

Vortragsszusammenfassungen

Wissenschaftliches Hauptprogramm Teil 2



Vortragsreihe „Dermokosmetik“

Luteolin – ein antioxidativer Wirkstoff für den Einsatz in Dermokosmetika?

Prof. Dr. med. Christoph M. Schempp (1)

unter Mitarbeit von U. Wölfle (1) und J. Lademann (2)

(1) Universitäts-Hautklinik, Freiburg, und (2) Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité Universitätsmedizin, Campus Mitte, Berlin

Flavonoide sind polyphenolische Verbindungen mit weiter Verbreitung im Pflanzenreich. Das Flavon Luteolin ist mit vier Hydroxylgruppen substituiert. Luteolin kommt in größeren Mengen in der Färbepflanze *Reseda luteola* L. (Gilbkraut) vor. In den letzten Jahren wurden zahlreiche antimikrobielle, krebshemmende, entzündungshemmende und antioxidative Eigenschaften von Luteolin beschrieben (Seelinger et al. 2008).

Reaktive Sauerstoffspezies spielen eine wichtige Rolle bei der durch ultraviolette Strahlen bedingten Entzündung und Hautalterung. Wir stellen hier Daten zu UV-absorbierenden und antioxidativen Eigenschaften von Luteolin und dem Flavonoid-Extrakt RF-40 aus *Reseda luteola* vor. RF-40 besitzt einen hohen Flavonoid-Anteil (40 % w/w), vorwiegend Luteolin, aber auch Luteolinderivate und Apigenin (Wölfle et al. 2009).

Spektrophotometrische Messungen mit 1 % (v/v) Luteolin beziehungsweise RF-40 ergaben ein Extinktionsprofil von RF-40, das weitgehend dem von Luteolin entspricht. Die Extinktionsmaxima befinden sich im UVB- und UVA-Bereich. Die UV-Transmission unterhalb von 370 nm beträgt weniger als 10 %. Die Kapazität von Luteolin und RF-40, Sauerstoffradikale zu neutralisieren, wurde in einem zellfreien und einem zellbasierten Test untersucht. Im zellfreien 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)-Assay war die halbmaximale inhibitorische Konzentration (IC₅₀) von Luteolin 12 µg/ml (RF-40: 37 µg/ml; Trolox: 25 µg/ml; N-Acetylcystein: 34 µg/ml). Die Bildung von 2',7'-Dichlorfluoresceine (DCFH) in UVB-bestrahlten (60 mJ/cm²) HaCaT-Zellen wurde durch Luteolin und RF-40 konzentrationsabhängig gehemmt. Luteolin (IC₅₀ 3 µg/ml) und RF-40 (IC₅₀ 4 µg/ml) waren dabei wirksamer als Trolox (IC₅₀ 12 µg/ml) und N-Acetylcystein (IC₅₀ 847 µg/ml).

In Verbindung mit neuen klinischen Untersuchungen, die eine UV-protective Wirkung von RF-40 in vivo zeigen (Casetti et al. 2009), sind Luteolin und RF-40 wegen ihrer UV-absorbierenden und antioxidativen Eigenschaften als Aktivstoffe in Dermokosmetika für Anti-Aging und Sonnenschutz interessant.

Literatur:

Seelinger G, Merfort I, Schempp CM (2008) Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of luteolin. *Planta Med* 74:1667-1677



Wölfle U, Simon-Haarhaus B, Merfort I, Schempp CM. Reseda luteola L. extract displays antiproliferative and pro-apoptotic activities that are related to its major flavonoids. *Phytother Res* (in press)

Casetti F, Jung W, Wölfle U, Reuter J, Neumann K, Gilb B, Wähling A, Wagner S, Merfort I, Schempp CM (2009) Topical application of solubilized Reseda luteola L. extract reduces ultraviolet B-induced inflammation in vivo. *J Photochem Photobiol B* 96:260-265



The effect of novel sphingolipids derivatives for their cosmetic effects

*Dr. Mike Farwick,
Evonik Goldschmidt GmbH, Essen*

Dry, thin and sagging skin is among the most common complaints of women over the age of 50. This is due to reduced protective, preventative and regenerative aspects of aged skin. Aged skin is manifested by reduced stratum corneum (SC) moisturization, and although transepidermal water loss (TEWL) is known to be normal or to be improved with age, the epidermal barrier repair capacity after removing the superficial layers of the barrier by tape stripping is significantly impaired.

