

**Extrinsische und intrinsische Formen der Hautalterung -  
Vergleich klassischer Untersuchungsverfahren mit der  
Multiphotonen-Lasertomographie**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Nadja Kindler  
geboren am 12.12.1984 in Suhl

## **Gutachter**

1. Prof. Dr. med. Peter Elsner, FSU Jena
2. Prof. Dr. med. Rainer Schiele, FSU Jena
3. Prof. Dr. med. Uwe Wollina, KH Dresden-Friedrichstadt

Tag der öffentlichen Verteidigung: 26.03.2012

**Abkürzungsverzeichnis**

AA	: Außenarm
a*	: Wert auf grün-rot-Achse
AF	: Autofluoreszenz
a.u.	: arbitrary unit (beliebige Einheit)
b*	: Wert auf blau-gelb-Achse
Bsp.	: Beispiel
bzw.	: beziehungsweise
ca.	: circa
d.h.	: das heißt
entspr.	: entspricht
et al.	: et alii
etc.	: et cetera
Gr.	: Gruppe
IA	: Innenarm
i.F.	: im Folgenden
L*	: Helligkeit auf einer schwarz-weiß-Skala
max.	: maximal
mech.	: mechanisch
min.	: minimal
mind.	: mindestens
Mm.	: muscoli
MMP	: Matrixmetalloproteinasen
MLT	: Multiphotonen-Lasertomographie
MW	: Mittelwert
NADP	: Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
NIR	: near infrared range ((Nah-Infrarot-Bereich)
NNM	: Nebennierenmark
o.g.	: oben genannte
PMT	: Photonenmultiplier (Photonen-Vervielfacher)
py	: packyears (Anzahl der Raucherjahre × gerauchte Zigarettschachteln / d)
RRT	: resonance running time (Schallwellenlaufzeit)
RV	: Reviscometer

SAAID	: SHG zu AF Alterungs-Index der Dermis (SHG to AF Aging Index of Dermis)
Sek.	: Sekunde
SHG	: second harmonics Generation
sog.	: sogenannte
Str.	: Stratum
Ua	: vollständige Rückbildung nach Krafteinwirkung
u.a.	: unter anderem
Ue	: sofortige Dehnung
Uf	: max. Hautdehnung
Ur	: sofortige Rückbildung der Haut nach der Dehnung
Uv	: verzögerte Dehnung
UV	: ultraviolett
v.a.	: vor allem
vs.	: versus
z.B.	: zum Beispiel

<b><u>Inhaltsverzeichnis</u></b> .....	3
<b>Zusammenfassung</b> .....	6
<b>1. Einleitung</b> .....	9
<b>1.1 Allgemeines</b> .....	9
<b>1.2 Aufbau der Haut</b> .....	10
1.2.1 Die Epidermis (Oberhaut).....	11
1.2.2 Die Dermis (Lederhaut).....	12
1.2.3 Die Subkutis (Unterhaut).....	13
<b>1.3 Formen der Hautalterung</b> .....	13
1.3.1 Intrinsische Hautalterung.....	13
1.3.2 Extrinsische Hautalterung.....	15
<b>1.4 Untersuchungsmethoden zur Beurteilung struktureller und funktioneller         Veränderungen im Rahmen der Hautalterung</b> .....	17
<b>2. Ziele der Arbeit</b> .....	20
<b>3. Material und Methodik</b> .....	22
<b>3.1 Probanden</b> .....	22
<b>3.2 Untersuchungsverfahren</b> .....	23
<b>3.2.1 Hautphysiologische Messmethoden</b> .....	24
3.2.1.1 Cutometrie.....	25
3.2.1.2 Reviscometer-Verfahren.....	28
3.2.1.3 Bestimmung des Pigmentierungs- und Erythemgrades.....	30
a) Mexametrie.....	31
b) Chromametrie.....	32
<b>3.2.2 Grundlagen der Multiphotonen-Lasertomographie</b> .....	33
3.2.2.1 Einphotonen-Fluoreszenzanregung.....	33
3.2.2.2 Zweiphotonen-Fluoreszenzanregung.....	34
3.2.2.3 Multiphotonen-Lasertomographie der Haut.....	36
3.2.2.3.1 Endogene Fluorophore.....	37
3.2.2.3.2 SAAID - AF und SHG als Maß für die Hautalterung.....	38

3.2.2.3.3 Aufbau des MLT DermaInspect.....	39
3.2.2.3.4 Der Untersuchungsablauf.....	41
<b>3.2.3 Hochfrequenzultraschall.....</b>	<b>43</b>
<b>3.3 Statistische Auswertung.....</b>	<b>44</b>
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Hautphysiologische Untersuchungen.....</b>	<b>45</b>
<b>4.1.1 Cutometrie.....</b>	<b>45</b>
4.1.1.1 Unterschiede bedingt durch unterschiedliche Umweltbelastung.....	45
4.1.1.2 Altersbedingte Unterschiede in der Elastizität.....	46
4.1.1.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede.....	47
<b>4.1.2 Reviscometer-Ergebnisse.....</b>	<b>48</b>
4.1.2.1 Anisotropie und RRT's unter dem Einfluss von Alter, Geschlecht und Umwelt.....	48
4.1.2.2 RRT-Minima, -Maxima und -MW im Vergleich.....	51
<b>4.1.3 Mexametrie und Chromametrie.....</b>	<b>53</b>
4.1.3.1 Einfluss von Alter, Geschlecht und Umwelt auf die Erythembildung der Haut.....	53
a) Erythembestimmung mittels Chromameter.....	53
b) Erythembestimmung mittels Mexameter.....	54
4.1.3.2 Hautpigmentierung unter verschiedenen Einflussfaktoren.....	54
<b>4.2 Einfluss von Alter, Geschlecht und Umweltbelastung auf die Hautdicke.....</b>	<b>56</b>
<b>4.3 Ergebnisse der Multiphotonen-Lasertomographie.....</b>	<b>57</b>
4.3.1 SAAID-Werte unter dem Einfluss von Umweltbelastung, Alter und Geschlecht.....	58
4.3.2 SAAID in Abhängigkeit von der Messtiefe.....	59
4.3.3 Morphologie der Haut.....	61
<b>5. Diskussion.....</b>	<b>65</b>
<b>Elastizität und Steifigkeit der Haut beeinflusst durch Umweltfaktoren.....</b>	<b>66</b>
<b>Einfluss des Alters auf Hautelastizität und -steifigkeit .....</b>	<b>68</b>
<b>Einfluss des Geschlechts auf Hautelastizität und -steifigkeit.....</b>	<b>71</b>
<b>Cutometrie und Reviscometrie im Vergleich .....</b>	<b>71</b>
<b>Anisotropie.....</b>	<b>73</b>

<b>Erythem- und Pigmentierungsgrad</b> .....	76
Unterschiedliche Einflussfaktoren auf den Erythemgrad der Haut.....	76
Pigmentierung der Haut.....	77
Vergleich der Methoden der Erythem- und Pigmentierungsbestimmung.....	78
<b>Ursachen für Veränderungen der Hautdicke</b> .....	79
<b>MLT-Messergebnisse und morphologische Bilder</b> .....	80
Veränderung von Hautstrukturen beeinflusst durch Umweltfaktoren.....	81
Einfluss der Umwelt auf Fasermorphologie und SAAID.....	82
Einfluss von Alter und Geschlecht auf Fasermorphologie und SAAID.....	85
MLT im Vergleich zur konventionellen Histologie.....	87
<b>Schlussfolgerungen</b> .....	90
<b>Intrinsische Hautalterung</b> .....	90
<b>Intrinsische Hautalterung im Geschlechtervergleich</b> .....	91
<b>Extrinsische Hautalterung</b> .....	91
<b>7. Literatur- und Quellenverzeichnis</b> .....	93
<b>8. Anhang</b> .....	97

