßergebnissen ein (405). Von einigen Untersuchern wird aus diesen Gründen die hoch auflösende Ultraviolett-Makrotophographie bevorzugt.

Die seit geraumer Zeit bei Wirksamkeitsprüfungen zur Analyse des Hautoberflächenprofils eingesetzte Visiometrie (403) basiert nicht auf den bisher gängigen Verfahren der Profilometrie oder dem Streulichtverfahren. Vielmehr wird die Absorption eines durchleuchteten Silikonabdruckes der untersuchten Oberfläche mit einer EDV-gestützten CCD-Videokamera gemessen und digital verarbeitet (403). Die laterale Auflösung ist wesentlich reduziert gegenüber Tastschnittgeräten und die Dickenvariation der Abdrücke ist auch eine Funktion des (un-)gleichmäßigen Auftrags.

Ein weiteres Exempel für die Notwendigkeit einer richtigen Interpretation führt zu den Messungen des epidermalen Zell-Turn-Overs.

Anti-Aging-Werbung bewirbt viele Produkte mit der Induzierung einer beschleunigten Zellteilung, wie an der Auslobung verschiedener Fruchtsäureprodukte hinreichend zu beobachten ist (406 - 409). Beworben werden die AHA-Präparate mit der

Verbesserung des Turgors und dem Aufbau erschlaffter Haut. Es ist zweifelsfrei richtig, daß die epidermale Proliferation im Alter abnimmt. Nicht gesagt wird, daß eine chemische Irritation der sicherste Weg ist, um Teilungsaktivitäten zu vermehren, überdies im direkten Verhältnis zum Ausmaß der Hautschädigung. Der Turgor läßt sich von unterschiedlichen Irritantien verändern, wobei meistens ein subtiles Erythem eintritt. Allerdings können auch ohne eine sichtbare inflammatorische Reaktion feine Hautfalten straffer werden. Ein zynischer Kosmetikproduzent könnte leicht den Zellturnover innerhalb weniger Wochen erhöhen und die Haut vermeintlich straffen, indem er einige gut bekannte Irritantien wie anionische Surfactants inkorporiert.

Spätestens an dieser Stelle wird wieder deutlich, daß bis dato nicht eindeutig geklärt ist, *welches die Kriterien für einen hinreichenden Wirksamkeitsnachweis* sind. Sollen Hersteller und Importeure von Kosmetika seit dem 1. Januar 1997 in der Lage sein, Wirksamkeitsprüfungen und -nachweise bereitzuhalten, so ist es zur Erreichung dieser Ziele sinnvoll, einen allgemein akzeptierten und allgemeingültigen Katalog an entsprechenden Richtlinien für solche Prüfungen zu definieren, um die Zahl der erforderlichen Wirksamkeitsprüfungen auf ein vernünftiges Maß begrenzen und die Erstellung angemessener Dossiers zu ermöglichen. Zur Vermeidung unnötiger und wenig aussagekräftiger Standards erscheint es hilfreich, Kriterien zu diskutieren und zu etablieren, die präzise definieren, was per Gesetz exakt erforderlich ist, um den Anforderungen der 6. Änderungsrichtlinie gerecht zu werden. Das gesteigerte Vertrauen in die Leistungsfähigkeit dieser Produkte wäre sicher sowohl für den Hersteller als auch die Verbraucher von beiderseitigem Interesse, vorausgesetzt, daß die Wirksamkeitsprüfungen und -nachweise für die jeweilige Fragestellung relevant, allgemein zugänglich und zuverlässig sind. Die in der wissenschaftlichen Fachliteratur in jüngster Zeit offerierten Vorschläge für einen Maßnahmenkatalog (412 - 415) lassen hoffen.

Riskante Themen sollten auch angeschnitten werden, die das Ansehen biomedizinischer Untersuchungen und Wirksamkeitsprüfungen belasten. Meine Bemerkungen fallen in die Kategorie *Interessenkonflikte*.

Die Notwendigkeit zur Verbesserung von Kosmetika und Toilettenartikeln ist offenkundig. Dies repräsentiert ein expandierender und höchst konkurrierender Markt für Hersteller und Einzelhändler. Die Industrie hat kommentierend mit steigenden

Fortschritten in der biomedizinischen Wissenschaft geantwortet. Individuelle Behandlungsziele zu erreichen, wird mit innovativen Produkten in Aussicht gestellt. Der Begriff "cosmeceuticals" (Kligman) beschreibt einige dieser Produkte, die eine Mittelstellung zwischen traditionellen Kosmetika und Medizinischen Produkten einnehmen. Die europäische Gruppe für effektive Messungen von Kosmetika und anderen topischen Substanzen (EEMCO), Leiter Philippe Masson, spricht sich gegenwärtig dafür aus, daß eine Übereinkunft der Industrie, Behörden und Medien hinsichtlich der Zielsetzung und Glaubhaftmachung der Wirksamkeit vor allem im Interesse des Verbrauchers gefunden werden muß (411). Erlasse dieses Komitees beinhalten standardisierte Methoden zur Untersuchung von Kosmetikartikeln. Richtlinien zur Beurteilung von trockener Haut und Ichthyosis und mengenmäßiger Bestimmung der Hautfarbe sind in Arbeit. Die Aktivitäten dieses Komitees soll die effiziente Prüfung von Kosmetika und Cosmeceuticals erleichtern, den Zeitprozeß zur Entwicklung neuer Produkte verkürzen und zudem Kosten für den Endverbraucher einsparen helfen. Seine Empfehlungen sollen zunehmend die Arbeit regulierender Gremien beeinflussen (411). Um diese Erwartung zu erfüllen, muß das Komitee unzweideutig unvoreingenommen sein. Es ist deshalb enttäuschend festzustellen, daß die gelisteten Mitglieder zur Zeit alle in der kosmetischen Industrie arbeiten oder eng mit ihr in Kontakt stehen. Die Zusicherung, daß die Angehörigen des EEMCO als individuelle technische Experten und nicht als Repräsentanten ihres jeweiligen Unternehmens agieren, ist nicht besonders beruhigend.

In einem konkurrierenden und nicht regulierten Markt, wo die Regale voll mit Produkten sind, welche die Phantasien nach ewiger Jugend anregen, wird Werbung der wichtigste Faktor, um Verkäufe von Anti-Aging-Produkten anzukurbeln. Anstatt zur Gewinnung von Marktanteilen für das neueste bahnbrechende Präparat traditionelle Werbung einzusetzen, versucht man nunmehr *naturwissenschaftliche Belege* zu liefern, welche die Wirksamkeit validieren. Zweifelsfrei kommt viel Kapital für Projekte der Biomedizinischen Technik aus der Industrie, wobei insbesondere Hersteller von Dermatika und kosmetischen Hautpflegemitteln sehr schnell bereit waren, die Ressourcen nicht-invasiver Technologien für ihren kommerziellen Vorteil zu nutzen. Groß ist die Versuchung, über die Wahl des *richtigen* Gerätes die *gewünschte* Antwort zu bekommen, um die Sponsoren zufriedenzustellen.

*Für die Zukunft bleibt deshalb zu wünschen, daß*

1. *Wirksamkeitsprüfungen Forschungseinrichtungen vorbehalten bleiben, die über einen ausreichenden Erfahrungsschatz verfügen und darüber hinaus die nötige Neutralität bzw. erforderliche Objektivität wahren;*
2. *die Personen, die in der praktischen Durchführung tätig sind, entsprechend ausgebildet werden (u.U. durch eine Zertifizierung) und ihnen die regelmäßige Teilnahme an Weiterbildungsveranstaltungen offeriert wird;*
3. *kosmetische Produkte und pharmazeutische Externa einheitlich entsprechend den Richtlinien der "Good Clinical Practice (GCP-Richtlinien) (416) geprüft werden, insbesondere wenn die kosmetischen Produkte Inhaltsstoffe enthalten, von denen eine hohe physiologische Aktivität angenommen wird;*
4. *für alle nicht-invasiven Untersuchungsmethoden über eine Standardisierung international verbindliche Normen durchgesetzt werden;*
5. *eine stärkere Kooperation biotechnischer und medizinischer Wissenschaften gefördert wird, um die Vorteile interdisziplinären Arbeitens für die komplexe Hautforschung hinreichend nutzen zu können;*
6. *Projektgruppen gebildet werden, in denen sowohl Gerätehersteller als auch Anwender vertreten sind, um gemeinsam die in der Praxis auftretenden geräteimmanenten Probleme zu erörtern und nach konstruktiven Lösungsvorschlägen zu suchen, damit der gegenwärtige Gerätestandard in der Kosmetologie weiter optimiert wird.*

***Wenn die Kosmetikrichtlinien Gewicht sowie generelle Anerkennung bekommen und als "golden standard" akzeptiert werden sollen, müssen sie als unabhängiges Vermächtnis angesehen werden.***

## 9 Literaturverzeichnis

**(1) Piérard, G.**

A critical approach to in vivo mechanical testing of the skin. In: Cutaneous Investigation in Health and Disease, Noninvasive Methods and Instrumentation, Lévêque, J.-L. (ed.), chap. 10, Marcel Dekker, New York, 1989

**(2) Piérard, G.E.; Nikkels-Tassoudji, N.; Piérard-Franchimont, C.**

Influence of the test area on the mechanical properties of the skin. *Dermatology* 191: 9 - 15, 1995

**(3) Daly, C.H.; Odland, G.F.**

Age-related changes in the mechanical properties of human skin. *J Invest Dermatol* 73: 84, 1979

**(4) Vogel, H.G.**

Age dependence of mechanical and biochemical properties of human skin. *Bioeng Skin* 3: 141, 1987

**(5) Aubert, L.; Anthoine, P.; De Rigal, J.; Lévêque, J.-L.**

An in vivo assessment of the biomechanical properties of human skin modifications under the influence of cosmetic products. *Int J Cosmet Sci* 7: 51, 1985

**(6) Escoffier, C.; De Rigal, J.; Rochefort, A.; Vasselet, R.; Lévêque, J.-L.; Agache, P.**

Age-related mechanical properties of human skin: an in vivo study. *J Invest Dermatol* 93: 353, 1989

**(7) Elsner, P.; Wilhelm, D.; Maibach, H.I.**

Mechanical properties of human forearm and vulvar skin. *Br J Dermatol* 122: 607 - 614, 1990

**(8) Nishimura, M.; Tsuji, T.**

Measurement of skin elasticity with a new suction device. *Jpn J Dermatol* 102: 1111 - 1117, 1992

**(9) Barel, A.O.; Clarys, P.**

In vivo evaluation of skin ageing. Relations between viscoelastic properties and skin surface parameters, presented at The 9<sup>th</sup> Int. Symp. on Bioengineering and

- the Skin, Sendai (Jpn), Oct. 19 - 20, 1992. In: Handbook of Non-Invasive-  
Methods and the Skin. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14.3, CRC Press  
Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995
- (10) Van Den Eynde, A.**  
Invloed van de leeftijd op de viscoelastische eigenschappen van de huid. B. Sc.  
Theresis, Vrije Univers. Brussel, Belgium, 1990
- (11) Van Wonterghem, M.**  
Mechanische eigenschappen van de mensekijke huid: invloed van verschillende  
factoren. B. Sc. Theresis, Vrije Univers. Brussel, Belgium, 1990
- (12) De Schrijver, K.**  
Evaluatie van de visco-elastische parameters van de huid, B. Sc. Theresis, Vrije  
Univers. Brussel, Belgium, 1992
- (13) Berardesca, E.; Borroni, G.; Borlone, R.; Rabbiosi, C.**  
Evidence for elastic changes in aged skin revealed in an in-vivo extensometric  
study at low loads, *Bioeng Skin* 3: 255 - 261, 1986
- (14) Sparavigna, A.; Galbiati, G.**  
Strain-time curve in the assessment of topical retinoin as an anti ageing agent,  
presented at The 8<sup>th</sup> Int. Symp. on Bionengineering and the Skin, Stresa (Italy),  
June 13 - 16, 1990. In: Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin. Serup,  
J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London,  
Tokyo, 1995
- (15) Dorfmueller, T.**  
Makromolekulare und supramolekulare System. In: Bergmann / Schäfer -  
Lehrbuch der Experimentalphysik, Band 5: Vielteilchen-Systeme, Kap. 7, Raith,  
W. (Hrsg.), Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1992
- (16) Gross, D.**  
Bruchmechanik, 2. Neu bearb. u. erw. Aufl., Kap. 1: Einige Grundlagen der  
Festkörpermechanik, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996
- (17) Gonsior, B.**  
Physik für Mediziner, Biologen und Pharmazeuten, 2. überarb. u. erw. Aufl.,  
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 1994
- (18) Harms, V.**

- Physik für Mediziner und Pharmazeuten, 14. neu bearb. Aufl., Harms Verlag, Kiel-Mönckeberg, 1998
- (19) Müller, R.H.; Dingler, A.**  
The next generation after the liposomes: solid lipid nanoparticles (SLN<sup>TM</sup>, Lipopearls<sup>TM</sup>) as dermal carrier in cosmetics. Euro Cosmetics 7-8: 19 - 26, 1998
- (20) Lasic, D.D.**  
Novel applications of liposomes. Trends Biotechnol 16 (7): 307 - 321, 1998
- (21) Berardeca, E.; Maibach, H.I.**  
Transepidermal water loss and skin surface hydration in the non-invasive assessment of stratum corneum function. Dermatosen (38) 2: 50, 1990
- (22) Heinrich, U.**  
Nachweis kosmetischer Mittel. TW Dermatologie 26: 397 - 399, 1996
- (23) Both, W.; Busch, P.**  
Torsion measurement as a means of assessing skin characteristics. SÖFW 4: 182 - 195, 1998
- (24) Jung, J.**  
Irreführende Werbeaussagen bei kosmetischen Mitteln. Beispiele aus der Überwachungspraxis. Parfum Kosmet 9: 24 - 28, 1998
- (25) NN**  
Neue Entwicklungen in der Wirksamkeitsforschung. Drittes Internationales Symposium zur kosmetischen Wirksamkeit. Parfum Kosmet 9: 36 - 39, 1998
- (26) Roos, T.C.**  
3. Internationales Kosmetik Symposium in Köln, 10. - 12.05.1998. Z Hautkr 7/8 (73): 543 - 545, 1998
- (27) Huber, B.**  
Die Kosmetik-Verordnung - Aufbau und Änderungen. SÖFW (122) 8: 559 - 564, 1996
- (28) Widulle, H.**  
Auswirkungen der 6. Änderungsrichtlinie der Kosmetikverordnung. SÖFW (121) 11: 868 - 872, 1995
- (29) Industrieverband Körperpflege u. Waschmittel e.V. (IKW)**  
6. Änderung der EG-Kosmetik-Richtlinie. 1. Aufl., Frankfurt a. Main, 24ff, 1993

**(30) NN**

Umsetzungspraxis der 25. Änderungsrichtlinie. 6. Informationstagung des BDIH.  
Parfum Kosmet 7 - 8: 56 - 57, 1998

**(31) Füllgraf, G.M.**

Ein Plädoyer für klare Begriffe. Münch Med Wochenschr 126: 927 - 928, 1984

**(32) Piérard, G.E.**

Mechanical properties of aged skin: Indentation and elevation experiments. In:  
Skin Aging: Properties and functional changes as measured by noninvasive  
technologies. Lévêque, J.-L., Agache, P. (eds.), 49 - 56, Marcel Dekker, New  
York, 1993

**(33) Loden, M.; Lindberg, M.**

Product Testing - Testing of Moisturizers. In: Bioengineering of the Skin: Water  
and Stratum corneum. Elsner, P., Berardesca, E., Maibach, H.J. (eds.), chap. 24,  
CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1994

**(34) Raab, W.**

Die Altershaut. TW Dermatologie 22: 179 - 186, 1992

**(35) Morganti, P.; Montagna, W. (eds.)**

A new look at old skin: a challenge to cosmetology. Int. Ediemme, Roma, 1986

**(36) Berardesca, E.; Farinelli, N.; Rabbiosi, G.; Maibach, H.I.**

Skin Bioengineering in the Noninvasive Assessment of Cutaneous Aging.  
Dermatologica, 182: 1 - 6, 1991

**(37) Randazzo, S.D.; Dinotta, F.**

Dry Skin: Pathophysiology and Treatment. J Appl Cosmetol 11: 121 - 126, 1993

**(38) Strianse, S.J.**

Human skin - moisturizing mechanism and natural moisturizers. Cosmet & Toilet  
93: 37 - 41, 1978

**(39) Marks, R.**

Methods to evaluate effects of skin surface texture modifiers. In: Principles of  
Cosmetics for the Dermatologist. Frost, P.; Horwitz, S.N. (eds.), chap. 8, C.V.  
Mosby Company, St. Louis, 1982

**(40) Elsner, P.; Maibach, H.**

- The effect of prolonged drying on transepidermal water loss, capacitance and pH of human vulvar and forearm skin. *Acta Derm. Venereol. (Stockh.)* 70: 105, 1990
- (41) Wilhelm, K.P.; Maibach, H.**  
Influence of aging on the barrier function of human skin evaluated by in vivo transepidermal water loss measurements. In: *Skin Aging: Properties and Functional Changes*. Lévêque, J.-L.; Agache, P.G. (eds.), chap. 17, Marcel Dekker, New York, 1993
- (42) Metje, S.; Brunke, R.A.**  
Herstellung und Vermessung von Liposomen. *SÖFW* 114: 234 - 237, 1988
- (43) Gareiß, J.**  
Nattermann Phospholipid GmbH Köln, mdl. Mitteilung vom 04.05.1997
- (44) Edwards, C.; Marks, R.**  
Evaluation of biomechanical properties of human skin. *Clin Dermatol* 13 (4): 375 - 380, 1995
- (45) Kohr, O.A.**  
Dynamische Steifigkeit der Haut als biomechanische Beurteilungsgröße für Materialeigenschaften und transdermale Diffusion. Diss. am Inst. f. Biomed. Technik u. Krankenhaustechnik der Med. Hochschule Hannover, Fortschr.-Ber. VDI Reihe 17 Nr. 139, VDI Verlag, 1996
- (46) Betriebsanleitung zum neu entwickelten Meßsystem IONTO HANA, IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo.**  
überreicht durch Dr.-Ing. O.A. Kohr, Leiter der Entwicklungsabteilung IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo., November 1997
- (47) Blume, G.; Herrling, T.; Strodholz, I.; Teichmüller, E.E.**  
Liposome mit Vitamin A, C und E. *Parfum Kosmet* 1 - 2: 8 - 10, 1998
- (48) Schramlova, J.; Blazek, K.; Bartackova, M.; Otova, B.; Mardesicova, L.; Zizkovsky, V.; Hulinska, D.**  
Electron microscopic demonstration of the penetration of liposomes through skin. *Folia Biol (Praha)*, 43 (4): 165 - 169, 1997
- (49) Gareiß, J.**  
Nattermann Phospholipid GmbH Köln, mdl. Mitteilung vom 05.05.1998
- (50) Wilhelmi, B.J.; Blackwell, S.J.; Mancoll, J.S.; Phillips, L.G.**

- Creep vs. stretch: a review of the viscoelastic properties of skin. *Ann Plast Surg* 41 (2): 215 - 219, 1998
- (51) Hsu, S.; Jamieson, A.M.; Blackwell, J.**  
Viscoelastic studies of extracellular matrix interactions in a model native collagen gel system. *Biorheology* 31 (1): 21 - 36, 1994
- (52) Sasaki, N.; Odajima, S.**  
Stress-strain curve and Young's modulus of a collagen molecule as determined by the X-ray diffraction technique. *J Biomech* 29 (5): 655 - 658, 1996
- (53) Purslow, P.P.; Wess, T.J.; Hukins, D.W.**  
Collagen orientation and molecular spacing during creep and stress-relaxation in soft connective tissues. *J Exp Biol* 201: 135 - 142, 1998
- (54) Bargel, H.-J.; Schulze, G. (Hrsg.)**  
Werkstoffkunde, 6. überarb. Aufl., VDI Verlag, Düsseldorf, 1994
- (55) Franck, A.**  
Kunststoff-Kompodium: Herstellung, Aufbau, Verarbeitung, Anwendung, Umweltverhalten und Eigenschaften der Thermoplaste, Polymerlegierungen, Elastomere und Duroplaste, 4. neu bearb. u. erw. Aufl., Vogel Buchverlag, Würzburg, 1996
- (56) Thomas, L.K.**  
Werkstoffe. In: Lehrbuch der Experimentalphysik Bd. 6. Raith, W. (Hrsg.), Kap. 5: Festkörper. Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1992
- (57) Heine, B.**  
Einführung in die Polymertechnik - Leitfaden für Studium und Praxis, Expert Verlag, Renningen-Malmsheim, 1998
- (58) Cua, A.B.; Wilhelm, K.P.; Maibach, H.I.**  
Elastic properties of human skin: Relation to age, sex, and anatomical region. *Arch Dermatol Res* 282: 283 - 288, 1990
- (59) Elsner, P.; Wilhelm, D.; Maibach, H.I.**  
Mechanical properties of human forearm and vulvar skin. *Br J Dermatol* 122: 607 - 614, 1990
- (60) Lévêque, J.- L.; De Rigal, J.; Agache, P.G.; Monneur, C.**

- Influence of ageing on the in vivo extensibility of human skin at low stress. Arch Dermatol Res 269: 127 - 135, 1980
- (61) Ennen, J.; Jaspers, S.; Sauermann, G.; Hoppe, U.**  
Measurement of biomechanical properties of human skin. In: Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide. Bond, S., Caine, M. (eds.), 95 - 101, Aston Publishing Group, 1995
- (62) Daly, C.H.; Odland, G.F.**  
Age-related changes in the mechanical properties of human skin. J Invest Dermatol 73: 84, 1979
- (63) Vogel, H.G.**  
Directional variations of mechanical parameters in rat skin depending on maturation and age. J Invest Dermatol 76: 493 - 497, 1981
- (64) Krusche, Th.; Worret, W.-I.**  
Mechanical properties of keloids in vivo during treatment with intralesional triamcinolone avcetonide. Arch Dermatol Res 287: 289 - 293, 1995
- (65) Wan Abas, W.A.**  
Biaxial tension test of human skin in vivo. Biomed Mater Eng 4 (7): 473 - 486, 1994
- (66) Hartung, C.**  
Positionspapier zur Biomechanik der menschlichen Haut, Skript des Inst. f. Biomed. Technik u. Krankenhaustechnik der Med. Hochschule Hannover, WS 1989 / 1990
- (67) Christensen, M.S.; Hargens, C.W.; Nacht, S.; Gans, E.H.**  
Viscoelastic properties of intact human skin: instrumentation, hydration effects, and the contribution of the stratum corneum. J Invest Dermatol 69: 282 - 286, 1977
- (68) Burge, S.**  
Review: Cohesion in the epidermis. Br J Dermatol 131: 153 - 159, 1994
- (69) Goldsmith, L.A. (ed.)**  
Histology, biochemistry and molecular biology of the skin. New York, Oxford, Univ. Press, 1991
- (70) Kaiser, H.W.; Ness, W.; Jungblut, I.**

- Adherens junctions: demonstration in stratum corneum in human epidermis. *J Invest Dermatol* 100: 180 - 185, 1993
- (71) Härtel, B**  
Wirkung kosmetischer Formulierungen auf der Haut. Teil 1: Anatomie der Epidermis und Biochemie der Keratinisierung. *Parfum Kosmet* 5: 308 - 313, 1995
- (72) Serban, G.; Edelberg, R.; Garcia, M.; Hambridge, A.**  
Intraepidermal sweat levels and the viscoelastic properties of human skin. *Bioeng Skin*, 2: 134, 1986
- (73) Lodén, M.**  
Biophysical properties of dry skin and normal skin with special reference to effects of skin care products. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, 192: 1 - 48, 1995
- (74) Agache, P.G.**  
Twistometry Measurement of Skin Elasticity. In: *Handbook of Non-Invasive- Methods and the Skin*. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14.1, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995
- (75) Lévêque, J.- L.; Grove, G.; De Rigal, J.; Corcuff, P.**  
Biophysical characterization of dry skin. *J Soc Cosmet Chem*, 82: 171 - 177, 1987
- (76) Lévêque, J.- L.; De Rigal, J.**  
In vivo measurement of the stratum corneum elasticity. *Bioeng Skin* 1: 13 - 23, 1985
- (77) Hargens, C.W.**  
Glaucoma and vibration tonometry. *J Franklin Instit.* 207: 143, 1960
- (78) Hargens, C.W.**  
Measurement of dynamic moduli and loss factor in viscoelastic materials using the gas bearing electrodynamicometer (GBE). *J Acoust Soc Am (Suppl. 1)* 67: 25, 1980
- (79) Hargens, C.W.**

- The gas bearing electrodynamicometer (GBE) applied to measuring mechanical changes in the skin and other tissues. In: Bioengineering and the skin. Marks, R., Payne, P.A. (eds.), 113 - 122, Lancaster, MTP Press, 1981
- (80) Hargens, C.W.**  
Instrumented testing of human skin in vivo. In: The 35<sup>th</sup> Annual Conf. on Engineering in Medicine and Biology (IEEE), Philadelphia, 1982
- (81) Wilhelm, K.-P.**  
Skin hydration measurements: general considerations and possible pitfalls. SÖFW 4: 196 - 203, 1998
- (82) Härtel, B**  
Wirkung kosmetischer Formulierungen auf der Haut. Teil II: Anatomie der Dermis und Biochemie der Regulation des Bindegewebes und der Extrazellulärmatrix. Parfum Kosmet 9: 550 - 557, 1995
- (83) Saarni, H.; Hospu-Havu, V.K.**  
The decrease of hyaluronate synthesis by inflammatory steroids in vitro. Br J Dermatol 98: 445 - 449, 1978
- (84) Oikarinen, A.**  
Dermal water connective tissue modulated by pharmacologic agents. Int J Dermatol 31: 149 - 159, 1992
- (85) Berardesca, E.; Gabba, P.; Farinelli, N.; Borroni, G.; Rabbiosi, G.**  
Skin extensibility in women. Changes in relation to sex hormones. Acta Derm Venereol (Stockh) 69: 431 - 433, 1989
- (86) Smith, L.S.**  
Histopathologic characteristic and ultrastructure of aging skin. Cutis 43: 414 - 424, 1989
- (87) Johnston, K.J.; Oikarinen, A.; Lowe, N.J.**  
Ultraviolet-induced connective tissue changes in the skin: models for actinic damage and cutaneous aging. In: Models in dermatology. Maibach, H.I., Lowe, N.J. (eds.), Vol 1, 69 - 76, Verlag S. Karger, Basel, Schweiz, 1987
- (88) Uitto, J.J.; Jazio, M.J.; Olsen, D.R.**  
Molecular mechanisms of cutaneous aging. J Am Acad Dermatol 21: 614 - 622, 1989