Epidermal changes that occur with aging include the premature expression of involucrin and the decline in transglutaminase-1 and filaggrin levels. These changes can impact SC formation and maturation. An age-related decline in the activity of the rate-limiting enzymes for ceramide, cholesterol and fatty acid synthesis has been reported; namely serine palmitoyltransferase, hydroxymethyl-glutarylcoenzyme-A reductase, and acetylcoenzyme-A carboxylase. All of these proteins participate in the production of a fully functional SC.

Clearly, significant epidermal changes occur in aging skin that are responsible for its reduced protective, repair and regeneration capacity. The purpose of the presented work was to evaluate novel sphingolipids derivatives for their effects as epidermal cell signalling molecules that aid epidermal repair and regeneration.



Nicht invasive Quantifizierung der Wirksamkeit von Anti-Cellulite-Mitteln

*Dipl. Bio-Ing. Stephan Bielfeldt,
Institut proDerm, Schenefeld*

Cellulite ist keine Krankheit, sondern ein ästhetisches und damit kosmetisches Problem. Sie tritt nur bei Frauen auf. Das Unterhautfettgewebe bei Frauen ist generell dicker ausgeprägt als bei Männern und weist eine gröbere Fettkammerung auf. Man erklärt sich die geschlechtsspezifischen Unterschiede im Unterhautfettgewebe von Mann und Frau mit den unterschiedlichen biologischen Funktionen. In der Schwangerschaft würde die männliche Fettverteilung mit dem verdickten Fettgewebe im Wesentlichen im Bauchbereich deutlich stören. Gerade aber in dieser Zeit benötigt die Frau ausreichende Fettreserven. Die größere Fettkammerung bei Frauen ermöglicht, Fett gleichmäßiger am Körper und insbesondere im Bereich von Hüften, Oberschenkeln und Po zu verteilen. Die speziell an Schwangerschaften angepasste Fettverteilung stellt also einen evolutionsbiologischen Vorteil für Frauen dar. Der kosmetisch-ästhetische Nachteil ist mit diesem Vorteil direkt verbunden. Bei gut gefüllten Fettkammern zeichnet sich das Unterhautfettgewebe insbesondere im Stehen, wenn auch die Schwerkraft einwirken kann, unregelmäßig durch die Haut ab. Gut sichtbare Dellen und Wellen entstehen, die als ästhetisches Problem wahr-genommen werden.

Da Cellulite nicht als pathologisch anzusehen ist, fällt deren Behandlung in den dermatokosmetischen Bereich. Entsprechend findet sich auf dem Kosmetikmarkt eine große Zahl von Produkten, die eine Wirksamkeit gegen Cellulite ausloben. Der Gesetzgeber hat für solche Auslobungen einen wissenschaftlichen Wirknachweis zwingend vorgeschrieben. Nachfolgend wird dargestellt, wie ein solcher Nachweis der Wirksamkeit gegen Cellulite mit In-vivo-Methoden erfolgen kann und welche Mess- und Bewertungsmethoden dafür geeignet sind.

Für den klinischen Wirksamkeitsnachweis hat sich eine Fallzahl von mindestens 35 weiblichen Probanden bewährt. Gemäß Fotoscore (Abbildung 1) sollte bei diesen Probanden ein Cellulitescore von ca. 3 – 7 der Ausgangsbefund sein. Je nach kosmetischem Mittel oder kosmetischer Methode ist eine Anwendungszeit von ca. 2 – 4 Monaten notwendig, um einen Wirknachweis zu erbringen. Die relativ kleine Fallzahl von ca. 35 Probanden ist nur ausreichend, wenn im Halbseitentest zum Beispiel gegen Placebo untersucht wird. Das heißt, es wird ein Oberschenkel mit dem Wirkprodukt und der andere Oberschenkel mit einer wirkstofffreien Grundlage behandelt. Typischerweise müssen die Anwendungen zweimal täglich erfolgen. Es hat sich bewährt, das kosmetische Mittel gründlich einzumassieren. Erhebungen und Messungen sollten im Abstand von ein bis zwei Monaten durchgeführt werden.

