

Symposium der GD-Fachgruppe Dermokosmetik:
Dermokosmetika gegen Hautalterung

In-vivo-Methoden zum Wirksamkeitsnachweis von Dermokosmetika gegen Hautalterung

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

Die menschliche Haut unterliegt wie jedes andere Organ dem Alterungsprozess. Erste sichtbare Zeichen finden sich bei Frauen bereits nach der Pubertät. Durch den Anstieg des Östrogenspiegels nimmt die Talgdrüsensekretion ab. Dadurch entwickelt sich je nach Hauttyp eine trockene Gesichtshaut, die speziell im Winter kosmetische Pflege benötigt. Mit zunehmendem Alter nehmen Hauttrockenheitsprobleme in der Regel zu. Trockene Altershaut findet sich bei Frauen früher ein als bei Männern. Direkt nach der Menopause kommt es bereits zu einem Rückgang von Hornschichtlipiden und damit verstärkter Hauttrockenheit, während bei Männern dieser Rückgang erst um das 60. Lebensjahr einsetzt. Erste sichtbare Fältchen entstehen im Alter von ca. 30 Jahren, und auch Pigmentflecken werden je nach Sonnenexposition früher oder später etwa in diesem Alter sichtbar. Kosmetische Mittel sollen bereits seit Jahrtausenden diese sichtbaren Zeichen des Alters abmildern, überdecken und, seit es moderne Wissenschaft gibt, auch verhindern oder reparieren. Um in der heutigen Zeit eine solche Wirksamkeit für kosmetische Mittel ausloben zu dürfen, müssen wissenschaftliche Nachweise erbracht werden. In den letzten Jahrzehnten hat die dermatokosmetische Forschung eine große Zahl zuverlässiger und sensitiver Methoden für solche Wirknachweise etabliert.

Aufgrund der Fülle an verfügbaren Methoden beschränkt sich dieser Beitrag auf vier gut alterskorrelierte Hautalterungserscheinungen und berichtet über die wesentlichen verfügbaren Methoden, um sie zu messen. Diese sind Hauttrockenheit, Falten, Hautstrukturveränderungen, die die Versorgung der Epidermis beeinflussen, und Pigmentflecken.

Hauttrockenheit stellt sich im klinischen Bild als weißliche Schüppchen dar, die im Wesentlichen den Hautspaltenlinien folgen. Mit Hilfe eines visuellen Fotoscores lassen sich unterschiedliche Hauttrockenheitsgrade klinisch unterscheiden. Ein einfaches Messverfahren, um die Hauttrockenheit zu quantifizieren, ist die Kapazitätsmessung. Für das Corneometer CR 825 liegen Ringversuche vor, die einen gesicherten korrelativen Zusammenhang zwischen der klinischen Hauttrockenheit und den Kapazitätsmesswerten dokumentieren.

Während die Kapazitätsmessung nur indirekt Hauttrockenheit misst, kann der Wassergehalt im Stratum corneum und in der oberen Epidermis nicht invasiv in vivo mit Hilfe der konfokalen Ramanspektroskopie gemessen werden. Insbesondere der Gradient, mit dem der Wassergehalt im Stratum corneum nach außen hin sinkt, ist ein gutes Maß für die



Intaktheit der Wasserbarriere. Darüber hinaus lässt sich die Dicke des Stratum corneum mit der Methode genau messen, denn die Wassergehaltskurve weist beim Übergang vom Stratum corneum zum Stratum granulosum einen deutlichen Knick auf. Die Dickenbestimmung des Stratum corneum mit der Ramanspektroskopie wurde inzwischen mit der konfokalen Reflektionsmikroskopie überprüft und eine hervorragende Übereinstimmung gefunden. Die konfokale Ramanspektroskopie bietet aber nicht nur die Möglichkeit, Wasserprofile in der Epidermis zu messen, sondern auch die wesentlichen Inhaltsstoffe des Natural Moisturization Factors (NMF) wie die wasserlöslichen NMF-Komponenten Lactat und Harnstoff lassen sich quantifizieren. Diese beiden Komponenten erwiesen sich bei trockener Haut als signifikant reduziert. Mit einer einzigen Ramanmessung kann man alle relevanten wasserlöslichen NMF-Komponenten quantifizieren und darüber hinaus noch den Gesamt-Ceramidgehalt und das Cholesterin tiefenaufgelöst im Stratum corneum bestimmen.