- (89) Branchet, M.C.**  
Skin thickness changes in normal aging skin. *Gerontology*, 36: 28 - 33, 1990
- (90) Gibson, T.; Kenedi, R.**  
Biochemical properties of skin. *Surg Clin North Am*, 3: 279 - 294, 1967
- (91) Johnson, T.; Lowe, L.; Brown, M.**  
Histology and physiology of tissue expansion. *J Dermatol Surg Oncol*, 19: 1077, 1993
- (92) Brody, G.**  
The biochemical properties of tissue. In: *Problems in aesthetic surgery*. Rudolph, R. (ed), 50 - 58, St. Louis: CV Mosby, 1986
- (93) Uitto, H**  
Connective tissue biochemistry of the aging dermis. *Dermatol Clin* 4: 433 - 437, 1986
- (94) Fazio, M.J.; Olsen, D.R.; Uitto, J.J.**  
Skin aging: lessons from cutis laxa and elastoderma. *Cutis* 43: 437 - 444, 1989
- (95) Balin, A.K.; Pratt, L.A.**  
Physiological consequences of human skin aging. *Cutis* 43: 431 - 436, 1989
- (96) Bouissou, H.; Pieraggi, M.; Julian, M.; Savit, T.**  
The elastic tissue of the skin: a comparison of spontaneous and actinic (solar) aging. *Int J Dermatol* (27) 5: 327 - 335, 1988
- (97) Larrabee, W.**  
A finite element model of skin deformation. *Laryngoscope* 96: 399, 1986
- (98) Jagtman, B.A.**  
Clinical investigation of skin elasticity. An in vivo study of patients with varicose veins and certain connective tissue disorders. Thesis, Nijmegen, The Netherlands, 1981
- (99) Agache, P.G.; Monneur, C.; Lévêque, J.-L.; De Rigal, J.**  
Mechanical properties and Young's modulus of human skin in vivo. *Arch Derm Res* 269: 221 - 232, 1980
- (100) Deleixhe-Mauhin, F.; Piérard-Franchimont, C.; Rorive, G.; Piérard, G.E.**  
Influence of chronic haemodialysis on the mechanical properties of skin. *Clin Exp Dermatol* 19: 130 - 133, 1994

**(101) Piérard, G.E.; Lapière, C.M.**

Physiopathological variations in the mechanical properties of the skin. Arch Derm Res 260: 231 - 239, 1977

**(102) Manschot, J.F.M.; Brakkee, A.J.M.**

Seasonal variations in mechanical properties of human skin. Bioeng Skin, 3: 25 - 33, 1987

**(103) Shuster, S.; Black, M.M.; Mc Vitee, E.**

The influence of age and sex on skin thickness, skin collagen and density. Br J Dermatol 93: 639-43, 1975

**(104) Nishimura, M.; Tsuji, T.**

Measurement of skin elasticity with a new suction device. Jpn J Dermatol 102: 1111 - 1117, 1992

**(105) Enomoto, D.N.H.; Mekkes, J.R.; Bossuyt, M.M.; Hoekzema, R.; Bos, J.D.**

Quantification of cutaneous sclerosis with a skin elasticity meter in patients with generalized scleroderma. J Am Acad Dermatol 35: 381 -387, 1996

**(106) Viatour, M.; Henry, F.; Piérard, G.E.**

A computerized analysis of intrinsic forces in the skin. Clinical Exp Dermatology 20: 308 - 312, 1995

**(107) Dobrev, H.**

In vivo study of skin mechanical properties in scleroderma of Buschke. Acta Derm Venereol 78 (2): 103 - 106, 1998

**(108) Henry, F.; Van Look, R.; Goffin, V.; Fissette, J.; Piérard, G.E.**

Mechanical properties of skin and liposuction. Dermatol Surg 22 (6): 566 - 568, 1996

**(109) Fong, S.S.; Hung, L.K.; Cheng, J.C.**

The cutometer and ultrasonography in the assessment of postburn hypertrophic scar - a preliminary study. Burns 23 (Suppl 1): 8 - 12, 1997

**(110) Dobrev, H.**

Use of Cutometer to assess dermal oedema in erysipelas of the lower legs. Skin Res Technol 4: 155 - 159, 1998

**(111) Barel, A.O.; Courage, W.; Clarys, P.**

- Suction Method for Measurement of Skin Mechanical Properties: The Cutometer<sup>®</sup>. In: Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14.3, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995
- (112) Finlay, B.**  
The torsional characteristics of human skin in vivo. J Biomed Eng, 6: 567 - 573, 1971
- (113) Aubert, L.; Anthoine, P.; De Rigal, J.; Lévêque, J.- L.**  
An in vivo assessment of the biomechanical properties of human skin modifications under the influence of cosmetic products. Int J Cosmet Sci 7: 51, 1985
- (114) Vlasblom, D.C.**  
Skin elasticity. Ph. D. Thesis, Univers. of Utrecht, 1967
- (115) Piérard, G.E.**  
The Liege experience in the assessment of the variability in the mechanical properties of skin. Bioeng Skin 2: 227 - 234, 1986
- (116) Berardesca, E.; Gabba, P.; Farinelli, N.; Borroni, G.; Rabbiosi, G.**  
In vivo tretinoin - induced changes in skin mechanical properties. Br. J Dermatol 122: 525 - 529, 1990
- (117) Piérard, G.E.; Lapière, C.M.**  
Structures et fonctions du derme et de l'hypoderme. In: Précis de Cosmétologie - Dermatologie, Pruniéras, M. (ed.), chap. 2, Masson, Paris, 1981
- (118) Vandenbussche, K.**  
Meting van elasticiteit en viscoelasticiteit van de huid. Pharmacy Theresis Vrije Univers. Brussel, Belgium, 1990
- (119) Barel, A.O.; Clarys, P.**  
Noninvasive measurements of the elastic properties of the human skin with the suction method, presented at the 8<sup>th</sup> Int. Symp. on Bioengineering and the Skin, Stresa (Italy), June 13-16, 1990. In: Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995
- (120) Malm, M; Serup, J.**

In vivo skin elasticity of different body regions: the vertical vector, presented at the 8<sup>th</sup> Int. Symp. on Bioengineering and the Skin, Stresa (Italy), June 13 - 16, 1990. In: Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995

**(121) Anfossi, T.; Bosio, D.; Emanuelle, G.**

Influence of environment factors on skin elastometric patterns, presented at the 8<sup>th</sup> Int. Symp. on Bioengineering and the Skin, Stresa (Italy), June 13 - 16, 1990. In: Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995

**(122) Takema, Y.; Yorimoto, Y.; Kawai, M.; Imokawa, G.**

Age related changes in the elastic properties and thickness of human facial skin. Br J Dermatol 131: 641 - 648, 1994

**(123) Couturaud, V.; Coutable, J.; Khaiat, A.**

Skin biomechanical properties: In vivo evaluation of influence of age and body site by a non-invasive method. Skin Res Technol, 1: 68 - 73, 1995

**(124) Dobrev, H.**

In vivo noninvasive study of the mechanical properties of the human skin after single application of topical corticosteroids. Folia Med (Plovdiv) 38 (2): 11 - 7, 1996

**(125) Habig, J.; Vocks, E.; Kautzky, F.; Dahm, M.; Borelli, S.**

Effect of a single UVA and UVB irradiation on the surface composition and viscoelastic properties of skin in vivo. Hautarzt 47 (7): 515 - 520, 1996

**(126) Gniadecka, M.; Serup, J.**

Suction chamber method for measurement of skin mechanical properties: The Dermaflex<sup>®</sup>. In: Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14.2, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995

**(127) Serup, J.; Northeved, A.**

Skin elasticity in localised scleroderma (morphea). Introduction of a biaxial in vivo method, and the measurement of tensile distensibility, hysteresis and resilient distension of diseased and normal skin. J Dermatol 12: 52 - 62, 1985

**(128) Serup, J.; Northeved, A.**

- Skin elasticity in psoriasis. In vivo measurement of tensile distensibility, hysteresis and resilient distension with a new method. Comparison with skin thickness as measured with high-frequency ultrasound. *J Dermatol* 12: 318 - 324, 1985
- (129) Gniadecka, M.; Gniadecka, R.; Serup, J.; Sondergaard, J.**  
Skin mechanical properties present adaptation to man's upright position. In vivo studies of young and aged individuals. *Acta Derm Venereol (Stockh.)* 74: 188 - 190, 1994
- (130) Grahame, R.; Holt, P.**  
The influence of ageing on the in vivo elasticity of human skin. *Gerontologie* 15: 121 - 139, 1969
- (131) Berardesca, E.; De Rigal, J.; Lévêque, J.-L.; Maibach, H.I.**  
In vivo biophysical characterisation of skin physiological differences in races. *Dermatologica*, 182: 89 - 93, 1991
- (132) Lévêque, J.-L.; Corcuff, P.; De Rigal, J.; Agache, P.**  
In vivo studies of the evaluation of physical properties of human skin with age. *Int J Dermatol* 23: 322, 1984
- (133) Lévêque, J.-L.; Porte, G.; De Rigal, J.; Corcuff, P.**  
Influence of chronic sun exposure on biophysical parameters of the human skin. *J Cutan Aging Cosmet Dermatol* 1: 12 - 25, 1988/89
- (134) Malm, M.; Samman, M., Serup, J.:**  
In vivo skin elasticity of 22 anatomical sites. *Skin Res Technol* 1: 61 - 67, 1995
- (135) Jemec, G.B.E.; Gniadecka, M.; Jemec, B**  
Measurements of skin mechanics: A study of inter- and intraindividual variation using the Dermaflex A. *Skin Res Technol* 2: 164 - 166, 1996
- (136) Jemec, G.B.E.; Wulf, H.C.**  
The plasticising effect of moisturisers on human skin in vivo: a measure of moisturizing potency? *Skin Res Technol* 4: 88 - 93, 1998
- (137) Finlay, B.**  
Dynamic mechanical testing of human skin „in vivo“. *J Biomechanics* 3: 557 - 568, 1970
- (138) Meieron, D.; Goldberg, L.H.**

- The influence of age and patient positioning on skin tension lines. *J Dermatol Surg Oncol* 19: 39 - 43, 1993
- (139) Barbenel, J.C.; Payne, P.A.**  
In vivo mechanical test of dermal properties. *Bioeng Skin* 3: 8 - 38, 1981
- (140) Finlay, B.**  
The torsional characteristics of human skin in vivo. *J Biomed Eng*, 6: 567 - 573, 1971
- (141) Jaskowski, J.; Maceluch, J.**  
Nowe mozliwosci badan wlasciwosci mechanicznych skory czlowoieka. *Wiad Lek* 35: 1149 - 1155, 1982
- (142) Salter, D.C.; McArthur, H.C.; Crosse, J.E.; Dickens, A.D.**  
Skin mechanics measured in vivo using torsion: a new and accurate model more sensitive to age, sex and moisturizing treatment. *Int J of Cos Sci* 15: 200 - 218, 1993
- (143) Sanders, R.**  
Torsional elasticity of human skin in vivo. *Pflugers Arch* 342: 225 - 260, 1973
- (144) Challoner, M.I.; Chahal, S.P.; Jones, R.T.**  
Cosmetic Proteins for Skin Care. An investigation into the use of proteins as moisturizing and tightening agents. *Cosmet & Toilet (Vol. 112)* 12: 45 - 51, 1997
- (145) Kalis, B.; De Rigal, J.; Leonard, F.; Lévêque, J.-L.; Riche, O.; Le Corré, Y.; De Lacharriere, O.**  
In vivo study of scleroderma by noninvasive techniques. *Br J Dermatol* 122: 785 - 791, 1990
- (146) Lanir, Y.; Manny, V.; Zlotogorski, A.; Shafran, A.; Dikstein, S.**  
Influence of ageing on the in vivo mechanics of the skin. *Skin Pharmacol* 6: 223 - 230, 1993
- (147) Schade, H.**  
Untersuchungen zur Organfunktion des Bindegewebes und die initiale Messung. *Z Exp Pathol Therap*, 11: 369 - 399, 1912
- (148) Kirk, E.; Kvorning, S.A.**  
Quantitative measurements of the elastic properties of the skin and subcutaneous tissue in young and old individuals. *J Gerontol* 4: 273, 1949

**(149) Kirk, J.E.; Chieffi, M.**

Variation with age in elasticity of skin and subcutaneous tissue in human individuals. *J Gerontol* 17: 373, 1962

**(150) Tregear, R.T.; Dirnhuber, P.**

Viscous flow in compressed human and rat skin. *J Invest Dermatol* 45: 119, 1965

**(151) Robertson, E.G.; Lewis, W.Z.; Billewicz, W.Z.; Foggett, I.N.**

Tow devices for quantifying the rate of deformation of skin and subcutaneous tissue. *J Lab Clin Med* 73: 594, 1969

**(152) Piérard, G.E.**

Evaluation de propriétés mécaniques de la peau par les méthodes d'indentation et de compression. *Dermatologica* 168: 61, 1984

**(153) Dikstein, S.; Hartzshtark, A.**

In-vivo measurement of some elastic properties of human skin. In: *Bioengineering and the Skin*. Marks, R., Payne, P.A. (eds.), 45 - 53, MTA Press, England, 1981

**(154) Dikstein, S.; Hartzshtark, A.**

What does low pressure indentometry measure ? *Ärztl Kosmetol* 13: 327, 1983

**(155) Zheng, Y.P.; Mak, A.F.**

An ultrasound indentation system for biomechanical properties assessment of soft tissues in-vivo. *IEEE Trans Biomed Eng* 43(9): 912 - 918, 1996

**(156) Robert, C.; Blac, M.; Lesty, C.; Dikstein, S.; Robert, L.**

Study of skin ageing as a function of social and professional conditions: modification of the rheological parameters measured with a noninvasive method - indentometry. *Gerontology* 34: 284, 1988

**(157) Manny-Afraim, V.; Dikstein, S.**

Indentometry. In: *Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin*. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14.6, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995

**(158) Manny, V.**

In-vivo deformation by small forces as a criterion for assessing skin aging. M. Pharm thesis, Hebrew Univ. Jerusalem, 1989

**(159) Hartzshtark, A.; Dikstein, S.**

- Mechanical testing of human skin in vivo. *Rev Pure Appl Pharmacol* 3: 83 - 122, 1982
- (160) Lanir, Y.; Dikstein, S.; Hartzshtark, A.; Manny, V.**  
In-vivo indentation response of human skin. *ASME Trans J Biomech (Eng)* 112: 63 - 67, 1990
- (161) Dikstein, S.; Hartzshtark, A.; Bercovici, P.**  
The dependence of low-pressure indentation, slackness and surface pH on age in forehead skin in women. *J Soc Cosmet Chem* 35: 221, 1984
- (162) Vered, M.-A.; Dikstein, S.**  
Levarometry. In: *Handbook of Non-Invasive-Methods and the Skin*. Serup, J., Jemec, G.B.E. (eds.), chap. 14.5, CRC Press Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1995
- (163) Kirk, E.; Koorning, S.A.**  
Quantitative measurements of the elastic properties of the skin and subcutaneous tissue in young and old individuals. *J Gerontol* 4: 273, 1969
- (164) Warren, R.; Gartstein, V.; Kligman, A.M.; Montagna, W.; Allendorf, R.A.; Ridder, G.M.**  
Age, sunlight and facial skin: a histological and quantitative study. *J Am Acad Dermatol* 25: 751, 1991
- (165) Piérard, G.E.**  
Investigating rheological properties of skin applying a vertical pull. *Bioeng Skin Newsl* 2: 31, 1980
- (166) Brozek, J.; Warren-Kinzey, W.**  
Age changes in skinfold compressibility. *J Gerontol* 15: 45, 1960
- (167) Tosti, A.; Compagno, G.; Fazzini, M.L.; Villardita, S.**  
A ballistometer for the study of the plastoelastic properties of skin. *J Invest Dermatol* 69: 315, 1977
- (168) Cook, T.; Alexander, H.; Cohen, M.C.**  
An experimental method for determining the two-dimensional mechanical properties of living human skin. *Ned Biol Eng Comput* 15: 381, 1977
- (169) Wijin, P.**

- The alinear viscoelastic properties of human skin in vivo for small deformations.  
Thesis, University of Nijmegen, 1980
- (170) Brody, G.S.; Peng, T.J.; Landel, R.F.**  
The rheological properties of human skin and scar tissue. In: Bioengineering and the skin. Marks, R., Payne, P.A. (eds.), 147 - 158, Lancaster: MTP Press, 1981
- (171) Wijin, P.; Brakkee, A.J.M.; Kuiper, J.P.; Vendrik, A.J.H.**  
The alinear viscoelastic properties of human skin in vivo related to sex and age. In: Bioengineering and the skin. Marks, R., Payne, P.A. (eds.), 147 - 158, Lancaster: MTP Press, 1981
- (172) Gunner, C.W.; Hutton, W.C.; Burlin, T.E.**  
The mechanical properties of skin in vivo - a portable hand-held extensometer. Br J Dermatol Vol. 100: 161 - 163, 1979
- (173) Wan Abas, W.A.B.; Barbanel, J.C.**  
Uniaxial tension test of human skin in vivo. J Biomed Eng Vol. 4: 65 - 71, 1982
- (174) Borlone, R.; Berardesca, E.; Borroni, G.; Rabbiosi, G.**  
Electronically controlled extensometer. Bioeng Skin 1: 242, 1985
- (175) Clark, J.A.; Cheng, J.C.; Leung, K.S.**  
Mechanical properties of normal skin and hypertrophic scars. Burns 22(6): 443 - 446, 1996
- (176) Braun-Falco, O.; Plewig, G.; Wolff, H.H.**  
Dermatologie und Venerologie, 3. neubearb. Aufl., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1984
- (177) Piérard-Franchimont, G.E.; Lapière, Ch.M.**  
Das Bindegewebe bei Sklerodermien - Untersuchung der Struktur und der biomechanischen Eigenschaften. Interne Publikation der Dermatologischen Abteilg. d. Univ. Lüttich, Belgien, 1985
- (178) Luger, T.A.**  
Sekretorische Leistung der Keratinozyten. Jahrbuch der Dermatologie, 49 - 59, Regensberg und Biermann, Münster 1986
- (179) Loden, M.; Olsson, H.; Axell, T.; Linde, Y.W.**  
Friction, capacitance and tranidermal water loss (TEWL) in dry atopic and normal skin. Br J Dermatol 126: 137, 1992

**(180) Werner, Y.; Lindberg, M.**

Transdermal water loss in dry and clinically normal skin in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh.)* 65: 102, 1985

**(181) Thune, P.**

Evaluation of the hydration and the water-holding capacity in atopic and so-called dry skin. *Acta Derm Venereol (Stockh.) Suppl.* 144: 133, 1989

**(182) Gehring, W.; Wenz, J.; Gloor, M.**

Influence of topically applied ceramide/ phospholipid mixture on the barrier function of intact skin, atopic skin and experimentally induced barrier damage. *Int J of Cos Sci* 19: 143 - 156, 1997

**(183) Werner, Y.**

The Water Content of the Stratum corneum in Patients with Atopic Dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh.)* 66: 281 - 284, 1986

**(184) Loden, M.; Olsson, H.; Axell, T.; Werner, Y.; Linde, W.**

Friction, capacitance and transepidermal water loss (TEWL) in dry atopic and normal skin. *Br J Dermatol* 126: 137 - 141, 1992

**(185) Nöhring, R.; Stork, J.; Born, B.; Labrot, B.; Mann, H.; Saake, P.; Spallek, M.**

Transepidermaler Wasserverlust bei Atopie, *Dermatosen* 41 3: 108 - 109, 1993

**(186) Tupker, R.A.; Pinnagoda, J.; Coenraads, P.J.; Nater, J.P.**

Susceptibility to irritants: role of barrier function, skin dryness and history of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 123: 199 - 205, 1990

**(187) Bohnsack, K.; Tausch, I.; Gaßmüller, J.; Rippke, F.**

Wirksamkeit auf das Symptom "trockene Haut" und Langzeitverträglichkeit von Laceran Lotion 10% Urea bei Patienten mit atopischem Ekzem. *Z Hautkr* 72: 34 - 39, 1997

**(188) Watanabe, M.; Tagami, H.; Horii, I.; Takahashi, M.; Kligman, A.M.**

Functional analysis of the superficial stratum corneum in atopic xerosis. *Arch Dermatol* 127: 1689 - 1693, 1993

**(189) Reichert, U.; Michel, S.; Schmidt, R.**

Dynamik in der Hornschicht - Auswirkungen auf die Hautlipide. *TW Dermatologie* 21: 460 - 468, 1991

- (190) Rawlings, A.V.; Watkinson, A.; Harding, C.R.; Ackerman, C.; Banks, J.; Hope, J., Scott, I.R.**  
Changes in stratum corneum lipid and desmosome structure together with water barrier function during mechanical stress. J Soc Cosmet Chem 46: 141 - 151, 1995
- (191) Simonetti, O.; Ferretti, G.; Offidani, A.M.; Gervasi, P.**  
Plasma membrane fluidity of keratinocytes of normal and psoriatic skin: a study using fluorescence anisotropy of trimethylammoniumdiphenylhexatriene (TMA-DSH). Arch Dermatol Res 288: 51 - 54, 1996
- (192) Rimpler, M.**  
Direktor der Abteilung Medizin. Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover, mdl. Mitteilung, 1995
- (193) Kohr, O.**  
Entwickler des Meßgerätes MEdyS, mdl. Mitteilung, August, 1998
- (194) Breisacher, D.; Kugler, J.**  
Technischer Bericht der wiss. Mitarbeiter des Institutes für Biomedizinische Technik und Krankenhaustechnik der Medizinischen Hochschule in Hannover, 1996
- (195) Ennen, J.; Jaspers, S.**  
Mdl. Mitteilung aus dem Paul Gerson Research Center, Beiersdorf AG in Hamburg, November 1998
- (196) Schwedes, K.**  
Schriftl. Kurzinformation zum Projekt MEdyS, überreicht durch Ionto Comed GmbH in Eggenstein, 1998
- (197) Gaßmüller, J.**  
Mdl. Mitteilung des Leiters vom Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung BioSkin, Hamburg, 26.05. 1997
- (198) Rhode, B.**  
Mdl. Mitteilung vom 27.05. 1997
- (199) Cortand, V.; Coutable, J.; Khaiat, A.**  
Skin biomechanical properties: In vivo evaluation of influence of age and body site by a non-invasive method. Skin Res Technol, 1: 68 - 73, 1995

**(200) Hatzis, J.**

Skin surface techniques and its applications. Int J Cosmet Sci 13: 281 - 291, 1991

**(201) Bashey, R.I.; Perlish, J.S.; Stephans, R.E.; Fleischmajer, R.**

Connective tissue synthesis by cultured scleroderma fibroblasts. II. Incorporation of 3H-glucosamine and synthesis of glycosaminoglycans. Arthritis Rheum, 20: 879 - 883, 1977

**(202) Rimpler, M.**

Vorlesung: Einführung in die Haut- und Haarkosmetik, Universität Hamburg, Fachbereich Körperpflege, WS 1989 / 90

**(203) Citernesi, U.; Sciacchitano, M.**

Phospholipid / active ingredient complexes. Cosmet & Toilet 11: 57 - 66, 1995

**(204) Arnold, K.**

Molekulare Mechanismen bei der Membranfusion. Studien mit Liposomen. Sitzungsberichte d. Sächs. Akademie d. Wiss. zu Leibzig, mathemat.-naturwiss. Klasse, Bd. 124, Heft 2, Akademie Verlag GmbH, Berlin, 1994

**(205) Garcia-Antón, J.M.; Nieto, A.; Marti, E.; del Pozo, A.; Delgado, R.; Pons, F.; Parente, A.**

Plurilamellar Multivesicular Liposomes: Methodology and Cosmetic Applications. SÖFW (122) 4: 206 - 209, 1996

**(206) Rimpler, M.**

Liposomen - Carrier für die Zukunft. Beauty 1: 54, 1991

**(207) Brunke, R.A.; Charlet, E.**

Produktion und Nachweis von Liposomen, Sphingosomen und Nanopartikeln. SÖFW (117) 14: 514 - 517, 1991

**(208) Rimpler, M.; Rimpler Chr.**

Liposomen II. Beauty 1: 26 - 28, 1990

**(209) Bangham, A.D.**

Physical structure and behaviour of lipids and lipid enzymes. Adv Lipid Res 1: 65 - 104, 1963

**(210) Bangham, A.D.; Horne, R.W.**

- Negative staining of phospholipids and their structural modification by surface-active agents as observed in the electron microscope. *J Mol Biol* 8: 660 - 668, 1964
- (211) Bangham, A.D.; de Gier, J.; Greville, G.D.**  
Osmotic properties and water permeability of Phospholipid Liquid Crystals. *Chem Phys Lipids* 1: 225 - 246, 1967
- (212) Sessa, G.; Weissmann, G.**  
Phospholipid spherules (liposomes) as a model for biological membranes. *J Lipid Res* 9: 310 - 318, 1968
- (213) Papahadjopoulos, D.**  
Liposomes and their uses in biology and medicine. *Ann NY Acad Sci*, 308: 1 - 462, 1978
- (214) Menger, F.M.**  
On the structure of micelles. *Acc Chem Res* 12: 111 - 171, 1979
- (215) Fromherz, P.**  
Tensid-Mizellen: Ihr molekulares Gefüge. *Nachr Chem Tech Lab* 29: 537 - 540, 1981
- (216) Gareiß, J.; Hoff, E.; Ghyczy, M.**  
Phospholipide - Liposomen - Nanoemulsionen. *Parfum Kosmet* 10: 652 - 659, 1994
- (217) Junginger, H.E.; Hofland, H.E.J.; Bouwstra, J.A.**  
Liposomen und Niosomen - Herstellung und Prüfung. *PZ* 25: 9 - 21, 1991
- (218) Gehring, G.; Gloor, M.**  
Einwirkung von Liposomen auf die Haut und deren Eignung als Arzneistoffträger. *TW Dermatologie* 21: 174 - 181, 1991
- (219) Billek, D.E.**  
Phospholipids in personal care preparations. *SÖFW (110)* 117: 621 - 623, 1991
- (220) Wendel, A.**  
Lecithin. In: *Encyclopedia of Chemical Technology, Fourth Edition, Vol. 15*, 192 - 210, J. Wiley & Sons Inc., 1995
- (221) Theis, H.; Göhring S.**

- Einsatz von Sphingolipiden in Hautpflegeprodukten. SÖFW (121) 5: 342 - 348, 1995
- (222) Engst, R.**  
Liposomen - ein neues Therapiekonzept in der Dermatologie? Dt Dermatologe 8: 1171 - 1177, 1992
- (223) Soehnlein, H.S.; Brunke, R.A.**  
Die neue Liposomen-Generation. SÖFW (115) 3: 85 - 87, 1989
- (224) Handjani-Vila, R.M.; Ribier, A.; Roudot, B.**  
Dispersions of lamellar phases of non-ionic lipids in cosmetic products. Int J Cosmet Sci 1: 303 - 314, 1979
- (225) Kiwada, H.; Niimura, H.; Fujisaki, Y.; Yamada, S.; Kato, Y.**  
Applikation of synthetic alkylglycoside vesicles as drug carriers. I. Preparation and physical properties. Chem Pharm Bull 33: 753 - 759, 1985
- (226) Ishigami, Y.; Machida, H.**  
Vesicles from sucrose fatty acid esters. J Am Oil Chem Soc 66: 599 - 603, 1989
- (227) Baillie, A.J.; Florence, A.T.; Hume, L.R.; Muirhead, G.T.; Rogerson, A.**  
The preparation and properties of niosomes - non-ionic surfactant vesicles. J Pharm Pharmacol 37: 863 - 868, 1985
- (228) Röding, J.**  
Stabilität, physikalische Eigenschaften und Charakterisierung von Liposomen in flüssigen und halbfesten Zubereitungen. Parfum Kosmet 2: 80 - 89, 1990
- (229) Schreier, H.**  
Liposomen - ein neuartiger Arzneistoffträger. Pharmazie in unserer Zeit 11: 97 - 108, 1982
- (230) Szoka, F.; Papahadjopoulos, D.**  
Comparative properties and methods of preparations of lipid vesicles (Liposomes). Ann Rev Biophys Bioeng 9: 467 - 508, 1980
- (231) Lichtenberg, D.; Barenholz, Y.**  
Liposome preparation, characterization and preservation. Meth Biochem Analysis 33: 337 - 462, 1980
- (232) Jones, M.N.**

