Aus der Universitäts-Hautklinik
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg im Breisgau

Untersuchung der Wirksamkeit von Pflanzenextrakten im Natrium-Laurylsulfat-Irritanzientest

INAUGURALDISSERTATION
zur
Erlangung des Medizinischen Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Albert-Ludwigs-Universität
Freiburg im Breisgau

Vorgelegt im Jahre 2006
von Carola Dorothea Seiler
geboren in Oettingen i. Bay.

Dekan:	Prof. Dr. med. Christoph Peters
1. Gutachter:	Prof. Dr. med. Christoph M. Schempp
2. Gutachter:	Prof. Dr. med. Uwe Frank
Jahr der Promotion:	2007

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG 5

1.1 Hintergrund 5

1.2 Die Irritative Kontaktdermatitis 5

1.3 Schädigung der Hautbarriere 6

1.4 Anwendungsgebiete des NLS- Tests 7

1.5 Elidel® (Pimecrolimus) 8

1.6 Pflanzenportraits 9

1.6.1 Salvia officinalis L. (Salbei) 9

1.6.2 Potentilla tormentilla (Blutwurz) 10

1.6.3 Potentilla anserina (Gänsefingerkraut) 12

1.6.4 Menyanthes trifoliata (Bitterklee) 13

1.6.5 Reseda luteola (Färberwau) 15

2 ZIELSETZUNG 17

3 PROBANDEN, MATERIALIEN UND METHODEN 18

3.1 Ethikkommission 18

3.2 Studiendesign 18

3.3 Probandenkollektiv 18

3.3.1 Anamnese und Aufklärung 18

3.3.2 Einschlusskriterien 19

3.3.3 Ausschlusskriterien 19

3.4 Prüfpräparate 19

3.5 Durchführung des NLS-Tests 21

3.5.1 Verwendete Materialien und Messinstrumente 21

3.5.1.1 Testkammern 21

3.5.1.2 Messung des Transepidermalen Wasserverlustes 21
3.5.1.3 Mexameter-Messung 23
3.5.1.4 Bestimmung des visuellen Scores 24
3.5.2 Studienbeschreibung 25

3.6 Statistische Auswertung 27

4 ERGEBNISSE 28

4.1 Vorversuche 28
4.1.1 Vorversuch 1 28
4.1.1.1 Mexameter-Messung 28
4.1.1.2 Tewameter-Messung 29
4.1.1.3 Score 30
4.1.2 Vorversuch 2 30
4.1.2.1 Mexameter-Messung 31
4.1.2.2 Tewameter-Messung 31
4.1.2.3 Score 32
4.1.3 Vorversuch 3 33
4.1.3.1 Mexameter-Messung 33
4.1.3.2 Tewameter- Messung 34
4.1.3.3 Score 36
4.1.4 Vorversuch 4 bis 6 38
4.1.4.1 Mexameter-Messung 38
4.1.4.2 Tewameter-Messung 40
4.1.4.3 Score 42

4.2 Hauptstudie 44
4.2.1 Mexameter-Messung 44
4.2.1.1 Varianzanalyse 45
4.2.1.2 Friedman-Test 48
4.2.2 TEWL-Messung 48
4.2.2.1 Varianzanalyse 49
4.2.2.2 Friedman-Test 49
4.2.3 Score-Ergebnisse 51

4.2.3.1 Varianzanalyse 52
4.2.3.2 Friedman-Test 52

5 DISKUSSION 53

5.1 Vorversuche 53

5.2 Hauptstudie 55
5.2.1 Mexameter 55
5.2.2 Tewameter 59
5.2.3 Score 63
5.2.4 Ausblick 64

6 ZUSAMMENFASSUNG 66

7 LITERATURVERZEICHNIS 67

8 LEBENSLAUF 76

9 DANKSAGUNG 77

10 ANHANG 78

10.1 Randomisierungsplan 78

10.2 Rohdaten 80
10.2.1 Mexameter-Rohdaten 80
10.2.2 Tewameter-Rohdaten 82
10.2.3 Score-Rohdaten 84

10.3 Studieninformation für Probanden 85

10.4 Anamnesebogen 87

Abkürzungsverzeichnis

AKD	Allergische Kontaktdermatitis
Da	Dalton
ESCD	European Society of Contact Dermatitis
IKD	Irritative Kontaktdermatitis
IL	Interleukin
MG	Molekulargewicht
NLS	Natrium-Laurylsulfat
NLS-Test	Natrium-Laurylsulfat-Irritanzientest
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor α

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Die Anwendung von Pflanzen in der Dermatologie geht auf eine lange Geschichte zurück und gewinnt in der heutigen Zeit wieder zunehmend an Bedeutung. Gerade im Bereich der Behandlung von entzündlichen Hauterkrankungen wächst das Interesse an Alternativen zu den Standardtherapeutika wie beispielsweise Kortikoiden. Um solche Alternativen auf ihre Wirksamkeit zu prüfen, bieten sich epikutane Testmodelle an. Sie haben folgende Gestaltung: Ein Irritans reizt gezielt ein Hautareal, so dass dort eine umschriebene Entzündung entsteht. Diese wird regelmäßig mit der Prüfsubstanz behandelt. Gleichzeitig werden Messparameter, die mit der Inflammation der Testareale korrelieren, in ihrem Verlauf beobachtet und beurteilt. So können die Prüfsubstanzen auf eine mögliche antientzündliche Wirkung getestet werden. In der Dermatologie anerkannte Epikutantest-Modelle sind z.B. der UV-Erythem-Test, bei dem UV-Strahlen die Haut irritieren, und der Natrium-Laurylsulfat-Irritanzientest (NLS-Test), bei dem das Detergens Natrium-Laurylsulfat (NLS) die Entzündung hervorruft.

In zwei vorangegangenen Studien der Universitäts-Hautklinik Freiburg von Schempp und Mitarbeitern wurden bereits verschiedene Pflanzenextrakte und in der Praxis verwendete Standardprodukte im UV-Erythem-Modell untersucht [Kessler 2004; Hornstein 2004; Jocher 2005]. Hier zeigten einige Pflanzenextrakte, wie z.B. Salbei und Tormentilla, gute Effekte, die z.T. mit denen der Standardprodukte, beispielsweise Hydrokortison, vergleichbar waren [Hornstein 2004; Jocher 2005]. Aufgrund dieser Ergebnisse scheint die Nutzung einiger Pflanzenextrakte in der Dermatologie möglich und soll in dieser Studie mit dem NLS-Test weiter untersucht werden.

1.2 Die Irritative Kontaktdermatitis

Der NLS-Test wurde ursprünglich zur Untersuchung der individuellen Hautempfindlichkeit und zur Einschätzung der Anfälligkeit für die Entwicklung einer Irritativen Kontaktdermatitis (IKD) verwendet [Löffler 1996]. Die IKD ist eine häufige Hauterkrankung, die synonym auch als „kumulativ-toxisches“ bzw. „degenerativ-toxisches Ekzem“ oder „Handekzem“ bezeichnet wird. An ihrer Entstehung sind sowohl exogene als auch endogene Faktoren beteiligt: Bei den exogenen Faktoren unterscheidet

man physikalische Irritantien wie z.B. Reibung, Druck, Okklusion durch Handschuhe, UV- und ionisierende Strahlung, von chemischen Irritantien wie z.B. Detergentien, Säuren, Laugen und organischen Lösungsmitteln. Unter endogenen Faktoren versteht man zum einen strukturelle Merkmale der Haut wie Dicke, Lipidgehalt und Zytokinproduktion. Zum anderen gehören dazu auch UV-Strahlenempfindlichkeit, Atopieneigung, Hautpigmentierung und Alter. Diese individuellen Eigenschaften können die Hautempfindlichkeit erhöhen und so die Entstehung eines Ekzems durch die oben genannten exogenen Noxen erleichtern. Die verschiedenen Irritationsmechanismen münden in eine gemeinsamen Endstrecke: Keratinozyten werden geschädigt, und es kommt zur Synthese von proinflammatorischen Zytokinen wie z.B. Interleukin (IL)-1, -2, -6, -8 und Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)-α. Daraus resultiert eine unspezifische immunologische Entzündungsantwort, welche sich klinisch folgendermaßen äußert [Löffler 2000]: An der betroffenen Hautpartie bildet sich ein erythematöses, ödematöses und Blasen bildendes Ekzem, welches oft brennt, schmerzhaft ist und auch jucken kann. Es heilt später unter Schuppung und Krustenbildung ab. Man unterscheidet einen akuten von einem chronischen Verlauf. Letzterer kommt durch immer wieder erfolgende, kumulative Reizung des betroffenen Hautareals zustande.

Die Therapie der IKD gestaltet sich nicht einfach. Man empfiehlt die Meidung der auslösenden Reize, soweit dies möglich ist. Wichtig ist, die erkrankten Hautpartien zu pflegen und zu schonen, d.h. beispielsweise auf sehr häufiges Händewaschen zu verzichten. Die medikamentöse Behandlung besteht in der topischen Applikation von Kortikosteroiden und anderen entzündungshemmenden Präparaten. Gerade im Falle der Steroide kann die Therapie von unerwünschten Nebenwirkungen begleitet sein, wie z. B. Hautatrophie, Bildung von Teleangiektasien oder Wundheilungsstörungen [Stütz 2003; Heine 2003].

1.3 Schädigung der Hautbarriere

NLS ruft eine künstliche Schädigung der Wasserpermeabilitätsbarriere der Haut hervor. Diese Hautbarriere schützt den Körper davor, dass unerwünschte Stoffe eindringen können, andererseits verhindert sie einen übermäßigen Flüssigkeitsverlust. Sie wird im Wesentlichen durch das Stratum corneum gebildet. Jenes besteht aus gealterten, abgeflachten Keratinozyten, die von einer protein- und lipidreichen Hornhülle umgeben sind, und einer interzellulären Lipidmatrix aus Bilayer-artig angeordneten Lipiden [Bos

2000]. Der Passageweg durch diese Schicht liegt größtenteils interzellulär. Daraus ergibt sich, dass v.a. lipophile Moleküle in der Lage sind, die intakte Barriere zu passieren, während hydrophile Substanzen weniger gut permeieren. Außerdem können nur Substanzen bis zu einer bestimmten Größe die Barriere durchqueren. Bos et al. gehen von einer Grenze von 500 Dalton (Da) aus, bis zu der Moleküle die intakte Hautbarriere passieren können [Bos 2000]. Auch Tsai et al. kommen zu diesem Ergebnis [Tsai 2003].

Dass NLS die Barriere schädigt, zeigt sich in einem erhöhten Wasserverlust der Haut, welcher als Transepidermalen Wasserverlust (TEWL) gemessen wird.

Es ist jedoch nicht vollständig geklärt, auf welche Weise NLS die Barriere schädigt. Nach einer Theorie von Löffler et al. und Tupker et al. ist NLS nicht primär lipidlöslich wirksam und nimmt keinen Einfluss auf die Struktur der interzellulären Lipid-Bilayer-Schicht, wie es für übliche Detergentien typisch ist [Löffler 1999; Tupker 1997]. Vielmehr beeinflusse NLS durch Inflammation die Lipid-Neusynthese. Lee et al. geben als mögliche Erklärung für den TEWL-Anstieg nach NLS-Exposition eine Überwässerung des Stratum corneum und ein Durcheinandergeraten der Lipid-Doppelschichten an [Lee 1995].

1.4 Anwendungsgebiete des NLS- Tests

Der epikutane NLS-Test wird in der Dermatologie häufig zur Untersuchung irritativer Hautreaktionen [Löffler 1999], zur Testung des Nutzens von Barriereschutzcremes [Frosch 1993; Frosch 1994] und zur Untersuchung antiinflammatorischer Effekte von Präparaten [Gehring 2000] verwendet. Dabei kommen verschiedene Applikationsformen von NLS zum Einsatz [Löffler 1999]. NLS kann offen oder okklusiv und einmalig oder wiederholt auf den Unterarm oder den Rücken appliziert werden. Die Irritation wird mittels eines visuellen Scores nach den Richtlinien der European Society of Contact Dermatitis (ESCD) [Tupker 1997], durch ein Mexameter über die Bestimmung der Rötung und durch die Messung des TEWL [Pinnagoda 1990] beurteilt. Anschließend erfolgt die Applikation der zu untersuchenden Substanzen und die tägliche Bestimmung der erwähnten Parameter zur Bestimmung des Ausmaßes der Barriereschädigung und ihrer Regeneration.

1.5 Elidel® (Pimecrolimus)

Eine Substanz, deren potentielle Wirksamkeit im NLS-Test von großem Interesse ist, ist Elidel® (Pimecrolimus). Dabei handelt es sich um ein Ascomycin-Derivat, welches heutzutage standardmäßig zur Therapie der Atopischen Dermatitis eingesetzt wird. Der Wirkstoff ist eine lipophile Substanz mit einem Molekulargewicht (MG) von 810 Da. Der Ausgangspunkt seiner Entwicklung geht in die 80er Jahre zurück, als man in Cyclosporin A einen potenten Wirkstoff gegen Psoriasis und andere entzündliche Hauterkrankungen fand. Da die systemische Therapie mit Cyclosporin A jedoch zu einer Immunsuppression führt und mit Nebenwirkungen wie z. B. Nephro- und Neurotoxizität verbunden ist [Heine 2003], versuchte man es topisch anzuwenden. Hier zeigte sich aber keine Wirksamkeit. Als Ursache nahm man eine unzureichende Hautpenetration von Cyclosporin A an. In der Folge wurde nach neuen Substanzen mit vergleichbarem Wirkmechanismus, aber günstigerem physikalisch-chemischen Profil geforscht. Es wurde das topisch wirksame Präparat Tacrolimus (FK 506) entwickelt. In weiteren Untersuchungen wurde der Naturstoff Ascomycin modifiziert, wodurch Pimecrolimus (Elidel®) entstand [Stütz 2003].

Der Wirkmechanismus von Tacrolimus und Pimecrolimus ist mit dem von Cyclosporin A eng verwandt: Angriffspunkt für die Substanzen sind die T-Zellen. Dort führen sie über eine Signalkaskade zur Inhibition von Calcineurin. Dies hat zur Folge, dass die Transkription und Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-2, IL-3, IL-4 und TNF-α unterbleibt. Damit fehlt deren stimulierende Wirkung auf T-Zellen, B-Zellen, Endothelzellen und Makrophagen [Stütz 2003; Nghiem 2002].

Durch seinen Wirkmechanismus im Bereich der T-Zell-vermittelten Immunantwort greift Pimecrolimus bevorzugt in die zelluläre Immunantwort ein. Erkrankungen, bei deren Pathogenese eine T-Zell-Vermittlung eine Rolle spielt, können somit mit Pimecrolimus therapeutisch beeinflusst werden. Neben der Interaktion mit T-Zellen hemmt Pimecrolimus auch die Freisetzung entzündungsvermittelnder Mediatoren aus Mastzellen [Stütz 2003] und wirkt somit antiinflammatorisch.

1.6 Pflanzenportraits

1.6.1 Salvia officinalis L. (Salbei)

Botanische Beschreibung:

Salbei gehört zur Familie der Lamiaceae (Lippenblütler). Die Pflanze ist ein wintergrüner, bis zu 80 cm hoher, oft krautartig wachsender Strauch. An seinen charakteristischen Blättern, dem vierkantigen Stängel und dem ätherischen Ölgeruch ist er leicht zu erkennen. Die Blätter sind filzig und lanzettförmig. Salbei blüht zwischen Juni und Juli, die Blütenfarbe ist hell-violett. Abb. 1 zeigt Salvia officinalis.

Abb. 1: Salvia officinalis[1]

Ursprünglich ist er in Südeuropa beheimatet; in Mitteleuropa wurde er angebaut und kommt heute auch verwildert vor. Als Droge werden die zur Blütezeit gesammelten Blätter verwendet. Ihr Geschmack ist aromatisch und bitter. Während der Schwangerschaft sollte der Extrakt nicht eingenommen werden. Bei längerer Anwendung von alkoholischen Extrakten können epileptiforme Krämpfe auftreten. In

[1] Bilder aus: www.heilpflanzen-katalog.de; www.plant-pictures.de

der Volksmedizin wird Salbei seit Jahrhunderten bei Juckreiz, Fieber, nervösen Zuständen und Verdauungsstörungen angewendet [Wang 2000]. Auch seine schweißhemmende Wirkung ist bekannt. Daneben ist Salbei bekanntermaßen als Gewürz weit verbreitet.

Inhaltsstoffe:

Salbeiblätter enthalten an bekannten Inhaltsstoffen ätherische Öle, Gerbstoffe (Caffeic acid), Bitterstoffe (Diterpenphenole wie z. B. Carnosolsäure) sowie Flavonoide und Luteolin [Frohne 1992].

Wirkung und Anwendungsgebiete:

Die Zusammensetzung der ätherischen Öle wurde 2003 von Santos-Gomes et al. untersucht [Santos-Gomes 2003]. Sie konnten über 75 verschiedene Komponenten feststellen, wovon besonders Thujon, Pinen, Limonen, Cineol, Campher, Camphen und Manoo bedeutend sind. Diese Inhaltsstoffe wirken fungizid und bakterizid [Pitarokili 2003; Basilico 1999; Roth 1994]. Die antioxidative Wirksamkeit von Salbei wird auf die Diterpenphenole und insbesondere auf Carnosolsäure und seine Derivate zurückgeführt [Masuda 2002; Schwarz 1992; Wang 2000]. Baricevic et al. [Baricevic 2001] untersuchten 2001 die antientzündliche Wirksamkeit von Salbei. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass ein Salbeiextrakt dosisabhängig ein durch Kroton induziertes Ödem am Mäuseohr inhibierte. Genauere Untersuchungen zeigten, dass für diese Wirkung hauptsächlich die Ursolsäure verantwortlich war. Im Vergleich war Ursolsäure doppelt so wirksam wie Indomethacin. Der Einfluss von Salvia miltiorrhiza auf den Arachidonsäure-Stoffwechsel wurde von Kim et al. untersucht [Kim 2002]. Sie stellten einen Hemmeffekt des in der Pflanze enthaltenen Tanshinone I auf die Prostaglandin D-Synthese fest.

1.6.2 Potentilla tormentilla (Blutwurz)

Botanische Beschreibung:

Die Blutwurz, auch Tormentilla oder Potentilla erecta genannt, ist eine krautige Pflanze, deren dünne, verzweigte, behaarte Stängel je nach Wuchsort eine Höhe von 10 bis 40 cm erreichen. Die Blätter sitzen am Stängel und sind am Grunde gestielt, mit drei- bis fünfteiligen Abschnitten. Die kleinen, gelben Blüten weisen, im Gegensatz zu anderen Potentilla-Arten, nur vier Kronenblätter auf (Abb. 2).

Abb. 2: Tormentilla[2]

Die Blütezeit ist von Mai bis Juli. Die Pflanze bildet einen kräftigen, verholzenden Wurzelstock aus, der beim Anschneiden eine blutrote Färbung entwickelt, was zur Namensgebung geführt hat. Die Blutwurz ist in ganz Europa bis ins nördliche Skandinavien verbreitet, außerdem in Russland, Asien und Amerika. Sie wächst auf sandigen, feuchten Böden wie Mooren, Feuchtwiesen und Böschungen. Der Wurzelstock wird im Frühjahr oder Herbst gesammelt, die Wurzeln gereinigt und getrocknet oder zu einer Tinktur verarbeitet [Fintelmann 1989; Scholz 1994; Wagner 1993].

Inhaltsstoffe:

Die Blutwurz zählt zu den Gerbstoffdrogen und weist einen hohen Gerbstoffgehalt von 15 bis 25% auf. Daneben enthält sie verschiedene Ellagitannine. Hierbei handelt es sich um Ester der Hexahydroxydiphensäure mit Monosachariden, meist Glukose [Scholz 1994]. Das Ellagitannin mit dem höchsten Anteil ist Agrimoniin (3,5%), gefolgt von Pendunculagin (1%) und Laevigatin (0,12%) [Murayama 1992; Scholz 1994; Lund 1985]. Beim Lagern der Droge entsteht das wasserunlösliche Tormentillrot (Phlobaphen), welches wenig wirksam ist [Scholz 1994].

Wirkung und Anwendungsgebiete:

Ellagitannine wirken antiinflammatorisch, indem sie Hyaluronidase und Cyclooxygenase inhibieren und die Degranulation von Mastzellen blockieren [Bos 1996; Tunon 1995].

[2] Bilder aus: www.plant-pictures.de

Agrimoniin und andere Tannine hemmen die Proliferation von Tumorzellen [Kashiwada 1992; Murayama 1992]. Procyanidine der Blutwurz sind Radikalfänger, welche Superoxidantigene neutralisieren und die Lipidperoxidation verhindern [Vennat 1994; Bos 1996]. Bereits 1963 wurde aufgezeigt, dass Blutwurzextrakte das Wachstum verschiedener Bakterien hemmen [Pourrat 1963].

Indikationen für die Behandlung mit Tormentilla sind unspezifische, akute Durchfallerkrankungen, Entzündungen im Mund- und Rachenraum, insbesondere des Zahnfleisches und der Mundschleimhaut [Volodina 1997]. In der Volksmedizin fand sie auch Einsatz bei akuter Tonsillitis, und in Form von Bädern und Umschlägen bei schlecht heilenden Wunden, Erfrierungen, Verbrennungen und Hämorrhoiden [Weiss 1999; Fintelmann 1989]. Dokumentierte Fallbeobachtungen oder klinische Studien liegen hierzu jedoch nicht vor.

1.6.3 Potentilla anserina (Gänsefingerkraut)

Botanische Beschreibung:

Potentilla anserina, das Gänsefingerkraut, ist mit der Blutwurz eng verwandt. Die Pflanze wächst auf tonigen, lehmigen Böden, an Wegrändern, in Gräben und auf Ödland. Aus einem ausdauernden Wurzelstock entwickelt sich eine Blattrosette, von der bis zu ein Meter lange Ausläufer ausgehen. Die gelben, fünfzähligen Blüten entwickeln sich meist dort, wo der Ausläufer sich bewurzelt hat. Die Blätter sind gefiedert und scharf gesägt, an ihrer Unterseite weisen sie eine feine, silbrig glänzende Behaarung auf (Abb. 3).

Abb. 3: Potentilla anserina[3]

[3] Bilder aus: www.plant-pictures.de; www.naturmedizin.lauftext.de

Gänsefingerkraut zeigt die gleiche geographische Verbreitung wie die Blutwurz; man findet sie demnach in ganz Europa, Asien und Amerika wieder. Die Blätter werden im Frühjahr getrocknet und vorwiegend als Tee oder Aufguss verwendet [Scholz 1994; Wagner 1993; Fintelmann 1989].

Inhaltsstoffe:

Das Gänsefingerkraut zählt, wie auch die Blutwurz, zu den Gerbstoffdrogen und enthält ca. 2% fällbare Gerbstoffe. Daneben weist es auch verschiedene Ellagitannine auf [Scholz 1994]. Diese sind vorwiegend in den Blättern zu finden. Darüber hinaus enthält die Pflanze Anthocyane, Flavonoide und Tormentosid.

Wirkung und Anwendungsgebiete:

Das Gänsefingerkraut zeigt seine Verwandtschaft mit der Blutwurz durch eine ähnliche Wirksamkeit: Auch hier wirken die Ellagitannine entzündungshemmend, indem sie Hyaluronidase hemmen und die Degranulation von Mastzellen blockieren [Tunon 1995; Bos 1996].

Indikationen für Gänsefingerkraut sind, ähnlich denen der Blutwurz, unspezifische, akute Durchfallerkrankungen und Dysmenorrhoe, außerdem Entzündungen im Mund- und Rachenraum, v.a. des Zahnfleisches und der Mundschleimhaut [Weiss 1999; Fintelmann 1989].

1.6.4 Menyanthes trifoliata (Bitterklee)

Botanische Beschreibung:

Der Bitterklee, auch als Fieberklee bezeichnet, ist eine ausdauernde, bis zu 30 cm hohe Sumpfpflanze. Er besitzt eine kriechende Grundachse, hat dreiteilige Blätter und weiße Blüten (Abb. 4).

Abb. 4: Menyanthes trifoliata[4]

Menyanthes ist auf der nördlichen Hemisphäre beheimatet. Als Droge werden die Blätter verwendet, die mit dem Stiel in den Monaten Mai bis Juli geerntet und an der Luft getrocknet werden. Die Pflanze wird aus Russland, Polen und dem Balkan importiert [Pahlow 2000].

Inhaltsstoffe:

Menyanthes enthält verschieden Bitterstoffe, darunter Dihydrofoliamentin, Loganin, Swerosid und Gentianin, und außerdem Gerbstoffe und Flavonoide [Hänsel 1999; Wagner 1993; Schneider 1999].

Wirkung und Anwendungsgebiete:

Wie für Bitterstoffdrogen typisch, wird Menyanthes zur Behandlung von Magenbeschwerden und Verdauungsstörungen verwendet. In der Volksmedizin fand der Bitterklee auch Verwendung als Rheumamittel und zur Behandlung fieberhafter Zustände [Pahlow 2000]. Eine Publikation aus China beschreibt eine entzündungshemmende Wirkung der Pflanze [Huang 1995]. Dieser Hinweis in Verbindung mit dem Gerbstoffgehalt der Pflanze und dem Fehlen von allergisierenden Verbindungen macht Menyanthes für die Dermatologie interessant.