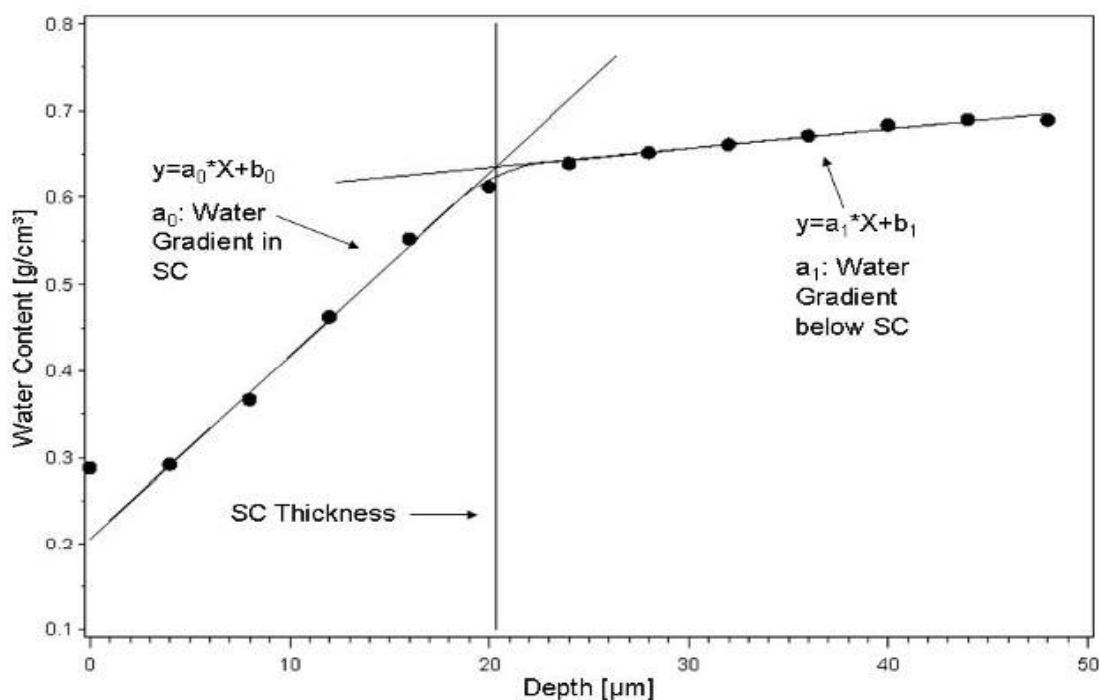


Abbildung 1: Wassergradient in der oberen Epidermis; Messung mit konfokaler Ramanspektroskopie

Sichtbare Faltenbildung setzt im Gesicht häufig zuerst im periorbitalen Bereich ein. Interessanterweise sind die Faltentiefen altersgleicher Frauen bei Kaukasiern am ausgeprägtesten und bei ostasiatischen Frauen am geringsten ausgeprägt. Solche ethnischen Unterschiede können verhaltensbedingt sein, also von Gewohnheiten wie häufigem Sonnenbaden und Rauchen abhängen. Periorbitale Falten sind am einfachsten visuell als auch messtechnisch zu quantifizieren. Zur visuellen klinischen Quantifizierung kann man zum Beispiel auf einen 10-Punkte-Fotoscore zurückgreifen. Die Faltenmessung erfolgt nicht invasiv in vivo mithilfe eines berührungsfreien Triangulationsverfahrens, der so genannten Streifenprojektion. Bei dieser Methode werden feine, sehr kontrastreiche Streifen auf die Hautoberfläche projiziert und aus der Ablenkung und Deformation der Streifen

ein dreidimensionales Höhenprofil der Haut errechnet. Um eine feine Differenzierung zu ermöglichen, werden Oberflächenprofile zur Baseline und zum Beispiel nach vierwöchiger kosmetischer Behandlung elektronisch gematcht. Das bedeutet, die sichtbaren Faltenstrukturen werden zur Ausrichtung der beiden Profile genutzt und die Profile vor der Messung zur Deckung gebracht, damit die Messung beider Profile exakt an denselben Messstellen erfolgen kann. Nach geeigneter Polynomfilterung und Errechnung von Linien- und Flächenparametern lassen sich schon Abflachungen der Fältchen in der Größenordnung von 5 % an Kollektiven von 30 Probanden sicher quantifizieren.