## **Zusammenfassung**

Unsere Haut und ihr Erscheinungsbild haben in der modernen Gesellschaft zunehmend an Bedeutung gewonnen. Wesentliche Gründe dafür sind einerseits das gestiegene Körperbewusstsein, im Vordergrund steht jedoch die demographische Entwicklung in den Industrienationen. Bei einer stetig steigenden Lebenserwartung mit einer oft guten körperlichen Konstitution auch im hohen Lebensalter, wird dem Thema eines jugendlichen Hautbildes immer mehr Aufmerksamkeit gewidmet. Die menschliche Haut unterliegt jedoch im Verlaufe des Lebens einer Vielzahl von unterschiedlichsten Einflüssen, die eine Veränderung des Hauterscheinungsbildes und somit eine vorzeitige Hautalterung verursachen. In der Forschung werden mittlerweile zwei Formen der Hautalterung unterschieden. Zum einen die durch äußere Einflüsse hervorgerufene extrinsische Hautalterung, deren Ursachen v.a. die UV-Strahlung und der Nikotinabusus darstellen. Zum anderen gibt es die natürliche, genetisch determinierte intrinsische Hautalterung. Bei ihr spielen der natürliche Hormonhaushalt, Veränderungen im Immunsystem und einige andere intrinsische Prozesse eine entscheidende Rolle, die noch nicht vollständig verstanden sind.

Ziel dieser Arbeit ist die Untersuchung und Differenzierung beider Formen der Hautalterung mit besonderer Fokussierung auf die unterschiedlichen strukturellen und funktionellen Veränderungen an der Haut. Dazu wurden sowohl etablierte hautphysiologische Untersuchungsmethoden, als auch ein neues Untersuchungsverfahren, die Multiphotonen-Lasertomographie (MLT), eingesetzt. Die hautphysiologischen Messungen umfassten die Cuto- und Reviscometrie zur Untersuchung der Hautelastizität sowie die Mexa- und Chromametrie zur Beurteilung des Erythem- und Pigmentierungsgrades der Haut. Mit der Multiphotonen-Lasertomographie wurden strukturelle Veränderungen in-vivo in der Haut untersucht. Die Methode erlaubt optische Biopsien in hoher Auflösung und somit eine Beurteilung der Morphologie und des Fasernetzwerkes der Haut.

Weiterhin wurden die Ergebnisse der hautphysiologischen Untersuchungen mit denen der MLT verglichen, um beurteilen zu können, ob die funktionellen und strukturellen Ergebnisse miteinander korrelieren. Es wurde dabei nach Unterschieden in der vorrangig intrinsisch bzw. extrinsisch belasteten Haut in ihren funktionellen und strukturellen Eigenschaften gesucht. Die Messungen wurden einerseits im Bereich der Außenseite des Armes mit vorrangigem Einfluss extrinsischer Faktoren im Vergleich zur Innenseite durchgeführt, auf die nur ein sehr geringer Einfluss durch exogene Faktoren zu erwarten ist. Die Wahl des Messareals ist auch



vor dem Hintergrund einer möglichst großen regionalen Übereinstimmung in den Eigenschaften der Haut gewählt wurden.

Unsere Ergebnisse zeigten im Vergleich der beiden unterschiedlichen Hautalterungsformen signifikante Unterschiede in den funktionellen und strukturellen Untersuchungen. Vorrangig extrinsisch belastete Haut weist in allen Altersklassen eine signifikant größere Hautdicke auf. Dies kann einerseits als Schutzreaktion gegenüber Umwelteinflüssen interpretiert werden, andererseits kann hier auch genetisch vorgegebene Differenz bestehen. Weiterhin ist sie insgesamt deutlich trockener und weist eine erhöhte Steifigkeit auf. Deutlich reduzierte elastische Eigenschaften sowie vermehrte erythematöse Veränderungen stellen weitere Eigenschaften umweltbelasteter Haut dar. Dagegen wurde in vorrangig intrinsisch belasteter Haut eine geringere Steifigkeit und Dicke als auch Pigmentierung beobachtet.

Gleichzeitig wurde in der Studie nach geschlechtsspezifischen Unterschieden gesucht, da es Hinweise über eine hormonbedingte raschere Hautalterung von Frauen nach der Menopause gibt. Dieser Aspekt konnte jedoch in dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

Im Vergleich zwischen den Ergebnissen der MLT mit denen der hautphysiologischen Untersuchungen, konnten gute Korrelationen in Struktur und Funktion nachgewiesen werden. Es ließ sich weiterhin zeigen, dass die MLT-Ergebnisse im Vergleich mit denen histologischer Studien zur Hautalterung, ebenfalls sehr gut korrelieren. So fand sich in der MLT eine deutliche Reduktion elastischer und kollagener Fasern bei vorwiegend intrinsisch belasteter Haut. Gleichzeitig ergab sich in der MLT ein gutes Korrelat zur histologisch häufig beobachteten UV-bedingten Elastose (sogenannte solare Elastose), welche vor allem in vermehrt extrinsisch belasteter Haut vorkommt. Bisher ging man davon aus, dass es sich dabei v.a. um Ablagerungen von degeneriertem, fragmentiertem elastotischem Material in der oberen Dermis handelt. Aktuelle Untersuchungen weisen jedoch auch auf eine zusätzliche *de-novo* Synthese elastischer Fasern von minderwertigerer Qualität, die sich deutlich von reifen elastischen Fasern unterscheiden, hin.

In der Studie konnte nachgewiesen werden, dass die Multiphotonen-Lasertomographie auch im Vergleich mit etablierten Verfahren (Hautphysiologie) eine interessante neue diagnostische Methode zur Beurteilung der Hautalterung darstellt. Neben einer hochaufgelösten morphologischen Bildgebung im Sinne einer optischen Biopsie, die in vielerlei Hinsicht einer histologischen Aufarbeitung gleichkommt, ermöglicht das Verfahren auch eine quantitative Beurteilung dermalen Fasern. Viele Nachteile die eine histologische Beurteilung hat (Invasivität mit möglichen Komplikationen, Fixationsartefakte), lassen sich durch die MLT vermeiden. Diese Vorteile, insbesondere auch die beliebige Wiederholbarkeit

der Methode, erlauben ihren zukünftig Einsatz bei der Prävention und Begleitung therapeutischer Maßnahmen im Rahmen der vorzeitigen Hautalterung. Dabei lassen sich nicht nur kosmetische Fragestellungen beantworten, sondern auch explizit Untersuchungen zur Hautkrebsentstehung in ihrem Zusammenhang zur Hautalterung analysieren.

## **1. Einleitung**

### **1.1 Allgemeines**

In den entwickelten Industrienationen erfolgt gegenwärtig ein dramatischer demographischer Wandel mit einer deutlichen Alterung der Gesellschaft. Dieser Wandel ist im Wesentlichen durch ein Absinken der Geburtenrate bei gleichzeitig steigender Lebenserwartung gekennzeichnet. Immer größere Fortschritte im Gesundheitswesen, den hygienischen Bedingungen, der Ernährungs- und Wohnsituation sowie bei den Arbeitsbedingungen, haben in den Industriestaaten dazu geführt, dass ein wachsender Bevölkerungsanteil ein hohes Alter erreicht. Lag die Lebenserwartung im Jahr 1967 bei 66 Jahren und 2000 bei 75 Jahren, so wird sie im Jahr 2050 bereits auf etwa 85 Jahre geschätzt (statistisches Bundesamt).