- Surface properties and interactions of vesicles. *J Colloid Interface Sci* 1: 91 - 100, 1996
- (233) Röding, J.; Artmann, C.**  
Skin permeation of liposomes from soy bean phospholipids, highly occupied with linoleic acid - a natural source of vitamin F. Presentation at the IFSCC-Congress New York, Oct. 8 - 12, 1990
- (234) Pagano, R.E.; Weinstein, J.N.**  
Interactions of liposomes with mammalian cells. *Ann Rev Biophys Bioeng* 7: 468 - 535, 1978
- (235) Rieger, M.**  
Current aspects of cosmetic science. III. Liposomes and their use. *Cosmet & Toilet* 8: 35 - 38, 1981
- (236) Kellaway, I.W.; Hadgraft, J.; Arrowsmith, M.; Chawla, R.S.; Farah, F.H.; James, M.J.; Taylor, M.J.**  
Liposomes - model membranes for modern medicine. The physical properties of liposomes and their use in the investigation of biomembrane characteristics. *MFG Chem Aerosol News* 51, VIII: 43 - 44, 1980
- (237) Fox, C.**  
Advances in Cosmetic Science and Technology. IV. Cosmetic Vehicles. *Cosmet & Toilet* 11: 59 - 75, 1995
- (238) Härtel, B.**  
Wirkung kosmetischer Formulierungen auf der Haut. Teil III: Essentielle Fettsäuren und Eicosanoide; Biosynthese in der Haut und biologische Bedeutung. *Parfum Kosmet* 12: 780 - 786, 1995
- (239) Imokowa, G.; Kuno, H.; Kawai, M.**  
Stratum corneum lipids serve as a bound-water modulator. *J Invest Dermatol* 96: 845 - 851, 1991
- (240) Gareiß, J.; Hoff, E.; Ghyczy, M.**  
Phospholipide - Liposomen - Nanoemulsionen. II. Effekte auf der Haut und Produktsicherheit. *Parfum Kosmet* 3: 152 - 155, 1995
- (241) Lautenschläger, H.**

- Der Einsatz von Liposomen in der Dermopharmazie. Österr Apoth Z 44: 589 - 600, 1990
- (242) Brunke, R.A.; Metje, S.**  
Praktische Aspekte des Liposomeneinsatzes. Kosmetik-Jahrbuch 1988, 348 - 353.
- (243) Billek, D.E.**  
Liposomen und ihre Bedeutung für kosmetische Präparate. SÖFW (14) 113: 469 - 473, 1987
- (244) Fuhrhop, J.**  
Synthetische Vesikel mit Mono- oder Doppelschichtmembranen. Nachr Chem Tech Lab 28: 792 - 797, 1980
- (245) Lautenschläger, H.; Röding, J.; Ghyczy, M.**  
Über die Anwendung von Liposomen aus Soja-Phospholipiden in der Kosmetik. SÖFW 14: 531 - 535, 1988
- (246) Yatvin, M.B.; Krutz, W.; Horwitz, B.A.; Shinitzky, M.**  
PH-sensitive liposomes possible clinical implications. Science 210: 1253 - 1255, 1980
- (247) Yatvin, M.B.; Weinstein, J.N.; Dennis, W.D.; Blumenthal, R.**  
Design for liposomes enhanced local release of drugs by hyperthermia. Science 202: 1290 - 1293, 1978
- (248) Jocham, U.E.**  
Liposomen und Niosomen in Dermatika. PZ 24: 32 - 33, 1989
- (249) Bonnekoh, B.; Mahrle, G.**  
Die kutane Applikation von Liposomen - eine Literaturübersicht unter besonderer Berücksichtigung der Befunde von Keratinozytenkulturen, Tierexperimenten sowie klinischen Studien. Z Hautkr (65) 1: 99 - 105, 1990
- (250) Görlich, E.**  
Kosmetik - Aspekte moderner Rezeptur. Parfum Kosmet (74) 12: 785 - 787, 1993
- (251) Hauser, H.**  
Phospholipid - from model membrane to industrial application. Chimia 39: 252 - 264, 1985

**(252) Ghyczy, M.; Niemann, R.**

Haut und Liposomen. Wissenschaftliche Publikation Nr. 1, Rhone-Poulenc Rorer, Nattermann Phospholipid GmbH Köln, 1991

**(253) Müller, R.H.; Mehnert, W.; Lucks, J.S.; Schwarz, C.; zur Mühlen, A.; Weyhers, H.; Freytas, C.; Rühl, D.**

Solid lipid nanoparticles (SLN) - an alternative colloidal carrier system for controlled drug delivery. Eur J Pharm Biopharm 41: 62 - 69, 1995

**(254) Mehnert, W.; zur Mühlen, A.; Dingler, A.; Weyhers, H.; Müller, R.H.**

Solid lipid nanoparticles (SLN) - ein neuartiger Wirkstoff-Carrier für Kosmetika und Pharmazeutika. II. Wirkstoffinkorporation, Freisetzung und Sterilisierbarkeit. Pharm Ind 6: 511 - 514, 1997

**(255) Hilfenhaus, P.**

S-Schichten: Anwendungsperspektiven in der Kosmetik. Euro Cosmetics 10: 36 - 37, 1998

**(256) Betagerie, G.V.; Jenkins, S.A.; Parsons D.L.**

Liposome drug delivery systems. Div. of Pharmaceutics, Departm. of Pharm. Sciences, Auburn Univ., Technomic Publ., Company Inc. Lancaster, Basel, 1993

**(257) Schaller, M.; Wurm, R.; Korting, H.C.**

Direct evidence for uptake of intact liposomes encapsulating silver sulfadiazine by cultured human keratinocytes based on combined transmission electron microscopy and X-ray microanalysis. Antimicrob Agents Chemother 41 (3), 717 - 719, 1997

**(258) Lauer, A.C.; Elder, J.T.; Weiner, N.D.**

Evaluation of the hairless rat as a model for in vivo percutaneous absorption. J Pharm Sci 86 (1): 13 - 18, 1997

**(259) Hwang, K.J.**

Liposomes pharmacokinetics. In: Liposomes from biophysics to therapeutics. M.J.Ostro (ed.), New York, Marcel Dekker, Inc., pp 109 - 156, 1987

**(260) Senior, J.; Gregoriadis, G.**

Methodology in assessing liposomal stability in the presence of blood, clearance from the circulation of injected animals and uptake by tissues. In: Liposome

- Technology: Target drug delivery and biological interaction. Gregoriadis, G. (ed.), 263 - 282, CRC Press, Boca Raton, Fl., 1984
- (261) Alderson, J.C.E.; Green C.**  
Enrichment of lymphocytes with cholesterol and its effect on lymphocyte activation. FEBS Lett. 52: 208 - 211, 1975
- (262) Blumenthal, R.; Ralston, E.; Dragsten, P.; Leserman, L.D.; Weinstein J.N.**  
Lipid vesikel cell-interactions: Analysis of a model for transfers of contents from adsorbed vesicles to cells. Membr Biochem 4: 283 - 303, 1982
- (263) Margolis, L.B.**  
Cell interactions with solid and fluid liposomes in vitro: Lessons for Liposomologists and cell biologists. In: Liposomes and drug carriers. Gregoriadis, G. (ed.), 75 - 92, J. Wiley & Sons Inc., New York, 1988
- (264) Van Renswoude, A.J.B.M.; Hoekstra, D.**  
Cell induced leakage of liposome contents. Biochemistry 20: 540 - 541, 1981
- (265) New, R.R.C.; Black, R.J.; Parker, A.; Puri, A.; Scherphof G.L.**  
Liposomes in biological systems. In: Liposomes: a practical approach. New, R.R.C. (ed.), 221 - 252, Oxford Univ. Press, New York, 1990
- (266) Poste, G.**  
The interaction of lipid vesicles (Liposomes) with cultured cells and their use as carriers for drugs and makro-molecules. In: Liposomes in Biological Systems. Gregoriadis, G., Allison, A.C. (eds.), 101 - 151, J. Wiley & Sons Inc, New York, 1980
- (267) Gabizon, A.; Papahadjopoulos, D.**  
The role of surface charge and hydrophilic groups on liposome clearance in vivo. Biochem Biophys Acta 1103: 94 - 100, 1992
- (268) Allen, T.M.; Hansen, C.; Martin, F.; Redemann, C.; Yau-Young, A.**  
Liposomes containing synthetic lipid derivatives of Polyethyleneglykol show prolonged circulation half-lives in vivo. Biochim Biophys Acta 1066: 29 - 36, 1991
- (269) Sandra, A.; Pagano, R.E.**  
Liposome cell interactions. Studies of lipid transfer using isotopically asymmetric vesicles. J Biol Chem 254: 2244 - 2249, 1979

- (270) Kellaway, W; Hadgraft, J.; Ahmed, M.; Arrowsmith, M.; Chawla, R.S.; Farah, F.H.; James, M.J.; Taylor, M.J.**  
Liposomes - model membranes for modern medicine. Liposomes as a colloidal drug delivery system. MFG Chem Aerosol News 51 IX: 33 - 34, 1980
- (271) Ostro, M.**  
Liposomen. Spektrum der Wissenschaft 3: 94 - 103, 1987
- (272) Lawaczek, R.**  
Liposomen als zielgerichtete Pharmakaträger. Dt Apoth Z (127) 36: 1771 - 1773, 1987
- (273) Fendler, J.H.; Romero, A.**  
Liposomes as drug carriers. Life Science 20: 1109 - 1120, 1977
- (274) Weinstein, J.N.**  
Liposomes as drug carriers in cancer therapy. Cancer Treat Rep (68) 1: 127 - 135, 1984
- (275) Jeßberger, B.**  
Therapie des Symptoms der trockenen Haut. Z Hautkr (63) 3: 12 - 15, 1988
- (276) Raab, W.**  
Liposomen - eine neue Form dermatologischer Wirkstoffträger. Ärztl. Kosmetol 18: 213 - 224, 1988
- (277) Garson, J.C.; Doucet, J.; Tsoucaris, G.; Lévêque, J.L.**  
Study of lipid and non-lipid structure in human stratum corneum by X-ray diffraction. J Soc Cosmet Chem 41: 347 - 358, 1990
- (278) Ziolkowsky, B.**  
Neue Entwicklungstendenzen bei Umhüllungen von Produkten und Wirkstoffen. SÖFW 3: 172 - 180, 1992
- (279) Schaller, M., Korting, H.C., Schmid, M.H.**  
Interaction of cultured human keratinocytes with liposomes encapsulating silver sulphadiazine: proof of the uptake of intact vesicles. Br J Dermatol 134: 445 - 450, 1996
- (280) Korting, H.C.; Schmid, M.H.; Hartinger, A.**

Evidence for the phagocytosis of intact oligolamellar liposomes by human keratinozytes in vitro and consecutive intracellular disintegration. *J Microencapsulation* 10: 223 - 228, 1993

**(281) Lullmann-Rauch, R.**

Lysosomal storage due to internal factors. In: *Lysosomes in applied biology and therapeutics*. Dingle, J.T., Jacques, P.J., Shaw, I.H. (eds.), 49 - 50, Vol. 6, North Holland Publ. Co., Amsterdam, 1979

**(282) Pagano, R.E.; Takeichi, M.**

Adhesion of phospholipid vesicles to chinese hamster fibroblasts. Role of cell surface proteins. *J Cell Biol* 74: 531 - 546, 1977

**(283) Finkelstein, M.; Weissmann, G.**

The introduction of enzymes into cells by means of Liposomes. *J Lipid Res* 19: 289 - 303, 1978

**(284) Gregoriadis, G.; Neerunjun, E.D.**

Homing of liposomes to target cells. *Biochem Biophys Res Comm* 65: 537 - 544, 1975

**(285) Reynolds, G.D.; Baker, H.J.; Reynolds, R.H.**

Enzyme replacement using liposome carriers in feline GM1 Gangliosidosis Fibroblasts. *Nature* 275: 754 - 755, 1978

**(286) Dijkstra, J.M.; Van Galen, M.; Scherprof, G.**

Influence of liposome charge on the association of liposomes with kupfer cells in vitro. Effects of divalent cations and competition with latex particles. *Biochim Biophys Acta* 813: 287 - 297, 1985

**(287) Leserman, L.D.; Barbet, J.; Kourilsky, F.; Weinstein, J.N.**

Targeting to cells of liposomes covalently coupled with monoclonal antibody or protein A. *Nature* 288: 602 - 604, 1980

**(288) Devaux, P.F.**

Static and dynamic lipid asymmetry in cell membrane. *Biochemistry* 30: 1163 - 1173, 1991

**(289) Herrmann, A.; Zachowski, A.; Devaux, P.F.; Blumenthal, R.**

- Control of fusion of biological membranes by phospholipid asymmetry. In: Cell and Model Membrane Interactions. Ohki, S. (ed.), 89 - 114, Plenum Press, New York, 1991
- (290) Blume, A.; Jansen, M.; Ghyczy, M.; Gareiß, J.**  
Interaction of phospholipid liposomes with lipid model mixtures for stratum corneum lipids. *Int J Pharmaceutics* 99: 219 - 228, 1993
- (291) Braun-Falco, O.; Korting, H.C.; Maibach, H.I. (eds).**  
Griesbach Conference On Liposome Dermatics. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hongkong, Barcelona, Budapest, 1992
- (292) Brunke, R.A.; Metje, S.**  
Liposomen für Kosmetika. *Kosmet Int* 1: 31 - 35, 1988
- (241) Tadros, T.F.**  
Future developments in cosmetic formulations. *Int J of Cosm Scic* 14: 93 - 111, 1992
- (293) Kass, G.S.**  
New techniques for formulating cosmetics with lecithin. *Cosmet Toilet* 94: 25 - 30, 1979
- (294) Junginger, H.E.; Hofland, H.E.J.; Bouwstra, J.A.**  
Liposomes and Niosomes: Interactions with human skin. *Cosmet & Toilet* 106: 45 - 50, 1991
- (295) Siliciano, A.A.**  
Topical liposomes - an update and review of uses and production methods. *Cosmet Toilet* 100: 43 - 46, 1985
- (296) Gehring, W.; Gloor, M.**  
Einwirkung eines liposomalen Gelees auf Hydratation und Wasserbindungskapazität des Stratum corneum. *Derm Monschr* 179: 201 - 204, 1993
- (297) Junginger, H.E.; Hofland, H.E.J.; Bouwstra, J.A.**  
Wirkungsmechanismus von Liposomen und Niosomen mit Zellmembranen. *PZ* 26: 9 - 24, 1991
- (298) Artmann, C.; Röding, J.; Ghyczy, M.; Pratzel, H.G.**

- Einfluß verschiedener Liposomenzubereitungen auf die Hautfeuchtigkeit. Parfum Kosmet 5: 324 - 325, 1990
- (299) Röding, J.**  
Natipide II: New easy liposomes system. SÖFW 14: 509 - 512, 1990
- (300) Röding, J.; Ghyczy, M.**  
Beeinflussung der Hautfeuchtigkeit durch Liposomen. Stabilisierung von pflegenden Ölen und lipophilen Wirkstoffen mit Liposomen. SÖFW 10: 372 - 378, 1991
- (301) Lasch, J.; Laub, R.; Wohlrab, W.**  
How deep do intact liposomes penetrate into human skin? J Control Rel 18: 55 - 58, 1991
- (302) Egbaria, K.; Weiner, N.**  
Topical application of liposomal preparations. Cosmet & Toilet 106: 79 - 93, 1991
- (303) Artmann, C.; Röding, J.; Ghyczy, M.; Pratzel, H.G.**  
Liposomes from soya phospholipids as percutaneous drug carriers: Qualitative in vivo investigations with antibody-loaded liposomes. Arzneim.-Forsch./Drug Res 40 (II), Nr. 12: 1363 - 1365, 1990
- (304) Esser, W.; Klüken, N.; Strötges, W.**  
Experimentelle Untersuchungen zur perkutanen Resorption von Phospholipiden. Ärztl Forsch 26: 164 - 170, 1972
- (305) Komatsu, H.; Hidgaki, K.; Okamoto, H.; Miyagawa, K.; Hashida, M.; Sezaki, H.**  
Preservative activity and in vivo percutaneous penetration of butylparaben entrapped in liposomes. Chem Pharm Bull 34: 3415 - 3422, 1986
- (306) Handjani-Vila, R.M.; Ribier, A.; Roudot, B.**  
Dispersions of lamellar phases of non-ionic lipids in cosmetic products. Int J Cosmet Sci 1: 303 - 314, 1979
- (307) Bouwstra, J.A.; Hofland, H.E.J.; Spies, F.; Gooris, G.S.; Junginger, H.E.**  
Changes in the structure of the human stratum corneum induced by liposomes. In: Griesbach Conference On Liposome Dermatics. Braun-Falco, O., Korting, H.C.,

- Maibach, H.I. (eds.), 121 - 136, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hongkong, Barcelona, Budapest, 1992
- (308) Wohlrab, W.; Lasch, J.; Taube, K.-M.; Wozniak, K.-D.**  
Hautpermeation von liposomal inkorporiertem Hydrocortison. Pharmazie 44: 333 - 335, 1989
- (309) Mezei, M.**  
Cutaneous absorption of liposomal drugs. Vortrag auf dem Workshop „In vivo percutaneous penetration / absorption“, Washington 1989; zit. nach: Gehring, W. et al., Einwirkung von Liposomen auf die Haut und deren Eignung als Arzneistoffträger. TW Dermatol 21: 174 - 181, 1991
- (310) Nowak, G.A.**  
Generelle Entwicklungstendenzen in der Kosmetik. Parfum Kosmet 68: 344 -354, 1987
- (311) Umbach, W. (ed.)**  
Kosmetik. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1995
- (312) Parnham, M.J.; Wendel, A.**  
Phospholipids and Liposomes - Safety for cosmetical and pharmaceutical use. Scientific Publication No. 2, Nattermann Phospolipid GmbH, Köln, 1992
- (313) Ghyczy, M.; Gehring, W.; Röding, J.; Gloor, M.**  
In vivo-studies with Dithranol and Betamethasone encapsulated in liposomes; Presentation at the 2<sup>nd</sup> Symp. of the Belgian Association of Dermato-Cosmetic Sciences, Brüssel, Dec. 8, 1990, zit. nach: Ghyczy, M., Niemann, R.: Haut und Liposomen. Scientific Publication No. 1, Rhone-Poulenc Rorer, Nattermann Phospholipid GmbH, Köln, 1992
- (314) Hansen, H.S.; Jensen, B.**  
Essential function of linoleic acid esterified in acylglukosylceramide and in maintaining the epidermal water permeability barrier: Evidence from feeding studies with oleate, linoleate, archidonate, columbinat, and  $\delta$ -linoleate. Biochim Biophys Acta 824: 357 - 363, 1985
- (315) Wichrowski, K.; Sore, G.; Khaiat, A.**

Use of spectroscopy for in vivo measurement of the stratum corneum moisturization after application of cosmetic preparations. *Int J of Cos Sci* 17: 1 - 11, 1995

**(316) Jakobs, M.; Martin, G.P.; Marriott, C.**

Effects of phosphatidylcholin on the topical bioavailability of corticosteroids assessed by the human skin blanching. *Assay J Pharm Pharmacol* 40: 829 - 833, 1988

**(317) Ghyczy, M.; Blitz, H.**

The influence on skin roughness by different liposomal systems. Symp. of topical administration of drugs, Stockholm, Jan. 27 - 29, 1992, zit. nach: Ghyczy, M., Niemann, R.: *Haut und Liposomen*. Scientific Publication No. 1, Rhone-Poulenc Rorer, Nattermann Phospholipid GmbH, Köln, 1992

**(318) Schöbel, K.**

Liposomen, Gerbstoffe und essentielle Fettsäuren für die Pflege und Regeneration der Haut. Diss. des Fachbereiches Biologie / Chemie der Universität Osnabrück 1994, Verlag Dr. Kovac, Hamburg, 1995

**(319) Thiele, B.; Ghyczy, M.; Lunow, C.; Teichert, H.M.; Wolff, H.H.**

Influence of phospholipid liposomes (PLL) on UVB-induced erythema formation. *Arch Dermatol Res* 285: 428 - 431, 1993

**(320) Gehring, W.; Ghyczy, M.; Gloor, M.; Heitzler, Ch.; Röding, J.**

Significance of empty liposome alone and as drug carrieres in dermatotherapy. *Drug Res* 40: 1368 - 1371, 1990

**(321) Produktinformation der Firma Henkel KGaA**

CFC High Care, Düsseldorf, 1997

**(322) Produktinformation der Firma NOVAROM GmbH, Holzminden**

Untersuchungsergebnisse zum Feuchthaltefaktor Aquaderm®

**(323) Middleton, J.D.; Roberts, M.E.**

Effect of a skin cream containing the sodium salt of pyrrolidone carboxylic acid on dry and flaky skin. *J Soc Cosmet Chem* 29: 201 - 203, 1978

**(324) Clear, E.J.; Fourtanier, A.**

L'acide pyrrolidone carboxylique (PCA) et la peau. *J Soc Cosmet Chem* 3: 101 - 104, 1981

**(325) Betriebsanleitung zum neu entwickelten Meßsystem IONTO HANA, IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo.**

überreicht durch Dr.-Ing. O.A. Kohr , Leiter der Entwicklungsabteilung IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo., November 1997

**(326) Schriftl. Ergänzungen zur Betriebsanleitung des neu entwickelten Meßsystems IONTO HANA, IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo.**

überreicht durch Dipl.-Ing. U. Pfaff, Entwicklungsabteilung IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo., März 1998

**(327) Pfaff, U.**

Mdl. Mitteilung der Entwicklungsabteilung IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo., vertr. durch durch Dipl.-Ing. U. Pfaff, März 1998

**(328) Pfaff, U.**

Mdl. Mitteilung der Entwicklungsabteilung IONTO COMED GmbH, Eggenstein-Leo., vertr. durch Dipl.-Ing. U. Pfaff, November 1998

**(329) Bielfeldt, S.**

Mdl. Mitteilung der Abteilg. Kosmetikforschung, BioSkin - Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung Hamburg, vertr. durch den Leiter Dipl. - Ing. S. Bielfeldt, November 1997

**(330) Olsen, L.O.; Jemec GBE**

The influence of water, glycerin, paraffin oil and ethanol on skin mechanics. Acta Derm Venereol (Stockh.), 73: 404 - 406, 1993

**(331) Jemec, G.B.E.; Serup, J.**

Epidermal Hydration and skin mechanics. The relationship between electrical capacitance and the mechanical properties of human skin in vivo. Acta Derm Venereol (Stockh), 70: 245 - 247, 1990

**(332) Blank, I.H.**

Factors which influence the water content of the stratum corneum. J Invest Dermatol; 18: 433 - 440, 1952

**(333) Blank, I.H.**

Further observation on factors which influence the water content of the stratum corneum. J Invest Dermatol 21: 259, 1953

**(334) Clar, E.J.; Her, C.P.; Sturelle, C.G.**

- Skin impedance and moisturization. *J Soc Cosmet Chem* 26: 337 - 353, 1975
- (335) De Rigal, J.; Lévêque, J.L.**  
In vivo measurement of stratum corneum elasticity. *Bioeng Skin* 1: 13 - 22, 1985
- (336) Lévêque, J.L.; De Rigal, J.**  
Impedance methods for studying skin moisturization. *J Soc Cosmet Chem* 34: 419 - 428, 1983
- (337) Mussi, A.; Carducci, M.; Agosto, G.; Bonifati, C.; Fazio, M.; Ameglio, F.**  
Influence of skin area, age and sex on corneometric determinations. *Skin Res Technol* 4: 83 - 87, 1998
- (338) De Rigal, J.; Losch, M.J.; Bazin, R.; Camus, C.; Sturelle, C.; Descamps, V.; Lévêque, J.-L.**  
Near-infrared spectroscopy: a new approach to the characterization of dry skin. *J Soc Cosmet Chem* 44: 197, 1993
- (339) Berardesca, E.; Maibach, H.I.**  
Dry skin and aging: what is it and what it isn't. *Cosmet & Toilet* 105: 25, 1990
- (340) Grubauer, G.; Feingold, K.R.; Elias, P.M.**  
Relationship of epidermal lipogenesis to cutaneous barrier function. *J Lipid Res* 28: 746, 1987
- (341) Kligman, A.M.**  
What is dry skin? *J Toxicol Cut Ocular Toxicol* 11 (3): 221, 1992
- (342) Batt, M.D.; Fairhurst, E.**  
Hydration of the stratum corneum, *Int J Cosmet Sci* 8: 253 - 264, 1986
- (343) Tagami, H.; Yoshikuni, K.**  
Evaluation of the hydration state of the stratum corneum in vivo by electrical measurement. *Bioeng Skin* 1:93 - 99, 1985
- (344) Lévêque, J.-L.**  
Water-Keratin Interaktions. In: *Bioengineering of the Skin: Water and Stratum corneum*. Elsner, P., Berardesca, E., Maibach, H.I. (eds.), 13 - 21, CRC Press, New York, 1994
- (345) Watt, I.C.; Leeder, J.D.**  
Role of carboxyl group in water absorption by keratin. *J Appl Chem* 18: 1, 1968
- (346) Serup, J**

A double-blind comparison of two creams containing urea as the active ingredient. Assessment of efficacy and side-effects by non-invasive techniques and a clinical scoring scheme. *Acta Derm Venereol (Stockh) (Suppl)* 177: 34 - 38, 1992

**(347) Serup, J.**

A three-hour test for rapid comparison of effects of moisturizers and active constituents (urea). Measurement of skin hydration, scaling and skin surface lipidization by noninvasive techniques. *Acta Derm Venereol (Stockh) (Suppl)* 177: 29 - 33, 1992

**(348) Loden, M.; Lindberg, M.**

The influence of a single application of different moisturizers on the skin capacitance. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 71: 79 - 82, 1991

**(349) Sindhvananda, J.; Gritiyarangsana, P.; Rungrairatanaroij, P.; Kullavanijaya, P.**

Hygroscopicity and water-holding capacity of moisturizing agents : a single application in vivo study. *J Soc Cosmet Chem* 44: 279-288, 1993

**(350) Blichmann, C.W.; Serup, J.; Winther, A.**

Effects of a single application of a moisturizer: evaporation of emulsion water, skin surface temperature, electrical conductance, electrical capacitance, and skin surface (emulsion) lipids. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 69: 327 - 330, 1989