Die Epidermis ist nicht durchblutet und erhält ihre Nährstoffversorgung allein auf dem Weg der Diffusion. Aus diesem Grund ist die vergrößerte Oberfläche zwischen Dermis und Epidermis mit ihrer ausgeprägten Papillenstruktur von hervorragender Bedeutung für die Versorgung der Epidermis. Im Alter verflacht die Papillenstruktur, die Papillendichte sinkt kontinuierlich ab. Dadurch verringert sich auch die Austauschfläche für Nährstoffe und die Epidermis wird schlechter versorgt. Der Papillenindex ist deshalb ein wichtiges Maß für den Versorgungszustand der Epidermis, und es konnten inzwischen positive Effekte bei kosmetischen Produkten hinsichtlich der Papillenzahl gezeigt werden. Der Papillenindex kann mit der konfokalen Reflektionsmikroskopie gemessen werden. Geräte wie das Vivascope ermöglichen es, horizontale Schnitte in die Haut hinein nicht invasiv darzustellen. Die Auflösung ist dabei im Mikrometerbereich, so dass einzelne Zellen sichtbar werden und die Schichten der Haut sicher quantifizierbar sind. Papillen erkennt man durch die mehr oder weniger runde Anordnung von Basalzellen, die im horizontalen Schnitt durch eine Papille als Ring oder Ellipse sichtbar werden. In Schnittbildern der richtigen Tiefe lassen sich die Papillen einfach auszählen und als Anzahl pro Quadratmillimeter quantifizieren.

Ähnlich wie Falten nehmen Pigmentflecken mit dem Alter zu und tragen im Wesentlichen zum ungleichmäßigen Erscheinungsbild der gealterten Haut bei. Die Wirksamkeit von kosmetischen Produkten zur Abmilderung von Pigmentflecken kann man mit farbmetrischen und bildanalytischen Verfahren quantifizieren. Ein Pigmentfleck ist umso sichtbarer, je stärker er zur umgebenden Haut kontrastiert. Mit geeigneten Farbmessgeräten lässt sich die Helligkeit eines Pigmentflecks im Vergleich zur umgebenden Haut quantifizieren. Dasselbe ist möglich beim Vermessen hochaufgelöster standardisierter und farbkalibrierter Makrofotos.

Für das zumeist symmetrisch auf beiden Gesichtsseiten auftretende Melasma existieren validierte klinische Scores (MASI Index). In einer Vergleichsstudie konnte gezeigt werden, dass die visuelle klinische Bewertung anhand des MASI Scores hervorragend mit der farbmetrischen Messung und auch der Messung auf standardisierten Fotografien übereinstimmt.

Altersflecken (Lentigo senilis) lassen sich am einfachsten am Handrücken quantifizieren. In einer Studie mit Farbmessung und 3 Monaten Anwendungsdauer wurde demonstriert, wie wichtig es ist, in allen Pigmentfleckenstudien placebokontrolliert zu untersuchen. Die Studie verlief vom Herbst in den Winter hinein, und entsprechend der abnehmenden Sonnenintensität wurde die Haut auch auf den Placebofeldern heller. Der Produkteffekt zeigte sich dagegen als Differenz zwischen der Aufhellung des Placebofeldes und der Aufhellung auf dem produktbehandelten Feld. Ohne Placebokontrolle wäre ein korrekter Wirknachweis nicht möglich gewesen.