Mit einem höheren Lebensalter sind jedoch auch zahlreiche altersbedingte Veränderungen an den inneren Organen verbunden. Sichtbar werden sie jedoch vor allem im Bereich der Haut. Zu diesen Veränderungen zählen eine vermehrte Faltenbildung und die Ausbildung von Pigmentflecken. Gleichzeitig führt eine zunehmende Atrophie zu einer vermehrten Verletzlichkeit der Haut. Durch eine veränderte Faserstruktur wirkt die Haut schlaff, zusätzlich nimmt die Produktion von Fetten ab, sodass sich eine vermehrte Trockenheit der Haut ausbildet.

Die Ausprägung der Hautalterung verläuft jedoch individuell sehr verschieden. So gibt es Menschen in hohem Lebensalter, die ein deutlich jüngeres Hauterscheinungsbild aufweisen, während die Haut anderer in jüngeren Jahren auch vorgealtert erscheinen kann. Die Ursachen für diese Unterschiede aufzudecken, ist weiterhin Gegenstand intensiver Forschung. Dabei erhofft man sich insbesondere auf zwei Gebieten wesentliche Fortschritte. Der eine Aspekt ist ein kosmetischer, da viele Menschen an einer jugendlichen Haut interessiert sind. Der andere ist, dass eine verstärkte vorzeitige Hautalterung auch mit der vermehrten Entwicklung von Tumoren verbunden sein kann, sodass die Aufdeckung der Ursachen der Hautalterung bzw. ihre frühzeitige Objektivierung auch die Möglichkeiten von neuen Präventions- oder Behandlungsmethoden ergibt.

Eine grundsätzliche Erkenntnis war die Differenzierung zwischen einer intrinsischen (physiologischen, genetisch festgelegten) und extrinsischen (umweltbedingten, vorzeitigen) Hautalterung (Effendy et al. 2005). Ursächliche Faktoren und Mechanismen der

unterschiedlichen Formen sind bisher nur in Teilaspekten bekannt und werden weiter differenziert. Man weiß jedoch heute bereits, dass die extrinsische Hautalterung nicht nur die intrinsische Hautalterung verstärkt, sondern dass sie ihre ganz eigenen Pathomechanismen besitzt. Beispielhaft kann der Einfluss der lebenslangen UV-Exposition auf die Hautalterung aufgeführt werden. Für diesen wichtigsten extrinsischen Schädigungsfaktor und seine Auswirkungen auf die Haut gibt es zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen. Gleichzeitig kann die UV-Exposition mit textilem oder chemischem Sonnenschutz wirksam reduziert werden. Dieser Tatsache steht jedoch der Trend entgegen sich immer häufiger starker UV-Belastung auszusetzen (z.B. Urlaubsreisen in subtropische und tropische Länder, Urlaube im Gebirge, Solarium).

Um die Veränderungen der Haut im Alter verstehen und einordnen zu können, muss man sich zunächst den Aufbau, die Strukturbestandteile und deren spezifische Funktionen in der Haut vergegenwärtigen. Jede einzelne Hautschicht mit ihrem speziellen Aufbau und ihrer Zusammensetzung übernimmt definierte Aufgaben. Im Folgenden soll darauf kurz eingegangen werden.

## **1.2 Aufbau der Haut**

Unsere Haut zählt mit einer Größe von ca. 2 m<sup>2</sup> zu einem der größten Kontaktorgane zur Umwelt. Sie übernimmt zahlreiche Funktionen, die für uns lebensnotwendig sind. Sie dient als Barriere für den Organismus gegenüber der Umgebung, steht aber gleichzeitig mit ihr in intensiver Verbindung. Die Haut bildet einen mechanischen Schutz vor Stößen, Druck, Reibung und anderen Krafteinwirkungen. Ihr natürlicher Säureschutzmantel behindert das Eindringen von pathogenen Mikroorganismen und schützt so vor Infektionen. Weiterhin besitzt sie wichtige Funktionen bei der Aufrechterhaltung der Homöostase und des Flüssigkeitshaushaltes, sowie beim Temperatenausgleich und der Sinneswahrnehmung. Um diesen komplexen Anforderungen zu entsprechen, besitzt unsere Haut einen sehr spezifischen Aufbau.

Die menschliche Haut besteht prinzipiell aus drei Schichten (Abb.1). Jede dieser Schichten übernimmt definierte Aufgaben, ist jedoch funktionell und topografisch eng mit den benachbarten Schichten verbunden, teilweise sogar fest verzahnt.

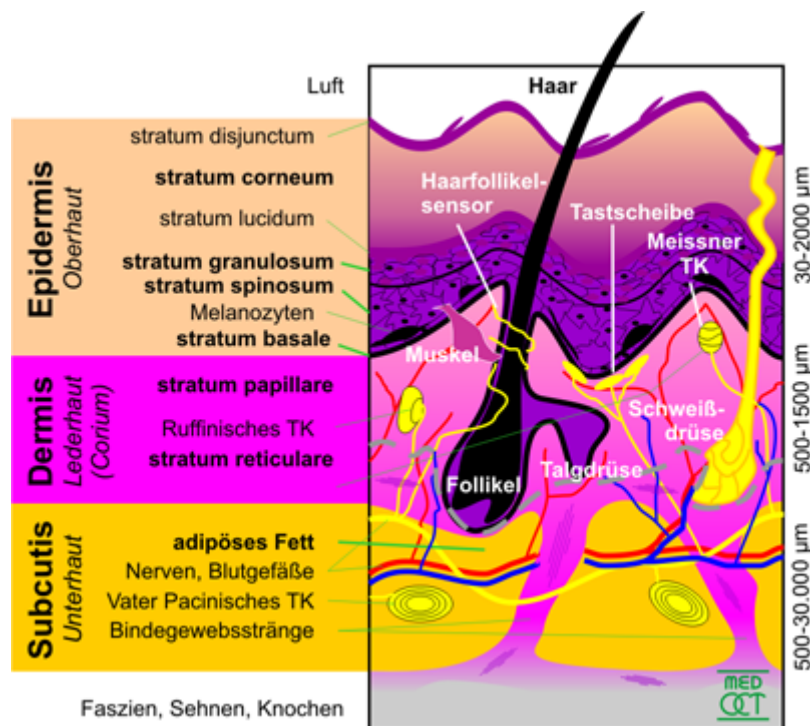


Abb.1: Darstellung der Hautschichten und der einzelnen Bestandteile (www.wikipedia.de)

### 1.2.1 Die Epidermis (Oberhaut)

Sie stellt die äußerste Schicht unseres Körpers dar und steht dementsprechend mit der Umwelt in direktem Kontakt. Sie ist individuell unterschiedlich dick und erreicht ihre stärkste Ausprägung in den mechanisch besonders beanspruchten Regionen (Handflächen und Fußsohlen). Gleichzeitig beeinflussen Faktoren wie Geschlecht, Alter sowie genetische und umweltbedingte Einflüsse die Hautdicke zusätzlich. Die Epidermis ist durch zapfenartige Einbuchtungen fest mit der darunter liegenden Dermis verbunden. Sie selbst weist ebenfalls einen geschichteten Aufbau auf. Die Keimschicht (*Stratum germinativum*) setzt sich aus dem *Stratum basale* und dem *Stratum spinosum* zusammen. In ihr wird für einen regelmäßigen neuen Zellnachschub durch Zellteilung der *Keratinocyten* zur Hauterneuerung, und für die Produktion von Melanin durch die dort befindlichen *Melanozyten* gesorgt. Diese neu gebildeten Zellen wandern nach außen zunächst ins *Stratum granulosum* und dann in die Hornschicht. Die aufsteigenden Zellschichten differenzieren sich bis zu ihrer Abschilferung weiter. So verlieren die Zellen ihren Kern und bilden als plättchenförmige Hornzellen die Hornschicht (*Stratum corneum*). Schließlich lösen sie sich einzeln oder in kleinen Schuppen von der Oberfläche, um Platz für neue Zellen zu schaffen. Bei gesunder Haut dauert dieser Vorgang ca. vier Wochen. Bei gealterter Haut verlängert sich dieser Prozess, da die

Neubildungsrate an Zellen deutlich reduziert ist und der Zellaustauschprozess in den verschiedenen Schichten der Epidermis nur verlangsamt ablaufen kann.