Um eine sichtbare Verbesserung des Cellulitebefundes nachzuweisen, hat sich die



Bildbewertung anhand von standardisierten Makrofotos bewährt. Dabei werden Bilder des Oberschenkels, die zu den verschiedenen Messzeitpunkten erstellt wurden, in verblindeter und randomisierter Weise Bewertern am Computerbildschirm vorgeführt. Ein Softwareprogramm sorgt dafür, dass die Bewertungsprozedur korrekt abläuft. Die Bewerter bringen die Bilder eines Behandlungsareals zu den verschiedenen Aufnahmezeitpunkten (max. 4 Bilder können dabei verglichen werden) in eine Reihenfolge (Ranking) gemäß Ausprägung der Cellulite. Durch geeignete statistische Verfahren lässt sich dann nachweisen, ob die Cellulite am Ende der Studie im Vergleich zur Baseline tatsächlich abgenommen hat.

Dieses visuelle Verfahren ermöglicht, bereits kleine Verbesserungen des Cellulitebefundes sicher nachzuweisen. Als noch trennschärfer hat sich die Welligkeitsmessung mittels Streifenprojektion erwiesen. In diesem Verfahren werden feine Streifen auf den Oberschenkel projiziert und aus den Ablenkungen der Streifen durch das Welligkeitsprofil eine dreidimensionale Höhenkarte der Oberschenkeloberfläche errechnet. Durch geeignete Welligkeitsparameter wird die Ausprägung der Cellulite quantifiziert.

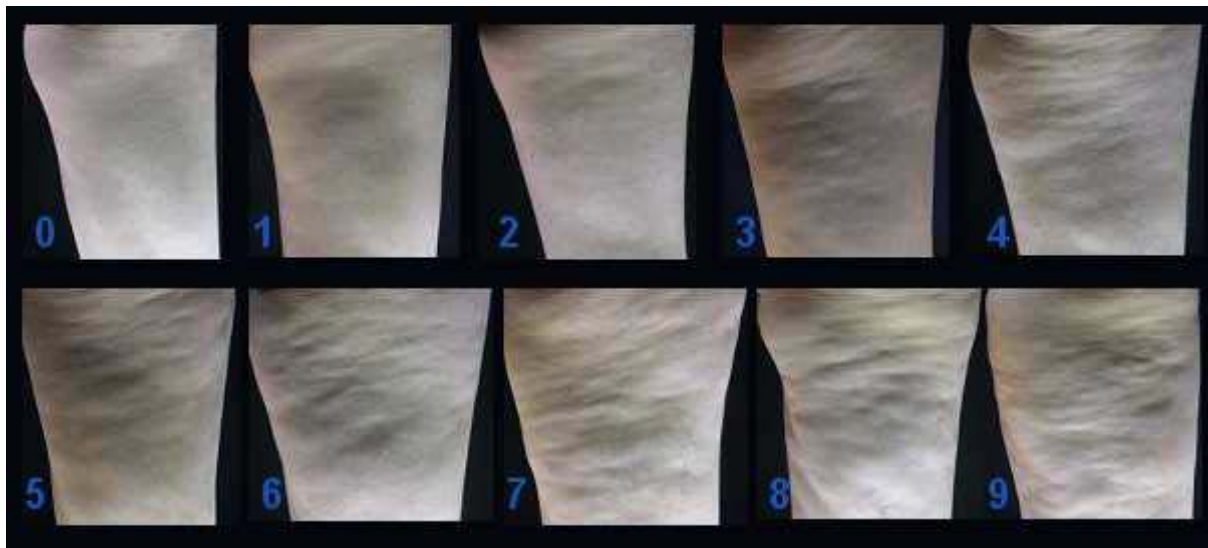


Abbildung 1: Fotografischer Cellulitescore

Außer der Dicke des Unterhautfettgewebes trägt auch die Elastizität der Haut zum Cellulitebefund bei. Je schlaffer die Haut, desto ausgeprägter ist die Welligkeit. Hautstraffheit lässt sich mit der Saugelastizitätsmethode, zum Beispiel mit dem Cutometer, messen. Dabei wird an einem durch Folienwiederfindung genau bestimmten Messareal am Oberschenkel die Haut per Vakuum in eine Sondenöffnung gesogen. Die Auslenkung der Haut und deren Rückbildung nach dem Loslassen des Vakuums werden gemessen und in geeignete Elastizitäts- und Hautstraffheitsparameter umgerechnet.