**(351) Lévêque, J.- L.**

Physical methods for skin investigation. *Int J Dermatol* 22: 368 - 375, 1983

**(352) Lévêque, J.-L.; De Rigal, J.**

Impedance methods for studying skin moisturization. *J Soc Cosmet Chem* 34: 419 - 428, 1983

**(353) Quattrone, A.J.; Laden, K.**

Physical techniques for assessing skin moisturization. *J Soc Cosmet Chem* 7: 607 - 623, 1976

**(354) Potts, R.O.**

Stratum corneum hydration: Experimental techniques and interpretation of results. *J Soc Cosmet Chem* 37: 9 - 33, 1986

**(355) Loden, M.; Hagforsen, E.; Lindberg, M.**

- The presence of body hair influences the measurement of skin hydration with the Corneometer. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 75: 449 - 450, 1995
- (356) Triebkorn, A.; Gloor, M.; Greiner, F.**  
Comparative investigations on the water content of the stratum corneum using different methods of measurement. *Dermatologica* 167: 64, 1983
- (357) Häntschel, D.**  
Beeinflussung der natürlichen Feuchthaltefaktoren der Haut durch Kosmetika und Untersuchungen zum Juckreiz. Diss. am Fachbereich Chemie der Universität Hamburg, 1998
- (358) Moss, J.**  
The effect of 3 moisturizers on skin surface hydration. *Skin Res Technol* 2:32 - 36, 1996
- (359) Ferreira, M.J.; Fiadeiro, T.; Silva, M.; Soares, A.P.**  
Electrical conductance: a controversial parameter in the evaluation of emollients in atopic dermatitis. *Skin Res Technol* 4: 138 - 141, 1998
- (360) Khazaka, D.**  
Assessing hydration of the skin - a practical approach to the measurement with the corneometer CM 825<sup>®</sup>. *Euro Cosmetics* 10: 48 - 50, 1998
- (361) Niedner, R.; Ziegenmeyer, J. (Hrsg.)**  
Dermatika. Therapeutischer Einsatz, Pharmakologie und Pharmazie. Wiss. Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1992
- (362) Barry, B.W.**  
Dermatological formulations. Marcel Dekker Inc., New York, 1983
- (363) Rawlings, A.; Harding, C.; Watkinson, A.; Banks, J.**  
The effect of glycerol and humidity on desmosome degradation in stratum corneum. *Arch Dermatol Res* 287: 457 - 464, 1995
- (364) Brisett, D.L.; McBride, J.F.**  
Skin conditioning with glycerol. *J Soc Cosmet Chem* 35: 345, 1984
- (365) Froebe, C.L.; Simion, F.A.; Ohlmeyer, H.; Rhein, L.D.; Mattai, J.; Cagan, R.H.; Friberg, S.E.**  
Prevention of stratum corneum lipid phase transition by glycerol - an alternative mechanism for skin moisturization. *J Soc Cosmet Chem* 41: 51 - 65, 1990

**(366) Rieger, M.**

Skin constituents as cosmetic ingredients. *Cosmet & Toilet* (107) 11: 85 - 93, 1992

**(367) Batt, M.D.; Davis, W.B.; Fairhurst, E.; Gerrard, W.A.; Ridge, B.D.**

Changes in the physical properties of the stratum corneum following treatment with glycerol. *J Soc Cosmet Chem* 39: 367 - 381, 1988

**(368) Wilson, D.; Berardesca E.; Maibach, H.I.**

In vivo transepidermal water loss and skin surface hydration in assessment of moisturization and soap effects. *Int J Cosmet Sci* 10: 201 - 211, 1988

**(369) Rieger, M.M.; Deem, D.E.**

Skin moisturizers. II. The effects of cosmetic ingredients of human stratum corneum. *J Soc Cosmet Chem* 25: 253 - 262, 1974

**(370) Lieb, L.M.; Nash, R.A.; Matias, J.R.; Orentreich, N.**

A new in vitro method for transepidermal water loss. A possible method for moisturizer evaluation. *J Soc Cosmet Chem* 39: 107 - 119, 1988

**(371) Gareiß, J.**

Nattermann Phospholipid GmbH, Köln, schriftl. Mitteilung vom 06.05.1998

**(372) Driller, P.**

Verbesserte Wirkung durch Nanoemulsionen, Vortrag APV-Kurs Nr. 177, Marburg, 1995

**(373) Mintel, A**

Formulierung hautähnlicher Hydro-Lipid-Systeme, Vortrag APV-Kurs Nr. 233, Marburg, 1996

**(374) Artmann, C.; Röding J.**

The Fate of Liposomes in Animal Skin, *Liposome Dermatics*, Springer Verlag, 1992

**(375) Mattai, J.; Froebe, C.L.; Rhein, L.D.; Simion, F.A.; Ohlmeyer, H.; Su, D.T.; Friberg, S.E.**

Prevention of model stratum corneum lipid phase transitions in vitro by cosmetic additives - differential scanning calorimetry, optical microscopy and water evaporation studies. *J Soc Cosmet Chem* 44: 89 - 100, 1993

**(376) Grove, G.L.**

- The effect of moisturizers on skin surface hydration as measured in vivo by electrical conductivity. *Curr Therap Res Clin Exp* 50: 712 - 719, 1991
- (377) Laden, K.**  
The role of glycerol in skin hydratation. *J Soc Cosmet Chem* 13: 455 - 458, 1962
- (378) Wachter, H.**  
Leiter der Abteilung Anwendungstechnik Wirkstoffe, Henkel KGa, Düsseldorf, mdl. Mitteilung vom 13.02.1998
- (379) Rohde, B.**  
Wirk- und Inhaltsstoffe Medizinischer Kosmetik. Glaxo-Forschung, Hamburg, 1994
- (380) Barel, A.O.; Clarys, P.**  
In vitro calibration of the capacitance method (Corneometer CM 825<sup>®</sup>) and conductance method (Skicon 200) for the evaluation of the hydratation state of the skin. *Skin Res Technol* 3: 1 - 6, 1997
- (381) Barel, A.O.; Lambrecht, R.; Clarys, P.**  
Mechanical Function of the Skin: State of the Art. In: *Skin Bioengineering - Techniques and Applications in Dermatologie and Cosmetology*. Elsner, P., Barel, A.O., Berardesca, E., Gabard, B., Serup, J. (eds.): *Curr Probl Dermatol*, Vol 26., Karger, Basel, 1998
- (382) Frödin, T.; Helander, P.; Molin, L.; Skogh, M.**  
Hydration of human stratum corneum studied in vivo by optothermal infrared spectrometry, electrical capacitance measurement and evaporimetry. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 68: 461 - 467, 1988
- (383) Lévêque, J.-L.; Poelman, M.C.; De Rigal, J.; Kligman, A.M.**  
Are corneocytes elastic? *Dermatologica* 176: 65, 1988
- (384) Bielfeld, S.**  
Mdl. Mitteilung der Abteilg. Kosmetikforschung, BioSkin - Institut für Dermatologische Forschung und Entwicklung Hamburg, vertr. durch den Leiter Dipl. - Ing. S. Bielfeldt, Januar 1998
- (385) Murray, B.C.; Wickett, R.R.**  
Sensitivity of Cutometer data to stratum corneum hydration level: A preliminary study. *Skin Res Technol* 2: 167 - 172, 1996

**(386) Lévêque, J.-L.;**

Cutaneous Investigations in Health and Disease. Marcel Dekker, New York, 1989

**(387) Marks, R.**

The Dowling Oration 1984, Device and Rule. Clin Exp Dermatol 10: 303, 1985

**(388) Frosch, P.J.; Kligman, A.M.**

Noninvasive Methods for the Quantification of Skin Functions. Springer Verlag, New York, 1993

**(389) Altmeyer, P.; El-Gamma, S.; Hoffman, K. (eds.)**

Ultrasound in Dermatology. Springer Verlag, Berlin, 1992

**(390) Pinnagoda, J.; Tupker, R.A.; Agner, T.; Serup, J.**

A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. Contact Dermatitis Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. Contact Derm 22: 164, 1990

**(391) Bircher, A.; De Boer, E.M.; Agner, T.; Wahlberg, J.E.; Serup, J.**

Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler flowmetry. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. Contact Derm 30: 65, 1994

**(392) Tucci, M.G.; Ricotti, G.; Fionda, A.; Morresi, L.; Serresi, S.; De Benedittis, A.; Biagini, G.**

Skin care products and evaluation of few skin parameters: Is the future already here? J Appl Cosmetol 15: 43 - 47, 1997

**(393) Zuang, V.; Rona, C.; Distante, F.; Brardesca, E.**

The use of a capacitance device to evaluate the hydration of human skin. J Appl Cosmetol, 15: 95 - 102, 1997

**(395) De Rigal, J.; Losch, M.J.; Bazin, R.; Camus, C. Strurelle, C.; Descamps, V.; Lévêque, J.L.**

Near-infrared spectroscopy: a new approach to the characterization of dry skin. J Soc Cosmet Chem, 44: 197, 1993

**(396) Kligman, A.M.**

What is dry skin ? J Toxicol Cut Ocular Toxicol, 11: 221, 1992

**(397) Fiedler, M, Müller, U.**

- Struktur der Hautoberfläche. Relevanz von Meß- und Auswerteverfahren für Dermatologie und Kosmetologie. TW Dermatol 23: 331 - 339, 1993
- (398) Heinrich, U.; Tronnier, H.**  
Die Hautoberflächenanalyse. Darstellung der Hautoberfläche und Beurteilung von hautglättenden und pflegenden Maßnahmen. TW Dermatol 21: 54 - 61, 1991
- (399) Heinrich, U.; Tronnier, H.; Becker, L.; Schipp, B.**  
Messung der Hautoberfläche in Abhängigkeit vom Lebensalter. Parfum Kosmet 6: 386 - 388, 1994
- (400) Binder, M.; Macheiner, W.; Schmidt, J.B.**  
Die Profilometrie. Hautarzt, 45: 546 - 550, 1994
- (401) Kim, J.I.; Lee, J.H.; Lee, Y.Y.; Kim Ch.K.**  
TSRLM Image Analysis. Evaluating Cosmetic Effects on Skin Contours. Cosmet & Toilet 10: 83 - 88, 1991
- (402) Hoppe, U.; Sauermann, G.**  
Quantitative analysis of the skin's surface by means of digital signal processing. J Soc Cosmet Chem 36: 105, 1985
- (403) Fluhr, J.W.; Gehring, W.; Gloor, M.**  
Analyse der Hautrauigkeit bei Personen unterschiedlicher Altersgruppen mit dem Visiometer. Ein neuartiges EDV-gestütztes Meßverfahren. Akt Dermatol 21: 151 - 156, 1995
- (404) Dorogi, P.L.**  
Physical properties of the skin. J Dermatol Clin Eval Soc 1: 19, 1990
- (405) McKenzie, A.W.**  
First blast of the trumpet against the monstrous segment of scientists. Br J Dermatol 115: 637, 1986
- (406) Van Scott, E.J.; Yu, R.J.**  
Alpha Hydroxy Acids: Procedures for Use in Clinical Practice. Cutis 3: 222 - 228, 1989
- (407) Produktinformation Estée Lauder**  
zu Fruition Triple ReActivating Complex, Estée Lauder, 1995
- (408) Gerny, H.**  
Siegesszug der Fruchtsäuren. Kosmet Int 7: 58, 1993

**(409) Gerny, H.**

Präparate mit Fruchtsäuren. KI-Magazin 8: 28 - 29, 1994

**(410) Nowak, G.**

Galenische Versuche zur Formulierung von  $\alpha$ -Hydroxysäuren enthaltende kosmetische Mittel. Parfum Kosmet 9: 536 - 540, 1993

**(411) Greaves, M.W.**

Cosmetics and toiletries: evaluation of efficacy, safety and quality. Skin Res Technol 3: 221, 1997

**(412) Salter, D.C.**

Ethics of human testing. Int J Cos Sci 12: 165, 1990

**(413) Fowkes, F.G.R.; Fulton; P.M.**

Critical appraisal of published research: introductory guidelines. Br Med J 302: 1136, 1991

**(414) Salter, D.**

Non-invasive cosmetic efficacy testing in human volunteers: some general principles. Skin Res Technol 2: 59 - 63, 1996

**(415) Schmid, H.-H.; Korting, H.-Chr.**

Dermatologische Anforderungen an Grundlagen topischer Dermatika und Kosmetika. Euro Cosmetics 25/27: 11 - 12, 1997

**(416) CPMP Working Party on Efficacy of Medicinal Products**

EEC Note for Guidance: Good Clinical Practice for trials on medicinal products in the European Community. Pharmacol Toxicol: 67, 361, 1990

**(417) Ellis, J.; Neeb, G.**

Leitlinien zur Guten Herstellungspraxis von kosmetischen Mitteln, Teil 1. Parf Kosmet 1-2: 22 - 26, 1998

**(418) Ellis, J.; Neeb, G.**

Leitlinien zur Guten Herstellungspraxis von kosmetischen Mitteln, Teil 2. Parf Kosmet 3: 20-23, 1998

**(419) Guidelines for good manufacturing practice of cosmetic products (GMPC)**

Council of Europe Publishing, Strasbourg, 1995. ISBN 92-871-2849-9

---

## **APPENDIX A**

**- Voruntersuchung zur Prüfung eines Torsionsgerätes -**

**Tabelle 40: Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] für Wiederholungsmessungen an verschiedenen Lokalisationen bei einem Mann und einer Frau gleichen Alters (32 Jahre).**

Lokalisation	Frequenz [Hz]	MANN		FRAU	
		MW	SD	MW	SD
<b>Bauch</b>	10	0,042	0,009	0,042	0,017
	20	0,038	0,009	0,040	0,018
	30	0,031	0,011	0,034	0,017
	40	0,022	0,011	0,022	0,014
	50	0,016	0,008	0,016	0,009
	60	0,022	0,005	0,019	0,003
	70	0,031	0,003	0,028	0,006
<b>Gesicht</b>	10	0,089	0,032	0,073	0,036
	20	0,087	0,034	0,073	0,040
	30	0,079	0,034	0,064	0,040
	40	0,065	0,033	0,059	0,044
	50	0,057	0,031	0,049	0,044
	60	0,043	0,025	0,042	0,041
	70	0,035	0,016	0,038	0,030
<b>Gesäß</b>	10	0,043	0,019	0,051	0,016
	20	0,033	0,019	0,042	0,011
	30	0,030	0,014	0,032	0,012
	40	0,020	0,014	0,068	0,152
	50	0,015	0,010	0,052	0,129
	60	0,018	0,005	0,054	0,122
	70	0,033	0,005	0,056	0,107
<b>Obere Extremitäten</b>	10	0,091	0,019	0,088	0,026
	20	0,091	0,019	0,087	0,026
	30	0,086	0,018	0,080	0,027
	40	0,078	0,020	0,071	0,028
	50	0,067	0,019	0,060	0,028
	60	0,055	0,016	0,049	0,024
	70	0,041	0,014	0,038	0,019
<b>Rücken</b>	10	0,081	0,018	0,056	0,016
	20	0,078	0,018	0,053	0,015
	30	0,070	0,020	0,045	0,016
	40	0,060	0,020	0,035	0,016
	50	0,047	0,019	0,024	0,013
	60	0,040	0,017	0,020	0,011
	70	0,033	0,015	0,024	0,006
<b>Untere Extremitäten</b>	10	0,098	0,039	0,062	0,010
	20	0,098	0,040	0,061	0,011
	30	0,092	0,041	0,053	0,013
	40	0,084	0,039	0,043	0,015
	50	0,074	0,039	0,032	0,013
	60	0,067	0,038	0,024	0,009
	70	0,057	0,029	0,022	0,004

MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

**Tabelle 41: Phase der dynamischen Steifigkeit [°] für Wiederholungsmessungen an verschiedenen Lokalisationen bei einem Mann und einer Frau gleichen Alters (32 Jahre).**

Lokalisation	Frequenz [Hz]	MANN		FRAU	
		MW	SD	MW	SD
<b>Bauch</b>	10	-96,93	127,85	-225,16	150,71
	20	-41,99	85,73	-170,65	161,74
	30	-58,98	89,35	-130,13	153,97
	40	-51,60	62,28	-36,14	57,52
	50	-52,48	6,50	-43,49	11,26
	60	-79,74	17,70	-94,05	36,73
	70	-110,03	23,38	-120,38	31,28
<b>Gesicht</b>	10	-35,06	89,31	-82,75	136,00
	20	-37,22	87,61	-48,00	99,55
	30	-40,79	87,83	-52,04	106,91
	40	-22,49	5,99	-51,87	85,58
	50	-30,66	3,28	-36,08	40,98
	60	-51,30	23,13	-56,75	35,16
	70	-69,73	29,63	-78,38	39,99
<b>Gesäß</b>	10	-270,20	172,00	-75,01	146,25
	20	-147,60	94,79	-59,90	112,68
	30	-149,30	121,40	-39,34	111,99
	40	-97,93	129,78	-86,28	117,95
	50	-32,50	11,63	-154,66	112,98
	60	-92,93	34,69	-97,92	57,90
	70	-124,83	37,72	-166,01	37,59
<b>Obere Extremitäten</b>	10	-16,51	4,76	-25,77	44,14
	20	-19,77	4,72	-28,70	69,13
	30	-24,97	4,51	-29,02	53,94
	40	-30,29	4,50	-35,13	53,20
	50	-39,42	6,49	-32,91	3,22
	60	-49,91	3,22	-49,90	13,19
	70	-62,32	4,19	-64,32	21,43
<b>Rücken</b>	10	-14,93	3,51	-64,10	108,81
	20	-17,25	4,02	-38,87	84,12
	30	-22,49	4,61	-18,90	30,42
	40	-28,58	4,93	-21,19	6,29
	50	-37,83	2,86	-38,14	4,57
	60	-52,45	6,63	-65,02	21,49
	70	-70,48	12,40	-80,19	12,60
<b>Untere Extremitäten</b>	10	-21,50	6,03	-36,45	89,83
	20	-25,67	3,36	-32,42	80,51
	30	-30,57	4,75	-22,35	29,42
	40	-37,25	6,89	-24,46	5,24
	50	-45,96	9,93	-35,59	5,22
	60	-57,60	21,21	-53,65	7,24
	70	-68,15	25,14	-74,50	9,66

MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

**Tabelle 42: Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] für Wiederholungsmessungen an verschiedenen Lokalisationen bei einer hautgesunden Frau (32 Jahre) und einer Frau mit systemischer Sklerodermie (33 Jahre)**

Lokalisation	Frequenz [Hz]	FRAU (SYSTEMISCHE SKLERODERMIE)		FRAU (GESUNDE HAUT)	
		MW	SD	MW	SD
<b>Gesicht</b>	10	0,136	0,030	0,073	0,036
	20	0,144	0,036	0,073	0,040
	30	0,130	0,031	0,064	0,040
	40	0,120	0,034	0,059	0,044
	50	0,110	0,037	0,049	0,044
	60	0,102	0,038	0,042	0,041
	70	0,072	0,033	0,038	0,030
<b>Obere Extremitäten</b>	10	0,193	0,052	0,088	0,026
	20	0,196	0,053	0,087	0,026
	30	0,197	0,052	0,080	0,027
	40	0,183	0,045	0,071	0,028
	50	0,177	0,050	0,060	0,028
	60	0,160	0,050	0,049	0,024
	70	0,147	0,053	0,038	0,019
<b>Untere Extremitäten</b>	10	0,170	0,024	0,062	0,010
	20	0,172	0,026	0,061	0,011
	30	0,166	0,028	0,053	0,013
	40	0,151	0,028	0,043	0,015
	50	0,140	0,027	0,032	0,013
	60	0,122	0,029	0,024	0,009
	70	0,107	0,027	0,022	0,004

MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

**Tabelle 43: Phase der dynamischen Steifigkeit [°] für Wiederholungsmessungen an verschiedenen Lokalisationen bei einer hautgesunden Frau (32 Jahre) und einer Frau mit systemischer Sklerodermie (33 Jahre)**

Lokalisation	Frequenz [Hz]	FRAU (SYSTEMISCHE SKLERODERMIE)		FRAU (GESUNDE HAUT)	
		MW	SD	MW	SD
<b>Gesicht</b>	10	-19,12	3,07	-82,75	136,00
	20	-22,80	2,52	-48,00	99,55
	30	-26,40	3,94	-52,04	106,91
	40	-30,86	4,27	-51,87	85,58
	50	-34,32	3,36	-36,08	40,98
	60	-40,72	7,44	-56,75	35,16
	70	-50,24	5,50	-78,38	39,99
<b>Obere Extremitäten</b>	10	-18,59	1,25	-25,77	44,14
	20	-20,47	1,20	-28,70	69,13
	30	-23,44	1,50	-29,02	53,94
	40	-26,13	1,48	-35,13	53,20
	50	-28,84	2,68	-32,91	3,22
	60	-34,32	2,65	-49,90	13,19
	70	-38,48	2,85	-64,32	21,43
<b>Untere Extremitäten</b>	10	-24,22	1,71	-36,45	89,83
	20	-26,22	1,37	-32,42	80,51
	30	-29,83	1,81	-22,35	29,42
	40	-33,95	1,78	-24,46	5,24
	50	-37,89	1,79	-35,59	5,22
	60	-44,86	2,78	-53,65	7,24
	70	-50,06	3,67	-74,50	9,66

MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

**Tabelle 44: Area under Curve (AUC) für Wiederholungsmessungen an verschiedenen Lokalisationen bei einem Mann und einer Frau gleichen Alters (32 Jahre, hautgesund).**

Proband	Lokalisation	AUC	
		Betrag [mNm/°]	Phase [°]
Frau	<b>Untere Extremitäten</b>	2,863	-2591,50
	<b>Obere Extremitäten</b>	4,547	-2243,98
	<b>Gesicht</b>	3,772	-3714,52
	<b>Rücken</b>	2,423	-2992,48
	<b>Bauch</b>	1,831	-7619,83
	<b>Gesäß</b>	3,042	-5786,85
Mann	<b>Untere Extremitäten</b>	5,365	-2510,46
	<b>Obere Extremitäten</b>	4,878	-2116,54
	<b>Gesicht</b>	4,294	-2555,00
	<b>Rücken</b>	3,887	-2070,38
	<b>Bauch</b>	1,863	-4194,38
	<b>Gesäß</b>	1,645	-8011,60

**Tabelle 45: Area under Curve (AUC) für Wiederholungsmessungen an verschiedenen Lokalisationen bei einer hautgesunden Frau (32 Jahre) und einer Frau mit systemischer Sklerodermie (33 Jahre)**

Proband	Lokalisation	AUC	
		Betrag [mNm/°]	Phase [°]
Frau (hautgesund)	<b>Gesicht</b>	3,772	-3714,52
	<b>Obere Extremitäten</b>	4,547	-2243,98
	<b>Untere Extremitäten</b>	2,863	-2591,50
Frau (mit systemischer Sklerodermie)	<b>Gesicht</b>	7,785	-1985,88
	<b>Obere Extremitäten</b>	11,739	-1689,70
	<b>Untere Extremitäten</b>	9,738	-2217,03

**Tabelle 46: Regression 3. Ordnung, bei der die Mittelwerte der Wiederholungsmessungen bei hautgesunden Probanden (n = 2) zugrunde liegen. Die dazugehörigen Parameter sind:**  
 $y = \text{const} + a * x + b * x^2 + c * x^3$

Geschl	Meßareal	const	a	b	c
M	Bauch	0,03498	0,00122	-0,00006	6,651E-07
M	Gesäß	0,04217	0,00033	-0,00004	5,124E-07
M	Gesicht	0,08127	0,00108	-0,00005	3,800E-07
M	Rücken	0,07775	0,00071	-0,00004	3,513E-07
M	obere Extr.	0,08325	0,00116	-0,00004	2,479E-07
M	untere Extr.	0,08788	0,00131	-0,00005	3,506E-07
W	Bauch	0,03333	0,00164	-0,00008	7,862E-07
W	Gesäß	0,07421	-0,00328	0,00009	-6,924E-07
W	Gesicht	0,06780	0,00092	-0,00004	3,268E-07
W	Rücken	0,05062	0,00098	-0,00006	5,172E-07
W	obere Extr.	0,07805	0,00137	-0,00005	3,451E-07
W	untere Extr.	0,05614	0,00118	-0,00006	4,505E-07

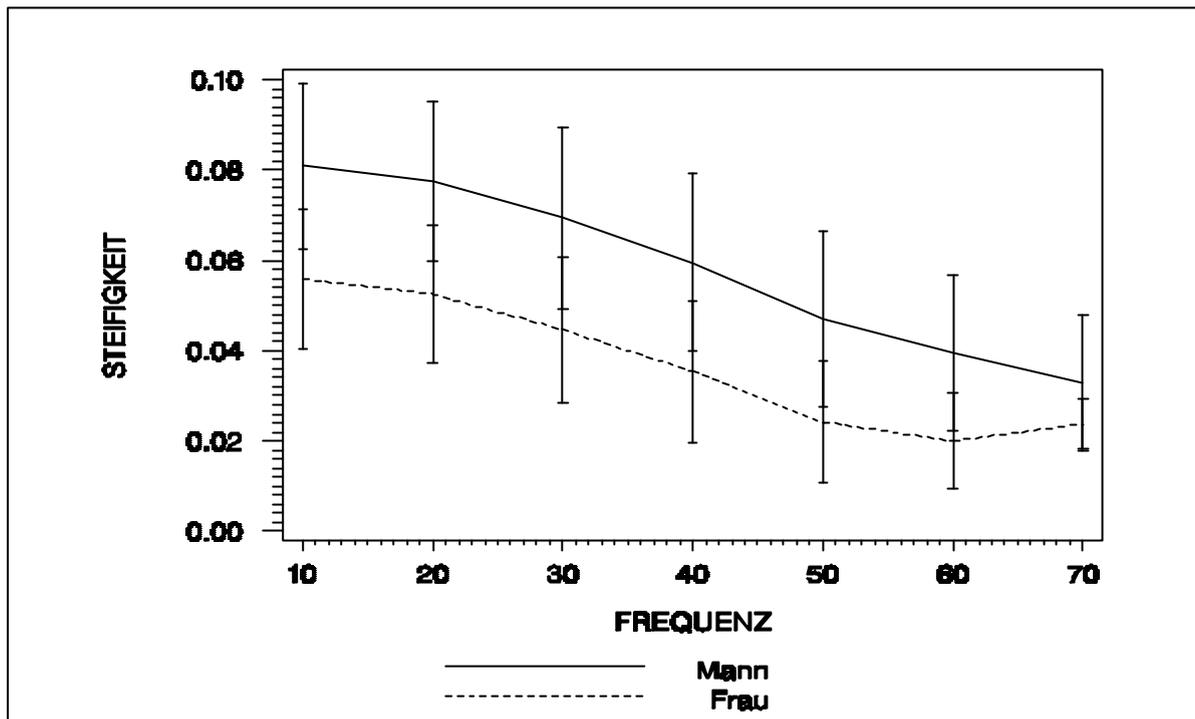


Abb.54a: Vergleich der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] der Rückenhaut eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre, normale Haut) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Gemittelte Meßwerte aus 20 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