Eine häufige Schwierigkeit bei der Planung von klinischen Studien zum Nachweis von Anti-Aging-Effekten ist die Abschätzung, wie lange eine Studie dauern muss, um eine Wirksamkeit zu zeigen. Die benötigte Zeit hängt natürlich in erster Linie vom Wirkprofil der Wirkstoffe ab. Trotzdem kann man einige Erfahrungswerte nennen. Für Hauttrockenheit- und Hautrauhigkeitsstudien ist eine Studiendauer von 1 – 4 Wochen typisch und in der Regel ausreichend. Bei der Antifaltenwirkung sind 4 Wochen oder länger anzuraten, wenn es um Epidermisseffekte geht, da die Erneuerung der Epidermis ca. 4 Wochen benötigt. Sollen dagegen Effekte in der Dermis wie zum Beispiel Kollagenaufbau untersucht werden, sind Studiendauern von bis zu 6 Monaten zu empfehlen. Altersflecken und Melasma lassen sich mit den bisher bekannten Produkten nur sehr langsam abmildern. Studienzeiten von 2 – 6 Monaten sind deswegen üblich. Dasselbe gilt bei dem Nachweis von Anti-Cellulite-Mitteln. Bei der Behandlung dunkler Augenringe bestehen bisher erst wenige Publikationen. Je nach Wirkstoff haben sich Studiendauern von 2 Wochen bis 3 Monaten als sinnvoll herausgestellt. Wichtig ist es, zu bedenken, dass eine längere Studiendauer nicht unbedingt zu besseren Ergebnissen führt. Dies hängt mit der oft nachlassenden Compliance der Probanden und der Kumulation von Störeinflüssen über die Dauer der Studie zusammen.

Die Messverfahren zur Quantifizierung von Hautalterungserscheinungen haben sich in den letzten Jahrzehnten kontinuierlich weiterentwickelt. Die Messgenauigkeit ist größer geworden und die Zahl von zuverlässigen In-vivo-Verfahren hat zugenommen. Zurzeit lässt sich ein Trend zur Auslobung sichtbarer Effekte beobachten. Die visuelle Beobachtung von Falten, Pigmentflecken, Sagging und Attraktivitätsparametern wie „strahlende Haut“ hat deutlich an Bedeutung gewonnen. Dazu wird vermehrt hochaufgelöste standardisierte Fotografie eingesetzt. Ziel solcher Untersuchungen ist es, auszuloben, dass die Effekte nicht nur messbar, sondern auch sichtbar sind.

Ein weiterer Trend besteht hinsichtlich der nicht invasiven Bestimmung von hauteigenen Stoffen und Wirkstoffen in vivo in der Haut. Dabei spielen immer mehr Bioverfügbarkeit und Penetration eine Rolle. Nicht invasive konfokale Lasertechniken, die mit einer Auflösung im Mikrometerbereich arbeiten, sind die neu entwickelten Geräte, die dafür zum Einsatz kommen.

Literatur:

Nazzaro-Porro M et al, „Effects of aging on fatty acids in skin surface lipids“, J Invest Dermatol (1979) 73: 112-117

Elias et al, „The aged epidermal permeability barrier. Structural, functional, and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model“, J Clin Invest (1995) 95: 2281-2290

Bielfeldt, S., Schoder, V. et al. (2009). „Assessment of human stratum corneum thickness and its barrier properties by in-vivo confocal Raman spectroscopy“, Int J Cosmet Sci 31(6): 479-480.

Böhling, A., Bielfeldt S. et al. (2009 (September 9-12)). „Comparison of the stratum corneum thickness on forearm, leg, face and palmar measured by confocal Raman spectroscopy and confocal microscopy“ (abstract), ISBS International Meeting - From surface to deepness,



Besançon, France.

Fujimura, T., Sugata K. et al. (2009). „Roughness analysis of the skin as a secondary evaluation criterion in addition to visual scoring is sufficient to evaluate ethnic differences in wrinkles“, *Int J Cosmet Sci* 31(5): 361-367

Scherdin, U., Bielfeldt S. et al. (2008). „Skin-lightening effects of a new face care product in patients with melasma“, *J Cosmet Dermatol* 7(1): 68-75

Heinrich U et al. „Multicenter comparison of skin hydration in terms of physical-, physiological- and product-dependent parameters by the capacitive method (Corneometer® CM 825)“, *J Cosmetic Science* 25, 2003, 45-53

Sauermann, K., Clemann S. et al. (2002). „Age related changes of human skin investigated with histometric measurements by confocal laser scanning microscopy in vivo“, *Skin Research and Technology* 8(1): 52-56

Greg G. et al (2001). “The age-dependant changes in skin condition in African Americans, Asian Indians, Caucasians, East Asians and Latinos”, *IFSCC Magazine* 4 (4): 259-266