Auch der Oberschenkelumfang liefert ein gut korrelierendes Maß für den Cellulitegrad. Geht der Oberschenkelumfang zurück, ist dies in der Regel auch mit einem Rückgang des Cellulitebefundes verbunden. Da dies allerdings ein indirekter Parameter ist, sollte er in einer Cellulitestudie nur als sekundärer Parameter mitgemessen werden.

Einen weiteren indirekten Parameter zur Quantifizierung des Cellulitebefundes stellt die 22 MHz-Ultraschallmessung der Dermis-Subkutisgrenze dar. Bereits in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts wurde gezeigt, dass der Cellulitebefund mit der Irregularität der Dermis-Subkutisgrenze korreliert. Je irregulärer der Übergang, das heißt je stärker die Intrusion von Unterhautfett in die Dermis, desto ausgeprägter der Cellulitebefund. Die Irregularität des Dermis-Subkutisübergangs kann dadurch quantifiziert werden, dass die Grenzlinie bestimmt wird und die Welligkeit dieser Grenzlinie über einen profilometrischen Welligkeitsparameter gemessen wird.

Zurzeit gibt es wie geschildert eine Reihe qualitativ hochwertiger und sehr trenn-scharfer Methoden zur Quantifizierung des Cellulitebefundes. Trotzdem ist ein Wirknachweis für kosmetische Mittel gegen Cellulite nicht immer erfolgreich. Warum dies so ist, wird klar, wenn man sich die Parameter anschaut, die erfahrungsgemäß zu einer Verbesserung des Cellulitebefundes führen. Als effektiv herausgestellt haben sich Gewichtsreduktion und Sport, also Verfahren, die zu einer Reduzierung des Unterhautfettgewebes führen. Als dritter Faktor helfen Verfahren, die die Hautstraffheit erhöhen und das Unterhautfettgewebe gleichmäßiger verteilen. Dies lässt sich zum Beispiel durch geeignete Massagetechniken bewerkstelligen. Kosmetische Mittel können diese Maßnahmen lediglich unterstützen, und häufig ist die Anwendung kosmetischer Externa ohne begleitende Maßnahmen wie Massage, Diät oder Sport zur Verbesserung des Cellulitebefunds nicht erfolgreich. Dagegen haben Produkte wie Massageöle, bei denen kosmetische Effekte mit Massageanwendungen kombiniert werden, bessere Erfolgsaussichten.

Literatur:

Bielfeldt, S., Buttgerit P., et al. (2008). „Non-invasive evaluation techniques to quantify the efficacy of cosmetic anti-cellulite products“ *Skin Research and Technology* 14: 336-346.
Callaghan, T. and Wilhelm K. P. (2007). „Non-invasive imaging in the evaluation of cellulite“ *Bioengineering of the Skin: Skin imaging and analysis*. Wilhelm K. P., Elsner P., Berardesca E. and H. I. Maibach H. I., CRC-Press. 2nd edition: 377-389.

Smalls, L. K., Lee C. Y., et al. (2005). „Quantitative model of cellulite: Three-dimensional skin surface topography, biophysical characterization, and relationship to human perception“ *J Cosmet Sci* 56(2): 105-20.

Lucassen, G. W., van der Sluys W. L. N., et al. (1997). „The effectiveness of massage treatment on cellulite as monitored by ultrasound imaging“ *Skin Research and Technology* 3: 154-160.
Bielfeldt, S. and Gassmueller J. (1997). „Untersuchungen zur Korrelation verschiedener meßtechnischer Parameter mit dem visuellen Cellulite-Befund weiblicher Probanden“ *Parfümerie und Kosmetik* 1: 28-31.