[4] Bilder aus: www.plant-pictures.de

1.6.5 Reseda luteola (Färberwau)

Botanische Beschreibung:

Reseda luteola L., auch Färberwau oder Gelbkraut genannt, ist eine bis zu 2 m hohe, schlanke Pflanze mit gelblich-grünen, langgezogenen Blütenständen (Abb. 5).

Abb. 5: Reseda luteola[5]

Sie ist vorwiegend in Südeuropa verbreitet. Die Pflanze lässt sich leicht kultivieren und bevorzugt kalkhaltige Böden. Andere Reseda-Arten, die z. T. auch in unseren Breiten vorkommen, sind Reseda alba L., Reseda glauca L., Reseda lutea L., Reseda odorata L. und Reseda phyteuma L.

Bereits in der Steinzeit wurde Reseda luteola L. zum Färben von Geweben verwendet; wahrscheinlich benutzten auch die Römer die Pflanze zum Gelbfärben ihrer Hochzeitsgewänder. Bis ins 20. Jahrhundert hinein diente Reseda zum Färben von Seide. Später wurde ihr Gebrauch vollständig von synthetischen Farbstoffen verdrängt. Eine pharmazeutische oder kosmetische Verwendung der Pflanze ist bisher nicht bekannt.

Inhaltsstoffe:

[5] Bilder aus: www.ukwildflowers.com; www.plant-pictures.de

Das färbende Prinzip in Reseda ist der Farbstoff Luteolin, welcher zur Gruppe der Flavone gehört. Diese sind in der Pflanze reichhaltig vorhanden. Weiterhin enthält sie Isorhamnetin, Quercetin, Kämpferol und Apigenin. Daneben sind Spuren von Senfölglycosiden und Aminosäuren zu finden.

Wirkung und Anwendungsgebiete:

Obwohl Reseda bisher nicht medizinisch genutzt wurde, ist eine Vielzahl von biologischen Aktivitäten der Flavonoide und von Luteolin beschrieben worden. Luteolin weist eine kardioprotektive Wirkung auf, indem es die Oxidation von Lipiden verhindert und die Cholesterinsynthese hemmt [Cook 1996; Pietta 2000]. Außerdem ist eine analgetische und antiinflammatorische Wirkung von Luteolin bekannt [Toreda 1994]. Des Weiteren wurden Mastzellen stabilisierende Effekte von Flavonoiden wie Luteolin und Quercetin gezeigt [Kimata 2000]. Insgesamt versprechen die oben beschriebenen Wirkungen der in Reseda enthaltenen Substanzen einen medizinischen Nutzen.

2 Zielsetzung

Der NLS-Test dient zur gezielten Provokation eines Kontaktekzems und einer Hautbarriereschädigung. Damit lässt sich zum einen die individuelle Hautempfindlichkeit untersuchen und die Anfälligkeit für die Entwicklung einer IKD einschätzen. Zum anderen bietet sich die Möglichkeit, Präparate auf ihre Penetration durch die geschädigte Hautbarriere und auf ihre Wirksamkeit gegen die IKD im Testmodell zu prüfen.

Zunächst gilt es, den NLS-Test als leicht reproduzierbares, nachvollziehbares Modell aufzubauen. In Vorversuchen sollen die geeigneten Rahmenbedingungen zur Durchführung geprüft werden. Im Einzelnen geht es darum, den Prüfplan festzulegen, den visuellen Score zur Erythemprüfung zu modifizieren, eine geeignete Salbengrundlage für die Einarbeitung der Pflanzenextrakte zu finden und die zum Zweck der Studie passende NLS-Konzentration zu ermitteln.

In der Hauptstudie sollen die Pflanzenextrakte Salbei, Tormentilla, Salbei/Tormentilla, Menyanthes und Reseda auf ihre antiinflammatorische Wirksamkeit gegen die durch das NLS verursachte IKD getestet werden. Dabei soll ein möglichst positiver Effekt auf die Abheilung der Entzündung und die Wiederherstellung der Hautbarriere nachgewiesen werden, welcher zukünftig zur Behandlung entzündlicher Dermatosen genutzt werden könnte.

In diesem Zusammenhang soll auch die topische Resorption des Immunsuppressivums Elidel® (Pimecrolimus) durch die geschädigte Hautbarriere geprüft und dessen Rolle in der Therapie der IKD bestimmt werden.

Die Wirksamkeit der im Rahmen dieser Arbeit getesteten Substanzen soll mit der derzeitigen Standardtherapie der IKD, einer topischen Applikation von 1%igem Hydrokortison, verglichen werden.

3 Probanden, Materialien und Methoden

3.1 Ethikkommission

Ein Antrag zur Studie, welcher Hintergrund, Fragestellung und Studienprotokoll beinhaltete, wurde der Ethikkommission der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg vorgelegt. Mit der Studie wurde begonnen, nachdem ein positives Votum der Kommission vorlag.

3.2 Studiendesign

Es handelte sich um eine offene, randomisierte Pilotstudie. Für den Natrium-Laurylsulfat-Irritanzientest wurden 43 gesunde, männliche und weibliche Probanden im Alter von 18 bis 53 Jahren rekrutiert. Die Studie fand in den Räumlichkeiten der Phototherapie der Universitäts-Hautklinik in Freiburg im Zeitraum Februar bis Mai 2004 statt. Nach Beendigung der Vorversuche mit sechs Probanden wurde mit 37 Probanden die Hauptstudie durchgeführt. Die Einteilung der Probanden in der Hauptstudie erfolgte randomisiert nach dem Schema, welches in Tab. 1[6] angeführt ist. Die Tabelle zeigt die Probenanordnung auf dem Rücken der Probanden.

3.3 Probandenkollektiv

3.3.1 Anamnese und Aufklärung

Die Probanden wurden vor ihrer Einverständniserklärung mündlich und schriftlich in Form einer Informationsbroschüre[7] über Hintergrund, Ablauf, Ziel und Risiken der Studie und über mögliche Nebenwirkungen der Testsubstanzen aufgeklärt. Sie bekamen die Möglichkeit, Fragen zu stellen. Ihre Einwilligung in die Teilnahme an dem Projekt erfolgte schriftlich. Ihnen wurde die Option offen gehalten, ihre Teilnahme am Projekt jederzeit und ohne Angabe von Gründen abzubrechen.

In einer ausführlichen Anamnese wurden die Probanden anhand eines Fragebogens[8] im Hinblick auf die gegebenen Ein- und Ausschlusskriterien befragt. Insbesondere wurden

[6] s. Anhang, S. 79
[7] s. Anhang, S. 86
[8] s. Anhang, S. 88

Geburtsdatum, chronische und akute Hauterkrankungen, Stoffwechselerkrankungen, konsumierende Erkrankungen, Infektionserkrankungen, Allergien, systemische und topische Medikation, wie z.B. Kortikosteroide, und die Möglichkeit einer bestehenden Schwangerschaft eruiert und entsprechendes im Fragebogen notiert.

Außerdem wurden die Probanden über die an sie gestellten Erwartungen bei Teilnahme informiert: Sie wurden angewiesen, nach Auftragen der Testpflaster starke Bewegungen des Rückens zu vermeiden und das zu prüfende Hautareal, d.h. den Rücken, nicht zu duschen oder auf andere Weise mit Wasser in Kontakt zu bringen. Außerdem wurden ihnen aufgetragen, selbstständig für eine vollständige Entfernung der Testpflaster 60 min vor dem nächsten Evaluationstermin zu sorgen und vor dem festgelegten Prüfzeitpunkt in der Universitäts-Hautklinik Freiburg zu erscheinen, um sich an die Räumlichkeiten akklimatisieren zu können.

3.3.2 Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden gesunde Probanden ohne manifeste Hauterkrankungen, die volljährig und geschäftsfähig sind.

3.3.3 Ausschlusskriterien

Als Ausschlusskriterien bei der Rekrutierung galten chronische und akute Erkrankungen der Haut, insbesondere akute und therapiebedürftige Atopische Dermatitis, bekannte Allergien, konsumierende Erkrankungen, Alkohol- und Drogenabusus, Infektionen, Schwangerschaft und Stillzeit, gleichzeitige Anwendung lokaler oder systemischer Kortikosteroide, Teilnahme an einer anderen Studie innerhalb der letzten 30 Tage.

3.4 Prüfpräparate

Die Wahl der Prüfpräparate in den Vorversuchen unterschied sich von der der Hauptstudie. Tab. 2 zeigt die Prüfpräparate, die verwendet wurden. Die unterschiedliche Anzahl von Präparaten pro Versuch erklärt sich daraus, dass eine unterschiedliche Anzahl von Testfeldern gewählt wurde.

Tab. 2: Verwendete Prüfpräparate

Test-feld-zahl	**V1**	**V2**	**V3**	**V4-V6**	**Hauptstudie**
1	10% Tormentilla in Dermatop-Basissalbe	Basiscreme DAC	Basiscreme DAC	Basiscreme DAC	Basiscreme DAC
2	5% Salbei in Dermatop-Basissalbe	Elidel®	1% Hydrokortison in Basiscreme DAC	5% Tormentilla in Basiscreme DAC	1% Salbei in Basiscreme DAC
3	Dermatop-Basissalbe	1% Salbei in Basiscreme DAC		1% Hydrokortison in Basiscreme DAC	5% Tormentilla in Basiscreme DAC
4		5% Tormentilla in Basiscreme DAC			5% Salbei/ 1%Tormentilla in Basiscreme DAC
5		1% Hydrokortison in Basiscreme DAC			5% Gänsefinger-kraut in Basiscreme DAC
6					5% Menyanthes in Basiscreme DAC
7					5% Reseda in Basiscreme DAC
8					1% Hydrokortison in Basiscreme DAC
9					Elidel®

Die Zusammensetzung der Basiscreme DAC lautet:

- 4% Glycerolmonostearat
- 6% Cetylalkohol
- 7,5% Mittelkettige Triglyceride
- 25,5% Weiße Vaseline
- 7% Macrogol-1000-Glycerolmonostearat
- 10% Propylenglykol
- 40% Wasser

Die Dermatop-Basissalbe wurde von der Firma Aventis hergestellt.

Das Prüfpräparat Elidel® enthält als wirksamen Inhaltsstoff Pimecrolimus. Es wurde von Fujisawa hergestellt.

Außer Elidel® wurden alle Präparate von der Herdern-Apotheke (Hauptstraße, 79104 Freiburg) hergestellt und in 50g-Tuben abgefüllt. Die Lagerung aller Präparate erfolgte bei 4˚C.

3.5 Durchführung des NLS-Tests

3.5.1 Verwendete Materialien und Messinstrumente

3.5.1.1 Testkammern

Als Testkammern dienten Finn Chambers (Epitest Ltd Oy, Tuusula, Finnland). Es wurden Finn Chambers Large mit einem Innendurchmesser von 12 mm benutzt, welche auf dem Vlies-Verbandspflaster Scanpor® (Alpharma AS, Norwegen) befestigt waren. In die Testkammern wurden Filterpapierscheiben eingelegt, auf die die benötigte NLS-Lösung mit einer Eppendorf-Pipette (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) gegeben wurde.

3.5.1.2 Messung des Transepidermalen Wasserverlustes

Der Transepidermale Wasserverlust (TEWL) ist definiert als die Menge Wasser, die pro Zeiteinheit und Fläche über die Epidermis an die Umgebung abgegeben wird. Physikalische Grundlage der Messung ist das Diffusionsgesetz nach Fick, welches lautet (Gleichung 1):

$$dm/dt = -D * A * dc/dx$$

A= Oberfläche [m²]

m= transportiertes Wasser [g]

t= Zeit [h]

*D= Diffusionskonstante (= 0.0877 g/m*h*mmHg)*

p= Wasserdampfdruck der Atmosphäre [mmHG]

x= Entfernung der Hautoberfläche zum Messpunkt [m]

Über den TEWL kann man auf den Zustand der Hautbarriere zurück schließen. Ist diese geschädigt und somit durchlässiger für Wasser, steigt der TEWL an. Sein Ausmaß korreliert mit dem Grad der Barriereschädigung. Der TEWL ist somit ein sensitiver Parameter, um die Wirkung von NLS auf die Haut zu beurteilen. Außerdem handelt es sich bei seiner Messung um eine objektive Untersuchungsmethode, die eine visuell-subjektive Beurteilung ergänzen kann [Pinnagoda 1990].

Der TEWL wurde gemessen mit dem *Mobile Skin Center® MSC* 100 mit TEWAMETER® 300-Sonde (Courage & Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland). Abb. 6 zeigt die Sonde beim Messen auf dem Rücken einer Probandin.

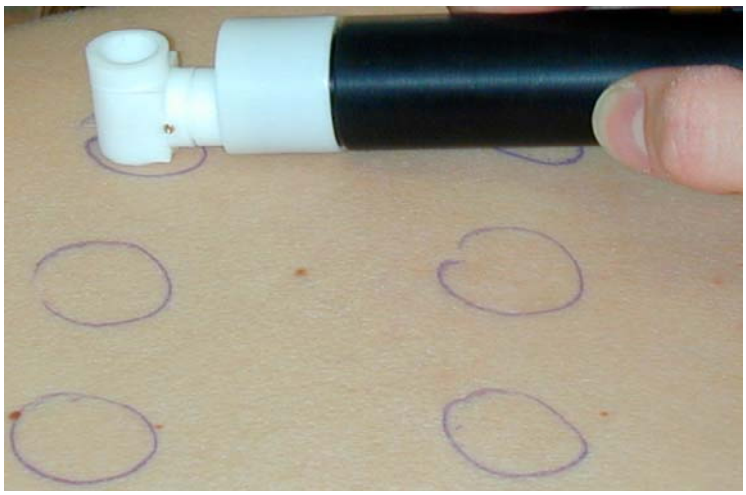

Abb. 6: Tewameter-Messung

Durch die Sonde des Tewameters tritt das von der Hautoberfläche verdunstende Wasser aus. So entsteht ein Dichtegradient zwischen Haut und umgebender Luft, welcher durch zwei Sensorenpaare gemessen und mit einem Mikroprozessor ausgewertet wird.

Der Normbereich des TEWL variiert, je nach anatomischem Messbereich, von 10 bis 20 g/m²h. Gemäß der Empfehlungen von Pinnagoda et al. in den „*Guidelines on transepidermal water loss (TEWL) measurement*“ [Pinnagoda 1990] wurde bei der Messung auf folgendes geachtet: Umgebungswerte wie Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit wurden konstant gehalten. Der Proband ruhte vor der Messung mehrere Minuten mit entblößten Testfeldern. Die Schutzkappe der Sonde wurde 20 min vor Beginn der 1. Messung abgenommen, um eine Akklimatisation an die Umgebung zu gewährleisten. Bei der eigentlichen Messung wurde die Sonde mit leichtem, konstantem Druck auf das Testfeld gehalten. Nach 30 bis 45 s bei intakter Haut bzw. nach einem etwas längeren Zeitraum bei geschädigter Haut pendelte sich das Tewameter auf einen stabilen TEWL-Wert ein, welcher an allen fünf Prüftagen protokolliert wurde.

3.5.1.3 Mexameter-Messung

Das Mexameter MX 16 (Courage & Khazaka electronic GmbH, Köln, Deutschland) diente der photometrischen Messung des Erythems. Als Parameter für die Rotfärbung der Haut gilt der Hämoglobingehalt. Die Funktionsweise des Mexameters beruht auf dem Absorptionsprinzip. Die Spezialsonde sendet drei genau definierte Wellenlängen aus, und ein Empfänger in der Sonde misst das von der Haut reflektierte Licht. Die Erythemmessung erfolgt mit zwei verschiedenen Wellenlängen (568 und 660 nm), die ungefähr den Hauptabsorptionsspitzen des Hämoglobin entsprechen. Die dritte Wellenlänge wird so gewählt, dass andere Farbeinflüsse, wie z.B. Bilirubin, weitgehend ausgeschlossen werden. Die erzielten Werte werden als Verhältniszahl (Index) angegeben. Die zugrunde liegende Formel für den Erythemindex lautet (Gleichung 2):

$$ex = 500/\log 5 * \log \text{Rot-Reflexion}/\text{Grün-Reflexion} + \log 5$$

Die Ausprägung des Erythems korreliert mit dem Grad der Inflammation der Haut. Durch die Mexameter-Messung lässt sich die Entzündungsreaktion der Haut einschätzen. Abb. 7 zeigt die Mexamter-Messung auf dem Rücken einer Probandin.

Abb. 7: Mexameter-Messung

Die Sonde wurde vor der 1. Messung 20 min lang auf Körpertemperatur angewärmt. Die Messung erfolgte, indem die Sonde mit kurzem, leichtem Druck auf die Mitte der Testfelder gedrückt wurde. An allen fünf Prüftagen wurden pro Testfeld jeweils drei Werte bestimmt und aus diesen ein Mittelwert errechnet.

3.5.1.4 Bestimmung des visuellen Scores

Die Stärke der Barriereschädigung und der Entzündung wurden anhand eines Scores visuell beurteilt. Als Grundlage dazu dienten die Richtlinien der *European Society of Contact Dermatitis (ESCD)* [Tupker 1997]. Diese wurden nach den Erfahrungen in den Vorversuchen modifiziert, um eine möglichst genaue Beschreibung der Hautveränderungen im Testmodell zu ermöglichen (Tab. 3).

Tab. 3: Score

Score	Qualität	Beschreibung bei akuter Irritation
0	Negativ	keine Reaktion
½	Zweifelhaft	schwaches Erythem oder geringgradige Schuppung
1	Schwach	mäßiges Erythem oder leichtes Ödem oder leichte Schuppung oder leichte Rauhigkeit
2	Gemäßigt	mäßiges Erythem und Ödem oder Schuppung, Rauhigkeit oder geringe Verätzung oder Vesiculae oder Krusten oder Risse
3	Stark	deutliches Erythem und Ödem und Schuppung, oder Verätzung oder Vesiculae oder Bullae oder Krusten oder Risse
4	Sehr stark	siehe 3, aber mit nekrotischen Arealen

3.5.2 Studienbeschreibung

Vor der eigentlichen Hauptstudie wurden sechs Vorversuche durchgeführt. Diese unterschieden sich voneinander und von der Hauptstudie nicht nur in den bereits erwähnten Prüfsubstanzen, sondern auch in Testfeldanzahl und NLS-Konzentration. Dabei ist zu beachten, dass bei allen Versuchen je ein Testfeld, die „Kontrolle“, ungereizt blieb. Tab. 4 gibt die Unterschiede an.

Tab. 4: Testfeldzahl und NLS-Konzentration

	V1	**V2**	**V3**	**V4 – V6**	**Hauptstudie**
Testfeldzahl	5	7	10	13	11
NLS-Konzentration in Testfeldern	5%	3%	2-4: 1% 5-7: 2% 8-10: 3%	2-5: 1% 6-9: 2% 10-13: 3%	3%

V = Vorversuch

Das Procedere war in Vorversuchen und Hauptstudie analog. Die Probanden kamen an fünf aufeinander folgenden Tagen zur jeweils gleichen Uhrzeit, d.h. im 24 h-Abstand, in die Universitäts-Hautklinik Freiburg zur Behandlung. Am 1. Tag (Zeitpunkt T0) erfolgten zunächst Aufklärung, Einverständniserklärung, Anamnese und Untersuchung. Anschließend legten sich die Patienten auf einer Liege flach auf den Bauch. Es wurden auf dem Rücken die Testfelder bestimmt, von denen jeweils die Hälfte paravertebral auf der linken bzw. der rechten Seite, stets im gleichmäßigen Abstand zueinander und zur Medianlinie, lagen. In diesen Testfeldern wurde mittels des Tewameters einmal der Transepidermale Wasserverlust (TEWL) und mittels des Mexameters dreimal hintereinander die Rötung der Haut bestimmt. Dann erfolgte auf jedem der Testfelder außer dem Kontrollfeld die okklusive Applikation des NLS. Die auf die Haut geklebten Testkammern zeigt Abb. 8.

Abb. 8: Okklusive NLS-Applikation zum Zeitpunkt T0

In die Testkammern wurde ein mit 50 µl NLS-Lösung getränktes Filterpapier gegeben. Für das Kontrollfeld wurde eine leerer Finn Chamber verwendet. Anschließend wurden die Testpflaster auf die sauberen, trockenen Hautareale unter Vermeidung von Faltenbildung aufgeklebt und anschließend fest gestrichen, um eine gute Fixierung zu erreichen. Nach 24-stündiger Applikation, am 2. Tag (T1), wurden die Finn Chambers vollständig von der Haut abgenommen und auch eventuell vorhandene Rückstände entfernt. Vor einer weiteren Prüfung und Behandlung der Testfelder ließ man 60 min verstreichen. Dadurch gab man der Haut Zeit, sich von der Reizung, die das Abreißen der Pflaster kurzfristig hervorruft, zu erholen. So konnte man einer möglichen Verfälschung der Messwerte durch mechanische Irritation vorbeugen. Nach der Wartezeit wurden die oben erwähnten Parameter sowie ein visueller Score der Hautschädigung erhoben. Daraufhin erfolgte auf den Testfeldern die okklusive Applikation der Testsubstanzen über weitere 24 h, wobei das Kontrollfeld und das Feld „Unbehandelt“ mit einer leeren Testkammer abgeklebt wurden. Nach der Einwirkzeit, am 3. Tag (T2), wurden Okklusion und Rückstände entfernt und nach 60 min Wartezeit die drei oben beschriebenen Parameter erfasst. Anschließend erfolgte die zweite okklusive, 24-stündige Applikation der Testsubstanzen. Am 4. Tag (T3) wiederholte sich das Procedere des 3. Tages. Demnach erfolgten nach der irritativen Reizung mit NLS insgesamt drei Behandlungen mit den Testsubstanzen. Am 5. Tag (T4) schließlich wurden nochmals die Parameter zur Schwere der Irritation erfasst. Alle erhobenen Daten wurden protokolliert.

Abb. 9 und 10 zeigen die Testfelder eines Probanden zu den Zeitpunkten T1 und T4.

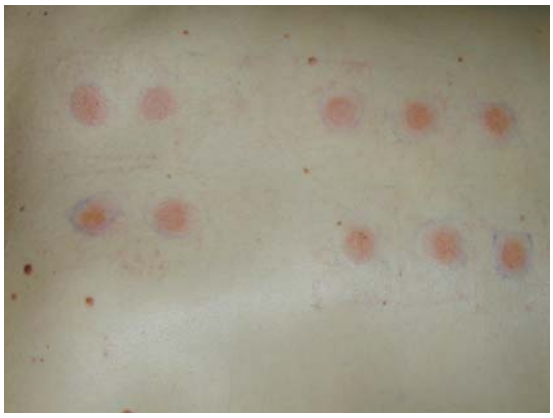

Abb. 9: Testfelder zum Zeitpunkt T1

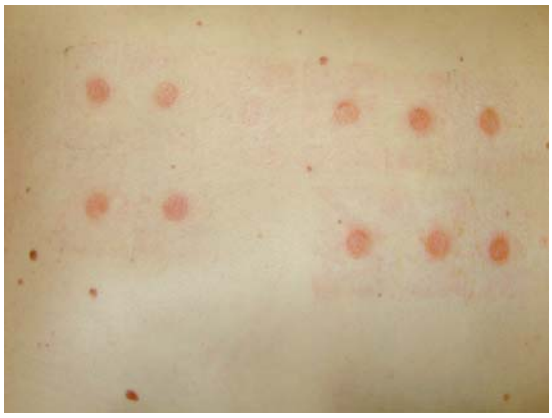

Abb. 10: Testfelder zum Zeitpunkt T4

3.6 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse von Tewameter-Messung und Mexameter-Messung gingen doppelt Leerwert-kontrolliert in die Auswertung ein. Dies wurde folgendermaßen erreicht: Das unbehandelte Kontrollfeld diente als Referenz. Sein Wert wurde jeweils von den auf den übrigen Testfeldern gemessenen Werten abgezogen, so dass mögliche intraindividuelle und umweltbedingte Schwankungen ausgeglichen wurden. Außerdem wurde der zum Zeitpunkt T0 ermittelte Wert, welcher als Ausgangswert vor der Reizung diente, jeweils von denen der Zeitpunkte T1 bis T4 abgezogen. Die ermittelten Score-Werte dagegen wurden direkt verwendet. Die Differenz der Parameter wurde zu den verschiedenen Zeitpunkten (T0 bis T4) analysiert. Die ermittelten Kontraste wurden anhand zweier statistischer Analyseverfahren verglichen: Sie gingen in die Varianzanalyse und den Friedman-Test (Rangvarianzanalyse) ein.

Als Datengrundlage dienten in beiden Analyseverfahren die Mittelwerte, die Standardabweichung, Minimum- und Maximum-Werte.

Zum Verständnis der Statistik sind folgende Begriffe zu erklären:

Substanz: aufgetragenes Prüfpräparat

Unbehandelt: mit NLS gereiztes, im weitern Procedere jedoch unbehandeltes Testfeld

Zeit: Zeitpunkt der Messung (T0= 1. Tag, T1= 2. Tag, T2= 3. Tag, T3= 4. Tag, T4= 5. Tag)

Gruppe: Einteilung der Probanden im Randomisierungsplan (s. Tab. 1)

Repeats: Dreimal hintereinander durchgeführte Mexameter-Messung; aus den drei Messungen wurde ein Mittelwert errechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Vorversuche

Vor der Hauptstudie fanden sechs Vorversuchen (V1 bis V6) mit jeweils einem Probanden statt. Dabei wurden verschiedene Testfeldzahlen, NLS-Konzentrationen und Prüfpräparate angewendet (s. Tab. 2, „Verwendete Prüfpräparate“, und Tab. 4, „Testfeldzahl und NLS-Konzentration“). Es resultierten folgende Ergebnisse.