### **1.2.2 Die Dermis (Lederhaut)**

Die Dermis wird von der Epidermis durch ein komplexes Gebilde aus Basalmembran und dermoepidermalen Junctionszone getrennt, die beide Schichten fest miteinander verzahnt. Die Basalmembran dient den Epithelzellen als Haftstruktur, hat eine Filterfunktion in Bezug auf die Ernährung der Zellen, und ist für das Überleben und die Genesung der Zellen unabdingbar. Die Basalmembran ist dabei durchlässig und gleichzeitig eine physiologisch sehr wichtige Schranke. Sie besteht hauptsächlich aus Kollagen Typ IV, einem Kollagenprotein, das sich strukturell vom fibrillären Kollagen der Typen I-III, die in der Dermis vorkommen, unterscheidet. Diese Unterscheidung ist für unsere Untersuchungen mit dem Multiphotonen-Lasertomographen von Bedeutung, da nur das fibrilläre Kollagen in der Dermis zur Generierung von second harmonics in der Lage ist (siehe Kapitel 3.2.2.3.1.).

Die Dermis gliedert sich in zwei Schichten. Zum einen besteht sie aus dem *Str. papillare*, das aus lockerem Bindegewebe besteht und sich zapfenartig in die Epidermis einstülpt. Die Grenze zwischen diesen beiden Schichten wird als dermoepidermale Junctionszone bezeichnet. Sie flacht mit zunehmender Hautalterung ab, sodass die Verankerung zwischen den beiden Schichten an Festigkeit verliert. Zusätzlich befinden sich im *Str. papillare* Blutkapillaren, kleine Lymphgefäße, immunologisch aktive Zellen (*Lymphozyten*, *Histiozyten*, *Mastzellen*, *Plasmazellen*) und Nervenendorgane. Im Prozess der Hautalterung kommt es hier ebenfalls zu Veränderungen der Zusammensetzung und der Strukturen der Bestandteile.

In der darunter liegenden Schicht, dem *Str. retikulare*, befindet sich der Hauptanteil der Kollagen- und Elastinfasern. Kollagen ist notwendig, um die Festigkeit und Dehnbarkeit der Haut zu gewährleisten. Das *Str. retikulare* enthält dabei hauptsächlich die Typen I und III, die aus Kollagenvorstufen, sogenanntem Prokollagen, hervorgehen. Die Synthese des Kollagens übernehmen die Fibroblasten, sodass eine verminderte Anzahl von Fibroblasten mit einer Reduktion an Kollagenfasern einhergeht und zu einer verminderten Hautfestigkeit und -dehnbarkeit führt. Auch ein vermehrter Abbau durch die proteolytisch aktiven Matrixmetalloproteinasen kann eine Ursache für eine solche Kollagenreduktion darstellen.

Elastin hingegen gewährleistet die Flexibilität und Elastizität der Haut. Auch sein Gehalt verändert sich im Verlaufe der Hautalterung. Im Unterschied zum Kollagen ist der Einfluss extrinsischer Einflussfaktoren auf elastische Fasern wesentlich größer.

In der Netzschicht (*Str. retikulare*) befinden sich zusätzlich noch größere Nerven und Blutgefäße, sowie Schweißdrüsen und Haarfollikel mit den *Mm. arrectores pili*.

Die extrazelluläre Matrix der Dermis enthält zudem unterschiedliche wasserbindende Substanzen wie Glycosaminoglykane und Proteoglycane, die zur Aufrechterhaltung des Hautturgors von entscheidender Bedeutung sind.

### **1.2.3 Die Subkutis (Unterhaut)**

Die Subkutis stellt die tiefste Schicht unserer Haut dar. Sie enthält neben den Adipozyten auch Nährstoffe, Blutgefäße, zum Teil kleine Schweiß- und Talgdrüsen sowie Anteile der *Mm. arrectores pili* an den Haarfollikeln. Sie dient als Polsterung gegen Stöße von außen und als Energiereservoir. Üblicherweise überwiegt der Anteil an Fettzellen, deren Volumen, Schichtdicke und Anordnung konstitutionell und hormonell bestimmt ist. Lediglich an der Nase, den Augenlidern und den Ohrmuscheln fehlt das subkutane Fettgewebe fast vollständig. Im Alter nimmt der Anteil des Unterhautfettgewebes ab, sodass letztlich eine höhere Verletzungsgefahr bei mechanischen Krafteinwirkungen vorliegt und eine verminderte Nährstoffversorgung auftreten kann.

## **1.3 Formen der Hautalterung**

Wie bereits erwähnt, unterscheidet man grundsätzlich zwischen der intrinsischen oder biologischen Hautalterung und der extrinsischen, durch Umwelteinflüsse bedingten, Alterung der Haut. Beide zeigen individuelle Pathomechanismen, die unterschiedliche Veränderungen in der Haut hervorrufen. Damit verbunden, zeigt sich auch ein jeweils differenter Phänotyp. Ursachen der jeweiligen Form der Hautalterung und die dadurch verursachten Veränderungen werden im Folgenden dargestellt.

### **1.3.1 Intrinsische Hautalterung**

Intrinsische strukturelle Veränderungen der Haut sind Folge einer natürlichen, genetisch determinierten Hautalterung (Farage et al. 2008). Neben den genetischen Einflüssen sind

jedoch weitere Faktoren, wie beispielsweise der natürliche Hormonhaushalt und prooxidative Stoffwechselforgänge für die intrinsische Hautalterung verantwortlich (Effendy et al. 2005).

Es existieren verschiedene Hypothesen über die Ursachen der intrinsischen Hautalterung. Eine davon ist das sog. Hayflick-Phänomen, benannt nach seinem Entdecker, dem Gerontologen Leonard Hayflick (geb. 1928). Er beobachtete, dass Fibroblasten in *in-vitro*-Kulturen nur eine begrenzte Zellteilungsfähigkeit besitzen. Diese liegt bei jungen Menschen bei etwa 40-50 möglichen Zellteilungen, danach geht die Zelle in den programmierten Zelltod (Apoptose) über. Die Anzahl der möglichen Zellteilungen nimmt jedoch im Laufe des Alterns kontinuierlich ab. Somit weist die intrinsisch gealterte Haut letztendlich eine insgesamt verminderte Zellzahl auf. Die zunehmenden Funktionsverluste, wie Elastizitätsminderung und Faltenbildung sind Folge einer Reduktion arbeitsfähiger Zellen, die die entsprechenden Strukturen wie Kollagen- und Elastinfasern produzieren.

Eine weitere Theorie der intrinsischen Hautalterung beruht auf dem Nachweis von altersabhängigen Veränderungen des Immunsystems. Entscheidend scheint dabei v.a. eine Reduktion immunologisch aktiver Zellen, insbesondere der T-Lymphozyten, zu sein. Diese Hypothese wird durch die klinische Beobachtung unterstützt, dass Patienten unter bestimmten Immunsuppressiva vermehrt Zeichen der Hautalterung, wie Elastose aufweisen, sowie häufiger benigne und maligne Hauttumoren ausbilden (Böni und Dummer 1995, Galvao et al. 1998).