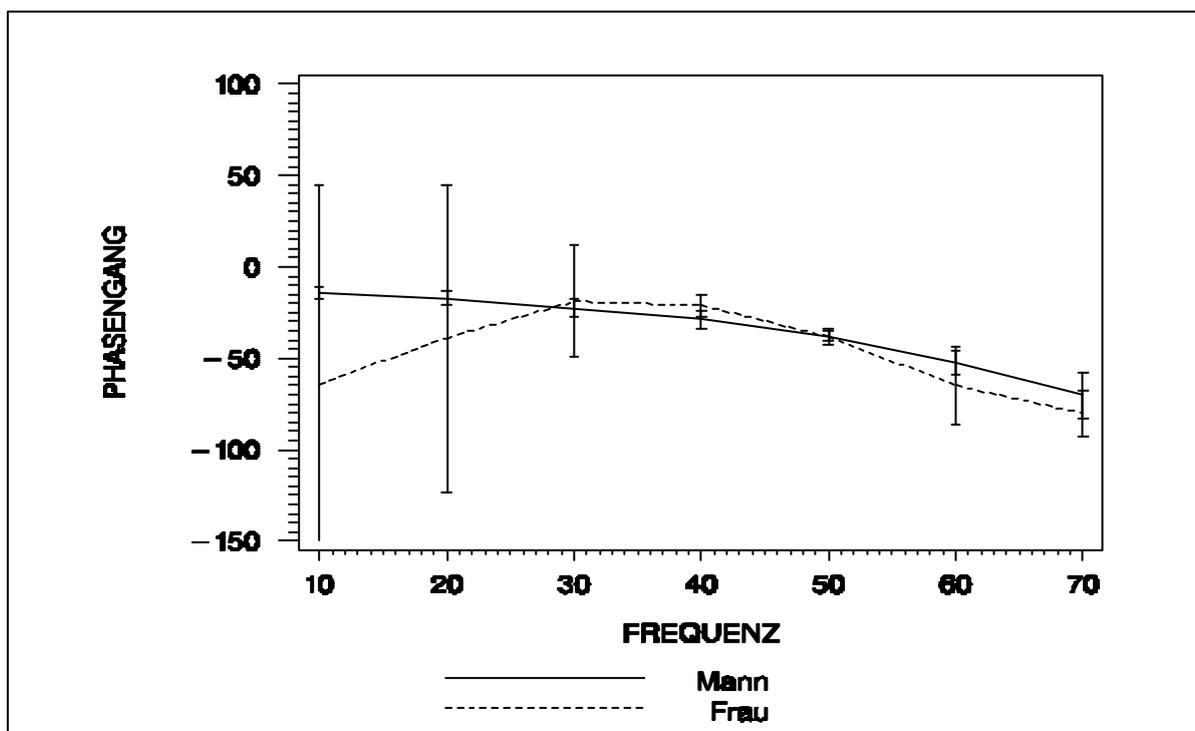


Abb.54b: Vergleich der Phase [°] der Rückenhaut eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre, normale Haut) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz]. Gemittelte Meßwerte aus 20 Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

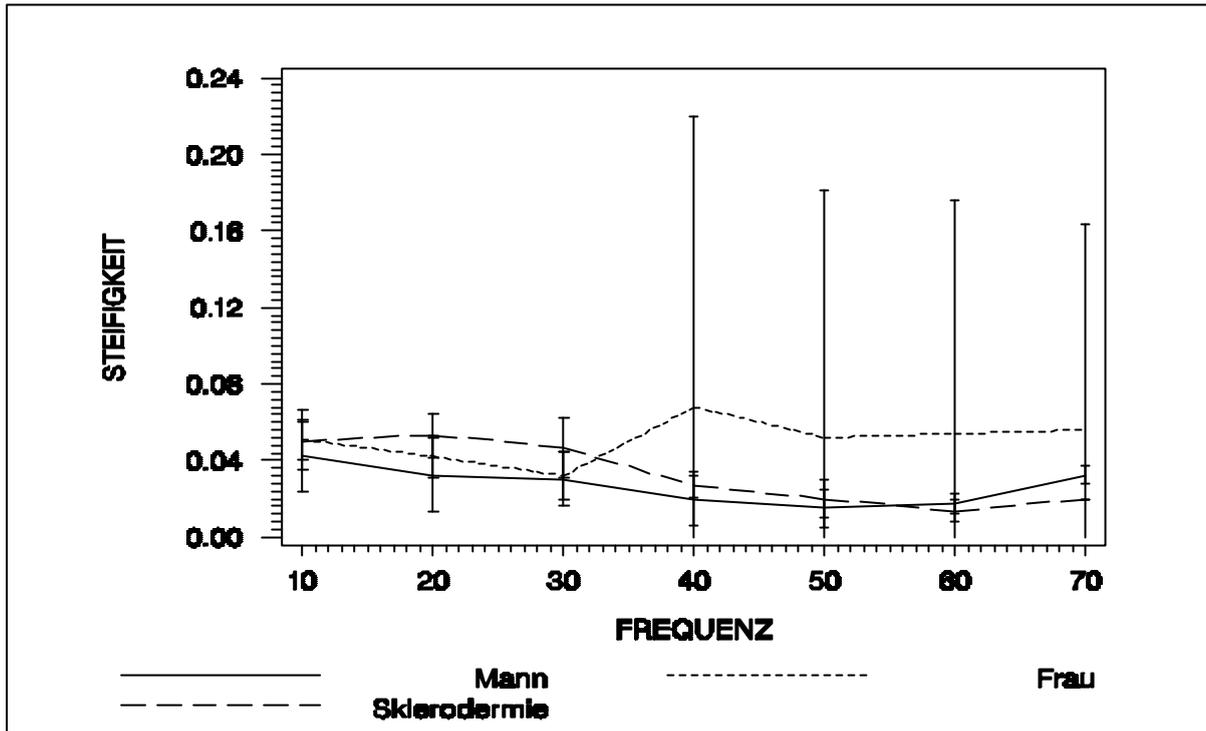


Abb.55a: Vergleich der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] der Gesäßhaut eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre, normale Haut) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz] sowie einer Probandin mit progressiver Sklerodermie (33 Jahre). Gemittelte Meßwerte aus Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

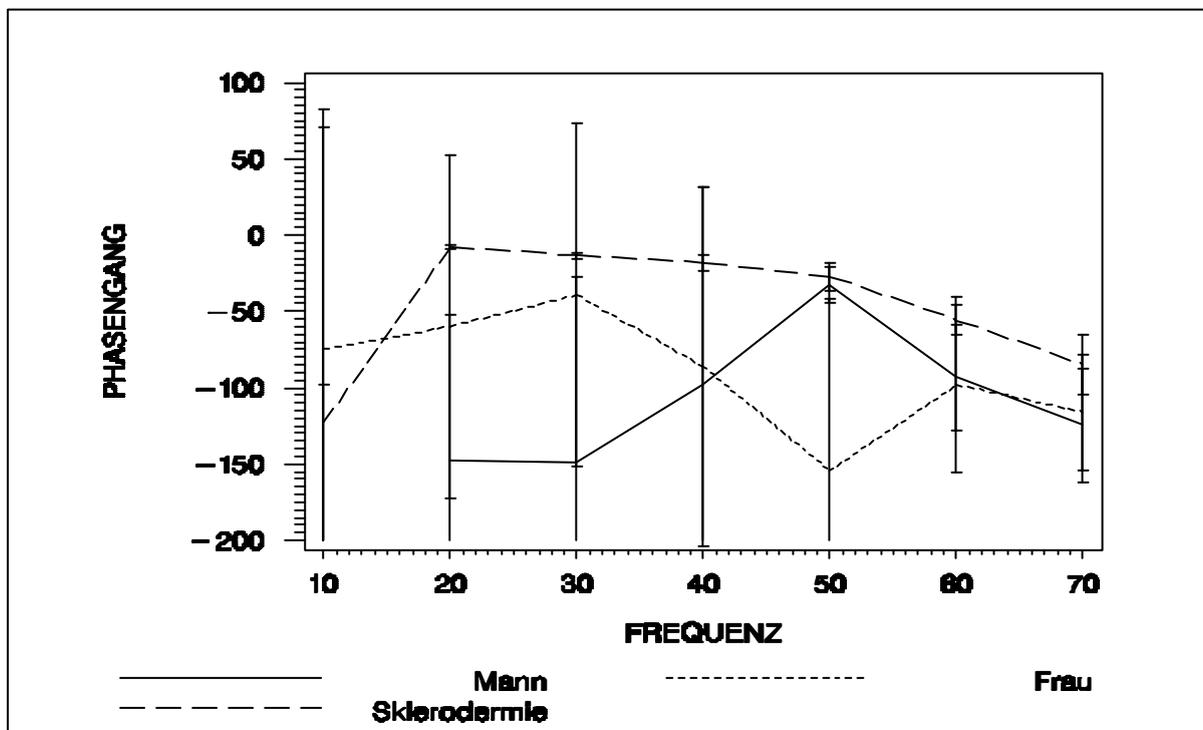


Abb.55b: Vergleich der Phase [°] der Gesäßhaut eines weiblichen und eines männlichen Probanden gleichen Alters (32 Jahre, normale Haut) über den Frequenzgang [5 bis 70 Hz] sowie einer Probandin mit progressiver Sklerodermie (33 Jahre). Gemittelte Meßwerte aus Wiederholungsmessungen mit entsprechender Standardabweichung.

**Tabelle 47: Demografische Daten (Kollektiv 1)**

Prob. Nr.	Initialen	Geschlecht	Alter	Hautbild	Raucher
01	HK	Weiblich	20	Seborrhoe sicca	N
02	MS	Weiblich	20	Seborrhoe sicca	N
03	KR	Männlich	29	Seborrhoe sicca	J
04	NR	Weiblich	22	Seborrhoe sicca	N
05	NA	Weiblich	23	Normale Haut	N
06	RS	Weiblich	53	Atrophische Haut	N
07	CZ	Weiblich	39	Seborrhoe oleosa	N
08	RK	Männlich	32	Sebastase	N
09	DB	Männlich	27	Sebastase	N
10	MG	Männlich	28	Seborrhoe sicca	J
11	PS	Männlich	25	Sebastase	N
12	CH	Männlich	39	Seborrhoe oleosa	J
13	MP	Männlich	32	Seborrhoe sicca	N
14	MA	Weiblich	60	Atrophische Haut	N
15	HS	Männlich	42	Seborrhoe oleosa	J
16	FG	Männlich	34	Seborrhoe oleosa	N
17	DS	Weiblich	20	Sebastase	N
18	AS	Männlich	20	Normale Haut	J
19	GB	Männlich	20	Normale Haut	N
20	AB	Weiblich	21	Seborrhoe oleosa	N
21	MK	Männlich	23	Seborrhoe sicca	N
22	DK	Männlich	22	Seborrhoe sicca	N
23	MK	Weiblich	20	Normale Haut	N
24	KE	Weiblich	21	Sebastase	N
25	SV	Weiblich	20	Normale Haut	N
26	GH	Männlich	22	Sebastase	J
27	IB	Weiblich	19	Normale Haut	N
28	MR	Männlich	62	Atrophische Haut	N
29	TS	Männlich	32	Sebastase	N
30	KW	Männlich	58	Atrophische Haut	N
31	JK	Männlich	29	Seborrhoe oleosa	N
32	MW	Weiblich	56	Atrophische Haut	N
33	MR	Weiblich	47	Seborrhoe oleosa	N
34	MG	Weiblich	57	Atrophische Haut	N
35	IR	Weiblich	53	Atrophische Haut	N
36	EG	Männlich	46	Normale Haut	N
37	BD	Männlich	44	Sebastase	J
38	UP	Weiblich	41	Seborrhoe sicca	N
39	HA	Männlich	22	Seborrhoe sicca	J
40	DG	Männlich	48	Seborrhoe oleosa	N
41	NG	Weiblich	19	Normale Haut	N
42	GP	Weiblich	20	Normale Haut	N
43	CL	Weiblich	20	Normale Haut	N
44	DL	Weiblich	19	Seborrhoe sicca	N
45	CM	Weiblich	20	Sebastase	N
46	WJ	Männlich	43	Normale Haut	N
47	KB	Männlich	20	Seborrhoe oleosa	N
48	KE	Weiblich	20	Seborrhoe sicca	N
49	JG	Weiblich	21	Normale Haut	N
50	UB	Weiblich	27	Normale Haut	N
51					
52	GG	Männlich	41	Seborrhoe oleosa	N
53	JS	Männlich	32	Seborrhoe oleosa	N
54	MH	Weiblich	30	Normale Haut	N
55	JP	Männlich	28	Seborrhoe oleosa	N
56	MQ	Weiblich	26	Seborrhoe sicca	N
57	KS	Männlich	20	Sebastase	N
58	JS	Weiblich	23	Seborrhoe sicca	J

Prob. Nr.	Initialen	Geschlecht	Alter	Hautbild	Raucher
59	RM	Männlich	24	Seborrhoe oleosa	N
60	EF	Männlich	81	Atrophische Haut	N
61	AK	Weiblich	24	Normale Haut	N
62	CH	Männlich	55	Atrophische Haut	N
63					
64					
65	KH	Männlich	24	Seborrhoe sicca	J
66	IF	Weiblich	27	Normale Haut	J
67	AO	Weiblich	31	Seborrhoe sicca	N
68	PB	Männlich	23	Sebastase	N
69	MS	Männlich	26	Sebastase	N
70	AG	Weiblich	27	Normale Haut	N
71	RA	Männlich	29	Normale Haut	J
72	DB	Männlich	21	Seborrhoe oleosa	N
73	JD	Männlich	21	Sebastase	J
74	MK	Männlich	23	Normale Haut	J
75	MS	Weiblich	21	Seborrhoe sicca	J
76	LP	Weiblich	31	Seborrhoe sicca	N
77	BM	Weiblich	58	Atrophische Haut	J
78	EJ	Weiblich	39	Seborrhoe oleosa	J
79	SO	Weiblich	46	Seborrhoe sicca	J
80	MW	Männlich	25	Normale Haut	N
81	TS	Weiblich	33	Seborrhoe sicca	J
82	MB	Weiblich	20	Seborrhoe oleosa	J
83	JK	Weiblich	20	Normale Haut	N
84	AR	Weiblich	20	Sebastase	N
85	CE	Weiblich	20	Sebastase	N
86	VE	Männlich	23	Seborrhoe sicca	N
87	MK	Weiblich	23	Seborrhoe sicca	N
88	HT	Weiblich	26	Sebastase	J
89	PD	Weiblich	22	Seborrhoe oleosa	N
90	DB	Weiblich	49	Seborrhoe oleosa	N
91	IK	Weiblich	41	Sebastase	N
92	BK	Männlich	34	Sebastase	N
93	JH	Männlich	23	Seborrhoe sicca	N
94	MS	Männlich	23	Seborrhoe sicca	N
95	SM	Weiblich	20	Sebastase	N
96	GL	Männlich	21	Seborrhoe sicca	J
97	JA	Weiblich	20	Seborrhoe sicca	N
98	SW	Weiblich	20	Sebastase	N
99	SO	Männlich	23	Sebastase	N
100	CS	Weiblich	19	Seborrhoe oleosa	N
101	SW	Weiblich	20	Seborrhoe sicca	N
102	OS	Männlich	32	Seborrhoe oleosa	N
001	FE	Weiblich	71	Atrophische Haut	N
002	EG	Weiblich	75	Atrophische Haut	N
003	IK	Weiblich	72	Atrophische Haut	N
004	BM	Männlich	62	Atrophische Haut	N
005	UM	Weiblich	65	Atrophische Haut	N
006	IJ	Weiblich	76	Atrophische Haut	N
007	BK	Weiblich	72	Atrophische Haut	N
008	KI	Weiblich	70	Atrophische Haut	N
009	UM	Weiblich	58	Atrophische Haut	N
120	FP	Weiblich	60	Atrophische Haut	N
121	AB	Weiblich	62	Atrophische Haut	N
122	FB	Weiblich	50	Atrophische Haut	N
123	HG	Männlich	68	Atrophische Haut	N
124	FG	Weiblich	69	Atrophische Haut	J
125	FB	Weiblich	56	Atrophische Haut	N
126	FB	Weiblich	60	Atrophische Haut	J
127	FP	Weiblich	53	Atrophische Haut	N
128	FB	Weiblich	53	Atrophische Haut	J
129	JL	Weiblich	65	Atrophische Haut	N

**Tabelle 48: Deskriptive Statistik für den Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - gemessen im Gesicht bei Frauen**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Seborrhoe Sicca      oleosa		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,155	0,198	0,190	0,158	0,132
	SD	0,027	0,039	0,057	0,048	0,063
	Minimum	0,090	0,150	0,110	0,100	0,050
	Median	0,155	0,190	0,195	0,170	0,100
	Maximum	0,210	0,270	0,290	0,220	0,270
20	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,157	0,199	0,189	0,167	0,128
	SD	0,029	0,047	0,059	0,051	0,061
	Minimum	0,080	0,140	0,080	0,100	0,047
	Median	0,163	0,185	0,190	0,160	0,120
	Maximum	0,210	0,290	0,270	0,250	0,270
30	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,155	0,200	0,184	0,170	0,118
	SD	0,032	0,048	0,061	0,056	0,062
	Minimum	0,080	0,140	0,070	0,100	0,037
	Median	0,160	0,185	0,180	0,140	0,100
	Maximum	0,200	0,300	0,280	0,250	0,270
40	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,151	0,214	0,182	0,168	0,114
	SD	0,041	0,067	0,064	0,059	0,070
	Minimum	0,070	0,140	0,070	0,100	0,027
	Median	0,160	0,205	0,170	0,150	0,090
	Maximum	0,220	0,360	0,270	0,260	0,270
50	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,141	0,204	0,178	0,160	0,102
	SD	0,041	0,067	0,070	0,056	0,071
	Minimum	0,060	0,130	0,060	0,090	0,020
	Median	0,153	0,195	0,170	0,150	0,070
	Maximum	0,210	0,340	0,290	0,250	0,270
60	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,124	0,191	0,163	0,143	0,089
	SD	0,043	0,062	0,062	0,051	0,071
	Minimum	0,030	0,120	0,120	0,080	0,015
	Median	0,133	0,175	0,175	0,130	0,060
	Maximum	0,190	0,310	0,310	0,230	0,270
70	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,107	0,165	0,146	0,121	0,078
	SD	0,042	0,049	0,069	0,052	0,067
	Minimum	0,020	0,100	0,030	0,060	0,017
	Median	0,113	0,165	0,125	0,100	0,060
	Maximum	0,170	0,250	0,260	0,210	0,260

**Tabelle 49: Deskriptive Statistik für die Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - gemessen im Gesicht bei Frauen**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	- 12,93	- 14,68	- 15,24	- 11,60	- 23,62
	SD	2,64	5,21	4,12	4,23	37,42
	Minimum	-17,00	-25,40	-26,10	-16,70	-123,87
	Median	-13,20	-13,00	-14,50	-12,90	-9,70
	Maximum	-6,20	-9,90	-9,70	-5,20	-3,95
20	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-14,56	-16,40	- 16,44	- 13,34	- 28,30
	SD	2,91	6,81	4,55	4,69	38,54
	Minimum	-20,50	-31,30	-30,10	-19,10	-125,50
	Median	-14,45	-13,80	-15,65	-14,10	-12,73
	Maximum	-8,70	-10,60	-10,50	-4,30	-6,35
30	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	- 16,32	- 18,30	- 17,55	- 15,52	- 30,77
	SD	3,08	8,34	4,16	4,56	40,81
	Minimum	-22,40	-37,60	-30,10	-22,70	-126,00
	Median	-15,85	-14,55	-16,50	-15,80	-13,90
	Maximum	-10,80	-13,10	-13,20	-6,60	-6,10
40	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	- 18,33	- 20,35	- 20,51	- 17,31	- 32,41
	SD	3,69	8,40	4,38	4,37	39,92
	Minimum	-25,35	-39,40	-31,80	-23,80	-144,20
	Median	-18,20	-17,80	-20,00	-17,60	-17,25
	Maximum	-11,90	-11,90	-15,10	-8,80	-6,90
50	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	- 21,71	- 23,89	-22,99	-20,19	-22,33
	SD	4,00	9,63	5,47	5,64	9,32
	Minimum	-30,90	-44,80	-36,00	-27,60	-53,07
	Median	-22,00	-20,75	-22,10	-21,40	-20,40
	Maximum	-15,40	-15,40	-15,10	-6,90	-6,80
60	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	- 27,79	- 25,64	- 28,11	- 23,08	- 35,81
	SD	8,24	10,56	8,67	5,05	20,67
	Minimum	-48,00	-49,70	-44,20	-31,20	-96,60
	Median	-26,45	-20,90	-24,60	-22,50	-28,75
	Maximum	-18,10	-19,60	-19,20	-13,00	-13,10
70	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	- 38,02	- 30,10	- 37,24	- 37,22	- 50,97
	SD	10,76	9,93	11,01	6,94	29,98
	Minimum	-65,20	-50,80	-62,50	-49,90	-141,95
	Median	-36,15	-27,55	-35,35	-35,60	-45,70
	Maximum	-21,10	-21,10	-19,90	-28,50	-13,50

**Tabelle 50: Deskriptive Statistik für den Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - gemessen im Gesicht bei Männern**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,139	0,139	0,146	0,116	0,114
	SD	0,056	0,042	0,034	0,048	0,036
	Minimum	0,050	0,080	0,100	0,060	0,050
	Median	0,120	0,130	0,150	0,100	0,123
	Maximum	0,250	0,240	0,190	0,210	0,150
20	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,145	0,145	0,144	0,117	0,116
	SD	0,066	0,040	0,036	0,051	0,026
	Minimum	0,060	0,090	0,100	0,070	0,080
	Median	0,130	0,140	0,150	0,105	0,123
	Maximum	0,270	0,240	0,200	0,230	0,147
30	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,146	0,141	0,143	0,110	0,106
	SD	0,066	0,041	0,039	0,035	0,030
	Minimum	0,050	0,090	0,090	0,070	0,070
	Median	0,130	0,135	0,160	0,105	0,118
	Maximum	0,280	0,240	0,190	0,175	0,143
40	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,138	0,142	0,137	0,099	0,096
	SD	0,070	0,040	0,042	0,037	0,038
	Minimum	0,040	0,080	0,080	0,050	0,050
	Median	0,140	0,130	0,150	0,100	0,110
	Maximum	0,280	0,230	0,190	0,185	0,137
50	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,122	0,133	0,133	0,088	0,087
	SD	0,065	0,043	0,043	0,037	0,035
	Minimum	0,020	0,080	0,070	0,040	0,040
	Median	0,120	0,125	0,150	0,090	0,098
	Maximum	0,240	0,240	0,180	0,170	0,120
60	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,111	0,118	0,117	0,079	0,075
	SD	0,057	0,044	0,042	0,038	0,029
	Minimum	0,020	0,060	0,060	0,030	0,040
	Median	0,100	0,105	0,120	0,070	0,086
	Maximum	0,200	0,220	0,160	0,160	0,100
70	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,095	0,101	0,103	0,063	0,057
	SD	0,057	0,041	0,044	0,040	0,019
	Minimum	0,020	0,060	0,040	0,020	0,030
	Median	0,080	0,090	0,100	0,050	0,060
	Maximum	0,210	0,200	0,150	0,150	0,080

**Tabelle 51: Deskriptive Statistik für die Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - gemessen im Gesicht bei Männern**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-11,39	-11,79	-12,33	-14,03	-11,94
	SD	5,29	3,35	3,03	9,60	3,50
	Minimum	-22,90	-18,60	-15,40	-42,60	-18,70
	Median	-10,90	-12,30	-13,60	-11,65	-11,08
	Maximum	-2,40	-6,50	-7,00	-5,60	-9,00
20	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-13,88	-13,00	-13,73	-16,90	-11,78
	SD	7,30	3,91	4,02	11,29	1,53
	Minimum	-33,90	-22,80	-17,60	-51,20	-13,90
	Median	-12,20	-12,10	-14,30	-15,00	-11,58
	Maximum	-8,10	8,70	-6,10	-9,00	-10,30
30	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-16,84	-15,29	-15,66	-19,07	-15,23
	SD	8,47	4,64	3,27	11,92	2,08
	Minimum	-41,00	-26,90	-20,90	-52,60	-18,75
	Median	-14,40	-14,45	-16,20	-15,85	-15,15
	Maximum	-9,80	9,80	-11,80	-11,00	-12,63
40	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-19,19	-16,76	-17,44	-24,04	-16,48
	SD	11,52	5,95	4,66	12,72	4,25
	Minimum	-52,10	-28,40	-23,80	-55,00	-22,50
	Median	-17,90	-16,40	-18,50	-20,15	-16,25
	Maximum	-10,70	-7,50	-9,50	-11,20	-10,30
50	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-23,29	-18,45	-19,77	-30,30	-26,04
	SD	15,24	6,79	4,94	12,41	13,83
	Minimum	-67,90	-34,10	-25,50	-58,10	-53,20
	Median	-18,00	-18,05	-19,90	-26,95	-22,05
	Maximum	-14,60	-9,70	-9,90	-17,10	-14,17
60	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-34,34	-23,10	-25,14	-41,95	-35,49
	SD	24,89	10,31	8,84	13,79	20,61
	Minimum	-106,10	-42,70	-42,40	-70,20	-74,70
	Median	-27,00	-20,40	-22,20	-41,85	-25,55
	Maximum	-16,30	-13,10	-16,30	-18,70	-22,17
70	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-46,15	-30,22	-35,29	-53,88	-51,28
	SD	28,52	13,56	6,21	14,96	28,22
	Minimum	-123,40	-50,10	-48,70	-80,00	-106,20
	Median	-35,90	-28,00	-34,50	-56,10	-39,20
	Maximum	-19,20	-8,60	-30,00	-25,20	-31,90

**Tabelle 52: Deskriptive Statistik für den Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - gemessen am volaren Unterarm bei Frauen**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,153	0,143	0,141	0,157	0,123
	SD	0,031	0,022	0,036	0,027	0,037
	Minimum	0,100	0,100	0,090	0,110	0,075
	Median	0,150	0,150	0,145	0,160	0,110
	Maximum	0,210	0,160	0,200	0,190	0,203
20	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,156	0,150	0,142	0,159	0,123
	SD	0,034	0,027	0,039	0,023	0,038
	Minimum	0,100	0,100	0,090	0,120	0,070
	Median	0,155	0,160	0,145	0,160	0,117
	Maximum	0,220	0,180	0,210	0,190	0,190
30	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,151	0,149	0,138	0,156	0,119
	SD	0,036	0,026	0,042	0,021	0,038
	Minimum	0,090	0,100	0,060	0,120	0,065
	Median	0,150	0,160	0,140	0,160	0,113
	Maximum	0,220	0,180	0,200	0,180	0,190
40	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,143	0,145	0,131	0,151	0,112
	SD	0,039	0,026	0,042	0,016	0,042
	Minimum	0,080	0,100	0,060	0,130	0,050
	Median	0,150	0,150	0,135	0,150	0,107
	Maximum	0,220	0,170	0,200	0,180	0,190
50	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,134	0,141	0,123	0,140	0,104
	SD	0,038	0,028	0,041	0,014	0,042
	Minimum	0,070	0,100	0,050	0,120	0,040
	Median	0,140	0,145	0,135	0,140	0,093
	Maximum	0,210	0,170	0,190	0,160	0,180
60	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,123	0,135	0,110	0,131	0,092
	SD	0,039	0,032	0,042	0,013	0,045
	Minimum	0,060	0,080	0,040	0,110	0,025
	Median	0,125	0,130	0,120	0,130	0,080
	Maximum	0,190	0,180	0,180	0,150	0,170
70	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,109	0,121	0,100	0,121	0,080
	SD	0,042	0,041	0,043	0,018	0,048
	Minimum	0,040	0,070	0,030	0,100	0,020
	Median	0,110	0,110	0,110	0,120	0,063
	Maximum	0,180	0,190	0,160	0,150	0,190