4.1.1 Vorversuch 1

Im ersten Vorversuch (V1) wurden vier Testfelder mit 5%-iger NLS-Lösung gereizt. Als Prüfsubstanzen dienten Dermatop-Basissalbe, 5% Salbei in Dermatop-Basissalbe und 10% Blutwurz in Dermatop-Basissalbe. Das vierte Testfeld blieb unbehandelt. Ein fünftes Testfeld blieb als Kontrolle ungereizt und unbehandelt; es ist in den folgenden Abbildungen (Abb. 11 bis 13) nicht mit dargestellt

4.1.1.1 Mexameter-Messung

Mit dem Mexameter wurde das Ausmaß des Erythems auf den Testfeldern photometrisch bestimmt. Im folgenden Schaubild (Abb. 11) ist der Verlauf der ermittelten Mexameter-Werte über die Zeit anzeigt. Jeder Balken ist einer Substanz zugeordnet. Die Darstellung beginnt zum Zeitpunkt T1, also 24 h nach der Reizung mit NLS. Es gilt das oben beschriebene Prinzip der doppelten Leerwertkontrolle, d. h. von den gemessenen Werten zu den Zeitpunkten T1 bis T4 sind die entsprechenden Werte zum Zeitpunkt T0 und die entsprechenden Kontrollfeld-Werte abgezogen.

Bei allen Testfeldern steigen die Werte von T1 zu T2 auf einen Maximalwert an. Von T2 bis T4 fallen die Werte ab. Bei allen Testfeldern liegt der Wert des Zeitpunktes T4 (T4-Wert) niedriger als der Wert des Zeitpunktes T1 (T1-Wert). Betrachtet man bei den einzelnen Substanzen die Differenz der T1- und T4-Werte, so ergibt sich im Vergleich: Die Differenz liegt beim mit Dermatop-Basissalbe behandelten Feld am höchsten, gefolgt von den Testfeldern Unbehandelt, Salbei und Tormentilla.

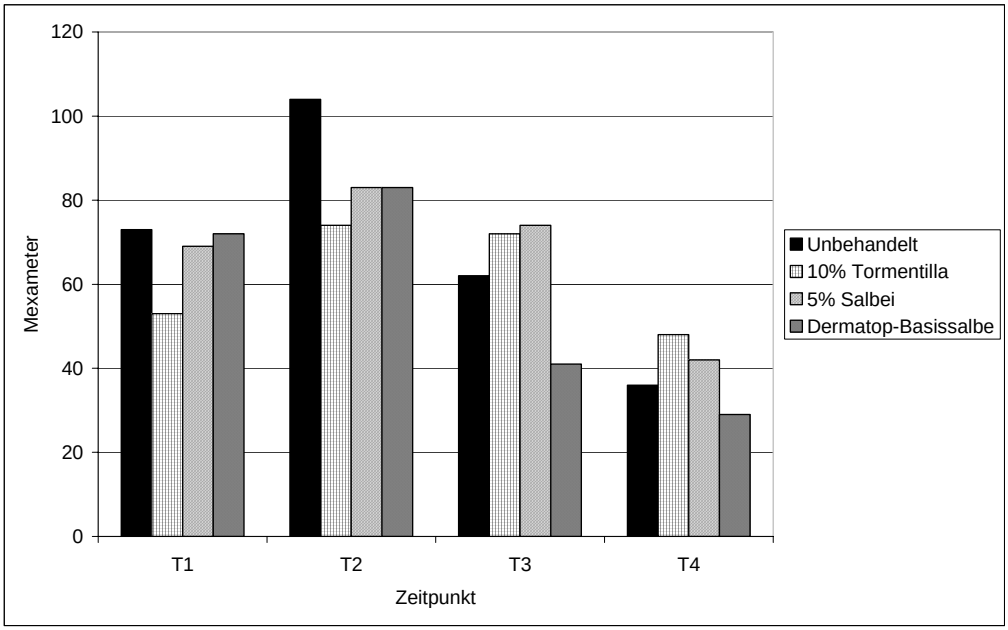

Abb. 11: V1, Mexameter – Verlauf über die Zeit, n= 1 Proband

4.1.1.2 Tewameter-Messung

Mit dem Tewameter wurde der TEWL gemessen, der Wasserverlust über die Haut. Pro Testfeld wurde ein Wert gemessen, der in die statistische Analyse einging.

Abb. 12 zeigt der Verlauf der TEWL-Werte über die Zeit. Bei allen Testfeldern fallen die Werte kontinuierlich ab. Vergleicht man die Differenz der T1- und T4-Werte, ergibt sich: Die Differenz liegt beim mit Dermatop-Basissalbe behandelten Feld am höchsten, dann folgen nacheinander die Felder Tormentilla, Salbei und Unbehandelt.

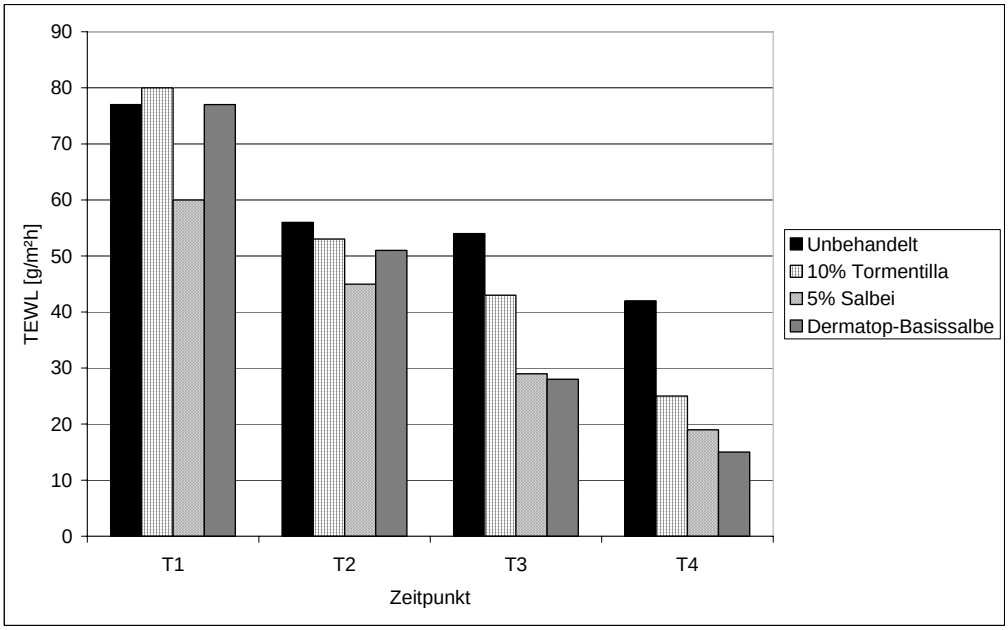

Abb.12: V1, Tewameter - Verlauf über die Zeit, n= 1 Proband

4.1.1.3 Score

Zur visuellen Beurteilung des Hautzustandes wurde ein Score herangezogen. Dieser stuft die Hautbeschaffenheit nach den Kriterien ein, wie sie in Kap. 3.5.1.4, Tab. 2, beschrieben sind. Der Score wurde zu den Zeitpunkten T1 bis T4 erhoben, nicht aber zum Zeitpunkt T0.

In Abb. 13 ist der Verlauf des Scores über die Zeit dargestellt. Bei allen Testfeldern fällt der Score-Wert von T1 bis T4 ab. Beim Vergleich der Differenzen der T1- und T4-Werte der einzelnen Substanzen untereinander zeigt sich: Bei Unbehandelt, Salbei und Dermatop-Basissalbe liegt sie gleich hoch, bei Tormentilla dagegen niedriger.

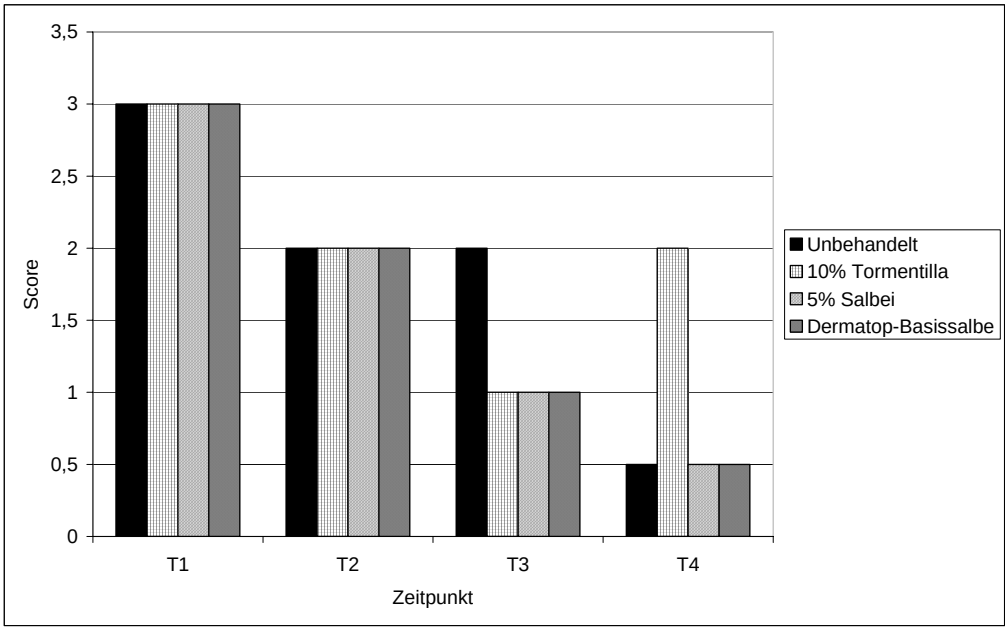

Abb. 13: V1, Score – Verlauf über die Zeit, n= 1 Proband

4.1.2 Vorversuch 2

Im zweiten Vorversuch (V2) wurden sechs Testfelder mit 3%-iger NLS-Lösung gereizt. Als Prüfsubstanzen dienten Basiscreme DAC, 1% Hydrokortison, Elidel®, 1% Salbei in Basiscreme DAC und 5% Tormentilla in Basiscreme DAC. Das sechste Testfeld blieb unbehandelt. Ein siebtes Testfeld blieb als Kontrolle ungereizt und unbehandelt. In den jeweiligen Abbildungen (Abb. 14 bis 16) ist dieses Kontrollfeld nicht mit dargestellt.

4.1.2.1 Mexameter-Messung

Im folgenden Schaubild (Abb. 14) ist der Verlauf der ermittelten Mexameter-Werte vom Zeitpunkt T1 bis zum Zeitpunkt T4 anzeigt. Die Mexameter-Werte der Testfelder Unbehandelt, Basiscreme DAC und Elidel® steigen von T1 zu T4 an. Bei den übrigen Testfeldern fallen sie von T1 zu T4 ab, wobei die Differenz der Werte von Hydrokortison am größten ist.

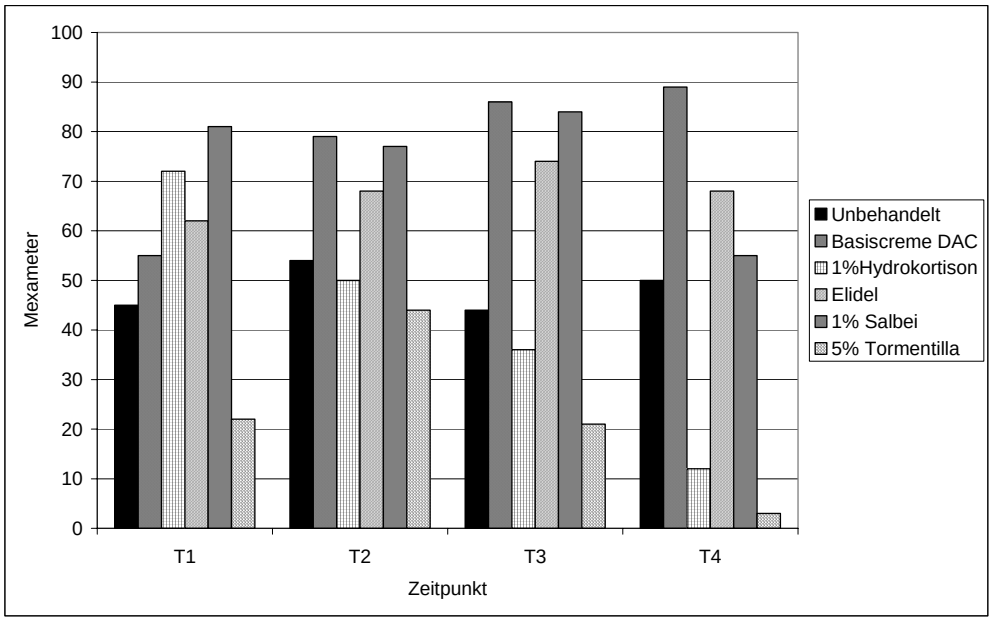

Abb. 14: V2, Mexameter – Verlauf über die Zeit, n= 1 Proband

4.1.2.2 Tewameter-Messung

In Abb. 15 ist der Verlauf der TEWL-Werte über die Zeit von T1 bis T4 dargestellt. Bei allen Testfeldern fallen die Messwerte von T1 bis T4 ab. Vergleicht man die Differenz der T1- und T4-Werte der einzelnen Felder untereinander, so ergibt sich: Die Differenz ist beim Testfeld Unbehandelt am größten, dann folgen in absteigender Reihenfolge die Testfelder Salbei, Hydrokortison, Tormentilla, Basiscreme DAC und Elidel®.

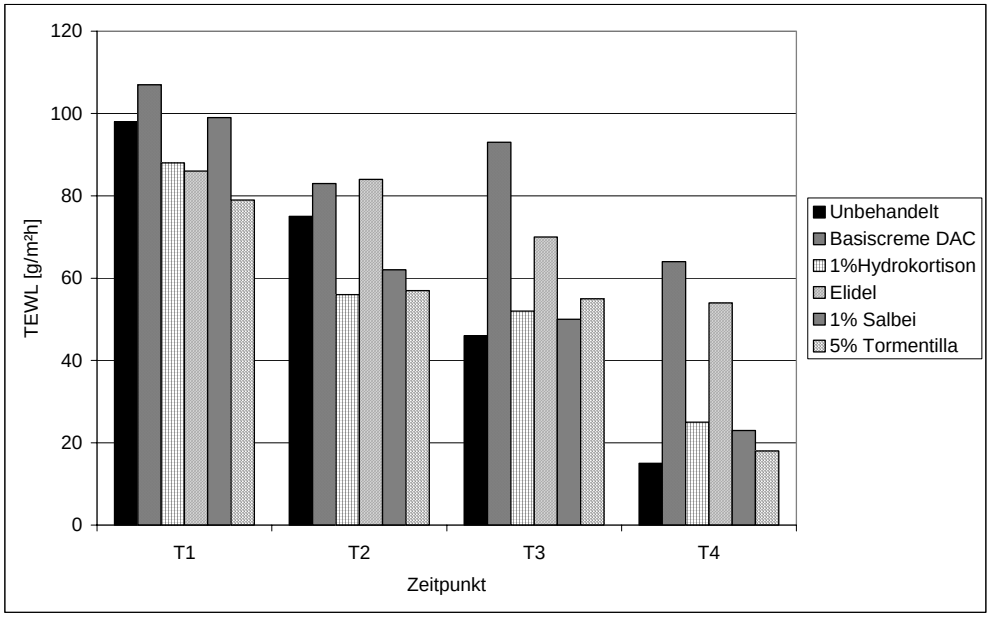

Abb. 15: V2, Tewameter – Verlauf über die Zeit, n= 1 Proband

4.1.2.3 Score

In Abb. 16 ist der Verlauf des Scores über die Zeit dargestellt. Bei allen Testfeldern fallen die Score-Werte von T1 zu T4 ab. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und T4-Werte bei Unbehandelt, Hydrokortison, Elidel® und Salbei am höchsten, beim Testfeld Tormentilla geringer, beim Testfeld Basiscreme DAC am geringsten.

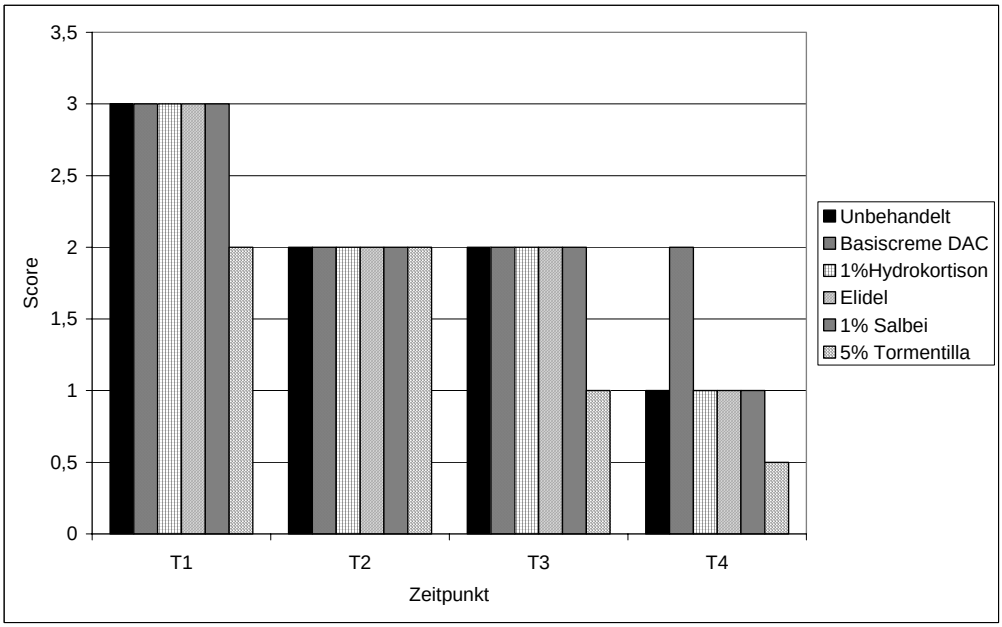

Abb. 16: V2, Score – Verlauf über die Zeit, n= 1 Proband

4.1.3 Vorversuch 3

Im dritten Vorversuch (V3) wurden zehn Testfelder untersucht. Ein Testfeld blieb als Kontrolle ungereizt und unbehandelt. Die weiteren neun Felder waren in drei Gruppen von jeweils drei Feldern unterteilt. Die Felder der ersten Gruppe wurden mit 1%-iger, die Felder der zweiten Gruppe mit 2%-iger und die der dritten Gruppe mit 3%-iger NLS-Lösung gereizt. Als Prüfpräparate dienten in jeder Gruppe Basiscreme DAC und 1% Hydrokortison in Basiscreme DAC. Ein Testfeld in jeder Gruppe blieb unbehandelt.

4.1.3.1 Mexameter-Messung

Im Folgenden ist für jede NLS-Konzentration ein Schaubild mit dem Verlauf der ermittelten Mexameter-Werte über die Zeit dargestellt (Abb. 17 bis 19).

Abb. 17 zeigt die Ergebnisse nach Verwendung von 1%-iger NLS-Lösung. Die Mexameter-Werte aller Felder sinken bis T4 unter ihren Ausgangswert von T1. Dabei kommt es im Verlauf bei Unbehandelt und Basiscreme DAC zunächst zu einem Anstieg. Lediglich bei Hydrokortison kommt es zu einem kontinuierlichen Rückgang des Mexameter-Wertes.

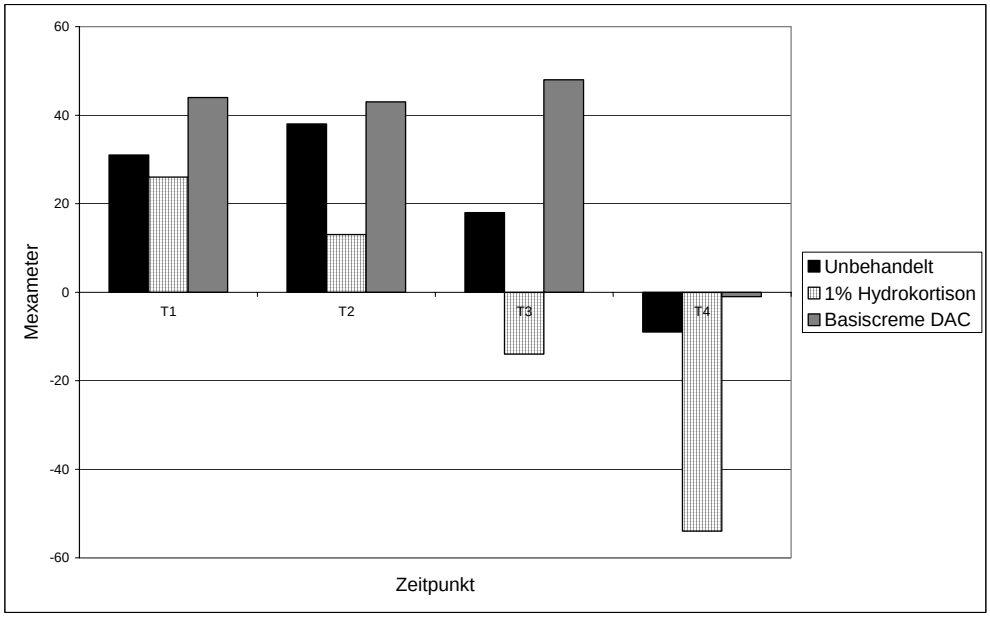

Abb. 17: V3 – Mexameter-Verlauf,1%-ige NLS-Lösung, n= 1 Proband

Abb. 18 zeigt die Ergebnisse nach Reizung mit 2%-iger NLS-Lösung. Die Mexameter-Werte liegen im Vergleich zu T4 stets niedriger als zu T1. Die Differenz der T1- und T4-Werte liegt bei dem mit Hydrokortison behandelten Testfeld am höchsten, gefolgt von Unbehandelt, und bei Basiscreme DAC am niedrigsten.

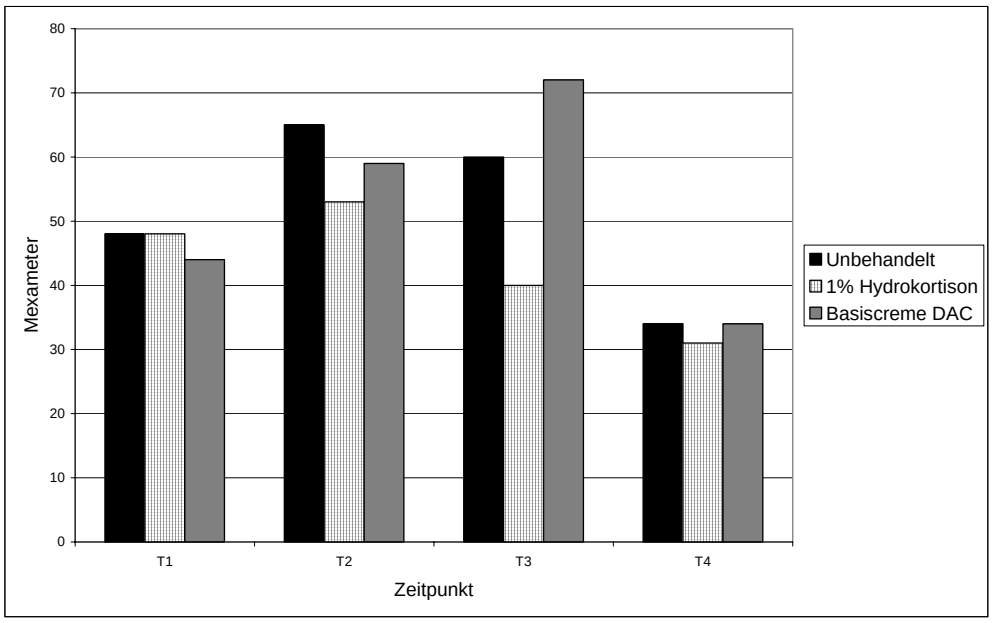

Abb. 18: V3 - Mexameter-Verlauf, 2%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

Abb. 19 zeigt die Ergebnisse nach Verwendung von 3%-iger NLS-Lösung. Beim Vergleich der Werte zu T1 und T4 unter den drei Testfeldern fällt auf: Die Werte des Testfeldes Unbehandelt sind von T1 zu T4 gestiegen, die der Testfelder Hydrokortison und Basiscreme DAC dagegen abgefallen.