Eine Beteiligung des Hormonhaushaltes am Alterungsprozess ist unbestritten. In vielen Studien wurde der Einfluss von Hormonen, insbesondere den Östrogenen, auf die Haut und ihre Veränderungen im Alter untersucht (Brincat et al. 1983, Bentley et al. 1986, Affinito et al. 1999, Verdier-Sevrain et al. 2006, Kaatz et al. 2008). Bisher sind die Prozesse, mit denen die Hormonspiegel die Hautalterung beeinflussen, nicht endgültig verstanden. Man geht jedoch davon aus, dass eine abnehmende Produktion von Östrogenen zu einer dünneren, trockeneren Haut mit reduzierter Elastizität, und zur Fältchenbildung führt (Brincat 2000). Die erniedrigten Östrogenspiegel führen zu einer Verminderung des Kollagengehaltes, der elastischen Fasern sowie der dermalen Grundsubstanz (Brincat et al. 1983, Bentley et al. 1986).



Weitere Hautalterungshypothesen beinhalten Veränderungen der DNS, Verlust der Telomerasesequenzen während des Zellteilungszyklus (Vaziri und Benchimol 1996), sowie die Schädigung durch freie Radikale. Die intrinsische Hautalterung wird also durch ein komplexes System von parallelen Prozessen hervorgerufen.

Die intrinsische Hautalterung kann bisher nur in geringem Maße beeinflusst werden. Einerseits können die Folgen der zunehmenden Hauttrockenheit und die verminderte Elastizität durch rückfettende Externa, vorwiegend Wasser-in-Öl-Emulsionen, gemildert werden (Böni und Burg 2000). Zusätzlich kann durch die Anwendung von Antioxidantien, wie z.B. L-Ascorbinsäure (Vitamin C),  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) oder Melatonin ein protektiver Effekt erzielt werden, da sie in der Lage sind, freie Radikale zu eliminieren. Gleichzeitig wird die Wirksamkeit von Hormonen in Externa bzw. als Begleitphänomen einer Hormonersatztherapie überprüft.

Insgesamt ist die Beeinflussbarkeit jedoch sehr begrenzt. Zusätzlich ist das Ausmaß der intrinsischen Hautalterung aufgrund der hauptsächlich genetischen Determinierung individuell sehr unterschiedlich ausgeprägt. Dies wird besonders deutlich bei genetischen Erkrankungen wie der Progerie oder der Xeroderma pigmentosum, wo es aufgrund des genetischen Defektes unter anderem zu einer extremen Voralterung der Haut kommt. Allerdings unterliegt nicht nur die intrinsische Hautalterung, sondern in geringem Umfang auch die extrinsische Hautalterung genetischen Faktoren. Insbesondere der Hauttyp bestimmt, in welchem Ausmaß extrinsische Faktoren wirksam werden können.

### **1.3.2 Extrinsische Hautalterung**

Unsere Haut unterliegt neben der intrinsischen Hautalterung auch den lebenslang einwirkenden Umweltprozessen, die ihrerseits zu spezifischen Veränderungen im Laufe des Lebens führen. Zu diesen extrinsischen Einflüssen zählen v.a. UV-Strahlung und Tabakrauch. Gleichzeitig scheinen aber auch Infrarotstrahlung, Ozon und andere Umwelttoxine neben der individuellen Lebensführung und Ernährung die extrinsische Hautalterung wesentlich zu beeinflussen.

Die ultraviolette Strahlung stellt die wichtigste exogene Noxe dar, durch die es zu einer vorzeitigen Hautalterung kommt. Man vermutet, dass ca. 80% des Hautalterungsprozesses auf das ultraviolette Licht zurückzuführen sind (Gilchrest 1989). Neben der natürlichen

Sonnenbelastung, spielt in einem zunehmendem Maße in unserer Gesellschaft auch die Bestrahlung mit künstlicher UV-Strahlung in Sonnenstudios eine entscheidende Rolle (Krutmann 2003). Zwar wird die Karzinogenese vor allem durch UVB-Strahlung hervorgerufen, für die Hautalterung ist aktuell jedoch mit großer Sicherheit davon auszugehen, dass sowohl UVB- als auch UVA-Strahlung an ihrer Entstehung beteiligt sind. Der schädigende Einfluss in Bezug auf die Hautalterung wirkt dabei vorrangig auf die Dermis.

Hochcharakteristisch für lichtgealterte Haut, ist eine Veränderung der extrazellulären dermalen Matrix, die sogenannte Elastose. In überwiegend intrinsisch gealterter Haut wird sie nicht beobachtet (Krutmann 2003). Die Gründe für die Entstehung der solaren Elastose wurden lange Zeit intensiv diskutiert. Grundsätzlich bestehen zwei Hypothesen. Einerseits wird die solare Elastose hauptsächlich auf eine Akkumulation von degeneriertem, fragmentiertem elastotischem Material in der oberen Dermis zurückgeführt. Andererseits legen andere Untersuchungen die *de-novo* Synthese von elastotischem Material nahe, das eine geringere Qualität als reife elastische Fasern besitzt. Wahrscheinlich liegt jedoch auch hier eine Kombination beider Prozesse vor (Sellheyer 2003). Grundsätzlich ist dieses Material, das zum Bild der solaren Elastose führt, strukturell und funktionell so verändert, dass die ursprünglichen Aufgaben nicht mehr vollständig übernommen werden können.

Weitere typische Merkmale der lichtgeschädigten Haut sind eine Reduktion der reifen Kollagenfasern, bedingt durch eine starke Verminderung an Kollagenvorstufen. Außerdem ist der Gehalt dermalen Matrixproteine (Glycosaminoglykane und interstitielles Kollagen) reduziert. Die molekularen Pathomechanismen, die diesen Veränderungen zugrunde liegen, sind zum einen eine hemmende Wirkung auf die Synthese von Kollagenfasern und zum anderen eine Induktion des Abbaus durch Aktivierung von Matrixmetalloproteinasen (Krutmann 2003). Physiologisch sind die Matrixmetalloproteinasen für die Aufrechterhaltung des Gleichgewichtes zwischen Biosynthese und Degradation der extrazellulären Matrix mitverantwortlich. Durch die Hochregulation ihrer Aktivität kommt es insgesamt zu einer Reduktion von Kollagenfasern und anderer Bestandteile der extrazellulären Matrix in der Dermis.

Bei vorrangig intrinsisch gealterter Haut wird überwiegend eine Reduktion der Zellen in der Dermis beobachtet. In lichtgealterter Haut zeigt sich jedoch ein gegenläufiger Prozess. Hier kommt es zu einer Zunahme der dermalen Fibroblasten, die zunehmend hyperplastisch

werden (Krutmann 2003). Gleichzeitig weist die lichtgeschädigte Haut eine erhöhte Anzahl von Immunzellen, als Hinweis auf einen chronisch entzündlichen Prozess, auf.

Parallel dazu kommt es zu einer ausgeprägten Erweiterung und Verdrehung der Gefäße, die durch die Ausbildung von Teleangiektasien sichtbar wird.

Der zweite wichtige Einflussfaktor für die extrinsische Hautalterung stellt der Nikotinabusus dar. Der Einfluss dieser Noxe soll hier nur kurz angesprochen werden. Ein jahrelanger Zigarettenkonsum zeigt sich v.a. in einer starken Faltenbildung im Gesicht bereits bei jüngeren Menschen (40-50 Jahre). Durch den Nikotinabusus werden einerseits Matrixmetalloproteinasen induziert, die vermehrt Kollagen abbauen. Aber auch eine direkte Wirkung auf das Kollagen, im Sinne einer reduzierten Synthese, wurde nachgewiesen (Krutmann 2003). Durch eine nikotinbedingte Vasokonstriktion, verursacht durch eine Stimulation sympathischer Ganglien und des NNM, und damit eine vermehrte Freisetzung von Adrenalin und Noradrenalin, kommt es zu einer Minderperfusion der Haut (Gross et al. 2003). Dies unterstützt zusätzlich eine vorzeitige Hautalterung durch verminderte Nährstoff- und Sauerstoffversorgung des Gewebes.