**Tabelle 53: Deskriptive Statistik für die Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - gemessen am volaren Unterarm bei Frauen**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-16,76	-23,16	-18,84	-22,77	-18,26
	SD	6,92	12,76	7,13	7,05	13,85
	Minimum	-36,70	-45,50	-33,10	-37,80	-55,60
	Median	-15,95	-17,65	-18,05	-23,00	-12,17
	Maximum	-5,90	-10,20	-10,00	-15,00	-6,90
20	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-19,48	-25,48	-21,12	-24,46	-22,66
	SD	6,53	12,77	7,09	7,53	20,93
	Minimum	-39,60	-48,50	-34,80	-41,50	-103,30
	Median	-19,00	-19,85	-20,40	-22,40	-15,33
	Maximum	-10,00	-13,10	-11,60	-15,70	-7,65
30	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-21,17	-27,74	-24,11	-26,98	-21,29
	SD	6,65	12,37	7,23	8,11	11,12
	Minimum	-41,20	-48,80	-38,30	-44,90	-57,90
	Median	-20,25	-22,20	-23,55	-25,50	-18,93
	Maximum	-11,50	-14,80	-13,50	-16,90	-9,70
40	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-24,74	-29,61	-27,39	-29,99	-24,82
	SD	6,67	12,02	7,49	8,34	11,72
	Minimum	-44,10	-48,60	-41,70	-48,80	-62,70
	Median	-24,65	-24,70	-25,60	-27,90	-22,53
	Maximum	-12,90	-15,20	-18,00	-20,50	-9,20
50	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-28,06	-33,83	-31,53	-34,51	-29,38
	SD	6,39	11,77	7,91	10,34	11,37
	Minimum	-46,00	-52,70	-48,00	-56,60	-66,90
	Median	-27,20	-27,55	-29,25	-32,40	-27,17
	Maximum	-17,80	-23,90	-22,10	-22,70	-9,80
60	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-33,44	-36,21	-38,93	-40,82	-40,37
	SD	7,56	12,80	9,72	11,54	11,05
	Minimum	-49,70	-55,10	-64,80	-64,80	-72,40
	Median	-34,35	-32,70	-35,95	-37,20	-40,93
	Maximum	-18,80	-19,80	-26,30	-26,50	-21,20
70	N	16	8	14	9	23
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-42,99	-46,28	-48,18	-46,30	-51,64
	SD	7,51	11,37	11,61	11,67	12,52
	Minimum	-62,20	-64,90	-78,10	-74,20	-77,00
	Median	-40,80	-40,15	-45,65	-41,60	-49,63
	Maximum	-31,60	-36,60	-36,60	-35,30	-33,10

**Tabelle 54: Deskriptive Statistik für den Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - gemessen am volaren Unterarm bei Männern**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,123	0,129	0,121	0,115	0,108
	SD	0,031	0,032	0,023	0,022	0,033
	Minimum	0,090	0,090	0,090	0,070	0,060
	Median	0,120	0,120	0,130	0,120	0,115
	Maximum	0,190	0,190	0,140	0,150	0,150
20	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,124	0,133	0,126	0,115	0,111
	SD	0,035	0,032	0,028	0,024	0,034
	Minimum	0,080	0,100	0,080	0,070	0,060
	Median	0,120	0,120	0,130	0,120	0,115
	Maximum	0,190	0,200	0,150	0,160	0,150
30	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,121	0,130	0,123	0,112	0,106
	SD	0,038	0,031	0,028	0,023	0,038
	Minimum	0,070	0,100	0,080	0,070	0,045
	Median	0,120	0,120	0,130	0,115	0,115
	Maximum	0,190	0,200	0,160	0,145	0,150
40	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,113	0,128	0,116	0,105	0,098
	SD	0,040	0,030	0,029	0,029	0,040
	Minimum	0,060	0,090	0,070	0,050	0,035
	Median	0,110	0,120	0,120	0,115	0,105
	Maximum	0,180	0,190	0,160	0,155	0,150
50	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,105	0,125	0,109	0,094	0,089
	SD	0,043	0,028	0,029	0,028	0,042
	Minimum	0,040	0,080	0,070	0,040	0,025
	Median	0,110	0,130	0,100	0,100	0,100
	Maximum	0,180	0,180	0,160	0,140	0,140
60	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,093	0,116	0,104	0,085	0,081
	SD	0,044	0,032	0,035	0,031	0,043
	Minimum	0,030	0,060	0,060	0,030	0,020
	Median	0,110	0,120	0,110	0,090	0,085
	Maximum	0,170	0,170	0,170	0,130	0,140
70	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	0,075	0,105	0,090	0,071	0,065
	SD	0,041	0,034	0,040	0,031	0,035
	Minimum	0,020	0,050	0,050	0,020	0,015
	Median	0,090	0,110	0,090	0,075	0,070
	Maximum	0,140	0,160	0,170	0,110	0,110

**Tabelle 55: Deskriptive Statistik für die Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - gemessen am volaren Unterarm bei Männern**

FREQUENZ		HAUTZUSTAND				
		Sicca	Seborrhoe oleosa	Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
10	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-12,62	-21,59	-20,21	-15,77	-20,00
	SD	5,16	10,13	9,07	8,25	12,06
	Minimum	-22,80	-40,90	-36,50	-38,00	-40,75
	Median	-11,20	-18,15	-18,40	-14,23	-17,40
	Maximum	-6,20	-12,40	-8,80	-6,70	-9,97
20	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-15,72	-24,89	-23,14	-18,15	-16,67
	SD	5,96	9,64	9,13	8,24	8,21
	Minimum	-26,20	-42,90	-39,50	-40,70	-27,00
	Median	-15,90	-22,55	-21,50	-17,10	-14,48
	Maximum	-8,20	-15,00	-10,80	-9,80	-6,45
30	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-18,54	-27,49	-27,23	-21,26	-21,84
	SD	6,76	9,23	9,19	8,96	7,11
	Minimum	-30,90	-47,40	-42,70	-45,10	-31,40
	Median	-18,00	-26,45	-26,40	-19,55	-20,25
	Maximum	-7,90	-17,80	-14,20	-9,50	-12,40
40	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-22,72	-29,65	-29,09	-23,83	-25,76
	SD	6,54	9,35	9,65	9,41	7,08
	Minimum	-35,30	-50,80	-44,50	-46,70	-36,80
	Median	-24,20	-28,90	-28,00	-23,15	-22,37
	Maximum	-13,30	-20,50	-13,90	-8,30	-19,70
50	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-27,75	-34,08	-35,10	-29,40	-31,75
	SD	8,51	9,03	10,36	10,17	7,52
	Minimum	-46,50	-56,10	-48,30	-57,10	-44,00
	Median	-27,90	-32,55	-36,00	-26,40	-31,66
	Maximum	-12,10	-25,30	-18,20	-19,50	-23,60
60	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-38,15	-42,83	-43,31	-40,39	-41,65
	SD	9,02	10,47	14,63	10,11	12,32
	Minimum	-53,20	-62,30	-64,70	-64,60	-54,60
	Median	-38,60	-40,35	-40,80	-38,25	-47,17
	Maximum	-22,00	-30,10	-21,10	-25,30	-24,30
70	N	11	10	7	12	6
	Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
	Mittelwert	-51,85	-51,98	-53,57	-52,80	-54,19
	SD	12,54	11,72	14,23	11,53	16,03
	Minimum	-69,80	-74,20	-72,60	-73,10	-73,75
	Median	-52,50	-51,30	-48,80	-47,75	-54,05
	Maximum	-36,00	-36,00	-37,60	-37,95	-34,40

**Tabelle 56: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - Gesicht, Frauen**

STEIFIGKEIT	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	9,35	12,85	11,58	10,19	7,23
SD	2,253	3,515	4,041	3,287	4,250
Minimum	4,14	8,67	4,89	5,89	2,04
Median	9,83	12,13	10,88	8,88	5,99
Maximum	13,00	20,16	17,92	15,26	17,32

**Tabelle 57: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - Gesicht, Frauen**

PHASE	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	-1305,51	-1348,84	-1380,81	-1183,28	-1901,87
SD	237,383	515,763	280,811	313,567	1598,461
Minimum	-1815,20	-2493,95	-2150,20	-1589,75	-6265,68
Median	-1277,73	-1160,45	-1289,05	-1208,45	-1229,18
Maximum	-949,95	-949,95	-1095,05	-519,65	-614,50

**Tabelle 58: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - volarer Unterarm, Frauen**

STEIFIGKEIT	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	9,10	9,20	8,37	9,46	7,14
SD	2,417	1,655	2,588	1,001	2,584
Minimum	5,21	6,47	4,30	8,34	3,41
Median	9,37	9,70	8,62	9,30	6,65
Maximum	13,40	10,64	12,51	11,04	11,85

**Tabelle 59: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - volarer Unterarm, Frauen**

PHASE	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	-1639,89	-1993,83	-1854,65	-2022,78	-1814,24
SD	437,479	793,537	468,325	574,614	666,202
Minimum	-2948,05	-3296,60	-2691,65	-3314,55	-3925,85
Median	-1579,95	-1632,70	-1738,30	-1865,75	-1630,38
Maximum	-1091,20	-1180,20	-1301,10	-1412,50	-867,75

**Tabelle 60: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - Gesicht, Männer**

STEIFIGKEIT	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	8,53	8,66	8,79	6,43	6,20
SD	4,215	2,630	2,606	2,528	1,944
Minimum	2,44	4,93	5,30	3,22	3,49
Median	7,92	8,01	9,42	6,28	6,88
Maximum	16,87	14,97	11,72	11,58	8,27

**Tabelle 61: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - Gesicht, Männer**

PHASE	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	-1425,37	-1136,00	-1214,15	-1710,19	-1413,38
SD	808,147	368,558	239,182	717,698	577,875
Minimum	-3821,65	-1968,05	-1494,05	-3636,40	-2569,40
Median	-1260,15	-1141,03	-1227,70	-1511,78	-1225,50
Maximum	-942,60	-683,50	-780,50	-862,90	-1010,23

**Tabelle 62: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°] - volarer Unterarm, Männer**

STEIFIGKEIT	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	7,10	8,16	7,39	6,65	6,21
SD	2,518	1,869	1,768	1,688	2,408
Minimum	3,63	5,85	4,77	3,43	2,59
Median	7,38	7,77	7,40	6,97	6,75
Maximum	11,66	12,08	10,20	9,60	9,37

**Tabelle 63: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) der Phase der dynamischen Steifigkeit [°] - volarer Unterarm, Männer**

PHASE	HAUTZUSTAND				
	Seborrhoe		Normale Haut	Sebostase	Atrophische Haut
	Sicca	oleosa			
N	16	8	14	9	23
Fehlende Angabe	0	0	0	0	0
Mittelwert	-1587,88	2020,44	-2043,89	-1710,61	-1833,41
SD	344,119	614,388	648,156	563,597	400,913
Minimum	-2327,10	-3367,40	-2969,30	-3277,75	-2407,85
Median	-1609,90	-1929,00	-2003,75	-1540,95	-1846,42
Maximum	-1010,15	-1484,15	-1064,90	-1234,45	-1350,10

**Tabelle 64: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Probanden mit Sebostase und Seborrhoe sicca**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	<b>0,011</b> 0,829
	Weiblich	Gesicht Volar	0,479 <b>0,043</b>
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,207 0,644
	Weiblich	Gesicht Volar	0,977 0,858

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 65: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Sebostase und Seborrhoe oleosa**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	<b>0,005</b> 0,009
	Weiblich	Gesicht Volar	0,961 0,532
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,052 0,106
	Weiblich	Gesicht Volar	0,163 1,000

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 66: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Sebostase und normaler Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	<b>0,025</b> 0,190
	Weiblich	Gesicht Volar	0,197 0,469
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,069 0,375
	Weiblich	Gesicht Volar	0,361 0,244

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 67: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Probanden mit Sebostase und atrophischer Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	0,068 0,374
	Weiblich	Gesicht Volar	0,615 0,180
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,963 0,815
	Weiblich	Gesicht Volar	<b>0,040</b> <b>0,029</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 68: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Seborrhoe sicca und normaler Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	0,928 0,085
	Weiblich	Gesicht Volar	0,418 0,156
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	1,000 0,751
	Weiblich	Gesicht Volar	0,119 0,371

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 69: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Seborrhoe sicca und atrophischer Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	0,960 0,340
	Weiblich	Gesicht Volar	0,853 0,591
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,393 0,651
	Weiblich	Gesicht Volar	<b>0,017</b> <b>0,029</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 70: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Probanden mit Seborrhoe oleosa und normaler Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	0,464 0,661
	Weiblich	Gesicht Volar	0,232 0,918
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,526 0,526
	Weiblich	Gesicht Volar	0,474 0,260

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 71: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Seborrhoe oleosa und atrophischer Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	0,303 0,551
	Weiblich	Gesicht Volar	0,542 0,982
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,074 0,143
	Weiblich	Gesicht Volar	<b>0,004</b> <b>0,046</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 72: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit normaler und atrophischer Haut**

WLICOXON SIGN RANK-TEST			
VARIABLE	GESCHLECHT	MESSTELLE	EXPLORATIVER ZWEISEITIGER P-WERT
Phasengang	Männlich	Gesicht Volar	0,830 0,617
	Weiblich	Gesicht Volar	0,521 0,372
Steifigkeit	Männlich	Gesicht Volar	0,100 0,432
	Weiblich	Gesicht Volar	<b>0,003</b> 0,240

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 73: Drop outs (Kollektiv 1)**

<b>Probandennummer</b>	<b>Grund</b>
P 51	Nicht erschienen zum Meßtermin
P 63	Nicht erschienen zum Meßtermin
P 64	Nicht erschienen zum Meßtermin

**Tabelle 74: Demografische Daten (Kollektiv 2)**

Prob. Nr.	Initialen	Geschlecht	Alter	Hautbild	Lokalisation
149	SL	Männlich	22	Akne	G
150	PG	Männlich	72	Psoriasis	OE
151	MU	Weiblich	54	Atop. Ekzem	OE
152	WS	Männlich	43	Psoriasis	OE
153	TF	Weiblich	66	Hautekzem	G, OE
154	MO	Männlich	76	Lichtdermatos	G, OE
155	PS	Weiblich	36	Akne	G
156	DL	Weiblich	32	Akne	G
157	WG	Weiblich	15	Akne	G
158	HM	Männlich	18	Akne	G
159	WW	Weiblich	51	Psoriasis	OE
160	MR	Weiblich	31	Akne	G
161	AG	Weiblich	35	Lichtdermatos	G, OE
162	PP	Männlich	28	Lichtdermatos	G, OE
163	ML	Weiblich	20	Lichtdermatos	G, OE
164	OB	Weiblich	15	Akne	G
165	JU	Weiblich	48	Mikrob. Ekzem	G, OE
166	BM	Männlich	29	Psoriasis	UE
167	LK	Weiblich	15	Akne	G
168	IM	Männlich	61	Mikrob. Ekzem	G, OE
169	UR	Weiblich	24	Akne	G, OE
170	NB	Männlich	20	Akne	G
171	NS	Männlich	36	Akne	G
172	DP	Weiblich	46	Psoriasis	OE
173	UW	Weiblich	24	Lichtdermatos	G, OE
174	RH	Weiblich	42	Psoriasis	H, F, OE
175	EH	Weiblich	17	Akne	G, R
176	LP	Männlich	49	Psoriasis	OE
177	EK	Weiblich	43	Psoriasis	OE, UE
178	RD	Weiblich	44	Psoriasis	G, OE
197	EL	Männlich	40	Lichtdermatos	OE
198	RT	Männlich	25	Akne	G
199	HG	Männlich	35	Lichtdermatos	G, OE
200	TH	Weiblich	35	Psoriasis	OE, UE
201	EM	Männlich	39	Psoriasis	UE
202	PR	Weiblich	58	Atop. Ekzem	G
203	UB	Männlich	46	Atop. Ekzem	UE
204	SG	Weiblich	34	Psoriasis	OE
205	RK	Weiblich	65	Psoriasis	UE
206	JE	Männlich	55	Atop. Ekzem	OE
207	AM	Weiblich	49	Atop. Ekzem	OE
208	IA	Weiblich	17	Atop. Ekzem	G
209	OS	Weiblich	19	Atop. Ekzem	OE
210	VU	Weiblich	24	Atop. Ekzem	UE
211	IF	Weiblich	19	Atop. Ekzem	OE
212	CK	Weiblich	59	Atop. Ekzem	OE, UE
213	TA	Männlich	23	Atop. Ekzem	H, F
214	LO	Männlich	28	Atop. Ekzem	H, F
215	JM	Weiblich	46	Chr. Ekzem	H, F
216	SH	Männlich	52	Psoriasis	R
217	CS	Weiblich	16	Chron. Ekzem	H, F
218	SP	Weiblich	17	Atop. Ekzem	OE, UE
219	BD	Weiblich	19	Akne	G
220	TS	Weiblich	17	Atop. Ekzem	H, F, OE
221	JD	Weiblich	17	Atop. Ekzem	UE
222	BW	Weiblich	48	Psoriasis	UE
223	TN	Männlich	40	Psoriasis	OE, R

Prob. Nr	Initialen	Geschlecht	Alter	Hautbild	Lokalisation
224	WT	Männlich	32	Psoriasis	G
225	KB	Männlich	47	Akne	G
226	NS	Weiblich	9	Atop. Ekzem	G, H, F, OE
227	MA	Weiblich	16	Atop. Ekzem	G, OE
228	KW	Männlich	62	Psoriasis	GE
229	BI	Männlich	16	Atop. Ekzem	OE
Anzahl			63	-	-
				-	-

MW = Mittelwert  
 SD = Standardabweichung  
 R = Rücken  
 G = Gesicht  
 OE = obere Extremität  
 UE = untere Extremität  
 GE = Gesäß  
 H = Hände  
 F = Füße

**Tabelle 75: Aus der statistischen Auswertung herausgenommene Daten (Kollektiv sonstige Erkrankungen)**

Probandennummer	Erkrankung
P 153	Hautekzem
P 165	Mikrobielles Ekzem
P 168	Mikrobielles Ekzem
P 215	Chronisches Ekzem
P 217	Chronisches Ekzem

**Tabelle 76: Deskriptive Statistik für den Betrag der dynamischen Steifigkeit [mNm/°]**

FREQUENZ		HAUTERKRANKUNG			
		Akne	Psoriasis	Atopisches Ekzem	Licht-dermatose
10	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,162	0,140	0,122	0,109
	SD	0,058	0,059	0,024	0,034
	Minimum	0,077	0,060	0,072	0,048
	Median	0,157	0,120	0,123	0,117
	Maximum	0,283	0,237	0,167	0,165
20	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,167	0,144	0,123	0,110
	SD	0,064	0,060	0,026	0,036
	Minimum	0,087	0,050	0,072	0,047
	Median	0,173	0,130	0,118	0,113
	Maximum	0,297	0,240	0,170	0,175
30	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,166	0,138	0,114	0,101
	SD	0,063	0,059	0,024	0,035
	Minimum	0,090	0,040	0,065	0,047
	Median	0,170	0,130	0,112	0,108
	Maximum	0,287	0,230	0,157	0,165
40	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,164	0,130	0,103	0,095
	SD	0,071	0,057	0,025	0,036
	Minimum	0,080	0,040	0,053	0,040
	Median	0,155	0,120	0,103	0,099
	Maximum	0,300	0,220	0,150	0,165
50	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,153	0,116	0,092	0,084
	SD	0,069	0,058	0,024	0,034
	Minimum	0,080	0,030	0,043	0,035
	Median	0,145	0,110	0,088	0,088
	Maximum	0,290	0,207	0,137	0,155
60	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,140	0,104	0,076	0,071
	SD	0,067	0,053	0,023	0,035
	Minimum	0,070	0,020	0,030	0,028
	Median	0,125	0,100	0,071	0,073
	Maximum	0,270	0,183	0,117	0,145
70	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	0,119	0,092	0,061	0,054
	SD	0,066	0,047	0,020	0,032
	Minimum	0,050	0,020	0,023	0,022
	Median	0,115	0,080	0,059	0,053
	Maximum	0,247	0,167	0,097	0,125

**Tabelle 77: Deskriptive Statistik für die Phase der dynamischen Steifigkeit [°]**

FREQUENZ		HAUTERKRANKUNG			
		Akne	Psoriasis	Atopisches Ekzem	Licht-dermatose
10	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-12,77	-24,52	-22,00	-12,65
	SD	2,07	13,42	8,21	4,18
	Minimum	-17,20	-49,60	-33,74	-19,63
	Median	-12,50	-18,10	-21,41	-13,43
	Maximum	-9,250	-6,90	-8,63	-7,80
20	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-14,34	-26,48	-24,07	-14,93
	SD	2,62	14,09	8,50	4,35
	Minimum	-19,45	-54,90	-36,21	-22,33
	Median	-14,15	-20,30	-22,14	-15,00
	Maximum	-9,60	-6,50	-10,90	-9,70
30	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-16,43	-29,57	-27,63	-17,42
	SD	2,94	14,75	9,52	5,10
	Minimum	-23,70	-59,20	-41,15	-25,63
	Median	-15,40	-24,60	-26,40	-17,78
	Maximum	-14,40	-9,90	-11,53	-10,65
40	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-18,91	-33,25	-32,56	-20,21
	SD	3,39	15,16	9,65	5,39
	Minimum	-27,47	-62,90	-46,13	-29,10
	Median	-17,67	-28,20	-31,69	-18,32
	Maximum	-15,80	-16,90	-15,50	-13,45
50	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-22,22	-39,86	-38,06	-25,72
	SD	5,56	16,13	9,98	6,52
	Minimum	-34,90	-69,00	-52,10	-34,30
	Median	-21,33	-38,76	-37,75	-23,10
	Maximum	-14,70	-18,20	-20,98	-17,00
60	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-28,30	-48,12	-47,43	-34,64
	SD	8,77	18,37	9,02	7,49
	Minimum	-41,50	-76,40	-60,70	-43,00
	Median	-24,10	-44,31	-47,23	-36,78
	Maximum	-19,53	-23,80	-27,90	-24,10
70	N	13	13	16	9
	Fehlende Angabe	0	0	0	0
	Mittelwert	-35,67	-55,80	-58,75	-47,75
	SD	10,97	17,18	10,24	8,10
	Minimum	-53,60	-80,60	-77,26	-54,67
	Median	-34,67	-52,20	-58,83	-49,30
	Maximum	-22,10	-31,37	-41,13	-27,60

**Tabelle 78: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) des Betrages der dynamischen Steifigkeit [mNm/°]**

STEIFIGKEIT	HAUTERKRANKUNG			
	Akne	Psoriasis	Atopisches Ekzem	Licht-dermatose
N	13	13	16	9
Fehlende Angabe	0	0	0	0
Mittelwert	10,0857	8,1794	6,6570	6,0050
SD	4,2057	3,7911	1,5508	2,2200
Minimum	5,3017	2,4550	3,4067	2,5458
Median	10,0150	7,4000	6,6783	6,1790
Maximum	18,2567	13,9683	9,2450	10,4500

**Tabelle 79: Deskriptive Statistik für die Area under Curve (AUC) der Phase der dynamischen Steifigkeit [°]**

PHASE	HAUTERKRANKUNG			
	Akne	Psoriasis	Atopisches Ekzem	Licht-dermatose
N	13	13	16	9
Fehlende Angabe	0	0	0	0
Mittelwert	-1292,42	-2324,29	-2199,17	-1498,08
SD	262,66	917,62	540,29	297,48
Minimum	-1841,25	-4112,25	-3013,56	-1947,52
Median	-1237,90	-2010,70	-2107,72	-1374,42
Maximum	-1008,57	-1124,55	-1251,90	-1186,40

**Tabelle 80: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Akne und Psoriasis**

WILCOXON SIGN RANK TEST		
Variable	Frequenz [Hz](	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	10	0,00657
	20	0,00657
	30	0,00765
	40	0,00148
	50	0,00248
	60	0,00294
	70	0,00408
Steifigkeit	10	0,32955
	20	0,48830
	30	0,45697
	40	0,32963
	50	0,25874
	60	0,18220
	70	0,30448

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,001$

**Tabelle 81: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Akne und atopischem Ekzem**

WILCOXON SIGN RANK TEST		
Variable	Frequenz [Hz](	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	10	0,00109
	20	<b>0,00079</b>
	30	<b>0,00042</b>
	40	<b>0,00009</b>
	50	<b>0,00009</b>
	60	<b>0,00005</b>
	70	<b>0,00006</b>
Steifigkeit	10	0,05083
	20	0,05924
	30	0,01493
	40	0,00795
	50	0,01158
	60	0,00211
	70	0,00696

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,001$

**Tabelle 82: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Akne und Lichtdermatose**

WILCOXON SIGN RANK TEST		
Variable	Frequenz [Hz](	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	10	0,84122
	20	0,84122
	30	0,68866
	40	0,78938
	50	0,16081
	60	0,05280
	70	0,01114
Steifigkeit	10	0,02524
	20	0,01769
	30	0,00751
	40	0,01109
	50	0,00613
	60	0,00556
	70	0,00681

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,001$

**Tabelle 83: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Psoriasis und atopischem Ekzem**

WILCOXON SIGN RANK TEST		
Variable	Frequenz [Hz](	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	10	0,77561
	20	0,77561
	30	0,98250
	40	0,87802
	50	0,77561
	60	0,94755
	70	0,70933
Steifigkeit	10	0,98250
	20	0,41692
	30	0,33460
	40	0,26334
	50	0,40444
	60	0,32350
	70	0,16017

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,001$

**Tabelle 84: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit Psoriasis und polymorpher Lichtdermatose**

WILCOXON SIGN RANK TEST		
Variable	Frequenz [Hz](	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	10	0,01943
	20	0,02318
	30	0,03256
	40	0,01348
	50	0,03261
	60	0,08252
	70	0,34971
Steifigkeit	10	0,27026
	20	0,14113
	30	0,17089
	40	0,17041
	50	0,22923
	60	0,18120
	70	0,05667

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,001$

**Tabelle 85: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der Patienten mit atopischem Ekzem und polymorpher Lichtdermatose**

WILCOXON SIGN RANK TEST		
Variable	Frequenz [Hz](	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	10	0,00425
	20	0,00507
	30	0,00507
	40	0,00168
	50	0,00168
	60	0,00168
	70	0,01610
Steifigkeit	10	0,20221
	20	0,25733
	30	0,24581
	40	0,46148
	50	0,37947
	60	0,41098
	70	0,25697

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,001$

**Tabelle 86: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Patienten mit Akne und Psoriasis**

WILCOXON SIGN RANK TEST	
Variable	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	<b>0,00059</b>
Steifigkeit	0,41192