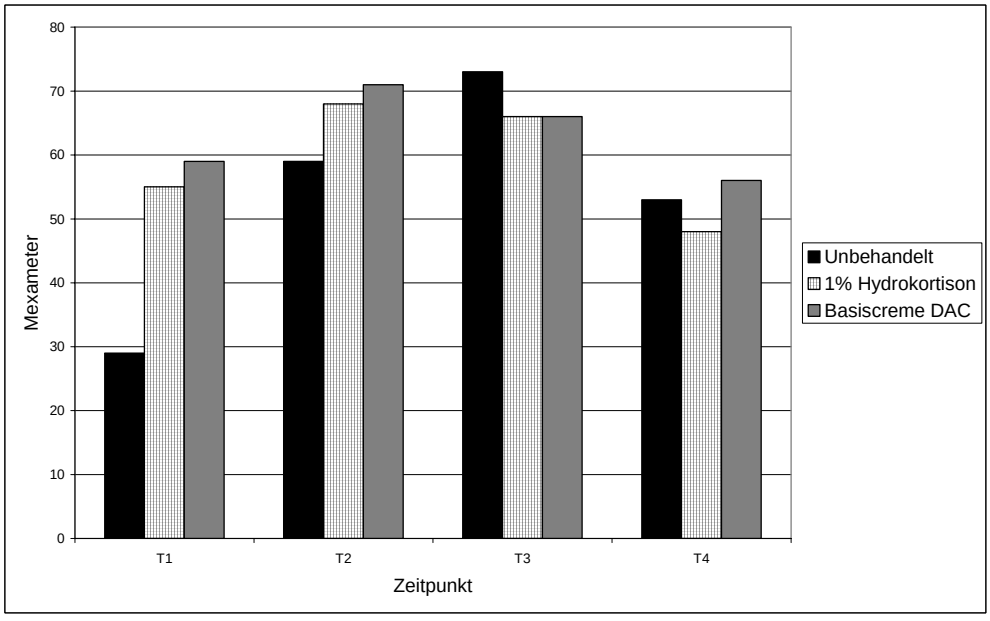

Abb. 19: V3 - Mexameter-Verlauf, 3%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

4.1.3.2 Tewameter- Messung

In Abb. 20 bis 22 sind die Verläufe der TEWL-Werte über die Zeit dargestellt.

Abb. 20 zeigt die Ergebnisse nach Anwendung von 1%-iger NLS-Lösung. Bei allen Testfeldern fallen die Messwerte von T1 zu T4 ab. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und der T4-Werte bei dem mit Basiscreme DAC behandelten Testfeld am größten, gefolgt vom Testfeld Hydrokortison, und beim Testfeld Unbehandelt am geringsten.

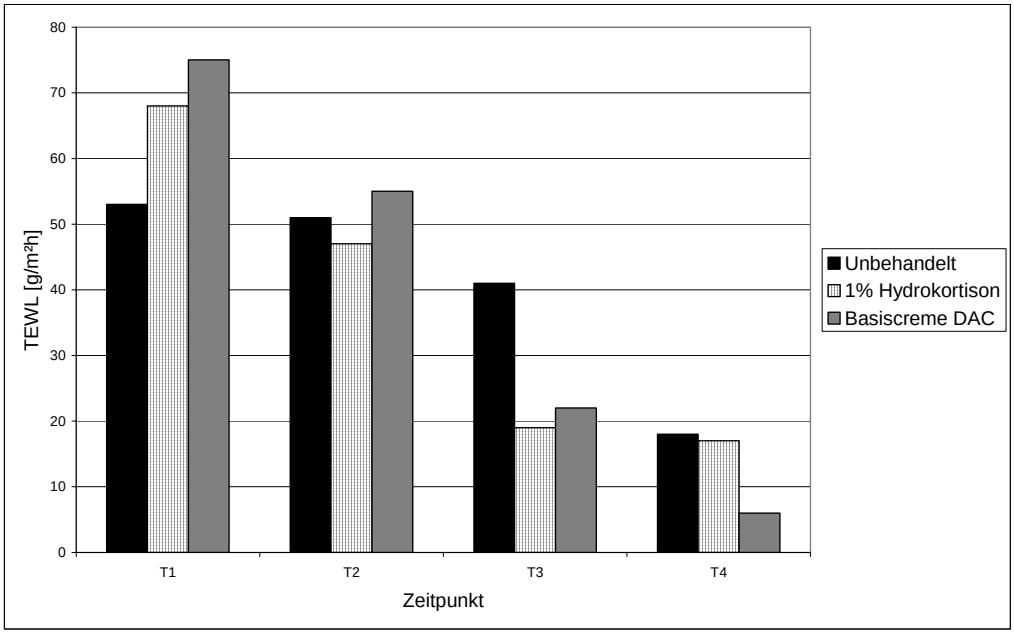

Abb. 20: V3 – Tewameter-Verlauf, 1%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

Abb. 21 zeigt die Ergebnisse nach Reizung mit 2%-iger NLS-Lösung. Bei allen Testfeldern fallen die Messwerte von T1 zu T4 ab. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und T4-Werte bei Basiscreme DAC am größten, gefolgt von Hydrokortison, und bei Unbehandelt am geringsten.

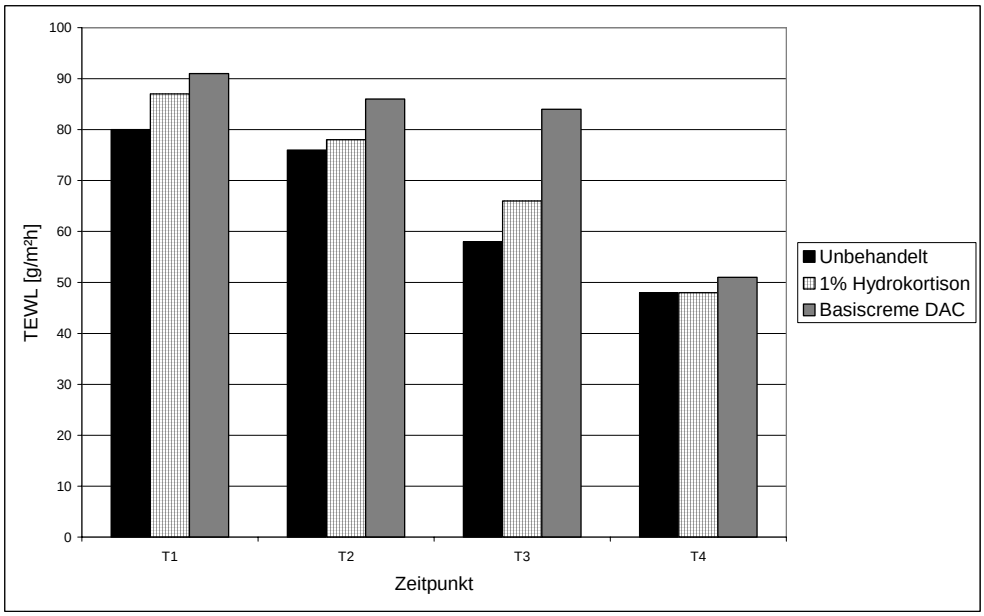

Abb. 21: V3 – Tewameter-Verlauf, 2%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

Abb. 22 zeigt die Ergebnisse nach Verwendung von 3%-iger NLS-Lösung. Die T4-Werte der Testfelder Unbehandelt und Basiscreme DAC liegen niedriger als die T1-Werte, die des Testfeldes Hydrokortison höher. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und T4-Werte bei der Substanz Basiscreme DAC am größten.

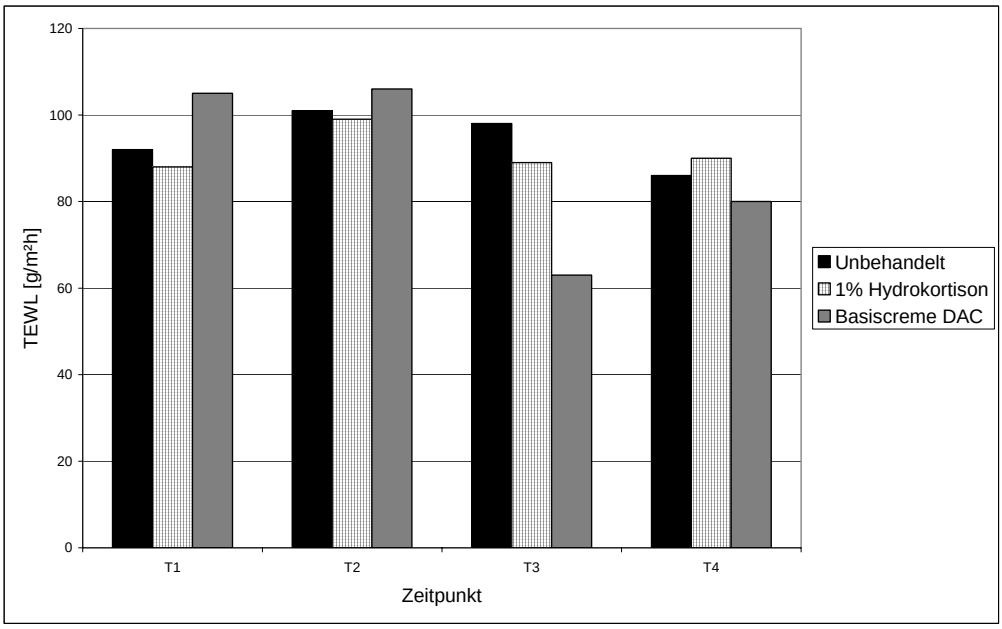

Abb. 22: V3 – Tewameter-Verlauf, 3%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

4.1.3.3 Score

In den Abb. 23 bis 25 ist der Verlauf des Scores über die Zeit dargestellt.

Abb. 23 zeigt den Verlauf nach Verwendung von 1%-iger NLS-Lösung. Der Score aller Testfelder nimmt vom Zeitpunkt T1 bis zum Zeitpunkt T4 ab. Die Differenz der T1- und T4-Werte der Testfeldern Unbehandelt und Hydrokortison ist gleich, die des Testfeldes Basiscreme DAC ist geringer.

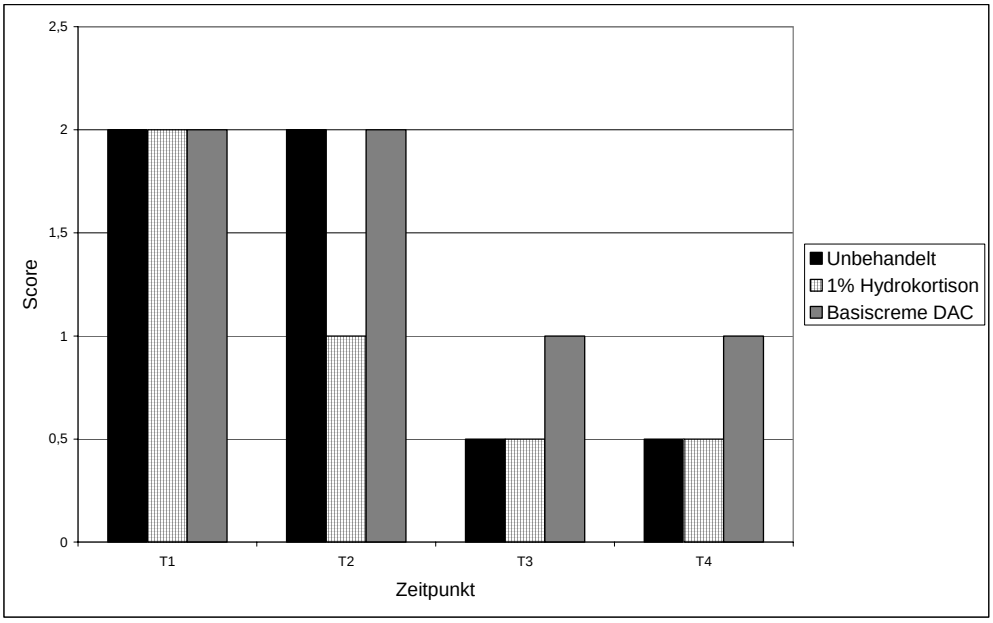

Abb. 23: V3 – Score-Verlauf, 1%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

Abb. 24 stellt den Verlauf nach Verwendung von 2%-iger NLS-Lösung dar. Der Score aller Testfelder nimmt von T1 zu T4 hin ab. Die Differenz der T1- und T4-Werte von Unbehandelt und Hydrokortison ist gleich, die von Basiscreme DAC ist geringer.

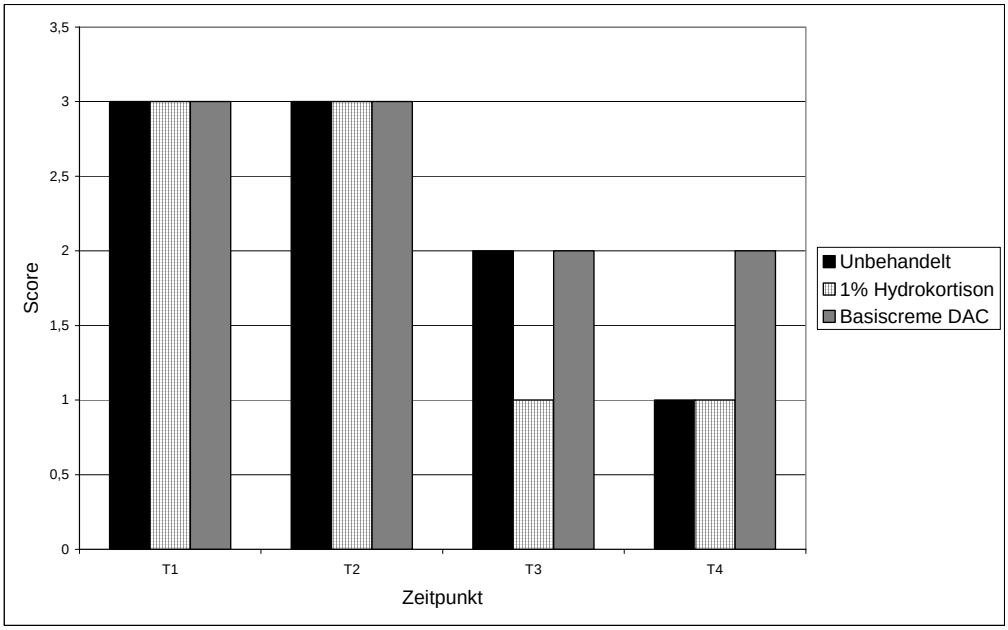

Abb. 24: V3 – Score-Verlauf, 2%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

Abb. 25 zeigt den Verlauf nach Verwendung von 3%-iger NLS-Lösung. Der Score aller Testfelder fällt von T1 zu T4 hin ab. Die Differenz der T1- und T4-Werte ist bei allen Testfeldern gleich.

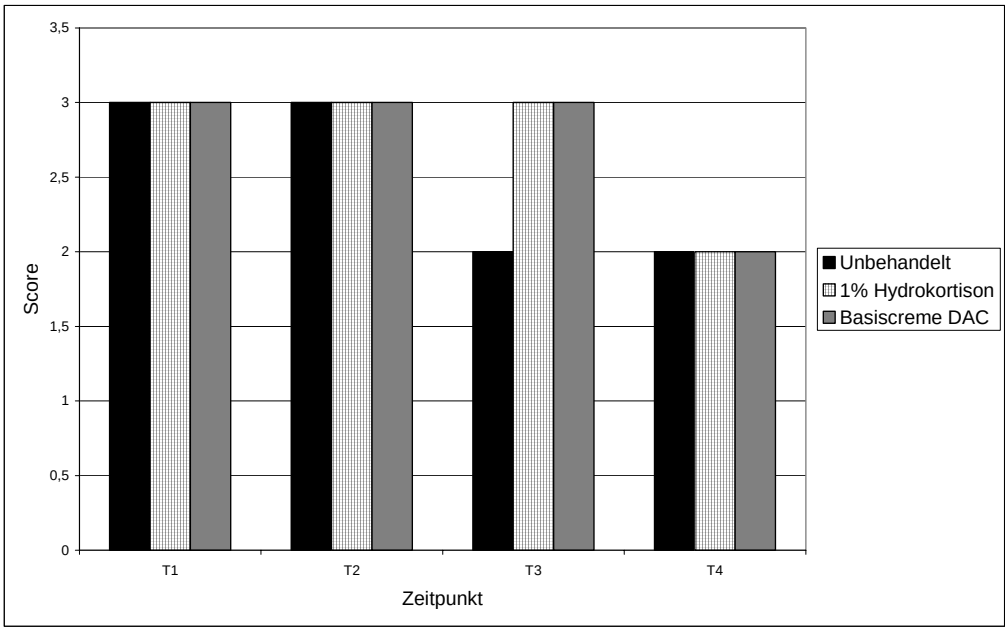

Abb. 25: V3 – Score-Verlauf, 3%-ige NLS-Lösung**,** n= 1 Proband

4.1.4 Vorversuch 4 bis 6

Die Vorversuche 4 bis 6 (V4-V6) hatten einen identischen Versuchsaufbau. Es wurden dreizehn Testfelder bearbeitet. Ein Testfeld blieb als Kontrolle ungereizt und unbehandelt. Die weiteren zwölf Felder waren in drei Gruppen von jeweils vier Feldern unterteilt. Die Felder der ersten Gruppe wurden mit 1%-iger, die Felder der zweiten Gruppe mit 2%-iger und die der dritten Gruppe mit 3%-iger NLS-Lösung gereizt. Als Prüfpräparate dienten in jeder Gruppe Basiscreme DAC, 5% Tormentilla in Basiscreme DAC und 1% Hydrokortison in Basiscreme DAC. Ein Testfeld in jeder Gruppe blieb unbehandelt. Die Ergebnisse dieser drei Vorversuche werden gemittelt dargestellt.

4.1.4.1 Mexameter-Messung

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Mexameter-Messung dargestellt (Abb. 26 bis 28).

Abb. 26 zeigt die Ergebnisse der mit 1%-iger NLS-Lösung gereizten Testfelder. Der Mexameter-Wert des Testfeldes Unbehandelt steigt zunächst von T1 zu T2 hin an, und fällt dann von T2 zu T4 ab. Die Werte der übrigen Felder fallen von T1 zu T4 ab. Die

T4-Werte aller Testfelder liegen niedriger als die T1-Werte. Die Differenz der T1- und T4-Werte liegt bei dem mit Hydrokortison behandelten Testfeld am höchsten.

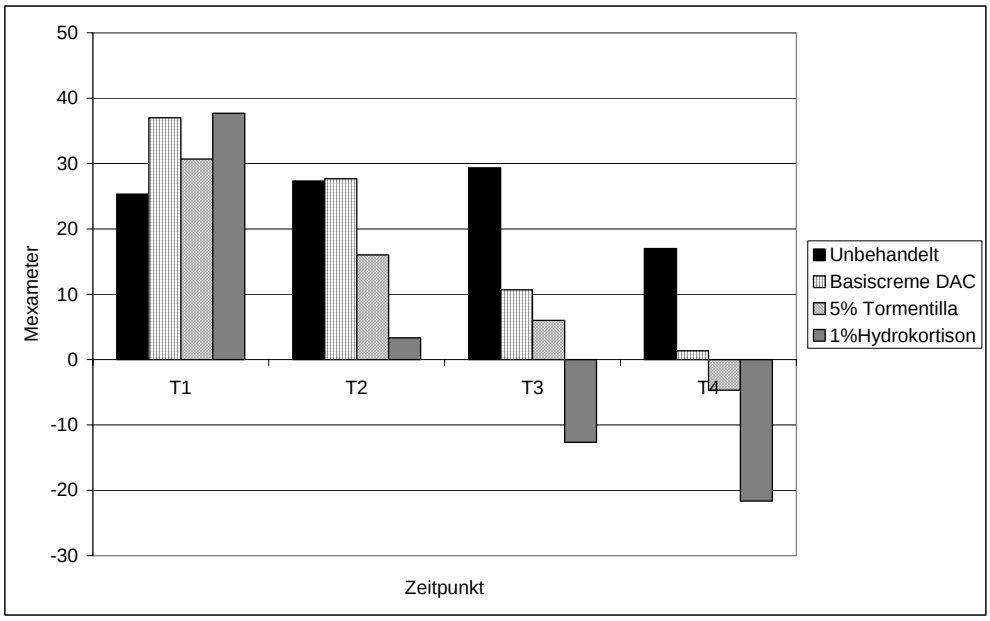

Abb. 26: V4-6 – Mexameter-Verlauf, 1%-ige NLS-Lösung**,** n= 3 Probanden

Abb. 27 zeigt die Ergebnisse der mit 2%-iger NLS-Lösung gereizten Testfelder. Die Mexameter-Werte fallen bei allen Substanzen von T1 zu T4 ab. Die Differenz der T1- und T4-Werte liegt beim Hydrokortison-Feld am höchsten. Dann folgen in absteigender Reihenfolge die Felder Tormentilla, Unbehandelt und Basiscreme DAC.

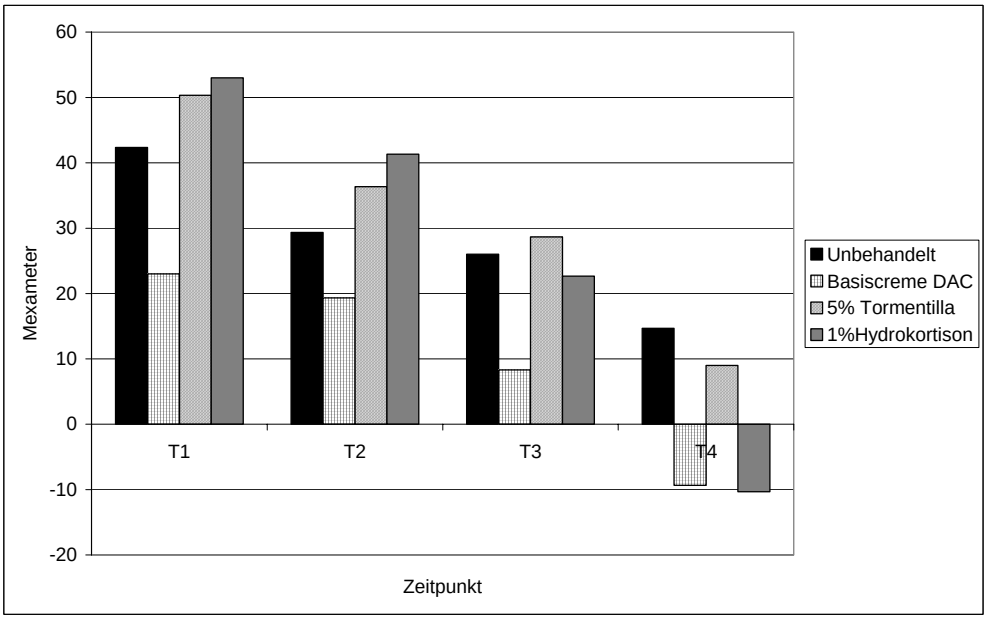

Abb. 27: V4-6 – Mexameter-Verlauf, 2%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

Abb. 28 zeigt die Ergebnisse der mit 3%-iger NLS-Lösung gereizten Testfelder. Der Mexameter-Wert des Testfeldes Unbehandelt fällt von T1 zu T3 ab, und steigt von T3 zu T4 an. Die Werte der übrigen Felder fallen von T1 zu T4 ab. Die T4-Werte aller Testfelder liegen unter den entsprechenden T1-Werten. Die Differenz der T1- und T4-Werte liegt beim Hydrokortison-Feld am höchsten. Dann folgen nacheinender die Felder Tormentilla, Basiscreme DAC und Unbehandelt.

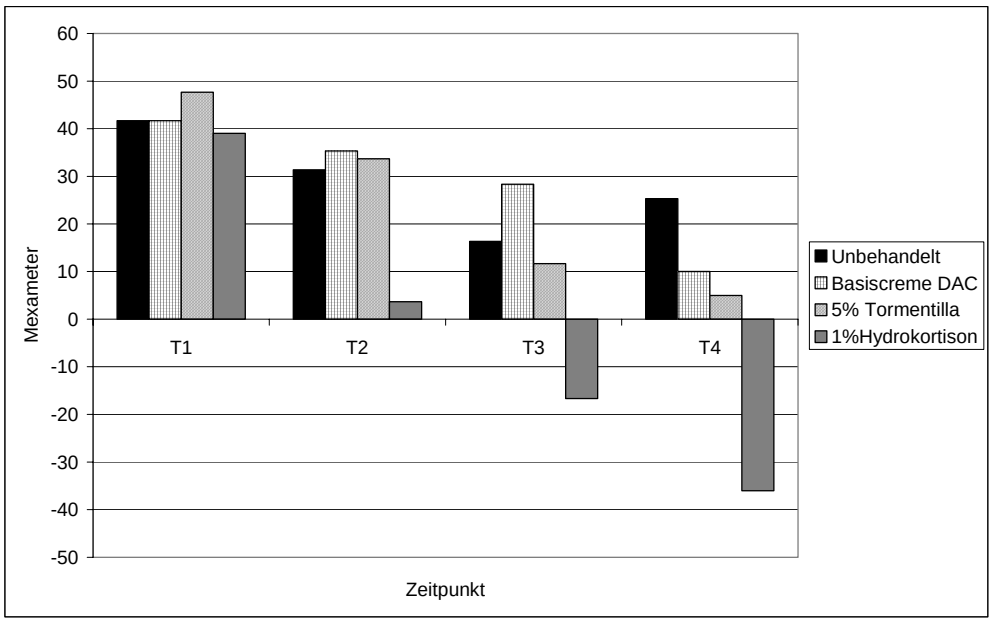

Abb. 28: V4-6 – Mexameter-Verlauf, 3%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

4.1.4.2 Tewameter-Messung

In Abb. 29 bis 31 sind die Verläufe der TEWL-Werte über die Zeit dargestellt.

In Abb. 29 sind die Ergebnisse der mit 1%-iger NLS-Lösung gereizten Testfelder zu sehen. Bei allen Substanzen fallen die TEWL-Werte von T1 zu T4 hin ab. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und der T4-Werte bei Tormentilla am größten, dann folgen Hydrokortison, Basiscreme DAC und Unbehandelt.