Eine Kombination von Rauchen und vermehrter UV-Exposition führt zu einem überadditiven Effekt. In Studien konnte gezeigt werden, dass eine tägliche Sonnenexposition von zwei Stunden bei gleichzeitigem Nikotinabusus das Risiko einer vorzeitigen Hautalterung um das 11,4 fache im Vergleich zu Nichtrauchern erhöht (Gross et al. 2003).

Im Gegensatz zur intrinsischen Hautalterung kann man sich vor den exogenen Faktoren weitgehend schützen. Nikotinkarenz und Schutz vor UV-Strahlung durch Kleidung und Sonnenschutzcremes, können den Prozess der vorzeitigen Hautalterung deutlich reduzieren.

#### **1.4 Untersuchungsmethoden zur Beurteilung struktureller und funktioneller Veränderungen im Rahmen der Hautalterung**

Wie bereits oben beschrieben, werden die beiden Hautalterungsformen durch unterschiedliche Pathomechanismen hervorgerufen, die ihrerseits zu spezifischen phänotypischen klinischen Bildern führen. Beiden Formen gemein ist jedoch, dass sie in jedem Falle zu einer Reduktion von Hautfunktionen führen. Die wichtigsten dieser Veränderungen stellen eine Elastizitätsminderung, Pigmentierungsstörungen, Hautfestigkeitsminderung, Hauttrockenheit und Veränderungen an den Gefäßen in der Haut dar.

Altershaut erscheint schlaff, trocken und ist verletzlicher. Welcher Einfluss dabei aber eine stärkere beeinträchtigende Wirkung auf die Haut besitzt, ist unklar. Für eine exakte Differenzierung des Anteils der intrinsischen bzw. extrinsischen Faktoren an der Hautalterung ist deshalb die Entwicklung spezifischer Untersuchungsmethoden notwendig. Gleichzeitig bleibt die grundsätzliche Frage, ob eine sichere Unterscheidung überhaupt möglich ist. Dies ist für eine wirkungsvolle Prävention und erfolgreiche Reduktion der Alterungsprozesse der Haut unerlässlich. Eine wirkungsvolle präventive Beeinflussbarkeit ist dabei v.a. bei Alterungsprozessen zu erwarten, die durch extrinsische Faktoren hervorgerufen werden. Intrinsische Einflussfaktoren sind im Gegensatz dazu nur schwer zu beeinflussen.

Hautphysiologische Untersuchungsmethoden können spezifische Funktionen der Haut *in-vivo* quantifizieren und ermöglichen damit eine indirekte Beurteilung zum Einfluss verschiedener Pathomechanismen und die Hautalterung. So können die Elastizität der Haut und die Hautfestigkeit mit dem Cutometer bzw. Reviscometer evaluiert werden. Da beide Verfahren unterschiedliche Ansätze in ihrer Messmethodik besitzen, können die Ergebnisse miteinander verglichen und besser validiert werden. Zur Bestimmung von Veränderungen der Hautgefäße und vermehrten Entzündungsprozessen in der Haut, kommen zwei weitere Messmethoden zur Anwendung. Bei der Mexametrie (Mexameter MX 18) wird die Reflexspektrometrie genutzt. Bei der Chromametrie (Chromameter von Minolta) werden die unterschiedlichen Erythem- und Pigmentierungsgrade mit der Tricolorimetrie bestimmt. Allerdings ermöglichen sämtliche hautphysiologische Methoden nur mittelbar Aussagen zur Hautalterung, da mit Hilfe der erhobenen Werte indirekt auf den Zustand der Haut und ihre Funktionen geschlossen wird.

Strukturelle Veränderungen der Haut können mit diesen Methoden jedoch nicht betrachtet werden. Bisher können die morphologischen Veränderungen nur mit aufwendigen histologischen und immunhistologischen Untersuchungen *ex-vivo* untersucht werden. Eine histologische Untersuchung erfordert obligat eine Hautbiopsie, ein invasives Verfahren, das nicht beliebig oft durchgeführt werden kann. Eine Probenentnahme ist schmerzhaft, aufwendig und geht mit einer Narbenbildung einher. Gleichzeitig unterliegt die Hautprobe durch Fixier- und Färbevorgängen auch Artefakten. Aufgrund dieser Faktoren ist diese Methode zur Verlaufsbeurteilung und Überprüfung von Therapien nur bedingt geeignet.

Um die Nachteile dieser Verfahren zu umgehen, wurde nach neuen Verfahren gesucht, die in der Lage sind strukturelle Veränderungen in der Haut darzustellen und quantitativ zu

bestimmen. Eine mögliche nicht-invasive Alternative zur histologischen Untersuchung stellt die Multiphotonen-Lasertomographie dar, die eine Bildgebung im Sinne einer optischen Biopsie erlaubt. Neben der Untersuchung morphologischer Veränderungen im Rahmen der Hautalterung, können gleichzeitig semiquantitative Messungen des Kollagen- und Elastinfasergehaltes durchgeführt werden.

## **2. Ziele der Arbeit**

Die Hautalterung ist sowohl aus medizinischer als auch aus kosmetisch-ästhetischer Sicht ein äußerst präzentes Thema in unserer heutigen Gesellschaft. Deshalb besteht ein großes Interesse, Veränderungen der Hautstruktur und daraus resultierende Funktionsstörungen und -defizite zu untersuchen, sowie Möglichkeiten zu finden, diese zu quantifizieren. Kenntnisse über altersbedingte Prozesse und ihre morphologischen Folgen sind der Schlüssel für die Entwicklung und Überprüfung präventiver und therapeutischer Verfahren zur Vermeidung oder Behandlung einer vorzeitigen Hautalterung. Von essenzieller Bedeutung ist dabei die Unterscheidung in die beiden ursächlichen Formen des Hautalterungsprozesses. Zum einen gibt es die intrinsische, physiologische Hautalterung, die sich therapeutisch bisher nur eingeschränkt beeinflussen lässt, da sie genetisch determiniert ist. Im Gegensatz dazu lässt sich die extrinsische Form der Hautalterung durch primärpräventive Maßnahmen reduzieren bzw. verhindern. Gleichzeitig können Kosmetika, in die zunehmend neue innovative Substanzen eingearbeitet werden, Alterungsprozesse beeinflussen.

Ziel dieser Arbeit sind folgende:

1. Untersuchung des Stellenwertes der MLT in der Beurteilung struktureller altersbedingter Veränderung in der Haut in Abhängigkeit von den jeweils überwiegender Einflussfaktoren.
2. Vergleich von vorrangig intrinsisch belasteter Haut (Unterarminnenseite) mit extrinsisch belasteter Haut (Unterarmaußenseite) mit dem MLT und hautphysiologischen Messverfahren, zur Untersuchung struktureller und funktioneller Veränderungen durch unterschiedlich ausgeprägte Einflüsse schädlicher Umweltfaktoren.
3. Vergleich vorrangig intrinsisch belasteter Haut (Unterarminnenseite) zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen und den Geschlechtern mit dem MLT und hautphysiologischen Methoden zur Untersuchung struktureller und funktioneller Veränderungen, sowie des Verlaufs der natürlichen Hautalterung und eines möglichen Einflusses des Geschlechts.

4. Vergleich vermehrt extrinsisch belasteter Haut (Unterarmaußenseite) zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen und den Geschlechtern mit dem MLT und hautphysiologischen Methoden zur Untersuchung der extrinsischen Hautalterung, sowie eines möglichen Einflusses des Geschlechts.
  
5. Vergleich der Ergebnisse der MLT mit denen etablierter hautphysiologischen Methoden. Im Vordergrund soll dabei die Frage beantwortet werden, ob die morphologisch-strukturellen Veränderungen mit den hautphysiologisch gemessenen weitgehend funktionellen Daten in Einklang zu bringen sind.
  