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,0083$

**Tabelle 87: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Patienten mit Akne und atopischem Ekzem**

WILCOXON SIGN RANK TEST	
Variable	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	<b>0,00007</b>
Steifigkeit	0,01685

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,0083$

**Tabelle 88: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Patienten mit Akne und polymorpher Lichtdermatose**

WILCOXON SIGN RANK TEST	
Variable	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	0,08252
Steifigkeit	0,00921

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,0083$

**Tabelle 89: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Patienten mit Psoriasis und atopischem Ekzem**

WILCOXON SIGN RANK TEST	
Variable	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	0,94755
Steifigkeit	0,41721

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,0083$

**Tabelle 90: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Patienten mit Psoriasis und polymorpher Lichtdermatose**

WILCOXON SIGN RANK TEST	
Variable	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	0,03261
Steifigkeit	0,20452

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,0083$

**Tabelle 91: Wilcoxon-Test für unabhängige Stichproben zum Vergleich der AUC der Patienten mit atopischem Ekzem und polymorper Lichtdermatose**

WILCOXON SIGN RANK TEST	
Variable	Explorativer, zweiseitiger p-Wert
Phasengang	<b>0,00138</b>
Steifigkeit	0,29494

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,0083$

**Tabelle 92: Drop outs (Kollektiv 2)**

Probandennummer	Grund
P 176	Zurücknahme der Einverständniserklärung zur Teilnahme
P 177	Zurücknahme der Einverständniserklärung zur Teilnahme
P 204	Kreislaufprobleme des Probanden - Abbruch bei der ersten Messung
P 208	Teilnahme am anberaumten Meßtermin nicht möglich, durch zeitliche Verschiebung der Kuranwendung
P 219	Teilnahme am anberaumten Meßtermin nicht möglich, durch zeitliche Verschiebung der Kuranwendung

**Tabelle 93: Unerwünschte Ereignisse (UE) im Kollektiv 2**

Probandennummer	UE
P 225	Punktförmige Blutungen im Gesicht; subjektiver Brennschmerz; Intensität der Stärkeskala der UE: gering
P 226	Punktförmige Blutungen im Gesicht; subjektiver Brennschmerz; Intensität der Stärkeskala der UE: gering
P 227	Subjektives Hautbrennen; kein Auftreten punktförmiger Blutungen
P 229	Subjektives Hautbrennen; kein Auftreten punktförmiger Blutungen

## **Appendix B**

- Liposomenstudie -

**Tabelle 94: Demographische Daten**

Prob. Nr.	Initialen	Geschlecht	BMI	Raucher	Beruf
1	B.K.	weiblich	25	nein	Hausfrau
2	G.H.	weiblich	26	nein	Büroang.
3	H.L.	weiblich	22	nein	Hausfrau
4	A.B.	weiblich	21	nein	Hausfrau
5	C.K.	weiblich	21	nein	Hausfrau
6	G.B.	weiblich	32	nein	Hausfrau
7	M.S.	weiblich	24	nein	Kontoristin
8	S.N.	weiblich	23	nein	Büroang.
9	J.Kl	weiblich	32	nein	Hausfrau
10	K.L.	weiblich	22	nein	Hausfrau
11	W.E.	weiblich	26	nein	Büroang.
12	M.K.	weiblich	29	nein	Hausfrau
13	C.B.	weiblich	22	nein	Hausfrau
14	H.L.	weiblich	28	nein	Hausfrau
15	U.H.	weiblich	24	nein	Hausfrau
16	R.S.	weiblich	23	nein	Hausfrau
17	D.T.	weiblich	28	nein	Büroang.
18	I.M.	weiblich	25	nein	Hausfrau
19	B.I.	weiblich	33	nein	Hausfrau
20	E.S.	weiblich	24	nein	Büroang.
21	G.B.	weiblich	21	nein	Hausfrau
22	E.H.	weiblich	24	nein	Verkäuferin
23	I.K.	weiblich	23	nein	Hausfrau
24	H.R.	weiblich	24	nein	Hausfrau
25	B.P.	weiblich	20	ja	Kosmetikerin
26	G.S.	weiblich	25	nein	Sekretärin
27	I.G.	weiblich	26	ja	Hausfrau
28	G.W.	weiblich	25	ja	Hausfrau
29	E.S.	weiblich	33	ja	Hausfrau
30	K.G.	weiblich	21	nein	Hausfrau
31	R.S.	weiblich	25	nein	Hochbau
32	E.G.	weiblich	26	ja	Journalistin
33	M.B.	weiblich	26	nein	Verkäuferin
34	I.G.	weiblich	27	nein	Kauffrau
35	U.P.	weiblich	23	nein	Hausfrau
36	G.V.	weiblich	25	nein	Hausfrau
37	C.H.	weiblich	22	nein	Hausfrau
38	G.B.	weiblich	28	nein	Hausfrau
39	K.W.	weiblich	22	nein	Hausfrau
40	K.M.	weiblich	24	nein	Hausfrau
41	V.D.	weiblich	26	nein	Hausfrau
42	G.S.	weiblich	27	nein	Sekretärin
43	E.M.	weiblich	24	ja	Hausfrau
44	M.F.	weiblich	26	nein	Kauffrau
45	K.M.	weiblich	24	nein	Büroang.
46	R.V.	Weiblich	22	nein	Büroang.
47	S.B.	Weiblich	19	nein	Hausfrau
48	U.J.	Weiblich	25	nein	Hausfrau
		Anzahl	48	-	-
		MW	24,85	-	-
		SD	3,216	-	-

**Tabelle 95: Verbrauch der Prüfprodukte**

Prob. Nr.	Produkt A (Vehikel)			Produkt B (Liposomencreme)		
	Tag 1	Tag 22	Verbrauch	Tag 1	Tag 22	Verbrauch
1	158,30	132,27	26,03	149,12	130,69	18,43
2	159,14	133,11	26,03	147,27	125,29	21,98
3	159,88	133,20	26,68	148,90	129,11	19,79
4	148,82	116,19	32,63	148,29	116,89	31,40
5	147,51	126,26	21,25	148,55	126,96	21,59
6	148,72	112,75	35,97	146,83	109,80	37,03
7	148,18	130,72	17,46	147,52	128,49	19,03
8	148,55	138,99	9,56	148,58	139,52	9,06
9	156,44	130,50	25,94	147,87	129,49	18,38
10	160,00	130,81	29,19	148,61	132,80	15,81
11	149,01	95,68	53,33	148,39	106,41	41,98
12	145,72	128,21	17,51	148,58	132,71	15,87
13	158,13	145,77	12,36	149,02	135,43	13,59
14	148,30	125,38	22,92	148,66	128,89	19,77
15	156,22	122,04	34,18	148,30	113,20	35,10
16	148,46	99,22	49,24	148,41	91,40	57,01
17	148,15	120,30	27,85	148,48	119,22	29,26
18	150,40	111,30	39,10	148,86	103,41	45,45
19	149,75	111,20	38,55	150,23	114,22	36,01
20	149,34	120,20	29,14	148,38	117,38	31,00
21	147,97	138,53	9,44	147,47	136,71	10,76
22	148,41	122,43	25,98	148,01	125,14	22,87
23	148,61	104,61	44,00	148,12	107,02	41,10
24	149,11	125,70	23,41	149,90	125,13	24,77
25	149,57	137,67	11,90	148,56	134,45	14,11
26	149,50	130,10	19,40	150,22	125,20	25,02
27	149,75	94,52	55,23	149,19	97,03	52,16
28	148,43	110,75	37,68	148,40	105,59	42,81
29	159,64	140,91	18,73	150,29	132,07	18,22
30	156,91	143,07	13,84	148,00	133,94	14,06
31	149,32	93,26	56,06	148,46	101,11	47,35
32	148,78	115,37	33,41	148,65	111,72	36,93
33	147,63	100,54	47,09	148,82	103,85	44,97
34	147,94	118,56	29,38	148,03	131,65	16,38
35	149,75	100,13	49,62	147,97	102,87	45,10
36	149,60	92,55	57,05	147,98	100,25	47,73
37	148,20	132,98	15,22	148,67	133,57	15,10
38	148,03	128,27	19,76	147,45	127,44	20,01
39	149,50	120,87	28,63	148,72	116,29	32,43
40	149,49	130,58	18,91	148,23	131,37	16,86
41	149,61	115,23	34,38	147,95	112,94	35,01
42	149,32	120,19	29,13	148,66	124,41	24,25
43	147,64	73,02	74,62	147,92	82,42	65,50
44	149,59	117,89	31,70	148,68	117,36	31,32
45	149,40	140,46	8,94	148,70	139,99	8,71
46	149,50	132,85	16,65	149,10	134,05	15,05
47	148,03	136,20	11,83	148,56	133,90	14,66
48	148,09	129,08	19,01	147,84	122,49	25,35
Anzahl	48	48	48	48	48	48
MW	150,55	121,05	29,50	148,49	120,44	28,04
SD	3,893	15,784	14,723	0,711	13,771	13,712

MW = Mittelwert; SD = Standardabweichung

**Tabelle 96: Deskriptive Statistik (Quotienten zur unbehandelten Kontrolle)**

	Beh	TP	N	MW	SD	Median	Min.	Max.	Unteres Quartil	Oberes Quartil
Corneometer	A	1	47	1,0252	0,1066	1,0120	0,8052	1,2222	0,9388	1,0968
	B	1	47	1,0125	0,0919	1,0238	0,7273	1,2099	0,9589	1,0737
	A	22	47	1,2310	0,1727	1,2174	0,9138	1,6000	1,1009	1,3514
	B	22	47	1,2115	0,1754	1,1927	0,8542	1,6232	1,0930	1,3151
Cutometer R0	A	1	47	1,0191	0,2113	1,0000	0,6804	1,5556	0,8684	1,1429
	B	1	47	1,0182	0,1992	1,0625	0,6598	1,5273	0,8409	1,1579
	A	22	47	1,0564	0,1423	1,0462	0,7294	1,3929	0,9459	1,1594
	B	22	47	1,0338	0,1705	1,0286	0,6944	1,4333	0,8824	1,1515
Cutometer R7	A	1	47	1,0394	0,1769	1,0279	0,6766	1,5601	0,9437	1,1829
	B	1	47	0,9894	0,1641	0,9838	0,5315	1,4420	0,8642	1,1241
	A	22	47	1,0411	0,1300	1,0312	0,7535	1,3174	0,9447	1,1351
	B	22	47	1,0244	0,1255	1,0265	0,7459	1,2798	0,9228	1,1277
MEF	A	1	43	0,9889	0,3060	0,9339	0,5176	1,8446	0,7964	1,1468
	B	1	43	1,0397	0,3393	0,9833	0,4177	2,3165	0,8297	1,1901
	A	22	43	0,9479	0,3312	0,8965	0,4173	1,9955	0,7141	1,0660
	B	22	43	0,9524	0,2894	0,9379	0,4938	1,5797	0,7413	1,1258
MEDSC (korr.)	A	1	47	1,0161	0,2611	1,0090	0,6176	1,8213	0,8245	1,1391
	B	1	47	1,0321	0,2497	0,9912	0,6413	1,9830	0,8776	1,2046
	A	22	47	0,7850	0,2258	0,7393	0,2869	1,3408	0,6364	0,9434
	B	22	47	0,8774	0,3337	0,7867	0,3887	2,3089	0,7023	0,9833

MW = Mittelwert

SD = Standardabweichung

TP = Meßtage

A = Vehikel (Feuchtigkeitsemulsion)

B = Verum (Liposomencreme)

**Tabelle 97: Deskriptive Statistik (Originalwerte)**

	Beh	TP	N	MW	Stdabw.	Median	Min	Max	Unteres Quartil	Oberes Quartil
Corneometer	A	1	47	43,30	5,560	44,00	31,0	57,0	40,0	47,0
	B	1	47	42,96	6,554	43,00	28,0	56,0	38,0	48,0
	K	1	47	42,41	5,128	41,50	31,0	53,5	38,5	46,5
	A	22	47	55,53	7,214	54,00	41,0	71,0	50,0	60,0
	B	22	47	54,66	7,227	56,00	38,0	68,0	50,0	60,0
	K	22	47	45,71	7,131	45,50	32,5	64,0	40,5	50,0
Cutometer R0	A	1	47	0,185	0,0274	0,185	0,125	0,250	0,170	0,195
	B	1	47	0,185	0,0279	0,185	0,120	0,260	0,170	0,205
	K	1	47	0,185	0,0268	0,183	0,138	0,243	0,160	0,210
	A	22	47	0,187	0,0222	0,190	0,135	0,240	0,170	0,200
	B	22	47	0,183	0,0252	0,185	0,120	0,235	0,165	0,200
	K	22	47	0,178	0,0204	0,180	0,130	0,218	0,165	0,195
Cutometer R7	A	1	47	0,538	0,0746	0,528	0,398	0,692	0,478	0,600
	B	1	47	0,512	0,0717	0,515	0,369	0,659	0,455	0,566
	K	1	47	0,525	0,0728	0,510	0,345	0,707	0,484	0,577
	A	22	47	0,539	0,0684	0,529	0,415	0,747	0,484	0,591
	B	22	47	0,531	0,0705	0,531	0,385	0,667	0,478	0,586
	K	22	47	0,521	0,0587	0,520	0,396	0,653	0,485	0,563
MEF	A	1	46	94,46	117,6	48,843	76,00	20,0	227,8	62,6
	B	1	47	95,69	130,2	41,961	93,20	27,0	192,0	59,4
	K	1	46	96,75	126,2	40,645	80,65	18,8	210,2	67,5
	A	22	46	86,19	98,8	46,000	71,70	28,6	215,8	56,0
	B	22	46	81,52	102,0	35,816	76,50	28,4	198,0	58,0
	K	22	46	90,22	99,3	43,560	79,55	28,7	247,3	65,7
MEDSC	A	1	47	1646,35	20,594	1644,00	1611,3	1693,3	1630,0	1657,7
	B	1	47	1648,04	21,573	1645,33	1609,3	1702,0	1630,7	1661,3
	K	1	47	1646,84	18,536	1644,33	1609,2	1715,0	1635,2	1654,3
	A	22	47	1616,14	14,709	1620,00	1582,0	1650,0	1605,3	1628,3
	B	22	47	1620,43	17,152	1617,00	1593,0	1664,7	1607,7	1633,0
	K	22	47	1630,26	18,695	1624,67	1601,5	1674,8	1618,7	1640,3
MEDSC (korr.*)	A	1	47	76,35	20,594	74,00	41,3	123,3	60,0	87,7
	B	1	47	78,04	21,573	75,33	39,3	132,0	60,7	91,3
	K	1	47	76,84	18,536	74,33	39,2	145,0	65,2	84,3
	A	22	47	46,14	14,709	50,00	12,0	80,0	35,3	58,3
	B	22	47	50,43	17,152	47,00	23,0	94,7	37,7	63,0
	K	22	47	60,26	18,695	54,67	31,5	104,8	48,7	70,3

\* - Korrigiert durch Subtraktion von 1570

K = Kontrollfelder

**Tabelle 98: Mittelwerte und Quotienten zu unbehandelt für Corneometer, n = 47**

Behandlung	Mittelwerte		Mittlere Quotienten	
	baseline	Tag 22	baseline	Tag 22
A	43,30	55,53	1,0252	1,2310
B	42,96	54,66	1,0125	1,2115
unbehandelt	42,41	45,71	1,0000	1,0000

**Tabelle 99: MANOVA - Übersicht aller Effekte (Corneometer)  
1 - Zeitpunkt; 2 - Produkt**

	FG Effekt	MQ Effekt	FG Fehler	MQ Fehler	F	p-Wert
1	1	1,9246	46	0,0287	67,1562	<b>0,0000</b>
2	1	0,0123	46	0,0033	3,7556	0,0588
1 und 2	1	0,0005	46	0,0040	0,1349	0,7151

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 100: MANOVA - Kontrastierung: (Corneometer)  
Zeitpunktvergleiche Tag 1 vs. Tag 22**

Produkt	Vergleich	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert	% Befeuchtung
A	Tag 1 vs. Tag 22	0,9948	1	0,9948	58,0669	<b>0,0000</b>	20,07
B	Tag 1 vs. Tag 22	0,9303	1	0,9303	59,8877	<b>0,0000</b>	19,65

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 101: MANOVA - Kontrastierung: (Corneometer)  
Produktvergleiche für jeden Meßtag**

Produkte	Zeitpunkt	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert
A vs. B	Tag 1	0,0038	1	0,0038	1,1562	0,2879
A vs. B	Tag 22	0,0090	1	0,0090	2,2642	0,1392

A = Vehikel (Feuchtigkeitsemulsion)

B = Verum (Liposomencreme)

**Tabelle 102: Mittelwerte und Quotienten zu unbehandelt für Cutometer: R0,  
n=47**

Behandlung	Mittelwerte		Mittlere Quotienten	
	baseline	Tag 22	baseline	Tag 22
A	0,1851	0,1868	1,0191	1,0564
B	0,1853	0,1826	1,0182	1,0338
Unbehandelt	0,1853	0,1784	1,0000	1,0000

**Tabelle 103: MANOVA - Übersicht aller Effekte (Cutometer: R0)  
1 - Zeitpunkt; 2 - Produkt**

	FG Effekt	MQ Effekt	FG Fehler	MQ Fehler	F	p-Wert
1	1	0,0328	46	0,0232	1,4184	0,2398
2	1	0,0065	46	0,0103	0,6313	0,4309
1 und 2	1	0,0055	46	0,0105	0,5259	0,4720

**Tabelle 104: MANOVA - Kontrastierung: (Cutometer: R0)  
Zeitpunktvergleiche Tag 1 vs. Tag 22**

Produkt	Vergleich	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert	% Änderung
A	Tag 1 vs. Tag 22	0,0327	1	0,0327	2,1110	0,1530	3,66
B	Tag 1 vs. Tag 22	0,0057	1	0,0057	0,3144	0,5777	1,53

**Tabelle 105: MANOVA - Kontrastierung: (Cutometer: R0)  
Produktvergleiche für jeden Meßtag**

Produkte	Zeitpunkt	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert
A vs. B	Tag 1	0,0000	1	0,0000	0,0016	0,9683
A vs. B	Tag 22	0,0120	1	0,0120	1,5628	0,2176

A = Vehikel (Feuchtigkeitsemulsion)

B = Verum (Liposomencreme)

**Tabelle 106: Mittelwerte und Quotienten zu unbehandelt für Cutometer: R7, n = 47**

Behandlung	Mittelwerte		Mittlere Quotienten	
	baseline	Tag 22	baseline	Tag 22
A	0,5380	0,5390	1,0394	1,0411
B	0,5122	0,5311	0,9894	1,0244
Unbehandelt	0,5248	0,5210	1,0000	1,0000

**Tabelle 107: MANOVA - Übersicht aller Effekte (Cutometer: R7)**  
**1 - Zeitpunkt; 2 - Produkt**

	FG Effekt	MQ Effekt	FG Fehler	MQ Fehler	F	p-Wert
1	1	0,0158	46	0,0165	0,9605	0,3322
2	1	0,0523	46	0,0064	8,1888	<b>0,0063</b>
1 und 2	1	0,0130	46	0,0065	2,0079	0,1632

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 108: MANOVA - Kontrastierung: (Cutometer: R7)**  
**Zeitpunktvergleiche Tag 1 vs. Tag 22**

Produkt	Vergleich	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert	% Änderung
A	Tag 1 vs. Tag 22	0,0001	1	0,0001	0,0062	0,9374	0,17
B	Tag 1 vs. Tag 22	0,0288	1	0,0288	2,4538	0,1241	3,54

**Tabelle 109: MANOVA - Kontrastierung: (Cutometer: R7)**  
**Produktvergleiche für jeden Meßtag**

Produkte	Zeitpunkt	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert
A vs. B	Tag 1	0,0587	1	0,0587	10,5959	<b>0,0021</b>
A vs. B	Tag 22	0,0066	1	0,0066	0,8979	0,3483

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

A = Vehikel (Feuchtigkeitsemulsion)

B = Verum (Liposomencreme)

**Tabelle 110: Mittelwerte und Quotienten zu unbehandelt für MEF**

Behandlung	Mittelwerte, n=47		Mittlere Quotienten, n=43	
	baseline	Tag 22	baseline	Tag 22
A	122,6	90,2	0,9889	0,9479
B	95,7	84,3	1,0397	0,9524
Unbehandelt	106,8	99,3	1,0000	1,0000

**Tabelle 111: MANOVA - Übersicht aller Effekte  
1 - Zeitpunkt; 2 - Produkt****(MEF)**

	FG Effekt	MQ Effekt	FG Fehler	MQ Fehler	F	p-Wert
1	1	0,1771	42	0,0947	1,8704	0,1787
2	1	0,0327	42	0,0423	0,7729	0,3843
1 und 2	1	0,0230	42	0,0452	0,5094	0,4793

**Tabelle 112: MANOVA - Kontrastierung:  
Zeitpunktvergleiche Tag 1 vs. Tag 22****(MEF)**

Produkt	Vergleich	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert	% Änderung
A	Tag 1 vs. Tag 22	0,0362	1	0,0362	0,6008	0,4426	-4,149
B	Tag 1 vs. Tag 22	0,1639	1	0,1639	2,0581	0,1588	-8,399

**Tabelle 113: MANOVA - Kontrastierung:  
Produktvergleiche für jeden Meßtag****(MEF)**

Produkte	Zeitpunkt	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert
A vs. B	Tag 1	0,0553	1	0,0553	1,1058	0,2990
A vs. B	Tag 22	0,0004	1	0,0004	0,0113	0,9158

A = Vehikel (Feuchtigkeitsemulsion)

B = Verum (Liposomencreme)

**Tabelle 114: Mittelwerte und Quotienten zu unbehandelt für MEDSC, n = 47**

Behandlung	Mittelwerte		Mittlere Quotienten	
	baseline	Tag 22	baseline	Tag 22
A	76,3	46,1	1,0161	0,7850
B	78,0	50,4	1,0321	0,8774
Unbehandelt	76,8	60,3	1,0000	1,0000

**Tabelle 115: MANOVA - Übersicht aller Effekte (MEDSC)  
1 - Zeitpunkt; 2 - Produkt**

	FG Effekt	MQ Effekt	FG Fehler	MQ Fehler	F	p-Wert
1	1	1,7490	46	0,0929	18,8241	<b>0,0001</b>
2	1	0,1381	46	0,0309	4,4677	<b>0,0400</b>
1 und 2	1	0,0684	46	0,0303	2,2593	0,1397

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 116: MANOVA - Kontrastierung: (MEDSC)  
Zeitpunktvergleiche Tag 1 vs. Tag 22**

Produkt	Vergleich	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert	% Änderung
A	Tag 1 vs. Tag 22	1,2546	1	1,2546	26,6091	<b>0,0000</b>	-22,7405
B	Tag 1 vs. Tag 22	0,5628	1	0,5628	7,4012	<b>0,0092</b>	-14,9939

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 117: MANOVA - Kontrastierung: (MEDSC)  
Produktvergleiche für jeden Meßtag**

Produkte	Zeitpunkt	Summe d. Quadrate	FG	Mittlere Quadrate	F	p-Wert
A vs. B	Tag 1	0,0061	1	0,0061	0,3865	0,5372
A vs. B	Tag 22	0,2005	1	0,2005	4,4049	<b>0,0414</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

A = Vehikel (Feuchtigkeitsemulsion)

B = Verum (Liposomencreme)

**Tabelle 118: Korrelation der verschiedenen Meßgeräte**

Korrelation	r	p-Wert
Corneometer mit MEF	-0,1792	<b>0,001</b>
Corneometer mit MEDSC	-0,7282	<b>0,000</b>
MEF mit MEDSC	0,0994	0,056
R0 mit Corneometer	0,1963	<b>0,000</b>
R0 mit MEF	-0,1557	<b>0,003</b>
R0 mit MEDSC	-0,0017	0,974
R7 mit Corneometer	0,0133	0,797
R7 mit MEF	-0,0444	0,396
R7 mit MEDSC	0,0677	0,191
R0 mit R7	0,3921	<b>0,000</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 119: Parameter R1 (X), Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	416	0,4439	0,6571
B1&K1	46	430	0,5192	0,6036
A2&K2	46	382	0,6285	0,5297
B2&K2	46	480	0,4233	0,6721
QA1&QA2	46	439	0,6535	0,5134
QB1&QB2	46	451	0,7506	0,4529
QA1&QB1	46	335,5	0,7605	0,4469
QA2&QB2	46	382,5	0,1047	0,9166
A1&A2	46	346,5	0,0754	0,9399
B1&B2	46	369	0,5511	0,5816
K1&K2	46	379	0,6674	0,5045

**Tabelle 120: Parameter R2 (UA/UF), Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	507,5	0,3605	0,7184
B1&K1	46	536	0,0492	0,9608
A2&K2	46	331	2,2889	<b>0,0221</b>
B2&K2	46	403,5	1,4968	0,1345
QA1&QA2	46	406	1,4695	0,1417
QB1&QB2	46	423	1,2837	0,1992
QA1&QB1	46	478	0,6828	0,4947
QA2&QB2	46	467	0,5700	0,5687
A1&A2	46	462	0,8576	0,3911
B1&B2	46	464,5	0,3559	0,7219
K1&K2	46	418,5	1,1175	0,2638

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 121: Parameter R3 (UF<sub>(5)</sub>), Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	497	0,2314	0,8170
B1&K1	46	505,5	0,1355	0,8923
A2&K2	46	323	2,3763	<b>0,0175</b>
B2&K2	46	473	0,7375	0,4608
QA1&QA2	46	311	2,5074	<b>0,0122</b>
QB1&QB2	46	511	0,3223	0,7472
QA1&QB1	46	462,5	0,3793	0,7045
QA2&QB2	46	313	2,1240	<b>0,0337</b>
A1&A2	46	328	1,3282	0,1841
B1&B2	46	401	0,8694	0,3846
K1&K2	46	379,5	1,5577	0,1193

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 122: Parameter R4 ( $X_{(5)}$ ), Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	490,5	0,0525	0,9581
B1&K1	46	442,5	0,8466	0,3972
A2&K2	46	495	0,2540	0,7995
B2&K2	46	437	0,6769	0,4985
QA1&QA2	46	488	0,5736	0,5663
QB1&QB2	46	434	1,1636	0,2446
QA1&QB1	46	483	0,3894	0,6970
QA2&QB2	46	476	0,4684	0,6395
A1&A2	46	374,5	0,9628	0,3357
B1&B2	46	437	0,1813	0,8561
K1&K2	46	309,5	1,7755	0,0758

**Tabelle 123: Parameter R5 (UR(UE), Wilcoxon-Test (gepaart))**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	426	1,2510	0,2110
B1&K1	46	482,5	0,3951	0,6928
A2&K2	46	443	1,0652	0,2868
B2&K2	46	467	0,5700	0,5687
QA1&QA2	46	488	0,5736	0,5663
QB1&QB2	46	427	1,0215	0,3070
QA1&QB1	46	391	1,6333	0,1024
QA2&QB2	46	511	0,3223	0,7472
A1&A2	46	457,5	0,9068	0,3645
B1&B2	46	378	1,7754	0,0758
K1&K2	46	500	0,4425	0,6581