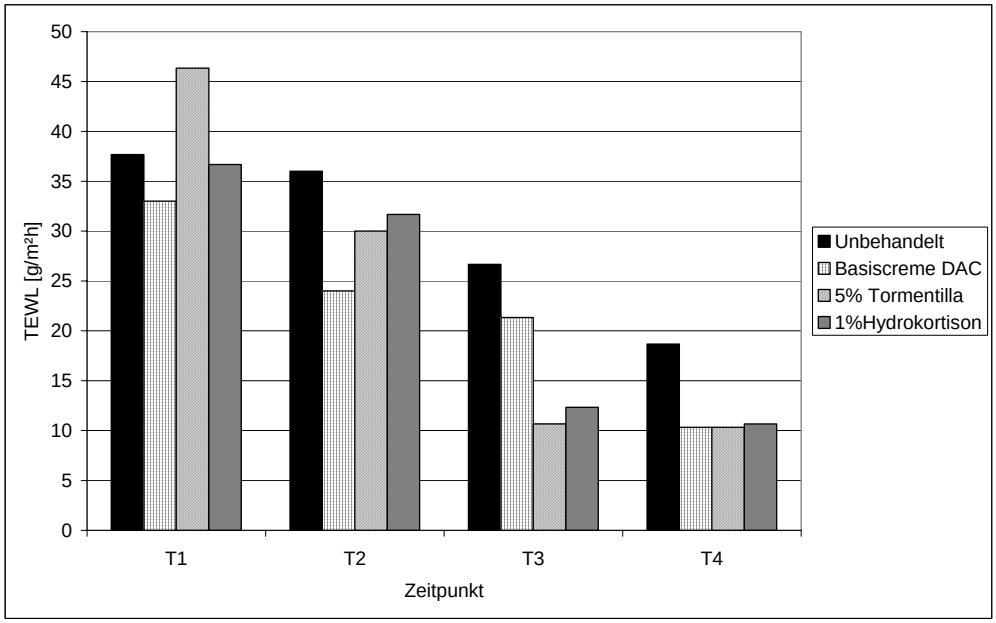

Abb. 29: V4-6 – Tewameter-Verlauf, 1%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

Abb. 30 zeigt die Ergebnisse der mit 2%-iger NLS-Lösung behandelten Testfelder. Die TEWL-Werte aller Testfelder fallen von T1 zu T4 ab. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und der T4-Werte beim Testfeld Hydrokortison am größten, dann folgen die Testfelder Unbehandelt, Tormentilla und Basiscreme DAC.

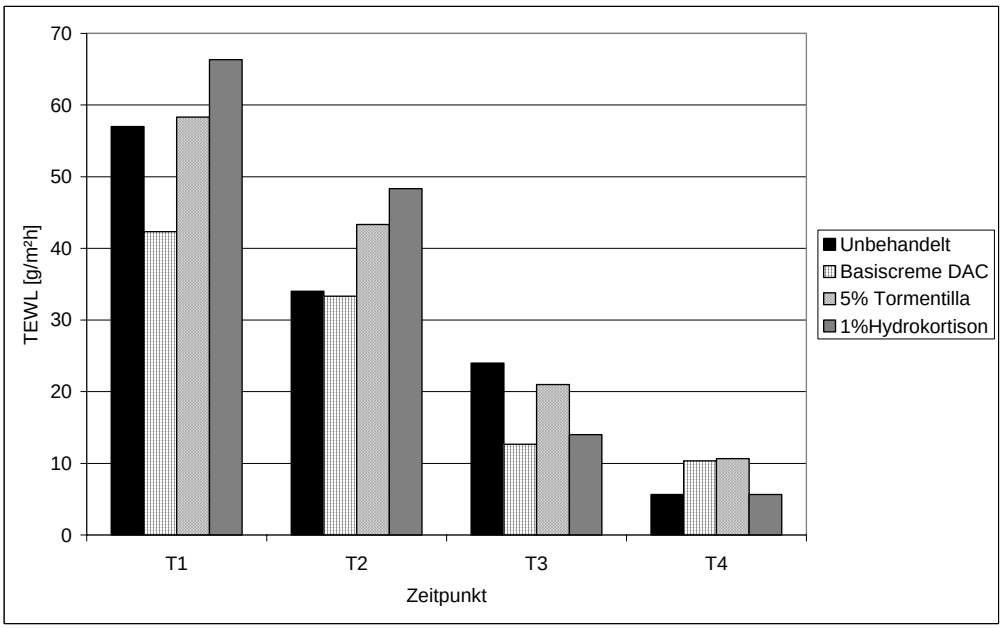

Abb. 30: V4-6 – Tewameter-Verlauf, 2%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

Abb. 31 zeigt die Ergebnisse der mit 3%-iger NLS-Lösung behandelten Testfelder. Die TEWL-Werte aller Substanzen fallen von T1 zu T4 ab. Im Vergleich ist die Differenz der T1- und der T4-Werte beim Testfeld Basiscreme DAC am größten, dann folgen Hydrokortison, Unbehandelt und Tormentilla.

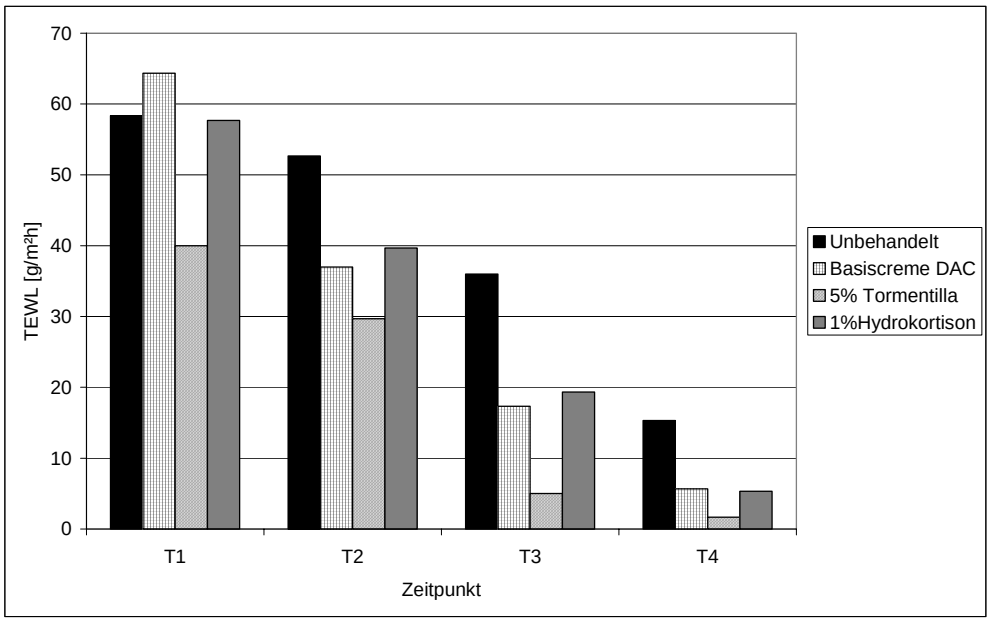

Abb. 31: V4-6 – Tewameter-Verlauf, 3%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

4.1.4.3 Score

In den Abb. 32 bis 34 ist der Verlauf des Scores über die Zeit dargestellt.

Abb. 32 zeigt die Ergebnisse der mit 1%-iger NLS-Lösung gereizten Testfelder. Bei allen Substanzen nimmt der Score von T1 zu T4 ab.

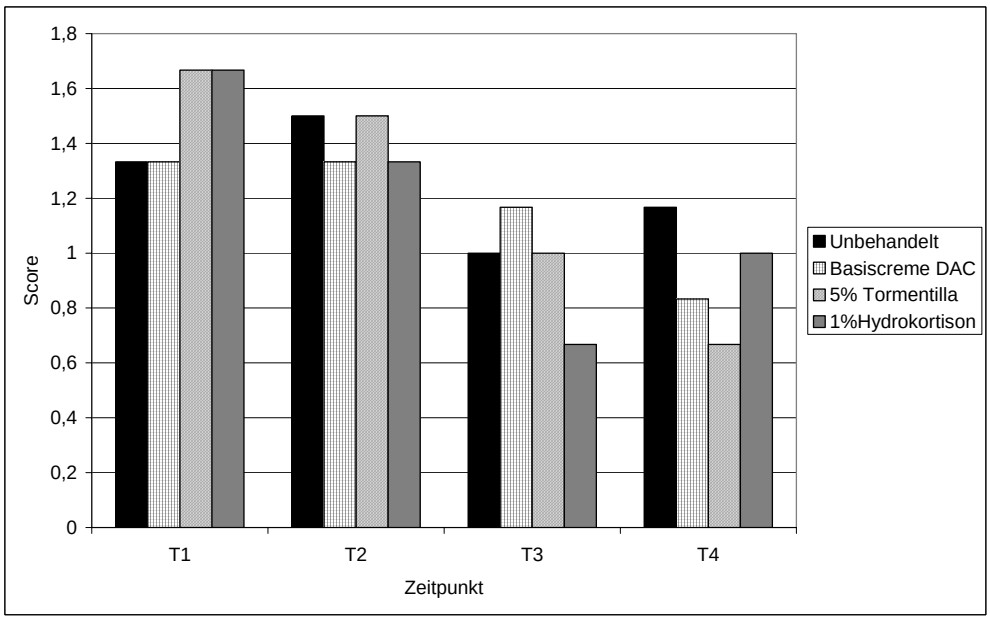

Abb. 32: V4-6 – Score-Verlauf, 1%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

Abb. 33 zeigt die Ergebnisse der mit 2%-iger NLS-Lösung behandelten Testfelder. Bei allen Substanzen fällt der Score von T1 zu T4 ab.

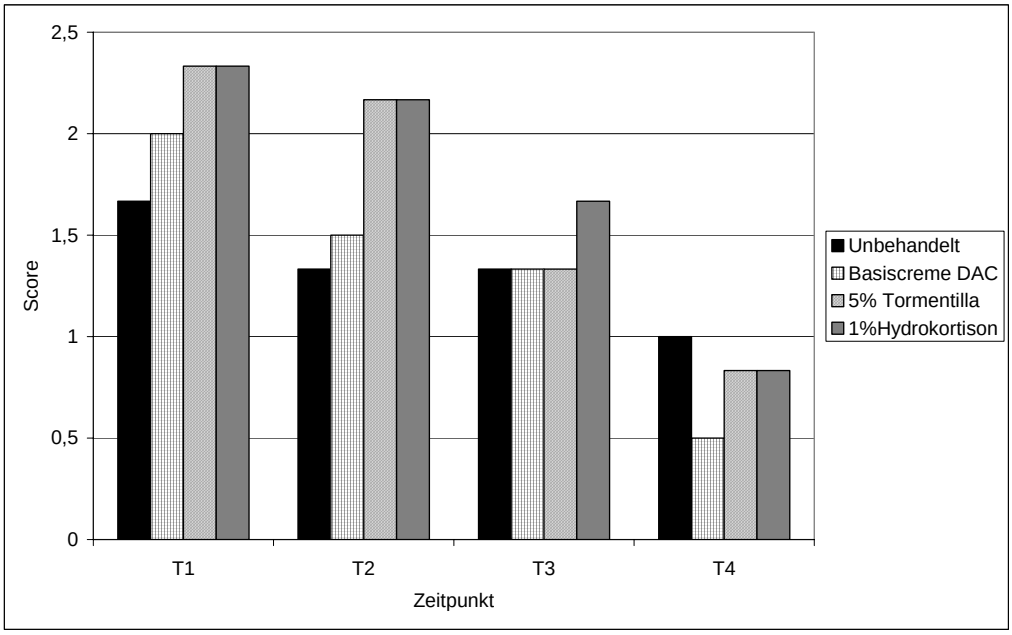

Abb. 33: V4-6 – Score-Verlauf, 2%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

Abb. 34 stellt die Ergebnisse der Testfelder dar, die mit 3%-iger NLS-Lösung gereizt wurden. Der Score nimmt bei allen Substanzen von T1 zu T4 ab.

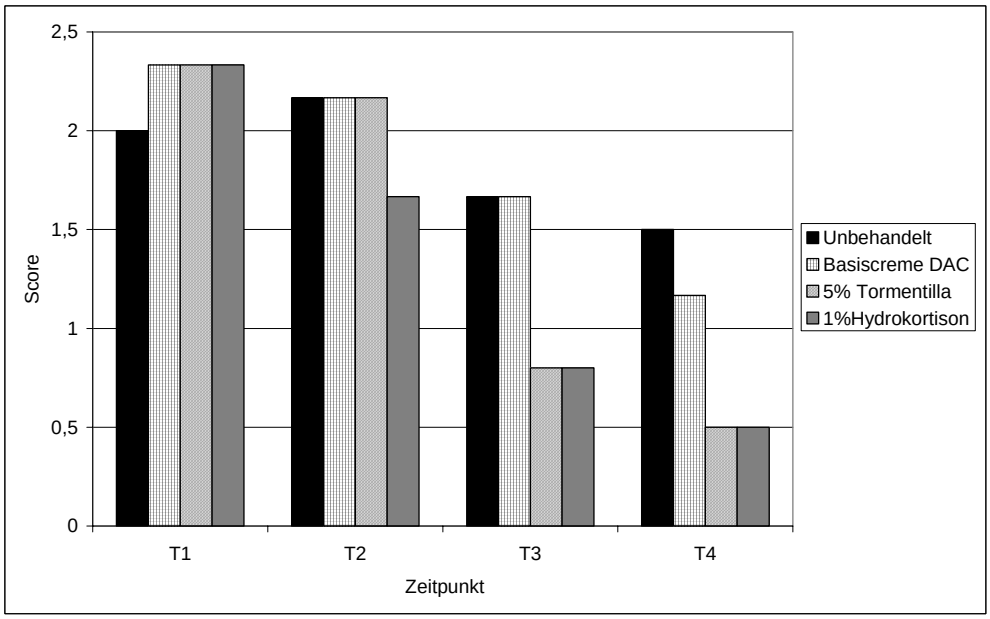

Abb. 34: V4-6 – Score-Verlauf, 3%-ige NLS-Lösung, n= 3 Probanden

4.2 Hauptstudie

4.2.1 Mexameter-Messung

Mit dem Mexameter wurde das Ausmaß des Erythems auf den Testfeldern photometrisch bestimmt.

In Tabelle 9[9] sind die über alle Probanden gemittelten Mexameter-Daten für die einzelnen Substanzen zu den verschiedenen Zeitpunkten aufgeführt. Neben den gemittelten Daten („MEAN“) werden die Standardabweichung („STD“), Minimum- und Maximum-Werte („MIN“, „MAX“) angegeben.

Im folgenden Diagramm ist der Verlauf der ermittelten Mexameter-Werte über die Zeit dargestellt (Abb. 35). Jede Kurve ist einer Substanz zugeordnet. Es wurden die Werte aller Probanden für die jeweilige Prüfsubstanz gemittelt.

Die Kurven der Substanzen Salbei, Tormentilla, Salbei/Tormentilla, Menyanthes, Reseda, Elidel® und Unbehandelt steigen zunächst vom Zeitpunkt T1 bis T2 an, um bis T4 abzufallen. Alle Kurven außer der von Tormentilla erreichen zum Zeitpunkt T4 einen geringeren Mexameter-Wert als zu T1.

Die Kurven der Substanzen Gänsefingerkraut und Basissalbe DAC steigen vom Zeitpunkt T1 bis T3 an, um dann bis T4 abzufallen. Während die Kurve von Gänsefingerkraut zum Zeitpunkt T4 einen höheren Wert als zu T1 erreicht, sind die Werte T1 und T4 bei Basissalbe DAC nahezu gleich.

Die Kurve der Substanz Hydrokortison fällt vom Zeitpunkt T1 zu T2 geringfügig ab, steigt dann zu T3 wieder an, und fällt schließlich bis zum Zeitpunkt T4 ab. Der Wert zum Zeitpunkt T4 ist kleiner als der zu T1.

Vergleicht man bei allen Kurven die Werte von T1 und T4, so erhält man folgendes Ergebnis: Menyanthes zeigt den größten Anstieg von T1 zu T4, gefolgt von Gänsefingerkraut und Tormentilla. Alle anderen Kurven zeigen einen Abfall vom Zeitpunkt T1 zum Zeitpunkt T4. Dabei fällt Elidel am meisten ab, gefolgt von Salbei/Tormentilla und Hydrokortison.

[9] s. Anhang, S. 81

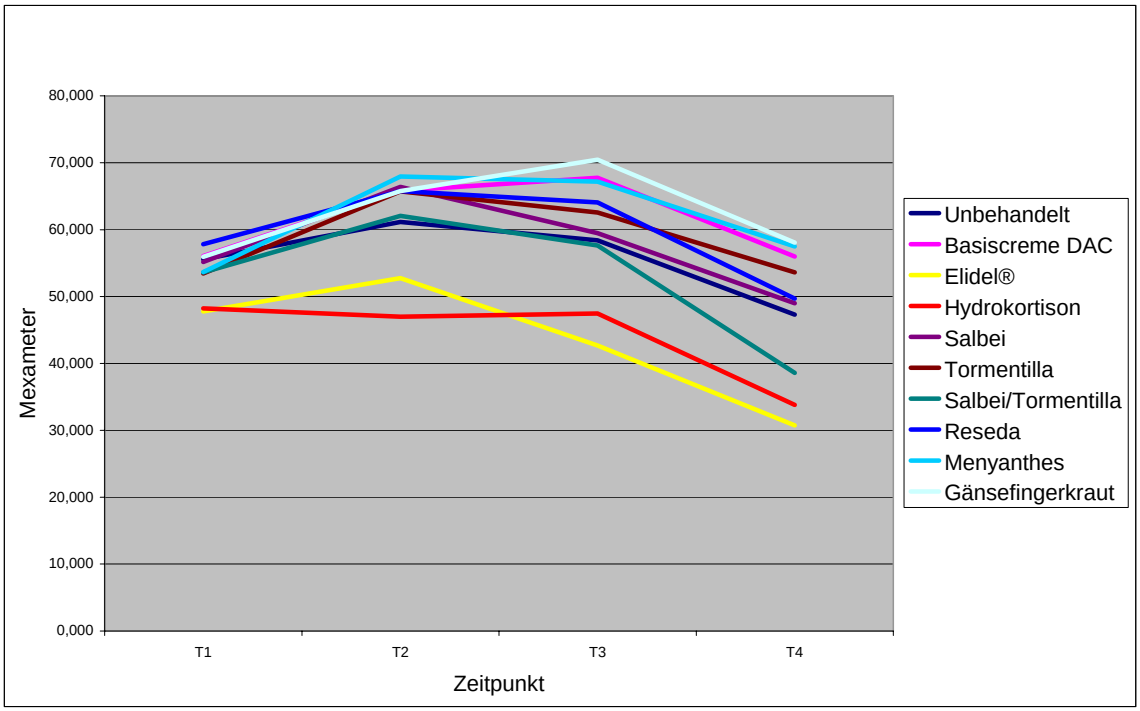

Abb. 35: Mexameter - Verlauf über die Zeit, n= 37 Probanden

4.2.1.1 Varianzanalyse

Die Ergebnisse wurden in der Varianzanalyse miteinander verglichen. In dieses Analyseverfahren gingen die gemittelten Mexameter-Werte ein.

Zunächst sollte die Varianzanalyse Aufschluss darüber bringen, ob die Faktoren Substanz, Zeit, Gruppe und Dreifachmessung („Repeats“) einen Einfluss auf die gemessenen Werte hatten. Die Analyse brachte die Ergebnisse, die in Tab. 5 dargestellt sind. Hochsignifikant war der Einfluss von Substanz, Zeit, Repeats sowie Substanz * Zeit, Substanz * Repeats und Zeit * Repeats auf die Ergebnisse.

Tab. 5: Mexameter - Varianzanalyse 1

Einfluss der Faktoren	**p-Wert**
Substanz	<.0001***
Substanz * Gruppe	0.0015**
Zeit	<.0001***
Zeit * Gruppe	0.8931
Repeats	<.0001***
Repeats * Gruppe	0.1883
Substanz * Zeit	<.0001***
Substanz * Zeit * Gruppe	0.1667
Substanz * Repeats	<.0001***
Substanz * Repeats * Gruppe	0.0332*
Zeit * Repeats	<.0001***
Zeit * Repeats * Gruppe	0.0454*
Substanz * Zeit * Repeats	0.4495
Substanz * Zeit * Repeats * Gruppe	0.4834

Des Weiteren wurde untersucht, wie sich die Ergebnisse in Abhängigkeit von Salbengrundlage und Unbehandelt verhalten. Dies zeigt Tab. 6.

Signifikant war die Abhängigkeit hinsichtlich der Zeit. Nicht signifikant war die Abhängigkeit hinsichtlich Substanz und Substanz * Zeit.

Tab. 6: Mexameter - Varianzanalyse 2

	p-Wert in Abhängigkeit von Salbengrundlage und Unbehandelt
Substanz	0.2092
Zeit	0.0171*
Substanz*Zeit	0.0847

Nachdem die Mexameter-Werte im Allgemeinen untersucht waren, erfolgte für jede einzelne Substanz eine eigene Varianzanalyse. Es wurde die Abhängigkeit der Mexameter-Werte von Substanz und Unbehandelt bzw. von Substanz, Salbengrundlage und Unbehandelt untersucht. Tab. 7 zeigt die Ergebnisse.

In Abhängigkeit von Substanz und Unbehandelt ergab sich hinsichtlich der Zeit für alle Testpräparate ein signifikantes Ergebnis. Hinsichtlich Substanz erreichten Elidel® und Hydrokortison ein signifikantes Ergebnis. Hinsichtlich Substanz * Zeit ergab sich bei Menyanthes ein signifikantes Ergebnis.

Auch in Abhängigkeit von Substanz, Salbengrundlage und Unbehandelt ergab sich hinsichtlich der Zeit für alle Präparate ein signifikantes Ergebnis. Hinsichtlich Substanz erreichten Elidel® und Hydrokortison ein sehr signifikantes Ergebnis. Hinsichtlich Substanz * Zeit ergab sich bei Elidel® ein signifikantes Ergebnis.

Tab. 7: Mexameter - Varianzanalyse 3

Substanz		**p-Wert in Abhängigkeit von Substanz und Unbehandelt**	**p-Wert in Abhängigkeit von Substanz, Salbengrundlage und Unbehandelt**
1% Salbei	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.6953 0.0004*** 0.7329	0.4394 0.0011** 0.2604
5% Tormentilla	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.5409 0.0027** 0.3119	0.4535 0.0029** 0.2856
5% Gänsefingerkraut	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.1734 0.0021** 0.1036	0.2488 0.0026** 0.1866
5% Menyanthes	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.2383 0.0056* 0.0395*	0.2807 0.0040** 0.0829
5% Reseda	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.3491 0.0017** 0.8568	0.3312 0.0029** 0.3687
5%Salbei/1%Tormentilla	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.6622 0.0003*** 0.3388	0.2319 0.0007*** 0.0571
Elidel®	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.0350* <.0001*** 0.2286	0.0016** 0.0009*** 0.0043**
1% Hydrokortison	Substanz Zeit Substanz*Zeit	0.0439* 0.0013** 0.6679	0.0039** 0.0039** 0.1020

4.2.1.2 Friedman-Test

Im Friedman-Test wurde eine Rangvarianzanalyse erstellt (s. Tab. 8). Die Rangsummen der einzelnen Substanzen wurden miteinander verglichen. Eine höhere Rangsumme entspricht einer geringeren Erythemausprägung. Dabei ergab sich bei Elidel® die niedrigste Rangsumme, gefolgt von Hydrokortison. Die höchste Rangsumme wurde bei Gänsefingerkraut erreicht.

Tab. 8: Mexameter - Friedman-Test

Substanz	Rangsumme
1% Salbei	202.0
5% Tormentilla	212.5
5% Gänsefingerkraut	248.0
5% Menyanthes	231.0
5% Reseda	226.0
5%Salbei/1%Tormentilla	192.0
Elidel®	129.0
1% Hydrokortison	152.5
Basiscreme DAC	233.0
Unbehandelt	209.0

4.2.2 TEWL-Messung

Mit dem Tewameter wurde der Wasserverlust über die Haut bestimmt. Pro Testfeld wurde ein Wert gemessen, der in die statistische Analyse einging. Tabelle 12[10] zeigt die über alle Probanden gemittelten TEWL-Daten für die einzelnen Substanzen zu den verschiedenen Zeitpunkten. Aufgeführt sind die gemittelten Daten („MEAN“), Standardabweichung („STD“) und Minimum- und Maximum-Werte („MIN“, „MAX“).

In Abb. 36 sind die Verläufe der TEWL-Werte über die Zeit dargestellt. Es wurden die Werte aller Probanden für die jeweilige Prüfsubstanz gemittelt.

Bei allen Substanzen ist ein kontinuierlicher Abfall der Werte mit der Zeit zu beobachten. Stets liegt der Wert zum Zeitpunkt T4 niedriger als der zum Zeitpunkt T1. Die Differenz zwischen T1 und T4 ist bei Gänsefingerkraut am höchsten, gefolgt von Hydrokortison, Menyanthes und Reseda. Den niedrigsten Wert erreicht die Differenz bei Elidel und Unbehandelt.