6. Vergleich der Ergebnisse in der MLT mit vorliegenden histologischen Untersuchungen, um morphologische Übereinstimmungen, Vor- und Nachteile der Methode bei der Untersuchung der Hautalterung zu verifizieren.

### **3. Material und Methodik**

#### **3.1 Probanden**

Die Studie wurde an 48 freiwilligen, hautgesunden Probanden verschiedener Altersgruppen durchgeführt. Es wurden vier Gruppen mit jeweils 12 Personen gebildet. Gruppe eins bestand aus männlichen Probanden im Alter zwischen 20-25 Jahren (Durchschnittsalter 22,3 Jahre, i.F. als junge Männer bezeichnet). Gruppe zwei bestand aus männlichen Probanden die 70 Jahre und älter waren (Durchschnittsalter 74,75 Jahre, i.F. als ältere Männer bezeichnet). Weibliche Probanden mit 70 Jahren und älter bildeten Gruppe drei (Durchschnittsalter 72 Jahre, i.F. als ältere Frauen bezeichnet). Gruppe vier wurde durch weibliche Probanden im Alter von 20-25 Jahren gebildet (Durchschnittsalter 23,18 Jahre, i.F. als junge Frauen bezeichnet).

#### **Einschlusskriterien**

1. freiwillige Teilnahme
2. Geschlecht: männlich (Gr.1 und 2) oder weiblich (Gr. 3 und 4)
3. Alter: 20- 25 Jahre (Gr. 1 und 4), 70 Jahre und älter (Gr. 2 und 3)
4. Hauttyp II oder III
5. kein exzessives Sonnenbaden und /oder keine Solariumbesuche in den letzten 5 Jahren
6. Nichtraucher
7. keine Hormonersatztherapie in den letzten 5 Jahren (Gr. 3)

#### **Ausschlusskriterien**

1. dermatologische Erkrankungen im Untersuchungsfeld
2. schwere internistische Erkrankungen, aktive Tumoren
3. Allergien gegen Tesafilm und Klebstoffe (verwendete Materialien)
4. Schwangerschaft, Stillzeit
5. Immunsuppressive Therapie (einschließlich systemischer Kortikosteroide)
6. Verwendung von Selbstbräunern und exzessive Betacarotenzufuhr
7. Mangelnde Kooperationsbereitschaft

Für die Gruppen zwei und drei erfolgte ein Amendment. Es wurden auch Probanden mit langer Nikotinkarenz (15 Jahre) bei zuvor geringer Nikotinexposition (< 10 pack years)



eingeschlossen. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität genehmigt und die Probanden erklärten alle schriftlich ihr Einverständnis an der Studienteilnahme.

### **3.2 Untersuchungsverfahren**

Die Haut besitzt eine Vielzahl unterschiedlicher Funktionen und Eigenschaften, die sich jedoch im Laufe des Lebens verändern. Diese funktionellen Veränderungen werden im Rahmen dieser Arbeit näher betrachtet. Dazu wurde einerseits ein Probandenkollektiv der Altersgruppe 20-25 Jahre mit ausgewogener Geschlechterverteilung zur Bestimmung der Eigenschaften junger wenig gealterter Haut untersucht. Diese Ergebnisse wurden mit der Altersgruppe 70 Jahren und älter verglichen, bei der sowohl eine fortgeschrittene intrinsische als auch extrinsische Hautalterung zu erwarten ist. Im Vergleich der jeweiligen Gruppen sollen Unterschiede sowohl quantitativ als auch qualitativ zwischen den verschiedenen Altersgruppen herausgearbeitet werden. Gleichzeitig wurde auch untersucht, ob das Geschlecht einen Einfluss auf die Hautfunktionen ausübt. Dazu wurden zum einen die beiden Geschlechter in jungen Jahren verglichen, um die Ausgangssituation zwischen ihnen aufzuzeigen. Zum anderen wurden die älteren Frauen mit den älteren Männern verglichen. Der Vergleich dieser beiden Gruppen sollte Aufschluss darüber geben, ob möglicherweise Frauen im Vergleich zu Männern zu einer vorzeitigen Hautalterung neigen. Weiterhin sollte der Aspekt der extrinsischen Hautalterung betrachtet werden. Generell ist das gesamte Integument äußerlichen Einflüssen ausgesetzt. Je nach Körperregion ist jedoch insbesondere die UV-Exposition als wichtigster extrinsischer Faktor sehr unterschiedlich ausgeprägt. Für eine gute Differenzierung zwischen intrinsischen und extrinsischen Faktoren müssen zwei Kriterien erfüllt werden, eine gute Vergleichbarkeit zu bisherigen Untersuchungen und eine gute Zugänglichkeit für die Multiphotonen-Lasertomographie. Dafür ist die relativ geschützte Unterarminnenseite und die stark exponierte Unterarmaußenseite am besten geeignet (Lavker et al. 1987). Als Untersuchungsarm wurde dabei immer der Arm der jeweiligen Händigkeit verwendet. Da alle Probanden Rechtshänder waren, wurde jeweils der rechte Arm untersucht. Gemessen wurde in der Mitte zwischen Ellenbogen bzw. -beuge und Handgelenksfalte.

Für die Untersuchung wurden innerhalb der Studie zahlreiche hautphysiologische Funktionen gemessen. Mit Hilfe des Cuto- und Reviscometers (Courage und Khazaka, Köln, Germany) wurden Parameter, die die Hautelastizität erfassen, bestimmt. Untersuchungen zur Elastizität

sind mit beiden Verfahren bereits in zahlreichen Studien durchgeführt wurden (Agache et al. 1980, Escoffier et al. 1989, Cua et al. 1990, Elsner et al. 1990, Takema et al. 1994, Pierard 1999, Vexler et al. 1999, Hermanns-Le et al. 2001, Rodrigues 2001, Smalls et al. 2006, Ahn et al. 2007, Paye et al. 2007). Die Hautelastizität stellt eine wichtige Funktion der Haut dar, die zusätzlich das äußere Erscheinungsbild der Haut maßgeblich mit beeinflusst.

Gleichzeitig wurden in dieser Arbeit, mittels Chroma- und Mexameter (Courage und Khazaka, Köln, Germany), die Pigmentierung der Haut (Melaningehalt) und die Hautrötung (Erythemwert) bestimmt. Diese Parameter sind ebenfalls umfangreich untersucht worden (Fullerton et al. 1996, Pierard 1998, Clarys et al. 2000, Barel et al. 2001, Stamatias et al. 2004), und haben aufgrund des aktuellen Trends, sich durch häufigere, lange Sonnenbäder vermehrt UV-Strahlung auszusetzen, eine hohe Relevanz.

Mit den dargestellten Untersuchungsmethoden lassen sich jedoch nur Teilfunktionen der Haut erfassen und indirekt Aussagen zu den Funktionen treffen. Morphologische Unterschiede auf zellulärer Ebene oder im Gewebeverband sowie die Quantifizierung und strukturelle Beurteilung des Fasernetzwerkes sind dagegen nicht möglich. Deshalb wurde neben den o.g. etablierten Verfahren ein neues Verfahren angewendet, um einen Einblick in die Struktur der Haut, ihre Veränderungen im Alter, Unterschiede zwischen den Geschlechtern sowie zwischen intrinsischer und extrinsischer Hautbelastung, zu erhalten. Das verwendete Gerät ist der Multiphotonen-Lasertomograph (MLT) DermaInspect® (JenLab GmbH Jena, Deutschland). Mit dem Verfahren sind semiquantitative Messung des Kollagen- und Elastingehaltes in der Haut möglich (König und Riemann 2003). Gleichzeitig kann man Zellen bis hin zu intrazellulären Strukturen aber auch ihre Rolle im Zellverband darstellen.