**Tabelle 124: Parameter R6 (UV/UE), Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	515	0,2786	0,7806
B1&K1	46	473	0,5023	0,6155
A2&K2	46	331	2,2889	<b>0,0221</b>
B2&K2	46	534	0,0710	0,9434
QA1&QA2	46	425	1,2619	0,2070
QB1&QB2	46	509	0,3441	0,7307
QA1&QB1	46	500	0,4425	0,6581
QA2&QB2	46	359	1,9830	<b>0,0474</b>
A1&A2	46	504	0,1524	0,8789
B1&B2	46	429	1,2182	0,2232
K1&K2	46	370	1,8628	0,0625

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 125: Parameter R8, Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	517	0,2567	0,7974
B1&K1	46	521	0,2130	0,8313
A2&K2	46	374	1,8191	0,0689
B2&K2	46	485	0,6064	0,5443
QA1&QA2	46	433	1,1745	0,2402
QB1&QB2	46	510	0,3332	0,7390
QA1&QB1	46	530	0,1147	0,9087
QA2&QB2	46	412	1,4039	0,1604
A1&A2	46	501	0,4316	0,6661
B1&B2	46	486	0,5954	0,5516
K1&K2	46	412	1,4039	0,1604

**Tabelle 126: Parameter R1/R0 (X/UF), Wilcoxon-Test (gepaart)**

	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	486	0,5954	0,5516
B1&K1	46	525	0,1693	0,8655
A2&K2	46	344	2,1468	<b>0,0318</b>
B2&K2	46	400	1,5350	0,1248
QA1&QA2	46	415	1,3711	0,170
QB1&QB2	46	388	1,6661	0,096
QA1&QB1	46	440	0,8748	0,382
QA2&QB2	46	509	0,3441	0,731
A1&A2	46	482	0,6391	0,5227
B1&B2	46	454	0,4785	0,6323
K1&K2	46	450	0,9887	0,3228

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 127: Parameter R4/R3 ( $X_{(5)}/UF_{(5)}$ ), Wilcoxon-Test (gepaart)**

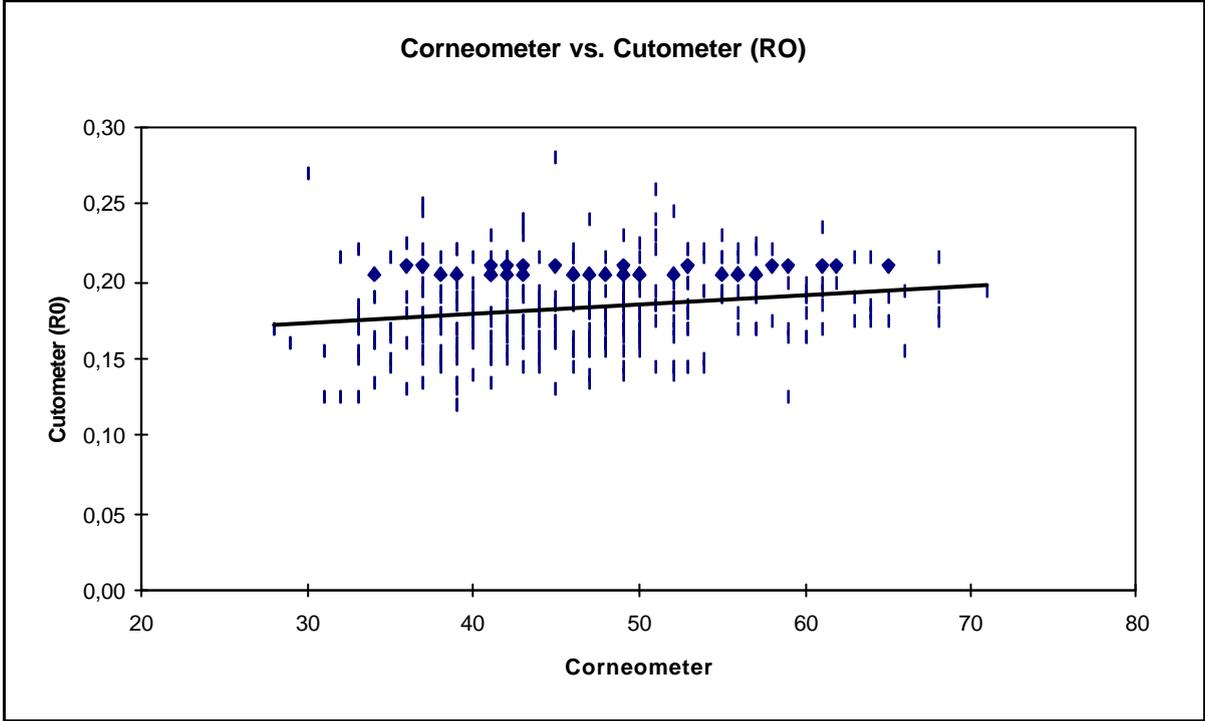
	N	T	Z	p-Wert
A1&K1	46	540	0,0055	0,9956
B1&K1	46	514	0,0395	0,9685
A2&K2	46	320	2,4090	<b>0,0160</b>
B2&K2	46	357	2,0048	<b>0,0450</b>
QA1&QA2	46	359	1,9830	<b>0,0474</b>
QB1&QB2	46	332	2,2779	<b>0,0227</b>
QA1&QB1	46	523	0,1912	0,8484
QA2&QB2	46	447	1,0215	0,3070
A1&A2	46	533	0,0819	0,9347
B1&B2	46	505	0,1411	0,8878
K1&K2	46	250	3,1738	<b>0,0015</b>

markierte Differenzen sind signifikant bei  $p < 0,05$

**Tabelle 128: Drop outs**

<b>Probandennummer</b>	<b>Grund</b>
P 44	Arthrose am rechten Handgelenk beeinflusste das Meßergebnis

**Abbildung 56: Korrelation Corneometer mit Cutometer (R0)**



**Abbildung 57: Korrelation Corneometer mit Cutometer (R7)**

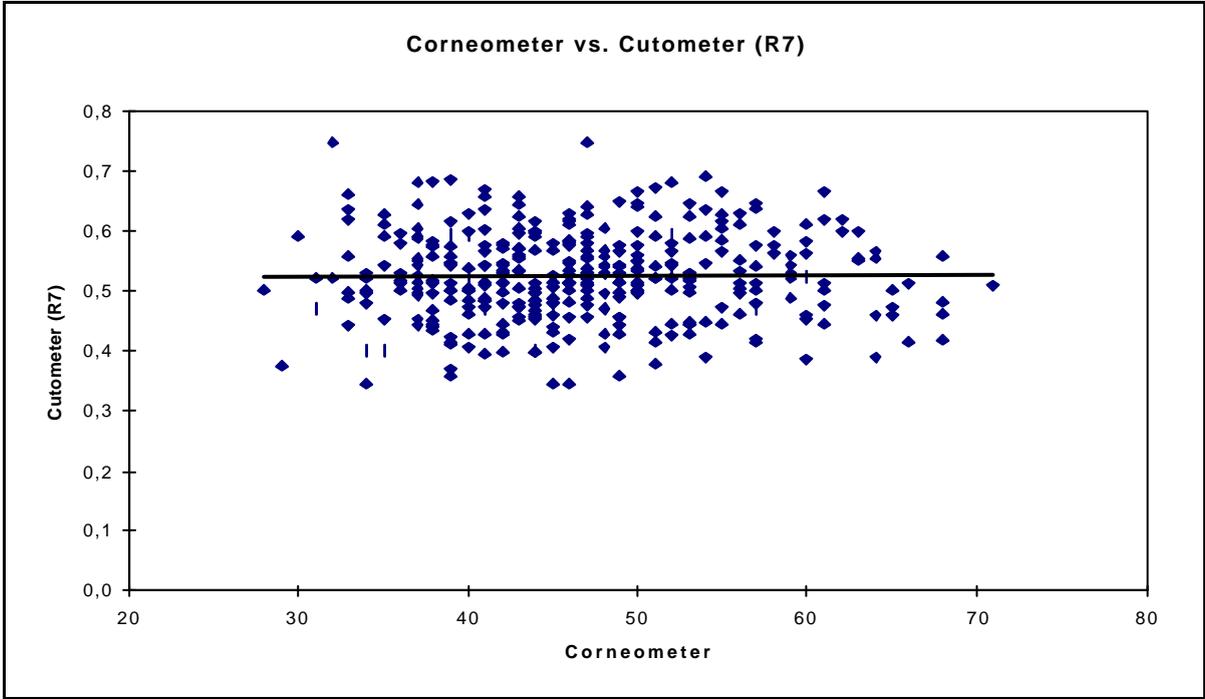


Abbildung 58: Korrelation MEF mit MEDSC

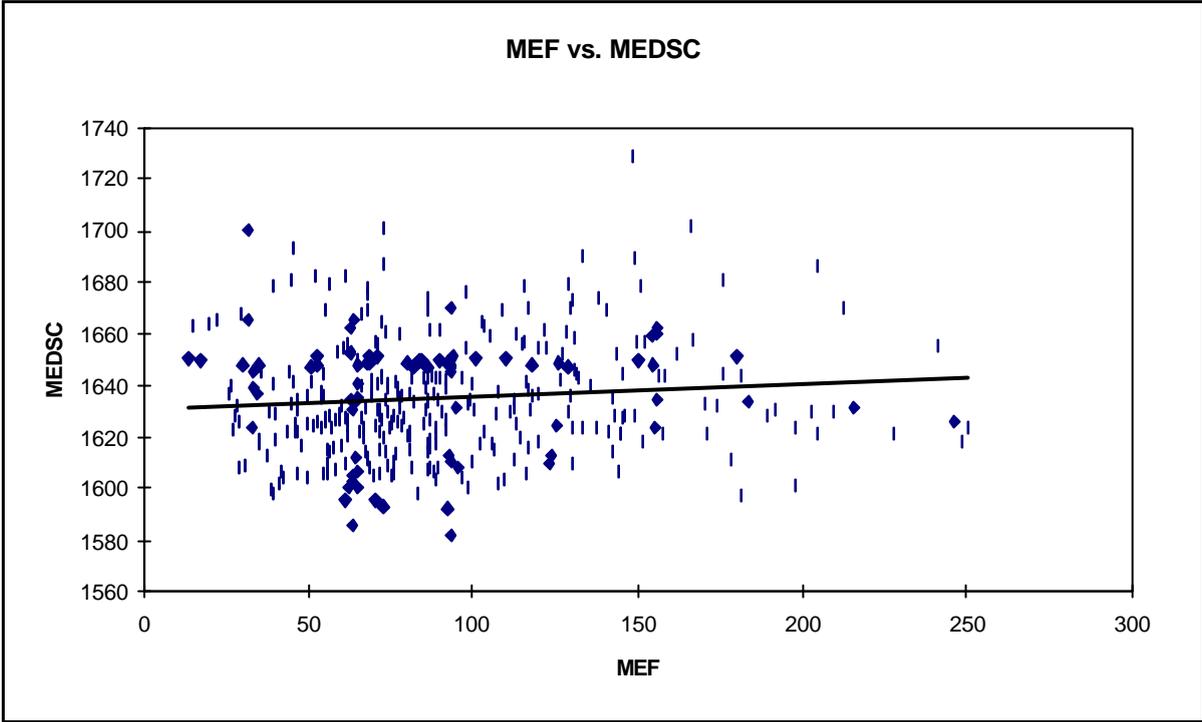
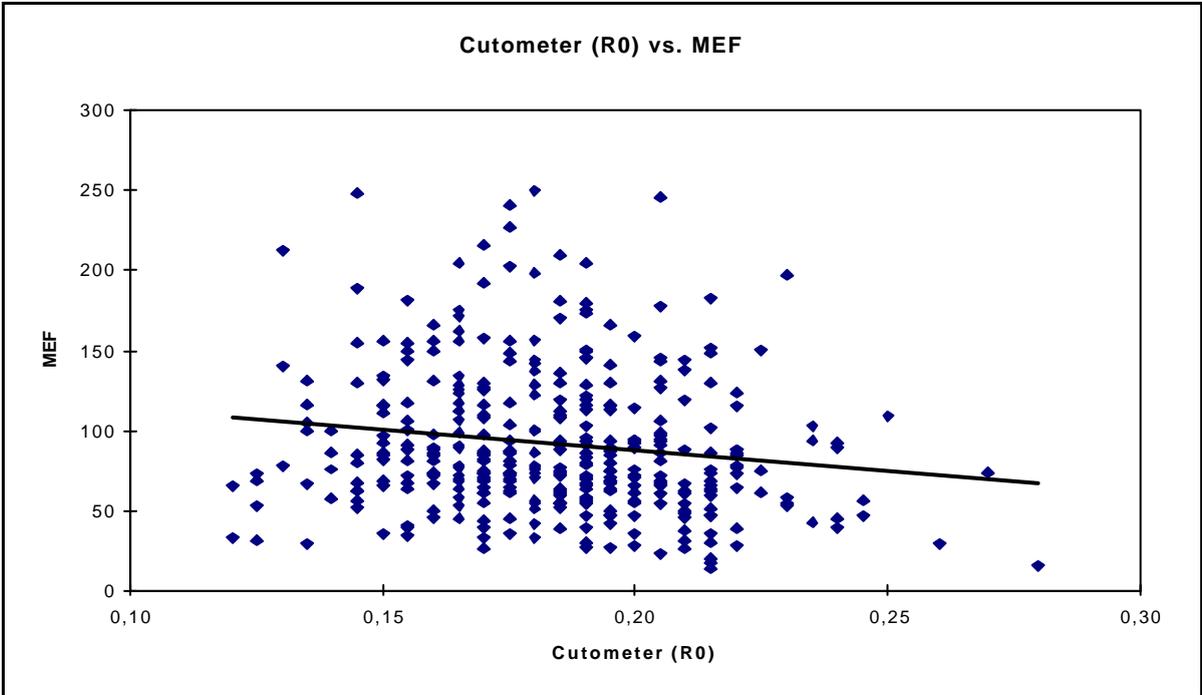
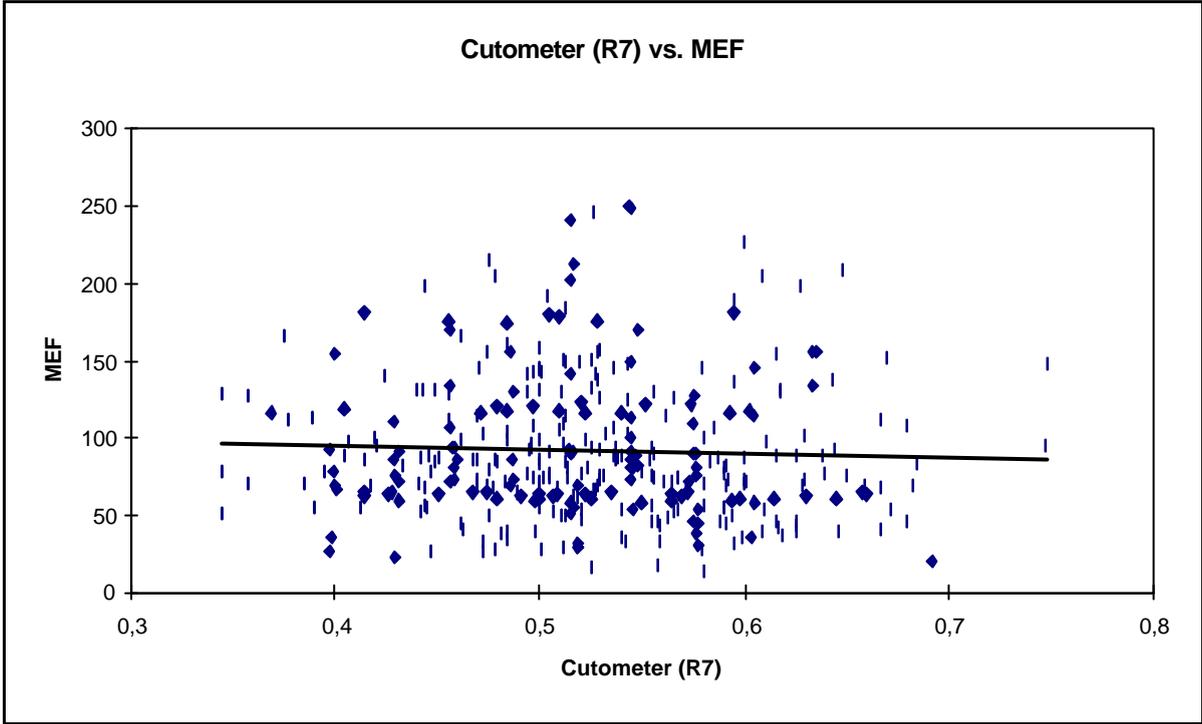


Abbildung 59: Korrelation Cutometer (R0) mit MEF



**Abbildung 60: Korrelation Cutometer (R7) mit MEF**



**Abbildung 61: Korrelation Cutometer (R7) mit MEDSC**

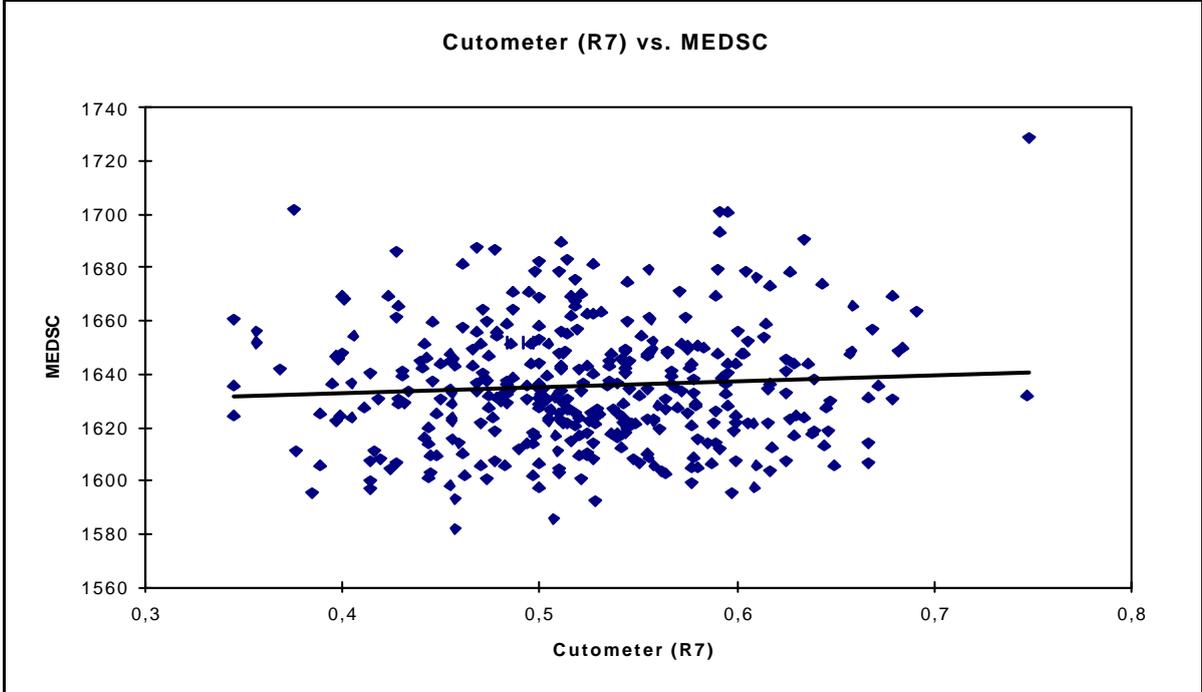
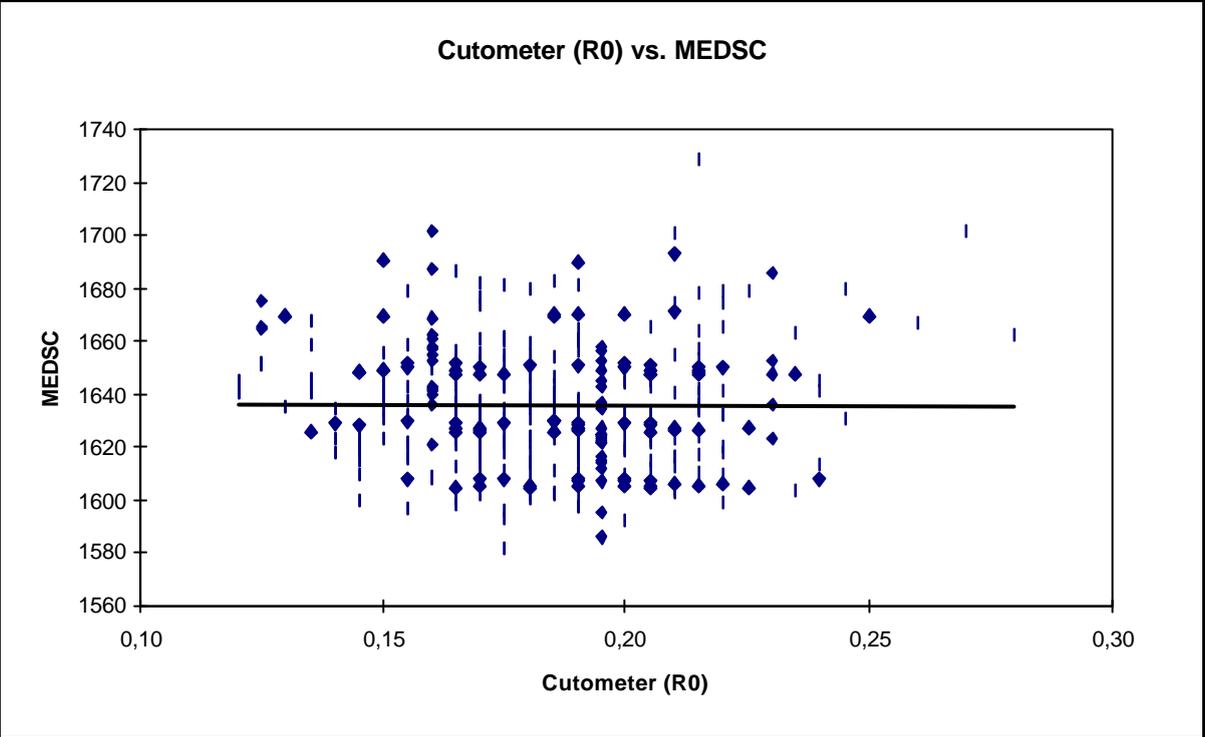


Abbildung 62: Korrelation Cutometer (R0) mit MEDSC



# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name: Sabine Gütt (geb. Lemke)  
Geburtsdatum: 23.07.64  
Geburtsort: Hameln

## Schulbildung

1970 - 1974 Grundschule in Hope  
1974 - 1983 Viktoria-Luise-Gymnasium in Hameln  
Abschluß: Allgemeine Hochschulreife

## Beruflicher Werdegang und Studium

1983 - 1984 Besuch der *Kosmetikfachschule Derendorf* in Münster  
Abschluß: staatl. gepr. Kosmetikerin und medizin. Fußpflegerin  
Zusatzausbildung in manueller Lymphdrainage und Fußreflexzonenmassage im *Ausbildungszentrum Dr. Chr. Schrammek* in Essen

1984 - 1985 Berufspraktikum in der Schönheitsfarm *Cornelia* in Bendestorf

1985 - 1987 Leiterin der Abteilung Ganzheitskosmetik im Saunazentrum *Die Therme* in Hamburg-Harburg

1987 - 1992 Studium an der Universität Hamburg, Fachbereich Chemie - Fachrichtung Körperpflege - Institut für Gewerblich-Technische Wissenschaften. Titel der Examensarbeit: *Cellulite - Ursachen und Behandlungsmöglichkeiten aus der Sicht einer Studie mit Probanden.*  
Abschluß: Erste Staatsprüfung für das Lehramt an der Oberstufe - Berufliche Schulen -

seit 1994 Arbeit an der Promotion an der Universität Hamburg,  
Fachbereich Chemie - Fachrichtung Körperpflege - Institut  
für Gewerblich-Technische Wissenschaften

### **Berufstätigkeit**

1993 - 1998 Schulungsleiterin (national) für die Depots Isabelle Lancray  
(Paris), Jean Pierre Fleurimon (Paris) und Dr. Rimpler  
Kosmetik (Wedemark)

1993 - 1996 Tätigkeit als Berufsschullehrerin am *Cosmetic College*  
*Hannover* für die Fächer Warenkunde, Verkaufskunde,  
Theorie der Kosmetik und Dermatologie

seit 1998 Wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Abteilung Skin Care -  
Produktentwicklung - Dr. Suwelack Skin & Health Care AG  
in Billerbeck

## Veröffentlichungen

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Ohne Analyse keine Behandlung. Beauty Forum 8: 14-16, 1993

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Reinigung - Basis der Hautpflege. Beauty Forum 9: 27-31, 1993

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Seborrhoe - von Talgdrüsen bestimmt. Beauty Forum 10: 32-36, 1993

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Sebostase - Mangel an Fett und Feuchtigkeit. Beauty Forum 12: 26-30, 1993

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Behandlung der Sebostase. Beauty Forum 1: 28-32, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Verstärkte Reaktionen der Haut. Beauty Forum 3: 64-66, 1994

**Rimpler, M.; Rimpler, Chr.; Lemke, S.**

Cellulite - nicht Schicksal sondern Herausforderung zur kosmetologischen Eigenbehandlung. Haut 3: 26-30, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Empfindliche Haut - Reize vermeiden. Beauty Forum 4:30-32, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Diagnose der Cellulite. KI-Magazin 6: 24-27, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Wenn die Gefäße Schwäche zeigen. Beauty Forum 6: 55-58, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Angiektasien - Ursache und Behandlung. Beauty Forum 7: 19-22, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Altershaut - von Wasserverlust geprägt. Beauty Forum 9: 16-20, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Arbeitsfeld Haut: Falten, Schuppen, Trockenheit. Beauty Forum 10: 30-32, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.**

Altershaut - Lipidverlust ausgleichen. Beauty Forum 11: 8-10, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.; Rimpler Chr.**

Serie Cellulite, Teil 1: Wie entsteht Cellulite ? Pathogenese und Grundlagen für therapeutische Maßnahmen. TW Dermatologie 5: 313-320, 1994

**Rimpler, M.; Lemke, S.; Rimpler Chr.**

Serie Cellulite, Teil 2: Leidensdruck mindern. TW Dermatologie 25: 32-43, 1995

## **Vorträge und Videos**

Möglichkeiten der Kooperation zwischen Dermatologen und Kosmetologen

COSMETICA 1993 in Hannover

Einsatz der Dermapunktur gegen Cellulite

Weggis, Schweiz 1993

Gütt, S. et al.

Schulungsvideo: MATRICOL<sup>®</sup> und MATRIGEL<sup>®</sup>. Ein Blick hinter die Masken. Filmstudio Frankfurt, 1998

Gütt, S.; Zimmermann, S.; Werner, J.

Behandlungsvideo zur asiatischen Pinselmassage. Hamburg, 1998

Gütt, S.; Zimmermann, S.; Werner, J.

Behandlungsvideo zur professionellen Behandlung ödematöser Orbitalregion. Hamburg, 1998

Hiermit versichere ich, daß ich diese Arbeit selbständig angefertigt und keine anderen als die mir angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Des weiteren erkläre ich, daß ich keine früheren Promotionsversuche unternommen habe.

Hamburg, Dezember 1998

Sabine Gütt (geb. Lemke)