[10] s. Anhang, S. 83

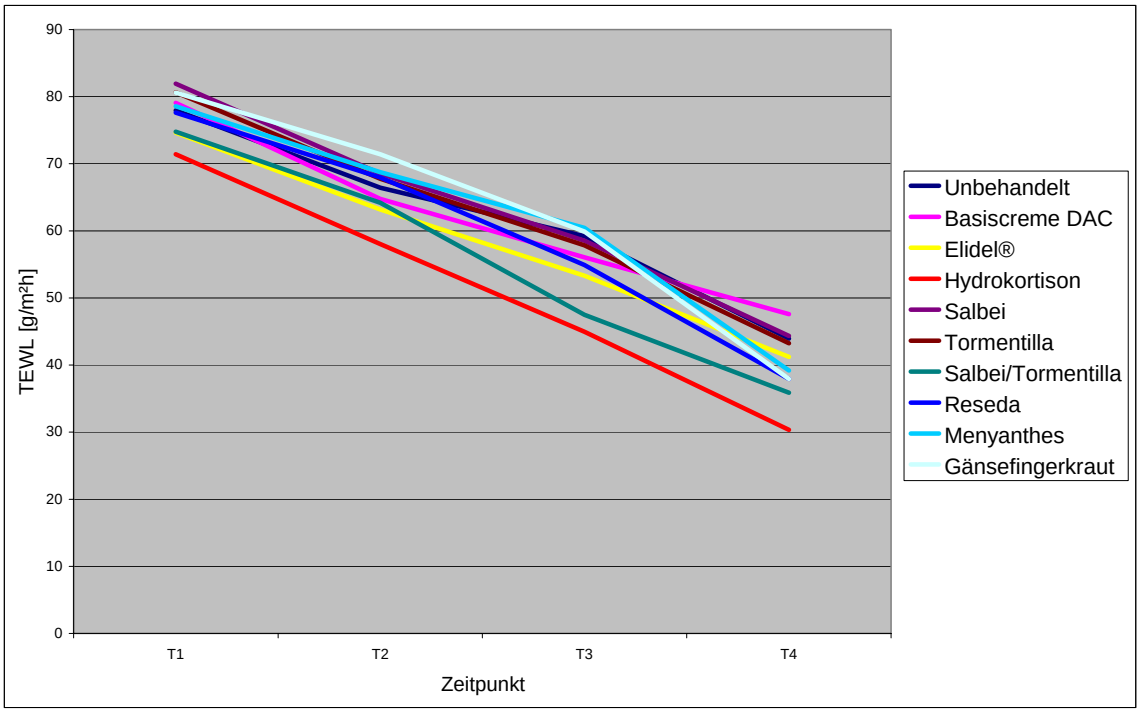

Abb.16: TEWL - Verlauf über die Zeit, n= 37 Probanden

4.2.2.1 Varianzanalyse

Die Varianzanalyse der Tewameter-Daten brachte keine signifikanten Ergebnisse. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Substanzen.

4.2.2.2 Friedman-Test

In den Friedman-Test, die Rangvarianzanalyse, gingen zwei Gruppen von Daten ein.

In der ersten Gruppe (Tab. 10) wurde aus den vier Werten von Zeitpunkt T1 bis T4 ein Mittelwert gebildet und anschließend der Wert des Zeitpunktes T0 abgezogen („itewl“). Die Rangsumme von Hydrokortison zeigt den niedrigsten Wert, gefolgt von Salbei/Tormentilla, Menyanthes und Basiscreme DAC.

Tab. 10: TEWL - Friedman-Test 1

Gruppe 1 ("itewl")	
Substanz	**Rangsumme**
1% Salbei	223,0
5% Tormentilla	223,0
5% Gänsefingerkraut	230,5
5% Menyanthes	197,0
5% Reseda	203,5
5%Salbei/1%Tormentilla	189,5
Elidel®	204,0
1% Hydrokortison	152,5
Basiscreme DAC	200,0
Unbehandelt	212,0

Die Werte der zweiten Gruppe sind in Tab. 11 dargestellt. Sie wurden errechnet, indem vom T4-Wert der T1-Wert abgezogen wurde („dtewl“). Hier erreicht Basiscreme DAC den geringsten Wert, gefolgt von Unbehandelt.

Tab. 11: TEWL - Friedman-Test 2

Gruppe 2 ("dtewl")	
Substanz	**Rangsumme**
1% Salbei	214,0
5% Tormentilla	192,0
5% Gänsefingerkraut	229,5
5% Menyanthes	199,5
5% Reseda	210,0
5%Salbei/1%Tormentilla	225,0
Elidel®	194,5
1% Hydrokortison	217,5
Basiscreme DAC	172,5
Unbehandelt	180,5

4.2.3 Score-Ergebnisse

Zur visuellen Beurteilung des Hautzustandes wurde ein Score herangezogen. Der Score wurde zu den Zeitpunkten T1 bis T4 erhoben, nicht aber zum Zeitpunkt T0. Tabelle 14 [11] zeigt die über alle Probanden gemittelten Score-Daten für die einzelnen Substanzen zu den verschiedenen Zeitpunkten. Aufgeführt sind die gemittelten Daten („MEAN“), Standardabweichung („STD“), Minimum- und Maximum-Werte („MIN“, „MAX“).

In Abb. 37 ist der Verlauf des Scores über die Zeit dargestellt. Es wurden die Werte aller Probanden für die jeweilige Prüfsubstanz gemittelt.

Die Kurven der Substanzen Salbei, Tormentilla, Salbei/Tormentilla, Elidel® und Hydrokortison fallen kontinuierlich ab. Die Kurven der Substanzen Gänsefingerkraut, Menyanthes, Reseda, Basiscreme DAC und Unbehandelt fallen von Zeitpunkt T1 bis T3 ab, um dann wieder anzusteigen. Bei allen Substanzen liegen die Werte zum Zeitpunkt T4 niedriger als die zum Zeitpunkt T1. Die Differenz zwischen T1 und T4 ist bei Elidel® und Salbei/Tormentilla am größten, gefolgt von Hydrokortison. Bei Menyanthes ist die Differenz am geringsten.

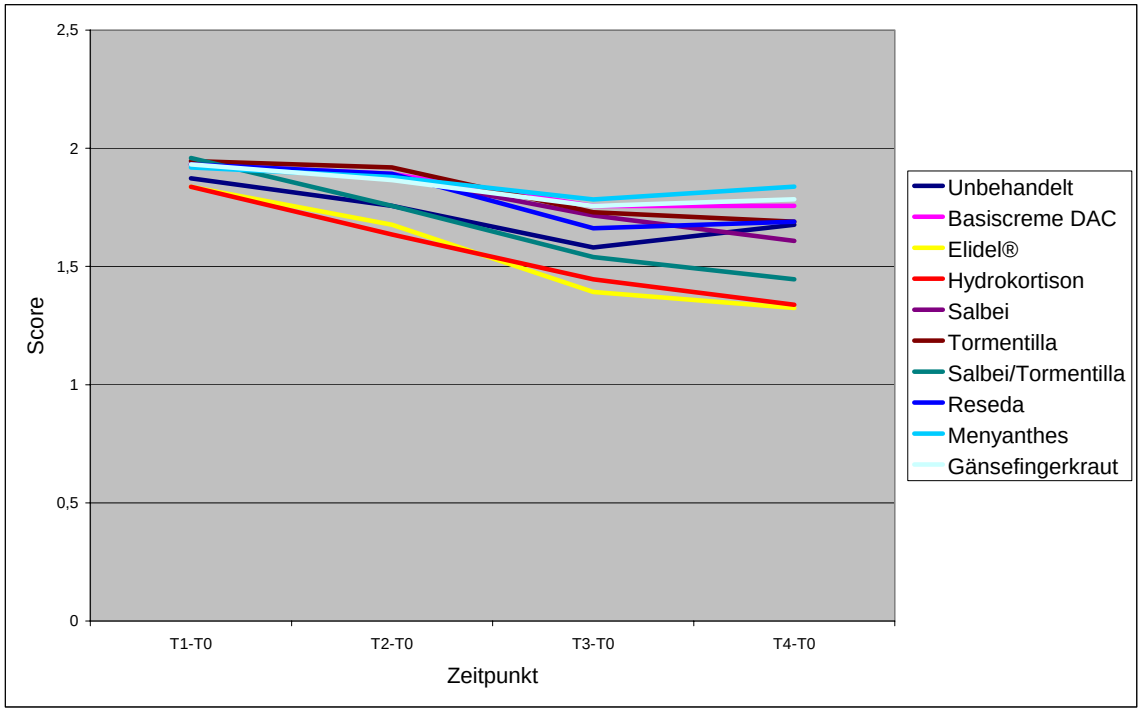

Abb. 37: Score - Verlauf über die Zeit, n= 37 Probanden

[11] s. Anhang, S. 85

4.2.3.1 Varianzanalyse

Eine Varianzanalyse der Score-Daten brachte keine signifikanten Ergebnisse.

4.2.3.2 Friedman-Test

Bei der Rangvarianzanalyse wurden die Daten wie folgt verwendet: Es wurde eine Summe aus den Score-Werten von T1 bis T4 gebildet. Tab. 13 zeigt die Ergebnisse. Die Rangsumme von Hydrokortison zeigt den niedrigsten Wert, gefolgt von Elidel®. Menyanthes erreicht die höchste Rangsumme.

Tab. 13: Score - Friedman-Test

Substanz	**Rangsumme**
1% Salbei	207,5
5% Tormentilla	222,5
5% Gänsefingerkraut	232,5
5% Menyanthes	238,0
5% Reseda	214,0
5%Salbei/1%Tormentilla	181,0
Elidel®	155,5
1% Hydrokortison	148,5
Basiscreme DAC	235,5
Unbehandelt	200,5

5 Diskussion

5.1 Vorversuche

Die Vorversuche dienten dazu, die Bedingungen zur Durchführung des NLS-Testes zu optimieren. Im Folgenden sind die Entscheidungspunkte ausgeführt, welche zur endgültigen Fassung des Prüfplans führten.

Der visuelle Score zur Erythembewertung wurde modifiziert. Im ersten Vorversuch wurde zunächst mit dem Score gearbeitet, den die ESCD vorschlägt [Löffler 1999]. Hier erschien die Abstufung allerdings unzureichend. Es fiel auf, dass sowohl auf Stufe Eins als auch auf Stufe Zwei ein schwaches bzw. mäßiges Erythem oder eine Schuppung verlangt wurde. Auf dieser Ebene gab es keine Unterscheidungsmöglichkeit, ob ein Proband Erythem oder Schuppung oder aber Erythem und Schuppung gleichzeitig aufwies. Dieser Unterschied kam in der Praxis jedoch mehrmals vor. Daher wurde dies als Entscheidungskriterium zwischen Stufe Eins und Zwei eingeführt. Dieser modifizierte Score, welcher in Tab. 3 zu sehen ist, wurde dann in allen Vorversuchen verwendet.

Außerdem wurden zwei verschiedene Salbengrundlagen für die Einarbeitung der Wirkstoffe ausprobiert, Dermatop-Basissalbe und Basiscreme DAC. Im Vorversuch 1 wurde Dermatop-Basissalbe verwendet. Wie aus Abb. 11-13 ersichtlich, bewirkte die Behandlung mit Dermatop-Basissalbe eine Reduktion von Erythem, TEWL und Score, die in ihrer Intensität mindestens genauso stark war wie bei den anderen Prüfpräparaten. Unabhängig davon, ob bzw. welcher Wirkstoff in die Salbengrundlage eingearbeitet war, resultierten vergleichbare Ergebnisse. Dies weist darauf hin, dass schon die Salbengrundlage allein eine deutliche Wirkung auf das Ekzem hat. Die Einarbeitung eines Wirkstoffes brachte offensichtlich keine zusätzliche Besserung. Dadurch konnte keine Aussage über die Potenz der eingearbeiteten Substanzen getroffen werden. Daraufhin wurde anstelle von Dermatop-Basissalbe in den weiteren Vorversuchen Basiscreme DAC verwendet.

Weiterhin diente die Vorversuchsreihe dazu, die zum Zweck der Studie passende NLS-Konzentration zu ermitteln. Die Konzentration sollte ein deutliches Kontaktekzem provozieren. Wünschenswert war dabei, dass die Haut nicht zu stark gereizt wurde. Denn so bestand die Gefahr, dass die Wirkpotenz der Prüfpräparate für eine Heilung der Haut

nicht ausreichen könnte. Die Reizung sollte aber auch nicht so schwach sein, dass die geschädigte Haut von alleine heilen konnte. Im ersten Vorversuch wurde zunächst 5%-iges NLS verwendet, wie es in diesem Testmodell gängig ist [Proksch 2002]. Diese Konzentration stellte sich als zu hoch heraus. Das Kontaktekzem war sehr deutlich ausgeprägt und führte subjektiv zu Unannehmlichkeiten beim Probanden. Im zweiten Vorversuch kam 3%-ige NLS-Lösung zum Einsatz. Hier erwies sich die Hautirritation als geringer, war aber deutlich sicht- und messbar. In den weiteren Vorversuchen wurde dann ein Vergleich der Wirkung von 1%-iger, 2%-iger und 3%-iger NLS-Lösung angestellt. Die Irritation mit der 1%-igen NLS-Lösung führte bei Mexameter (s. Abb.17 und 26) und Tewameter (s. Abb. 20 und 29) nicht zu einem gleichmäßigen, hohen Anstieg der Messwerte. Dies sprach gegen die Verwendung dieser Lösung. Dagegen hatte die Irritation mit 2%-iger und 3%-iger NLS-Lösung eine relativ homogene Auswirkung auf die Haut aller Testfelder, was für die Testbedingungen wichtig war. Im Vergleich der 2%-igen mit der 3%-igen NLS-Lösung schließlich wurde die Wirksamkeit der Basiscreme DAC gemessen an der Wirksamkeit der Testsubstanzen interessant. Betrachtet man die Mexameter-Ergebnisse der Vorversuche 4-6, so war bei Verwendung von 3%-iger NLS-Lösung die Wirksamkeit der Basiscreme DAC schlechter als die der Testsubstanzen. Hier war die Differenz zwischen T1- und T4-Werten bei dem mit Basiscreme DAC behandelten Feld geringer als bei den übrigen Testfelder (s. Abb. 28). Deshalb erschien die 3%-ige NLS-Lösung am besten geeignet, eine differenzierte Aussage über die Wirksamkeit der Testsubstanzen zuzulassen.

Auf der Basis dieser Ergebnisse konnte der Prüfplan endgültig festgelegt werden.

5.2 Hauptstudie

5.2.1 Mexameter

Aus dem Verlauf der Mexameter-Werte über die Zeit (s. Abb. 35) geht hervor, dass das durch NLS hervorgerufene Erythem durch die Behandlung mit Menyanthes, Tormentilla und Gänsefingerkraut verstärkt wurde. Das deutet darauf hin, dass die Haut durch diese Substanzen gereizt wurde. Dagegen wurde durch die übrigen Präparate das Erythem verringert. Im Vergleich ergab sich, dass Elidel® die größte Erythem-Reduktion bewirkte.

In der Varianzanalyse wurde untersucht, ob eine bestimmte Prüfsubstanz, ein bestimmter Zeitpunkt oder die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Gruppe die Ausprägung des Erythems signifikant beeinflusste. Die Ergebnisse sind in Tab. 5 dargestellt. Dabei ergab sich für Substanz, Zeit, Repeats sowie Substanz * Zeit, Substanz * Repeats und Zeit * Repeats ein hochsignifikantes Ergebnis (jeweils p<.0001***). Das bedeutet erstens, dass der gemessene Mexameter-Wert besonders von der Auswahl des Prüfpräparates abhängig war. Je nach verwendetem Präparat reagierte das Erythem in unterschiedlichem Maße. Zweitens wurde das Messergebnis vom Faktor Zeit beeinflusst, was zu erwarten war. Je nach Zeitpunkt der Messung änderte sich das Erythem in seiner Ausprägung. Dieser Zusammenhang von Erythemstärke und Zeit ist auch in den Verläufen der Kurvenschwärme (Abb. 35) zu sehen. Niemals blieb das Erythem von einem Tag zum anderen gleich. Der Einfluss der Dreifachmessung (Repeats) auf die Mexameter-Ergebnisse lässt sich folgendermaßen erklären: Durch das wiederholte Aufsetzen der Messsonde kommt es zu einer leichten Erwärmung der Haut und dadurch zu einer verstärkten Rötung. Deshalb kann es zu vergleichsweise erhöhten Werten bei der zweiten und dritten Messung kommen.

Weiterhin war der Einfluss von Substanz * Gruppe sehr signifikant (p=0,0015**). Die Erythemausprägung hing also gleichzeitig davon ab, mit welcher Prüfsubstanz das Testfeld behandelt wurde, und in welcher Gruppe ein Proband gemäß der Randomisierung eingeteilt war (s. Tab. 1, „Randomisierungsplan“). Der Effekt der Gruppenzugehörigkeit ist unerwartet. Eigentlich sollten die Prüfbedingungen für alle Probanden gleich sein, unabhängig davon, wie ihre Testareale auf dem Rücken angeordnet waren. Möglicherweise wurde der signifikante Einfluss der Gruppe auf die Ergebnisse durch die insgesamt kleine Probandenzahl von 37 Probanden und die bei der

Randomisierung entstandenen kleinen Gruppen von jeweils drei Probanden verursacht. Eine weitere mögliche Erklärung liefern Katsarou et al. [Katsarou 2000]. Danach kommt es beim Messergebnis auf die genaue Stelle am Rücken an, die ein Testfeld einnimmt. Es können bei der Messung am oberen Rücken Verfälschungen entstehen, da es hier im Gegensatz zum unteren Rücken eher zu Reibung und Mikroabrasionen kommen kann. In der hier vorliegenden Studie wurden die Testfelder über den oberen und unteren Rücken verteilt. Es erscheint deshalb möglich, dass nicht für alle Testfelder die gleichen Bedingungen herrschten. Das könnte erklären, warum sich hier eine signifikante Abhängigkeit der Messwerte von der Gruppenzugehörigkeit ergab. Denn je nach Gruppe waren die Testfelder auf dem Rücken anders angeordnet. Allerdings sollte diesem Effekt die Randomisierung entgegenwirken, wonach die Prüfsubstanzen von Gruppe zu Gruppe durch ein Rotationsprinzip in ihrer Lage auf dem Rücken getauscht wurden.

Bei Betrachtung der Ergebnisse in Abhängigkeit von Salbengrundlage und Unbehandelt, wie in Tab. 6 dargestellt, zeigte sich keine Signifikanz hinsichtlich Substanz und Substanz * Zeit. Das heißt, dass weder die Salbengrundlage (Basiscreme DAC) noch der Reizzustand des unbehandelten Testfeldes („Unbehandelt“) die Ergebnisse der mit den einzelnen Präparaten behandelten Testfelder beeinflussten. Das bedeutet zum einen, dass die Ergebnisse der mit den Prüfpräparaten behandelten Felder tatsächlich durch die Wirkstoffe allein bedingt waren, und nicht durch die Einarbeitung in ihre Salbengrundlage. Die Basiscreme DAC alleine bewirkte keine Regeneration der Haut. Zum anderen lässt sich daraus schließen, dass für alle Substanzen hinsichtlich der Irritation die gleichen Voraussetzungen galten.

Eine weitere Varianzanalyse untersuchte jede Substanz für sich. Die p-Werte von Substanz, Zeit und Substanz * Zeit wurden in Abhängigkeit von Substanz und Unbehandelt bzw. von Substanz, Salbengrundlage und Unbehandelt geprüft. Hier konnte untersucht werden, ob ein Unterschied der Signifikanzen mit bzw. ohne Abhängigkeit von der Salbengrundlage bestand. Tab. 7 zeigt die Ergebnisse. Alle Testfelder zeigten Signifikanzen hinsichtlich der Zeit. Bei jedem Areal waren die Wirkung der Prüfsubstanz, das Ausmaß der unbehandelten Irritation und die Wirkung der Salbengrundlage auf die Testfelder vom Zeitpunkt der Messung abhängig. Am deutlichsten zeigte sich dies bei Elidel® ($p<.0001$*** bzw. $p=0.0009$**). Bei Salbei, Salbei/Tormentilla und Elidel® war das Signifikanz-Niveau ohne Abhängigkeit von der Salbengrundlage höher als in Abhängigkeit. Bei Menyanthes verhielt es sich umgekehrt.

Bei den restlichen Testfeldern änderte sich das Level der Signifikanz nicht. Daraus lässt sich ableiten, dass die Salbengrundlage sich im Vergleich mit Menyanthes anders als im Vergleich mit den anderen Substanzen verhielt. Menyanthes bewirkt als einziges Testpräparat im Vergleich eine geringere Erythemreduktion über die Zeit als die Basiscreme DAC. Dies spricht dafür, dass Menyanthes die Haut reizt. Dieser Verdacht zeigt sich auch, wie bereits oben erwähnt, im Kurvenverlauf der Ergebnisse über die Zeit.

Ausschließlich bei den mit Elidel® und Hydrokortison behandelten Arealen ergaben sich Signifikanzen hinsichtlich der Substanz. Nur diese beiden Substanzen konnten eine signifikante Auswirkung auf das Erythem entfalten und es reduzieren. Dabei war das Level der Signifikanz bei Elidel® höher als bei Hydrokortison. Elidel® war somit stärker wirksam. Alle anderen Substanzen zeigten keine Signifikanzen und führten zu keiner nennenswerten Reduktion des Erythems.

Bei der Betrachtung der Elidel®-Ergebnisse muss beachtet werden, dass Pimecrolimus mit seinem MG von 810 Da zu groß ist, um die intakte Hautbarriere zu passieren (s. Kap. 3.3, „Schädigung der Hautbarriere“). Pimecrolimus kann seine Wirkung in der Haut nur entfalten, wenn die Barriere so weit geschädigt ist, dass auch größere Moleküle passieren können. Diese Voraussetzung ist hier durch die Wirkung von NLS gegeben. Laut einer Studie an haarlosen Mäusen von Tsai et al. konnten nach Behandlung der Haut mit NLS Moleküle von bis zu 766 Da in die Haut penetrieren [Tsai 2003]. Pimecrolimus ist nur um wenige Da größer. Bedenkt man aber, dass die Penetration verstärkt entlang der Haarfollikel abläuft [Pagnoni 1994; Lademann 2003] und deren Dichte auf dem Rücken hoch ist [Otberg 2004], überrascht es nicht, dass Pimecrolimus in die Haut eindringen kann. Es lohnt sich an dieser Stelle auch ein Vergleich mit einer früheren Arbeit von Schempp und Mitarbeitern, dem UV-Erythem-Test [Hornstein 2004; Jocher 2005]. Hier zeigte Pimecrolimus keine Wirksamkeit. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die UV-Strahlung die Hautbarriere, im Gegensatz zu NLS, nicht stark genug schädigte. Eine frühere Studie zur Wirksamkeit von Tacrolimus im NLS- und UV-Erythem-Test [Fuchs 2002] konnte keinen hemmenden Effekt von Tacrolimus zeigen. Es kam sogar zu einer Zunahme der Reizung. Dies wurde auf die durch Tacrolimus hervorgerufene Hautreizung zurückgeführt, welche eine bekannte Nebenwirkung darstellt [Reitamo 2000]. Für Pimecrolimus ist ebenfalls ein leichtes Hautbrennen als Nebenwirkung

beschrieben [Ashcroft 2005; Ling 2005], trotzdem konnte hier eine signifikante Reduktion des Erythem-Index gesehen werden.

Brasch et al. haben die Pathophysiologie der Allergischen und der Irritativen Kontaktdermatitis (AKD bzw. IKD) verglichen [Brasch 1992]. Dabei fiel ihnen auf, dass sich die beiden Erkrankungen in Klinik, Histologie und im Immunphänotyp ähnlich sind. Es ergab sich keine signifikante Differenz hinsichtlich T-Zell-Profil, Langerhans-Zell-Dichte und exprimierten Antigenen. Beide enden demzufolge in einer gemeinsamen Endstrecke mit T-Zell-Akkumulation und antigenunabhängiger T-Zell-Aktivierung. Auch Löffler et al. wiesen ein gleiches Zytokinprofil der beiden Kontaktdermatitiden nach [Löffler 2000]. Bekanntlich spielen im Verlauf einer IKD verschiedene proinflammatorische Zytokine eine Rolle. Besondere Beachtung verdienen nach Willis die Zytokine IL-1 und TNF-α, die in der Frühphase der IKD entscheidend sind [Willis 2002]. Durch Pimecrolimus wird u. a. die Produktion von TNF-α inhibiert [Nghiem 2002; Stütz 2003]. Dadurch fehlt einer der wichtigen frühen Marker der IKD. Je weniger TNF-α gebildet wird, desto geringer wird die IKD ausgeprägt. Das zeigt, dass Pimecrolimus die IKD therapeutisch beeinflussen könnte. Es ist außerdem bekannt, dass Pimecrolimus erfolgreich in der Therapie der Atopischen Dermatitis eingesetzt wird [Eichenfield 2003]. Auch die Therapie des Allergischen Kontaktekzems mit Pimecrolimus erscheint viel versprechend [Gupta 2003; Heine 2003]. Bedenkt man nun die oben beschriebenen Übereinstimmungen in der Pathophysiologie der AKD und der IKD, so liegt der Schluss nahe, dass Pimecrolimus auch in der Behandlung der IKD potent ist.

Auch die Nutzung von Hydrokortison erwies sich in den Mexameter-Ergebnissen als wirksam. Es führte nach Elidel® am meisten zu einer Reduktion des Erythems. Bekanntermaßen sind Kortikosteroide antiinflammatorisch wirksam [Forth 2001]. Diese Eigenschaft wurde hier bestätigt. Die Ausprägung des Erythems, die mit dem Grad der Entzündung korreliert, nahm unter Hydrokortisonbehandlung ab. Die Abnahme des Erythems kann außerdem durch den „Blanching-Effekt“ erklärt werden [Ramsing 1995]. Hydrokortison bewirkt eine Vasokonstriktion. Nimmt der Blutfluss in der Haut des Testareals ab, so verringert sich dort auch das Erythem.

Im Friedman-Test der Mexameter-Ergebnisse (Tab. 8) wurden die Rangsummen der einzelnen Substanzen miteinander verglichen. Eine niedrige Rangsumme steht für eine geringe Ausprägung des Erythems. Von besonderem Interesse ist dabei, wie sich die

Rangsummen der verschiedenen Substanzen im Vergleich zu Unbehandelt verhielten. Elidel®, Hydrokortison, Salbei und Salbei/Tormentilla zeigten eine niedrigere Rangsumme als Unbehandelt. Das bedeutet, dass auf diesen Testarealen die Erytheme deutlicher zurückgingen als auf dem unbehandelten. Dabei war die Rangsumme von Elidel® am niedrigsten, gefolgt von Hydrokortison. Elidel® führte zur stärksten Reduktion des Erythems. Die Rangsummen der übrigen Substanzen lagen über der von Unbehandelt. Sie verstärkten alle das Erythem im Vergleich zu Unbehandelt. Am höchsten war die Rangsumme der Substanz Gänsefingerkraut. Diese Substanz scheint die Haut zu irritieren. Das zeigte sich schon im oben beschriebenen Kurvenverlauf der Ergebnisse über die Zeit. Auffällig ist außerdem, dass die Basiscreme DAC eine höhere Rangsumme als Unbehandelt erreicht. Ohne Behandlung nahm das Erythem stärker ab als durch das Auftragen der Salbengrundlage. Das lässt vermuten, dass die Basiscreme DAC die Haut reizt. Ein Grund hierfür könnte das in ihr enthaltene Propylenglykol sein, ein Lösungsvermittler. Nach Schempp und Mitarbeitern wird dieser Substanz eine hautirritierende Wirkung zugeschrieben, weshalb ihr Einsatz in Salben umstritten ist [persönliche Mitteilung, Prof. Dr. Schempp, Freiburg]. Einer Studie von Baurle et al. zufolge treten Hautirritation durch Konzentrationen von Propylenglykol über 10% auf [Baurle 1985]. In der hier vorliegenden Studie betrug die Konzentration 10%.

5.2.2 Tewameter

Aus den Kurvenschwärmen in Abb. 36, die den Verlauf des TEWL über die Zeit darstellen, lässt sich eine gemeinsame Tendenz ablesen: Bei allen Substanzen nimmt der TEWL mit der Zeit ab. Der Abfall ist beim unbehandelten Testfeld am geringsten, was für die Wirksamkeit aller Substanzen gegen die Hautbarriere-Schädigung spricht. Am meisten wurde der TEWL unter Behandlung mit Gänsefingerkraut, Hydrokortison, Menyanthes und Reseda verringert. Elidel® erreichte unter allen Substanzen den schwächsten Effekt.

In der Rangvarianzanalyse sprach eine niedrige Rangsumme für einen niedrigen TEWL. Die Daten wurden auf zwei verschiedene Weisen analysiert:

Zunächst wurden die TEWL-Daten in der Weise verrechnet („itewl“), dass vom Mittelwert der vier Werte von T1 bis T4 der entsprechende T0-Wert abgezogen wurde. Hier wurde sowohl der TEWL-Anstieg, der durch die Reizung durch NLS entstand (T1), als auch der Behandlungsverlauf (T2-4) berücksichtigt und auf einen Durchschnittswert

gebracht. So wurde ermöglicht, die Entwicklung des TEWL über die Zeit unter den Substanzen zu vergleichen. Es ergab sich insgesamt ein hoher „itewl"-Wert, wenn der T1-Wert hoch ausfiel. Je stärker ein Proband initial auf die NLS-Irritation reagierte, desto größer war damit der „itewl"-Wert. Diese TEWL-Analyse stellt also nicht nur die Substanzwirksamkeit dar, sondern sie lässt auch eine Aussage über die Empfindlichkeit der Haut gegen NLS zu. Nach Willis et al. darf man bei einzelnen Individuen nicht von der gleichen Empfindlichkeit gegenüber einem Irritans ausgehen [Willis 2002]. Dabei spielt nicht nur der Unterschied zwischen Atopikern und Nicht-Atopikern eine Rolle. Dieser wurde in der vorliegenden Studie beachtet, indem Atopiker von der Teilnahme ausgeschlossen waren. Die Intensität der Reaktion auf eine Hautreizung wird auch durch genetischen Polymorphismus beeinflusst. Demnach ist beispielsweise die Ausstattung mit proinflammatorischen Zytokinen, besonders mit IL-1 und TNF-α, und möglicherweise auch die mit Hitzeschockproteinen, welche oxidativem Stress entgegenwirken, genetisch festgelegt. Ist die Empfindlichkeit gegenüber NLS variabel, so ist es erschwert, die Ergebnisse im NLS-Test unter den Probanden zu vergleichen. Wenn man allerdings davon ausgeht, dass das NLS auf alle Testfelder homogen aufgetragen wurde und somit auf allen Feldern ähnliche T1-Werte resultierten, erscheint der Vergleich der Wirksamkeit der einzelnen Substanzen gerechtfertigt. Es ergab sich hier bei Hydrokortison die niedrigste Rangsumme. Das weist darauf hin, dass diese Substanz den TEWL am meisten verringerte. Somit regenerierte sich die geschädigte Hautbarriere im Verlauf unter Behandlung mit Hydrokortison am besten. Die höchste Rangsumme erreichte das mit Gänsefingerkraut behandelte Testfeld, was ein weiteres Zeichen dafür ist, dass dieser Pflanzenextrakt die Haut irritiert. In einer früheren Publikation wurde nachgewiesen, dass die in Potentilla anserina enthaltenen Tannine die Hautbarriere vor der schädlichen Wirkung von NLS schützen [Shimizu 1999]. Dies konnte hier nicht bestätigt werden. Möglicherweise liegt der Grund darin, dass hier 3%-ige NLS-Lösung verwendet wurde, während in der genannten Studie 1%-ige NLS-Lösung zum Einsatz kam. In einer weiteren Publikation wurde gezeigt, dass Anthocyane, die auch zu den Inhaltsstoffen von Potentilla anserina zählen, wirksam sind gegen Radiodermatitis, eine massive Entzündungsform mit geschädigter Hautbarriere [Niko Enomoto 2005]. Während hier eine antiinflammatorischen Potenz von Anthocaynen nachgewiesen wurde, gelang dies in der hier vorliegenden Arbeit nicht.

Im zweiten Friedman-Test entstand die Datengruppe („dtewl") durch die Differenz des T4- und des T1-Wertes. Hier lag das Augenmerk darauf, um welchen Betrag der TEWL

durch die Behandlung mit einer Substanz letztendlich verändert wurde. Im Unterschied zu den „itewl“-Werten wurde hier die je nach Proband unterschiedliche Empfindlichkeit gegen NLS durch den Abzug des T1-Wertes ausgeglichen. Es ergab sich die niedrigste Rangsumme für Basiscreme DAC. Die Salbengrundlage alleine hat den TEWL am ehesten verringert und führte so möglicherweise zu einer Regeneration der geschädigten Hautbarriere. Das könnte wegen ihrer Eigenschaft geschehen sein, der Haut Wasser und Lipide zuzuführen. Die Rangsumme des mit Gänsefingerkraut behandelten Feldes war wieder am höchsten.

Vergleicht man die Mexameter- und Tewameter-Ergebnisse der Salbengrundlage, so ergibt sich Folgendes: Die Mexameter-Analyse zeigte, dass durch die Basiscreme DAC das Erythem nicht reduziert werden konnte, sondern die Haut sogar zusätzlich gereizt wurde. Bei der Untersuchung des TEWL dagegen wirkte die Salbengrundlage möglicherweise regenerierend. Das heißt, dass die Basiscreme DAC zwar keinen Einfluss auf die Inflammation der Haut nehmen konnte, möglicherweise aber auf den Zustand der Hautbarriere.

Für Elidel® ergab sich bei der TEWL-Analyse Gegensätzliches zur Mexameter-Untersuchung. Elidel® besserte das Erythem, aber kaum den TEWL. Ein Erythem steht für einen erhöhten Blutfluss in der betroffenen Hautregion. Möglicherweise wirkt Elidel® vasokonstriktorisch, wodurch sich das Erythem verringert, der TEWL jedoch nicht beeinflusst wird. Nach McLaughlin et al. führen Calcineurin-Inhibitoren, zu denen Pimecrolimus gehört, zur renalen Vasokonstriktion [McLaughlin 2003]. Daher erscheint es möglich, dass sie auch in der Haut eine Gefäßverengung bewirken können. Ein Beweis dafür steht allerdings noch aus. Ein heilender Effekt von Hydrokortison auf die geschädigte Hautbarriere wurde nicht belegt. Es wurde hier keine signifikante Verringerung des TEWL durch Hydrokortison nachgewiesen. Ramsing et al. beschäftigten sich mit dem Einfluss von Steroiden auf NLS-behandelte Haut [Ramsing 1995]. Konkret untersuchten sie, ob der antiproliferative Effekt von Kortikoiden die Heilung der geschädigten Hautbarriere verzögert. Grundlage war die Überlegung, dass zur Regeneration der Haut Zellteilung stattfinden müsste. Es stellte sich jedoch heraus, dass Kortikosteroide die Regeneration der Hautbarriere fördern und dass sie antientzündlich wirksam sind. Als mögliche Erklärung geben sie an, dass der antiinflammatorische Effekt gegenüber dem antiproliferativen überwiegt. Sie verwendeten allerdings Betamethasonvalerat, ein hochpotentes Kortikosteroid.

Möglicherweise erklärt dies den fehlenden Effekt von 1% Hydrokortison, einem bekanntermaßen schwach wirksamen Kortikoid, auf den TEWL. In einer Studie von Van der Valk und Maibach dagegen hatten topische Steroide keinen signifikanten Einfluss auf die NLS-geschädigte Hautbarriere [Van der Valk 1989]. Sie vermuten sogar, dass Kortikosteroide irritativ wirken könnten. Deshalb könnte man den Stellenwert von Kortikoiden in der Behandlung der IKD anzweifeln. Nach Rietschel dagegen verhindern Kortikoide, die gleichzeitig mit einem Irritans auf die Haut appliziert werden, die Entzündungsantwort auf das Irritans [Rietschel 1985].

Aramaki et al. haben verschiedene Messmethoden geprüft, die die NLS-Wirkung erfassen können [Aramaki 2001]. Dabei kamen sie zu dem Schluss, dass sich die TEWL-Messung eher in einem Testmodell bewährt, in dem die Haut mit niedrig-konzentriertem NLS (NLS-Konzentration <1%) gereizt wird. Bei Verwendung einer höherer NLS-Konzentration (≥1%) sei der TEWL weniger aussagekräftig. Stattdessen empfehlen sie hier den Laser-Doppler, eine Methode zur Beurteilung der Hautperfusion. Als Erklärung geben sie an, dass niedrige NLS-Konzentrationen zwar die Hautbarriere schädigen und damit den TEWL erhöhen, aber noch keine Inflammation verursachen. Höhere NLS-Konzentrationen dagegen führen zu keiner weitergehenden Barriereschädigung, wohl aber zu einer Entzündungsantwort. Jene könnte dann gegenüber dem TEWL überwiegen. Ramsing et al. kommen zu dem gleichen Schluss [Ramsing 1995]. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, warum im hier vorliegenden Testmodell, in dem 3%-ige NLS-Lösung benutzt wurde, keine signifikanten Ergebnisse resultierten. Welzel et al. untersuchten, wie sich die Okklusion von NLS-behandelter Haut auf den TEWL auswirkt [Welzel 1996]. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Okklusion den TEWL an sich zwar nicht beeinflusst, aber zu einer vermehrten Wasserbildung im Stratum corneum führt. Diese Überwässerung könnte den tatsächlichen TEWL überlagern und die Messergebnisse verfälschen. So könnten die hohen TEWL-Werte in der vorliegenden Studie erklärt werden, die sich trotz Behandlung mit den potentiell regenerierend wirkenden Substanzen nicht signifikant verringerten. Die Okklusion verhinderte durch die Überwässerung möglicherweise eine exakte Beurteilung dessen, wie wirksam die Substanzen gegen die Schädigung der Hautbarriere sind.

Nach einer Studie von Katsarou et al. hat NLS einen prolongierten Effekt auf die irritierte Haut. Es ist demnach keinesfalls ungewöhnlich, dass TEWL und Erythem auch nach mehreren Tagen noch nicht auf ihren Basiswert zurückgekehrt sind, selbst wenn

therapiert wurde [Katsarou 2000]. Auch Agner et al. beobachteten einen protrahierten Wirkeffekt von NLS [Agner 1989]. Aufgrund dieser Erkenntnisse stellt sich die Frage, ob ein längerer Zeitraum zur Messung der Parameter im Versuchsmodell sinnvoll wäre. Nach Lee et al. dauert es mehrere Wochen, bis sich die Haut vollständig von der Irritation durch NLS erholt [Lee 1997]. Trotzdem wurden mit der Behandlung mit Elidel® und Hydrokortison hier gute Ergebnisse erzielt. Offensichtlich waren nur diese zwei Präparate ausreichend antientzündlich wirksam, um die Irritation durch NLS zu lindern.

5.2.3 Score

Der visuelle Score ermöglichte eine Beurteilung der Entzündungsparameter der IKD. Sein Stellenwert ist vergleichbar mit dem der Mexameter-Untersuchung. Dem entsprechend ergaben sich größtenteils die gleichen Ergebnisse in diesen beiden Untersuchungsmethoden.

Die Analyse des Score-Verlaufs über die Zeit (Abb. 37) ergab bei allen Substanzen eine Verbesserung des Hautzustandes. Dieser Effekt war bei der Behandlung mit Elidel® am größten, gefolgt von Salbei/Tormentilla, Hydrokortison und Salbei. Die Rangvarianzanalyse (Tab. 13) bestätigte das antiinflammatorische Potential der Behandlung mit Hydrokortison und Elidel®. Aus den Mexameter- bzw. Score-Ergebnissen von Elidel® und Hydrokortison lässt sich eine gemeinsame Tendenz ableiten. In beiden Methoden zeigte sich, dass die Inflammations-Parameter sanken und die Substanzen damit tendenziell antientzündlich wirksam waren.

Im Vergleich zu Unbehandelt ergaben sich für die Substanzen Menyanthes, Gänsefingerkraut, Reseda, Tormentilla und Basiscreme DAC erhöhte Score-Werte. Das weist darauf hin, dass die Haut durch diese Substanzen gereizt wurde. Diese Beobachtung passt zu den Mexameter-Ergebnissen von Gänsefingerkraut bzw. Menyanthes. Denn auch hier ergab sich, dass die beiden Substanzen nicht regenerierend, sondern irritierend wirkten. Beide wirkten nicht antiinflammatorisch. Dies widerspricht den Erkenntnissen von Bos et al., wonach die in Gänsefingerkraut enthaltenen Ellagitannine antientzündlich wirken [Bos 1996]. Andererseits bestätigte sich das Ergebnis einer Studie von Tunon et al., in der keine Inhibition der Cyclooxygenase durch Gänsefingerkraut nachgewiesen werden konnte [Tunon 1995]. Offensichtlich ist die antiinflammatorische Potenz dieses Pflanzenextraktes nicht groß genug, dem negativen

Effekt von NLS entgegenzuwirken. Auch die Erkenntnis von Huang et al., wonach Menyanthes eine Entzündung hemmen kann [Huang 1995], bestätigte sich nicht. Obwohl diese Pflanze Bitterstoffe enthält, die antiinflammatorisch wirken, wurde die NLS-bedingte Entzündung durch sie nicht verringert. Die Rangvarianzanalyse der Score-Ergebnisse, in der Menyanthes die höchste Rangsumme erreichte, liefert einen weiteren Hinweis darauf, dass dieser Pflanzenextrakt die Haut irritiert. Dagegen zeigten Gänsefingerkraut und Menyanthes ein Potential, die Hautbarriere zu regenerieren (TEWL-Ergebnisse). Ihre Verwendung führt zwar zu einer Verstärkung des Erythems, aber zu einer Verringerung des TEWL.

Die Verwendung von Salbei führte zur Erythem- und Score-Reduktion, jedoch nicht zur TEWL-Reduktion. Tendenziell bestätigten sich hier die bekannten antientzündlichen Eigenschaften dieses Pflanzenextraktes (s. Kap. 2.6.1, „Salvia officinalis L. (Salbei)“).

Tormentilla zeigte weder in der Mexameter- noch in der TEWL- oder Score-Analyse einen Behandlungserfolg. Obwohl die Pflanze u.a. antiinflammatorisch wirksame Ellagitannine enthält (s. Kap. 2.6.2, „Potentilla tormentilla (Blutwurz)“), konnte in dieser Studie keine entzündungshemmende Wirksamkeit belegt werden.

Reseda verringerte das Erythem, wie der Kurvenverlauf der Mexameter-Ergebnisse belegt, und ebenso den TEWL. Der Score stieg dagegen unter Behandlung mit Reseda an. Die antiinflammatorischen Eigenschaften der in ihr enthaltenen Flavonoide, Luteolin und Quercetin (s. Kap. 2.6.5, „Reseda (Färberwau)“) konnten im Ansatz nachgewiesen werden. Interessant ist das Ergebnis einer Studie von Katsarou et al. über Quercetin, ein Flavonoid, welches auch in Reseda enthalten ist [Katsarou 2000]. Hier stellte sich heraus, dass Quercetin keinen signifikanten positiven Effekt auf NLS-behandelte Haut hat. Dies entspricht dem Ergebnis der hier vorliegenden Arbeit.

5.2.4 Ausblick

Nachdem Elidel® seine Wirksamkeit im Testmodell erwiesen hat, stellt sich die Frage, ob es in der Behandlung entzündlicher Dermatosen eine Alternative zu Kortikosteroiden darstellt. Interessant ist der Vergleich des Nebenwirkungsprofils von Elidel® und den hier üblicherweise angewendeten Kortikosteroiden. Elidel® wirkt selektiv auf T-Zellen und Mastzellen und somit nicht, wie Kortikoide, antiproliferativ auf Keratinozyten, Endothelzellen und Fibroblasten. Außerdem nimmt es keinen Einfluss auf die Entwicklung und Funktion dendritischer Zellen und führt nicht zu einer Reduktion von

Langerhans-Zellen in der Epidermis. Auch kommt es bei Behandlung mit Pimecrolimus nicht zu Hautatrophie und Teleangiektasien. Weiterhin unterscheiden sich Pimecrolimus und Kortikoide in ihrer Fähigkeit, durch die Haut in den Blutkreislauf zu penetrieren. Dabei ist die Penetrationsrate von Pimecrolimus im Vergleich mit Steroiden geringer, was für weniger systemische Nebenwirkungen spricht [Stütz 2003; Heine 2003]. Insgesamt zeigt Elidel® also ein weitaus geringeres Nebenwirkungsspektrum als Kortikosteroide und empfiehlt sich damit für die Anwendung in der Dermatologie.

Die antientzündliche Wirksamkeit der untersuchten Pflanzenextrakte zeigte sich nur ansatzweise. Unter Behandlung mit Salbei, Salbei/Tormentilla und Reseda kam es zur Verbesserung des Hautzustandes, wenn auch ohne Signifikanz. Die Tendenz zur antiinflammatorischen Wirksamkeit konnte aber festgestellt werden. Daher sollten diese Pflanzenextrakte in weiteren Studien erprobt werden.

6 Zusammenfassung

In der vorliegenden klinischen Studie wurde an 43 gesunden Probanden ein fünftägiger NLS-Test durchgeführt. In sechs Vorversuchen wurden zunächst die optimalen Rahmenbedingungen der Testdurchführung ermittelt. In der sich anschließenden Hauptstudie wurde an 37 Probanden die antientzündliche Wirksamkeit der Pflanzenextrakte Salbei, Tormentilla, Salbei/Tormentilla, Gänsefingerkraut, Menyanthes und Reseda sowie der Präparate Elidel® und Hydrokortison gegen die NLS-bedingte IKD geprüft und die Ergebnisse untereinander verglichen. Als Prüfparameter wurden mit Hilfe eines Mexameters Erythem-Werte, mit einem Tewameter der Transepidermale Wasserverlust (TEWL), und ein visueller Score erhoben. Die Varianzanalyse der Erythem-Ergebnisse ergab keine Abhängigkeit der Substanzwirkungen von der Salbengrundlage. Bei der Erythem-Auswertung ergaben sich positive Ergebnisse für Elidel® und Hydrokortison. Beide hatten eine sehr signifikante Auswirkung auf das Erythem, wobei diese bei Elidel® deutlicher war als bei Hydrokortison. Alle anderen Substanzen waren gegen das Erythem nicht wirksam. Die Analyse der TEWL-Ergebnisse erbrachte keinerlei signifikante Unterschiede, wobei sich aber für die Substanzen Hydrokortison, Gänsefingerkraut, Menyanthes und Reseda eine Tendenz zur Reduktion des TEWL abzeichnete. In der Analyse der Score-Ergebnisse zeigten Elidel®, Hydrokortison, Salbei und Salbei/Tormentilla eine heilende Potenz, welche jedoch nicht signifikant war.

Die im Testmodell erwiesene Wirksamkeit von Elidel® spricht dafür, es vermehrt zur Behandlung der IKD einzusetzen. Besonders attraktiv zeigt es sich im Vergleich zu den üblicherweise bei der IKD angewendeten Kortikosteroiden, da es in dieser Studie eine bessere Wirksamkeit zeigte und außerdem ein günstigeres Nebenwirkungsprofil aufweist.

7 Literaturverzeichnis

Agner T, Serup J (1989) Skin reactions to irritants assessed by non-invasive bioengineering methods. Contact Dermatitis 20(5): 352-359

Aramaki J, Effendy I, Happle R, Kawana S, Löffler C, Löffler H (2001) Which bioengineering assay is appropriate for irritant patch testing with sodium lauryl sulfate?. Contact Dermatitis 45(5): 286-290

Ashcroft DM, Dimmock P, Garside R, Stein K, Williams HC (2005) Efficacy and tolerability of topical pimecrolimus and tacrolimus in the treatment of atopic dermatitis: meta-analysis of randomized controlled trials. BMJ 330(7490): 516-524

Baricevic D, Sosa D, Della Loggia S, Tubaro A, Smonovska B, Krasna A, Zupancic A (2001) Topical anti-inflammatory activity of Salvia officinalis L. leaves: The relevance of ursolic acid. J Ethnopharmacol 75(2-3): 125-132

Basilico MZ, Basilico JC (1999) Inhibitory effects of some spice essential oils on Aspergillus ochraceus NRRL 3174 growth and ochratoxin A production. Lett Appl Microbiol 29(4): 238-241

Baurle G, Bieber S, Hornstein OP, Nurnberg E, Muckenschnabel R (1985) The suitability of propylene glycol (1, 2-propanediol) as an active antimicrobial adjuvant in ointments. Zeitschrift für Hautkrankheiten 60(15): 1198-213

Bos JD, Meinhardi MMHM (2000) The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. Exp Dermatol 9: 165-169

Bos MA, Vennat B, Maunier MT, Pouget MP, Pourrat A, Filiap J (1996) Procyanidins from tormentil: antioxidant properties towards lipoperoxidation and anti-elastase activity. Biol Pharm Bull 19: 146-148

Brasch J, Burgard J, Sterry W (1992) Common pathogenic pathways in allergic and irritant contact dermatitis. J Investigative Dermatol 98(2): 166-170

Cook NC, Samman S (1996) Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. Nutritional Biochemistry 7: 66-76

Eichenfield LF, Beck L (2003) Elidel (pimecrolimus) cream 1%: A nonsteroidal topical agent for the treatment of atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol 111(5): 1153-1168

Fintelmann V, Menßen HG, Siegers CP (1993) Phytotherapie-Manual. Pharmazeutischer, pharmakologischer und therapeutischer Standard. 2. Aufl. Hippokrates Verl., Stuttgart

Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K (2001) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 8. Aufl. Urban & Fischer Verlag, München

Frohne D, Jensen U (1998) Systematik des Pflanzenreichs unter besonderer Berücksichtigung chemischer Merkmale und pflanzlicher Drogen. 5. Aufl. Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart

Frosch PJ, Kurte A, Pilz B (1993) Efficiacy of skin barrier creams (III): The repetitive irritation test (RIT) in humans. Contact Dermatitis 29: 113-118

Frosch PJ, Kurte A (1994) Efficiacy of skin barrier creams (IV): The repetitive irritation test (RIT) with a set of 4 standard irritants. Contact Dermatitis 31: 161-168

Fuchs M, Schliemann-Willers S, Heinemann C, Elsner P (2002) Tacrolimus enhances irritation in a 5-day human irritancy in vivo model. Contact Dermatitis 46: 290-294

Gehring W, Gloor M (2000) Effect of topically applied dexpanthenol on epidermal barrier function and stratum corneum hydration. Results of a human in vivo study. Arzneimittalforschung 50(7): 659-663

Gupta AK, Chow M (2003) Pimecrolimus: a review. J Europ Acad Dermatol Venereol 17(5): 493-503

Hänsel R, Sticher O, Steinegger E (2004) Pharmakognosie, Phytopharmazie. 7. Aufl. Springer, Berlin

Heine G, Sterry W, Worm M (2003) Topical immunomodulators for the treatment of eczematous skin diseases. Wien Med Wochenschr 153: 522-525

Hornstein Silke (2004) Untersuchung der antiinflammatorischen Wirkung von lokal applizierten Pharmaka im UV-Erythem-Test. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des zahnmedizinischen Doktorgrades, Med. Fakultät der Universität Freiburg.

Huang C, Tunon H, Bohlin L (1995) Anti-inflammatory compounds isolated from Menyanthes trifoliata L. Yao Hsueh Hsueh Pao – Acta Pharmaceutica Sinica 30: 621-626

Jocher A, Kessler S, Hornstein S, Schulte Monting J, Schempp CM (2005) The UV erythema test as a model to investigate the anti-inflammatory potency of topical preparations. Re-evaluation and optimization of the method. Skin Pharmacol Physiol 18(5): 234-40

Kashiwada Y (1992) Antitumor agents, 129. Tannins and related compounds as selective cytotoxic agents. J Nat Prod 55: 1033-1043

Katsarou A, Davoy E, Xenos K, Armenaka M, Theoharides TC (2000) Effect of an antioxidant (quercetin) on sodium-lauryl-sulfate-induced skin irritation. Contact Dermatitis 42(2): 85-89

Kessler Sibylle (2004) Untersuchung der antiinflammatorischen Wirkung von Pflanzenextrakten im UV-Erythem-Test. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des zahnmedizinischen Doktorgrades, Med. Fakultät der Universität Freiburg.

Kim SY, Moon TC, Chang HW, Son KH, Kang SS, Kim HP (2002) Effects of Tanshinone I isolated from Salvia miltiorrhiza bunge on arachidonic acid metabolism and in vivo inflammatory response. Phytother Res 16(7): 616-620

Kimata M, Shichijo M, Liura T, Serizava I, Inagaki N, Nagai H (2000) Effect of luteolin, quercetin and baicalein on immunoglobulin E-mediated release from human cultured mast cells. Chem Exp Allergy 30: 501

Lademann J, Otberg N, Richter H, Jacobi U, Schaefer H, Blume-Peytavi U, Sterry W (2003) Follicular penetration. An important pathway for topically applied substances. Hautarzt 54(4): 321-323

Lee CH, Maibach HI (1995) The sodium lauryl sulfate model: an overview [Review]. Contact Dermatitis 33(1): 1-7

Lee JY, Effendy I, Maibach HI (1997) Acute irritant contact dermatitis: recovery time in man. Contact Dermatitis 36(6): 285-290

Ling M, Gottlieb A, Pariser D, Caro I, Stewart D, Scott G, Abrams K (2005) A randomized study of safety, absorption and efficacy of pimecrolimus cream 1% applied twice or four times daily in patients with atopic dermatitis. J Dermatolog Treat 16(3): 142-148

Löffler H, Effendy I, Happle R (1996) Natriumlaurylsulfat-Test. Eine nichtinvasive Funktionsprüfung der Hautempfindlichkeit. Hautarzt 47: 832-838

Löffler H, Effendy I, Happle R (1999) Epikutane Testung mit Natriumlaurylsulfat. Nutzen und Grenzen in Forschung und Praxis. Hautarzt 50: 769-778

Löffler H, Effendy I, Happle R (2000) Die irritative Kontaktdermatitis. Hautarzt 51: 203-218

Lund K, Rimpler H (1985) Tormentillwurzel. Isolierung eines Ellagitannins und pharmakologisches Screening. Dtsch Apoth Ztg 125: 105-108

Masuda T, Inaba Y, Maekawa T, Takeda Y, Tamura H, Yamaguchi H (2002) Recovery mechanisms of the antioxidant activity from carnosic acid Quinone, an oxidized Sage and Rosemary antioxidant. J Agric Food Chem 50: 5863-5869

McLaughlin GE, Kashimawo LA, Steele BW, Kuluz JW (2003) Reversal of acute tacrolimus-induced renal vasoconstriction by theopylline in rats. Pediatric critical care medicine 4 (3): 358-362

Miko Enomoto T, Johnson T, Peterson N, Homer L, Walts D, Johnson N (2005) Combination gluthatione and anthocyanins as an alternative for skin caring during external-beam radiation. Am J Surg 189(5) 627-630

Murayama T, Kishi N, Koshiura R, Takagi K, Furukawa T, Miyamoto KI (1992) Agrimoniin, an antitumor tannin of Agrimonia pilosa Ledeb., induces Interleukin-1. Anticancer Res 12: 1471-1474

Nghiem P, Pearson G, Langley RG (2002) Tacrolimus and pimecrolimus: From clever procaryotes to inhibiting calcineurin and treating atopic dermatitis. [Review]. J Am Acad Dermatol 46 (2): 228-241

Otberg N, Richter H, Schaefer H, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J (2004) Variations of hair follicle size and distribution in different body sites. J Invest Dermatol 122(1): 14-19

Pagnoni A, Kligman AM, El Gamal S, Stoudemayer T (1994) Determination of density of follicles on various regions of the face by cyanoacrylate biopsy: correlation with sebum output. Br J Dermatol 131(6): 862-865

Pahlow M (1993) Das große Buch der Heilpflanzen. 1. Aufl. Gräfe und Unzer, München

Pietta PG (2000) Flavonoids as antioxidants. [Review]. J Nat Prod 63: 235-240

Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J (1990) Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. Contact Dermatitis 22: 164-178

Pitarokili D, Tzakou O, Loukis A, Harvala C (2003) Volatile metabolites from Salvia fructinosa as antifungal agents in soilborne pathogens. J Agric Food Chem 51: 3294-3301

Pourrat A, Coulet M, Pourrat H (1963) Activités bactériostatiques et agglutinante de complexes tanniques extraits de la tormentille, du fraisier et de l'eglantier. Ann Pharm Franc 21 : 55-58

Proksch E (2002) Dexpanthenol. Neues zur Wirksamkeit eines dermatologischen Klassikers. Dermo Topics, Ausgabe 2 (2002)

Ramsing DW, Agner T (1995) Efficacy of topical corticosteroids on irritant skin reactions. Contact Dermatitis 32(5): 293-297

Rietschel RL (1985) Irritant and allergic response as influenced by triamcinolone in patch test materials. Arch Dermatol 121: 68-69

Reitamo S, Wollenberg A, Schöpf E, Perrot JL, Marks R, Ruzicka T, Christophers E, Kapp A, Lahfa M, Rubins A, Jablonksa S, Rustin M (2000) Safety and efficacy of 1 year of tacrolimus ointment monotherapy in adults with atopic dermatitis. The European Tacrolimus Ointment Study Group. Arch Dermatol 136(8): 999-1006

Roth L, Daunderer M, Kormann K (1994) Giftpflanzen – Pflanzengift. Vorkommen, Wirkung, Therapie - Allergische und phototoxische Reaktionen. Ecomed, Landshut 4: 630

Santos-Gomes PC, Fernandes-Ferreira M (2003) Essential oils produced by in vitro shoots of Sage (Salvia officinalis L.) J Agric Food Chem 51: 2260-2266

Schneider G, Hiller K (1999) Arzneidrogen. 4. Aufl. Spektrum Akad. Verl., Heidelberg

Scholz E (1994) Pflanzliche Gerbstoffe. Pharmakologie und Toxikologie. Dtsch Apoth Ztg 134: 3167-3179

Schwarz K, Ternes W (1992) Antioxidative constituents of Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis L. Determination of phenolic diterpenes with antioxidative activity amongst tocochromanols using HPLC. Z Lebensm Unters Forsch 195(2): 95-98

Shimizu T, Maibach HI (1999) Squamometry: an evaluation method for a barrier protectant (tannic acid). Contact Dermatitis 40(4): 189-191

Stütz A, Grassberger M, Meingassner JG (2003) Entstehungsgeschichte und präklinisches Profil von Pimecrolimus. Hautarzt 54: 405-412

Toreda M, Verrandiz ML, Alcaraz MJ (1994) Influence of anti-inflammatory flavonoids on degranulation and arachidonic acid release from rat neutrophils. Z Naturforschung C49: 235-240

Tsai JC, Shen LC, Sheu HM, Lu CC (2003) Tape stripping and sodium dodecyl sulfate treatment increase the molecular weight cutoff of polyethylene glycol penetration across murine skin. Arch Dermatol Res 295: 169-174

Tunon H, Olavsdotter C, Bohlin L (1995) Evaluation of anti-inflammatory activity of some Swedish medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF-induced exocytosis. J Ethnopharmacol 48: 61-76

Tupker RA, Willis C, Berardesca E, Lee CH, Fartasch M, Agner T, Serup J (1997) Guidelines on sodium lauryl sulfate (SLS) exposure tests. A report from the Standarization Group of the European Society of Contact Dermatitis. Contact Dermatitis 37: 53-69

Van der Valk PGM, Maibach HI (1989) Do topical corticosteroids modulate skin irritation in human beings? Assessment by transepidermal water loss and visual scoring. J Am Acad Dermatol 21(3 Pt 1): 519-522

Vennat B, Bos MA, Pourrat A, Bastide P (1994) Procyanidins from tormentil: fractionation and study of the anti-radical activity towards superoxide anion. Biol Pharm Bull 17: 1613-1615

Volodina EV, Maksimovskii IM, Lebedev KA (1997) The combined treatment of lichen ruber planus of the mouth mucosa. Stomatologiia (Mosc) 76: 28-32

Wagner H (1999) Arzneidrogen und ihre Inhaltsstoffe. 6. Aufl. Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart.

Wang M, Kikuzaki H, Zhu N, Sang S, Nakatani N, Ho CT (2000) Isolation and structural elucidation of two new glycosides from Sage (Salvia officinalis L.) J Agric Food Chem 48: 235-238

Weiss RF, Fintelmann V (2002) Lehrbuch der Phytotherapie. 10. Aufl. Hippokrates Verl., Stuttgart

Welzel J, Wilhelm KP, Wolff HH (1996) Skin permeability and occlusion: no delay of repair in irritated human skin. Contact Dermatitis 35(3): 163-168

Willis CM (2002) Variability in responsiveness to irritants: thoughts on possible underlying mechanisms [Review]. Contact Dermatitis 47: 267-271

8 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Familienname:	Seiler
Vorname:	Carola Dorothea
Geburtsdatum:	05.10.1981
Geburtsort:	Oettingen i. Bay.
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	ledig

Schullaufbahn:

1987-1991	Volksschule Oettingen
1991-2000	Albrecht-Ernst-Gymnasium Oettingen
06/2000	Allgemeine Hochschulreife

Studium:

seit WS 2000/2001	Studium der Humanmedizin an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Herbst 2002	Ärztliche Vorprüfung
Herbst 2003	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Herbst 2006	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Herbst 2007	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Christoph M. Schempp für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Überlassung des Dissertationsthemas und die Betreuung der Arbeit. Seine stetige Unterstützung und konstruktive Diskussionsbereitschaft waren von unschätzbarem Wert.

Bei Frau Dr. Kathrin Engel möchte ich mich an dieser Stelle für ihre ausgezeichnete Unterstützung bei der Durchführung und Ausarbeitung der Arbeit, ihre zahlreichen Anregungen und ständige Bereitschaft zu Diskussionen und Besprechungen herzlichst bedanken.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Schulte-Mönting, der die statistische Bearbeitung der Daten ermöglichte.

Herrn Prof. Dr. med. Uwe Frank danke ich herzlich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Schempp sowie den Mitarbeitern in der Phototherapie möchte ich für die gute Zusammenarbeit danken.

Bei Ute Schmidt, Till Seiler, Stefanie Rager und Aylin Wiek bedanke ich mich für die Durchsicht meiner Arbeit und ihre konstruktive Kritik.

10 Anhang

10.1 Randomisierungsplan

Tab. 1: Randomisierungsplan

Gruppe	Proband	Testareale				Gruppe	Proband	Testareale			
		Links		Rechts				Links		Rechts	
1	1, 4, 5, 7	1	K			7	22-24			6	K
		2	U	7	R			1	R	7	U
		3	DAC	8	M			2	M	8	DAC
		4	S	9	G			3	G	9	S
		5	T	10	E			4	E	10	T
		6	TS	11	H			5	H	11	TS
2	6, 8, 9	1	U	7	R	8	25-27	1	R	6	U
		2	DAC	8	M			2	M	7	DAC
		3	S	9	G			3	G	8	S
		4	T	10	E			4	E	9	T
		5	TS	11	H			5	H	10	TS
		6	K							11	K
3	10-12	1	DAC	7	M	9	28-30	1	M	6	DAC
		2	S	8	G			2	G	7	S
		3	T	9	E			3	E	8	T
		4	TS	10	H			4	H	9	TS
		5	K							10	K
		6	U	11	R			5	R	11	U
4	13-15	1	S	7	G	10	31-33	1	G	6	S
		2	T	8	E			2	E	7	T
		3	TS	9	H			3	H	8	TS
		4	K							9	K
		5	U	10	R			4	R	10	U
		6	DAC	11	M			5	M	11	DAC
5	16-18	1	T	7	E	11	34-36	1	E	6	T
		2	TS	8	H			2	H	7	TS
		3	K							8	K
		4	U	9	R			3	R	9	U
		5	DAC	10	M			4	M	10	DAC
		6	S	11	G			5	G	11	S
6	19-21	1	TS	7	H	12	37-39	1	H	6	TS
		2	K							7	K
		3	U	8	R			2	R	8	U
		4	DAC	9	M			3	M	9	DAC
		5	S	10	G			4	G	10	S
		6	T	11	E			5	E	11	T

Fortsetzung Tab. 1: Randomisierungsplan

K	*Kontrolle*	*R*	*Reseda*
U	*unbehandelt*	*M*	*Menyanthes*
DAC	*Basiscreme DAC*	*G*	*Gänsefingerkraut*
S	*Salbei*	*E*	*Elidel®*
T	*Tormentilla*	*H*	*Hydrokortison*
TS	*Tormentilla/Salbei*		

10.2 Rohdaten

10.2.1 Mexameter-Rohdaten

Tab. 9: Mexameter – Rohdaten

Substanz	Zeitpunkt	MEAN	STD	MIN	MAX
1% Salbei	T0	573	22,312	528	617
	T1	629	20,967	587	671
	T2	646	28,838	605	714
	T3	648	37,545	579	723
	T4	639	38,086	574	712
5 %Tormentilla	T0	573	22,982	526	627
	T1	628	24,148	571	676
	T2	645	24,312	582	697
	T3	651	33,450	591	726
	T4	644	36,276	583	729
5% Gänsefingerkraut	T0	570	22,020	532	617
	T1	627	26,247	557	695
	T2	642	27,266	573	705
	T3	656	32,793	602	726
	T4	645	33,184	593	740
5% Menyanthes	T0	570	23,465	533	639
	T1	625	28,497	537	677
	T2	644	314.89	542	705
	T3	653	31,741	548	717
	T4	645	29,057	574	698
5% Reseda	T0	572	18,988	541	613
	T1	631	25,698	551	686
	T2	644	29,189	554	688
	T3	652	34,683	573	716
	T4	639	32,693	570	703
5%Salbei/1%Tormentilla	T0	571	148.637	533	622
	T1	625	24,082	576	680
	T2	639	35,903	554	705
	T3	644	43,186	571	729
	T4	627	463.79	556	749
Elidel®	T0	573	19,591	533	621
	T1	621	27,113	553	672
	T2	632	34,986	547	686
	T3	631	39,235	537	713
	T4	621	39,470	564	708
1% Hydrokortison	T0	570	21,807	537	622
	T1	619	27,490	555	671
	T2	623	38,481	523	677
	T3	633	42,274	524	710
	T4	621	44,757	539	725
Basiscreme DAC	T0	569	20,657	531	616
	T1	627	24,172	570	686

Fortsetzung Tab. 9: Mexameter – Rohdaten

Substanz	Zeitpunkt	MEAN	STD	MIN	MAX
Basiscreme DAC	T2	642	25,164	592	689
	T3	653	34,397	594	721
	T4	643	38,831	572	716
Kontrolle	T0	575	22,208	541	616
	T1	576	24,048	531	632
	T2	582	26,570	522	641
	T3	591	25,841	536	637
	T4	592	19,542	550	632
Unbehandelt	T0	573	25,299	532	629
	T1	630	26,257	552	676
	T2	641	29,36	561	699
	T3	647	35,867	555	715
	T4	638	39,018	551	717

10.2.2 Tewameter-Rohdaten

Tab. 12: TEWL – Rohdaten

Substanz	Zeitpunkt	MEAN	STD	MIN	MAX
1% Salbei	T0	14.784	3.326	9	23
	T1	102.270	21.862	21	133
	T2	88.081	27.769	24	130
	T3	76.541	37.279	22	137
	T4	61.892	36.065	18	130
5% Tormentilla	T0	15.054	3.551	9	23
	T1	101.243	23.391	20	129
	T2	87.568	30.169	20	135
	T3	76.135	36.291	18	132
	T4	61.054	35.794	21	120
5% Gänsefingerkraut	T0	15.541	3.493	10	24
	T1	101.703	25.743	30	140
	T2	91.703	27.697	30	139
	T3	78.649	34.216	16	145
	T4	56.216	31.709	18	139
5% Menyanthes	T0	15.622	3.427	10	23
	T1	99.757	22.035	20	135
	T2	89.135	25.001	19	125
	T3	76.297	32.103	20	130
	T4	57.568	28.958	18	108
5% Reseda	T0	15.946	2.778	10	22
	T1	99.108	23.041	51	134
	T2	88.676	24.276	41	130
	T3	74.081	30.224	24	132
	T4	56.622	29.858	23	122
5%Salbei/1%Tormentilla	T0	14.865	3.047	9	21
	T1	95.189	27.385	27	131
	T2	83.811	34.380	19	139
	T3	65.595	39.752	19	132
	T4	53.514	35.123	16	121
Elidel®	T0	15.676	3.215	10	21
	T1	94.865	35.038	21	140
	T2	83.649	30.905	21	138
	T3	72.216	36.633	20	144
	T4	59.667	34.877	21	148
1% Hydrokortison	T0	15.757	3.547	8	24
	T1	91.730	34.072	18	137
	T2	78.568	30.793	20	139
	T3	63.946	34.404	18	140
	T4	48.865	33.160	16	143
Basiscreme DAC	T0	14.973	3.050	10	23
	T1	98.622	20.656	30	126
	T2	84.514	26.563	22	122
	T3	74.270	33.655	22	121
	T4	65.351	35.484	22	124

Fortsetzung Tab. 12: TEWL – Rohdaten

Substanz	Zeitpunkt	MEAN	STD	MIN	MAX
Kontrolle	T0	15.459	3.641	9	24
	T1	20.027	4.500	12	27
	T2	20.243	5.356	12	37
	T3	18.703	4.778	11	29
	T4	18.243	4.213	11	28
Unbehandelt	T0	15.000	3.127	10	22
	T1	97.514	26.615	22	131
	T2	86.189	27.409	27	124
	T3	77.432	33.219	24	136
	T4	61.730	32.952	19	123

10.2.3 Score-Rohdaten

Tab. 14: Score – Rohdaten

Substanz	Zeitpunkt	MEAN	STD	MIN	MAX
1%Salbei	T1	1,973	0.164	1.0	2.0
	T2	1,932	0.293	0.5	2.0
	T3	1,865	0.466	0.5	3.0
	T4	1,608	0.567	0.0	2.0
5%Tormentilla	T1	1,987	0.300	0.5	3.0
	T2	1,973	0.287	1.0	3.0
	T3	1,878	0.432	0.5	3.0
	T4	1,689	0.491	0.5	2.0
5%Gänsefinger	T1	1,973	0.164	1.0	2.0
	T2	1,919	0.277	1.0	2.0
	T3	1,905	0.330	0.5	2.0
	T4	1,784	0.465	0.5	2.0
5%Menyanthes	T1	1,960	0.247	0.5	2.0
	T2	1,932	0.293	0.5	2.0
	T3	1,932	0.293	0.5	2.0
	T4	1,838	0.442	0.0	2.0
5%Reseda	T1	1,973	0.164	1.0	2.0
	T2	1,946	0.229	1.0	2.0
	T3	1,811	0.397	1.0	2.0
	T4	1,689	0.522	0.5	2.0
5%Salbei/1%Tormentilla	T1	2,000	0.000	2.0	2.0
	T2	1,811	0.462	0.0	2.0
	T3	1,689	0.582	0.5	3.0
	T4	1,446	0.643	0.0	2.0
Elidel®	T1	1,878	0.361	0.5	2.0
	T2	1,730	0.393	0.5	2.0
	T3	1,541	0.711	0.0	3.0
	T4	1,324	0.689	0.0	2.0
1%Hydrokortison	T1	1,878	0.361	0.5	2.0
	T2	1,689	0.532	0.5	2.0
	T3	1,595	0.587	0.0	2.0
	T4	1,338	0.635	0.0	2.0
Basiscreme DAC	T1	1,973	0.164	1.0	2.0
	T2	1,946	0.229	1.0	2.0
	T3	1,905	0.406	0.5	3.0
	T4	1,757	0.495	0.0	2.0
Kontrolle	T1	0,041	0.138	0.0	0.5
	T2	0,054	0.157	0.0	0.5
	T3	0,149	0.260	0.0	1.0
	T4	0,000	0.383	0.0	2.0
Unbehandelt	T1	1,878	0.361	0.5	2.0
	T2	1,811	0.397	1.0	2.0
	T3	1,730	0.494	0.5	2.0
	T4	1,676	0.517	0.5	2.0

10.3 Studieninformation für Probanden

„Untersuchung der Wirksamkeit von Pflanzenextrakten im Natrium-Laurylsulfat-Irritanzientest“

Der Natrium-Laurylsufat-Irritanzienest (NLS) wurde ursprünglich zur Untersuchung der individuellen Hautempfindlichkeit und zur Einschätzung der Anfälligkeit für eine irritative Kontaktdermatitis verwendet. Die irritative Kontaktdermatitis ist eine häufige Erkrankung, die durch äußere Reize (Chemikalien, reines Wasser, mechanische, thermische und klimatische Einwirkungen) ausgelöst werden kann. Die Therapie besteht in Meidung der äußeren Reize und einer lokalen Anwendung von Kortikosteroiden und anderen entzündungshemmenden Präparaten. Diese Therapie ist nicht einfach und begleitet von Nebenwirkungen. Ziel dieser Studie ist es daher, neue Therapiemöglichkeiten zu untersuchen. Dazu werden Effekte von verschiedenen Pflanzenextrakten auf die durch den NLS-Test hervorgerufene Entzündung und Schädigung der Hautschranke untersucht. Möglicherweise haben die Heilpflanzen einen Effekt auf die Abheilung der Entzündung und auf die Wiederherstellung der Hautschranke.

Falls Sie sich für die Teilnahme entscheiden, wird Ihnen der Prüfarzt nach Markierung von 11 Testfeldern auf dem Rücken am Tag 1 eine 3%-ige NLS-Lösung in Testkammern, wie sie bei einem Allergietest verwendet werden, auf den Rücken auftragen. Diese Testkammern verbleiben dort für 24 h. Durch das Auftragen von Natrium-Laurylsulfat (NLS) wird eine Schädigung der Hautschranke mit Entzündung hervorgerufen. Das Auftreten dieser Hautschädigung ist individuell verschieden und u.a. von der Hautempfindlichkeit und der vorherigen Schädigung der Haut abhängig. Diese Schädigung kann sich als Rötung, Schuppung, Schwellung und Blasenbildung äußern. Begleitend können Juckreiz und Brennen auftreten. Nach 24 h werden die Testkammern entfernt und die Schädigung der Haut visuell, mit Hilfe eines Mexameters über die Rötung und über die Erfassung des Wasserverlustes über die Haut bestimmt. Anschließend erfolgt die erneute Applikation der Testsubstanzen in den Testkammern. Neben den Heilpflanzen werden drei Standardmedikamente verwendet. Dieses sind Elidel®, ein Präparat, welches das Immunsystem in der Haut beeinflusst sowie die

Kortisonpräparate Hydrokortison und Betamethason. Ein Testfeld bleibt unbehandelt. An den Tagen 3 und 4 wiederholt sich diese Prozedur. Am 5. und letzten Tag der Studie werden nochmals die Parameter zur Bestimmung der Hautschädigung erfasst.

Die Symptome der Hautschädigung können unter Verwendung der Testsubstanzen zum Teil bestehen bleiben. Nebenwirkungen sind nicht zu erwarten. In seltenen Fällen ist eine allergische Reaktion auf Bestandteile der Salbengrundlage möglich. Sollten Sie Unverträglichkeitsreaktionen bemerken, teilen Sie diese bitte sofort Ihrem Prüfarzt mit.

Sie können die Teilnahme an der Studie jederzeit ohne Angaben von Gründen beenden ohne dass Ihnen dabei Nachteile entstehen.

Die Untersuchung dient rein wissenschaftlichen Zwecken.

10.4 Anamnesebogen

Datum: Prüfarzt:

Name:

Vorname:

Geburtsdatum:

_____

Hautzustand Rücken:

_____

Anamnese:

akute/chronische Hauterkrankungen:

_____

_____

Bekannte Allergien:

_____

_____

Stoffwechselstörungen:

_____

Konsumierende Erkrankungen:

_____

_____

Infektionserkrankungen:

_____

Systemische Therapie:

_____

_____

Lokale Therapie (z.B. Kortikosteroide):

_____

Besteht eine Schwangerschaft:_____

_____