### **3.2.1 Hautphysiologische Messmethoden**

Da die Ergebnisse hautphysiologische Messungen in starkem Maße von äußeren Faktoren abhängig sind, wurden die Messungen unter standardisierten Bedingungen in einem klimatisierten Raum durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten bei einer Raumtemperatur von ca.  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 45 - 50 %. Die Probanden-Messungen wurden bei konstanten Lichtverhältnissen durchgeführt, um Verfälschungen der Mexa- und Chromameter-Werte zu vermeiden. Vor den Messungen wurden die Probanden für mind. 20 Minuten in einem ähnlich konditionierten Raum platziert, um sich dort zu

akklimatisieren. Dadurch sollten Verfälschungen der Daten durch vermehrtes Transpirieren oder gesteigerte Hautperfusion verringert werden.

Die Probanden wurden in sitzender Position untersucht. Der Unterarm und der Oberarm waren zueinander im 90°-Winkel gebeugt. Nacheinander wurden zuerst das Mexameter MX18, Chromameter, Cutometer MPA 580 und zuletzt das Reviscometer 600 verwendet. Das Reviscometer wurde als letztes Untersuchungsverfahren angewendet, da dieses Verfahren durch die Verwendung eines doppelseitigen Klebebandes zu Irritationen der Haut führen kann und somit eine Verfälschung der Ergebnisse anderer Verfahren auftreten könnte. Um einen konstanten Druck durch die einzelnen Messsonden zu gewährleisten und damit vergleichbare Werte zu erhalten, nutzte der Untersucher jeweils die eigenen Ellenbogen als Abstützhilfe.

### **3.2.1.1 Cutometrie**

Das Cutometer vermag, aufgrund seines Ansaugprinzips, die Elastizitätseigenschaften der Haut zu quantifizieren. Der Messvorgang setzt sich aus zwei Komponenten zusammen. Zunächst wird während der Ansaugphase in dem Messgerät ein Unterdruck erzeugt, der zwischen 20 und 500 mbar variiert werden kann. Durch diesen Sog wird die gewählte Hautstelle in die, im Durchmesser ca. 2 mm große Sondenöffnung gezogen (siehe Abb.2). Dem Probanden wird die Sonde senkrecht auf die Haut gesetzt, wobei eine eingebaute Druckfeder in der Sonde für einen konstanten Druck auf der Haut sorgt. Bereits durch das Aufsetzen der Sonde auf die Haut kann es, je nach Elastizitätszustand, bereits zum minimalen Eindringen von Haut in die Sondenöffnung kommen. Diese individuell unterschiedliche Eindringtiefe in die Sondenöffnung wird berührungslos von einem optischen Messsystem erfasst und als korrigierter Nullpunkt erkannt. Das optische Messsystem besteht aus einem infraroten Lichtsender und einem Lichtempfänger, sowie zwei sich gegenüberliegenden Glasprismen, die das Licht vom Sender zum Empfänger leiten. Das optische System misst die Abnahme der Lichtintensität des infraroten Lichtstrahls in Abhängigkeit der Eindringtiefe der Haut.

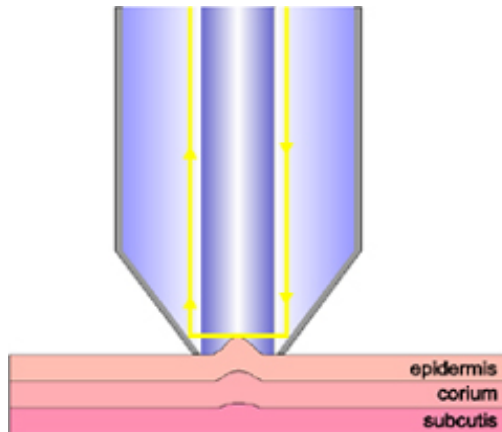


Abb.2:  
Dargestellt ist die Messsonde des Cutometer MPA 580, senkrecht zur Haut stehend. Die Haut wird mittels Unterdruck in die Sondenöffnung gezogen, wodurch das optische Messsystem die Eindringtiefe messen kann.  
(Quelle: Information und Gebrauchsanweisung zum Cutometer)

In dieser Studie wurde für die Messung Modus 1 mit frei wählbaren Druck- und Zeitparametern gewählt. In diesem Modus wurde die Haut im 1. Messzyklus für 2 Sek. mit einem Unterdruck von 100 mbar in die Sondenöffnung gezogen und die Eindringtiefe gemessen. Im 2. Zyklus wurde der Druck für 2 Sek. wieder normalisiert, d.h. die Messung erfolgte ohne Unterdruck und das Rückbildungsverhalten der Haut in dieser Zeitspanne konnte gemessen werden. Dieser Verlauf wurde dreimal ohne Absetzen der Sonde wiederholt. Durch diese Wiederholungseinstellung lassen sich eventuelle Ermüdungserscheinungen der Haut aufzeigen. Zur Mittelung der Messwerte wurde der komplette Zyklusverlauf dreimal im selben Areal wiederholt. Zur optisch besseren Darstellung sind die Werte in einem Diagramm als Zeit-Dehnungskurve darstellbar (siehe Abb.3). Nach Abschluss der Messung wurden die Daten in eine Exceldatei eingetragen und ausgewertet.

Mit Hilfe der Cutometrie können zahlreiche Parameter erfasst werden (siehe Abb.3). Ursprünglich wurden in früheren Studien die sog. U-Werte als absolute Parameter erhoben und ausgewertet (Agache et al. 1980). Es stellt sich jedoch heraus, dass diese Parameter abhängig von den jeweiligen Hautdicken sind (A.O. Barel et al.). Da die Hautdicke individuell sehr unterschiedlich ausgeprägt ist und von vielen zusätzlichen Faktoren beeinflusst werden kann, wurden die U-Werte ins Verhältnis zueinander gesetzt. Die dadurch resultierenden relativen Parameter sind unabhängig von den individuellen Hautdicken.

Die Kurvendarstellung (Abb.3) ermöglicht eine gute Darstellung der visko-elastischen Beschaffenheit der Haut. Im Gegensatz zu einer Kurve von einem vollelastischen Material (z.B. ein Luftballon) zeigt sich, dass die Kurve der Haut sowohl in der Ansaug-, als auch in der Relaxationsphase, aus zwei Komponenten besteht.

Der erste Teil der Ansaugphase stellt sich als fast senkrechter Anstieg der Kurve dar, im zweiten Teil flacht die Kurve zunehmend ab, bis zur maximalen Auslenkung am Ende der Ansaugphase. Der erste Teil der Kurve spiegelt den elastischen Anteil wider, und wird in der Literatur als  $U_e$  bezeichnet.  $U_e$  ergibt sich aus  $U_e = U_f - U_v$ .

Der zweite, sich abflachende Teil der Kurve stellt den visko-elastischen Anteil der Haut dar. Dieser visko-elastische Anteil wird in der Literatur mit  $U_v$  angegeben. Bei einem hochelastischen Material ist dieser Kurventeil nicht oder kaum vorhanden und somit  $U_v$  sehr klein und damit in praxi vernachlässigbar.

Die maximale Amplitude der Kurve  $U_f$  ergibt sich also aus  $U_f = U_e + U_v$ .

Nach Beenden der Ansaugphase, fällt bei einem hochelastischen Material die Kurve sofort senkrecht auf den Ausgangspunkt zurück ( $U_r = U_f$ ). Bei einem visko-elastischen Material, wie der Haut, sind je nach elastischer Beschaffenheit, dagegen zwei Kurventeile zu beobachten. Ein senkrecht abfallender elastischer Anteil ( $U_r$ ) und der sich der Nulllinie langsam nähernde visko-elastische Anteil ( $U_a - U_r$ ).

Die Strecke  $U_f - U_a$  gibt die gesamte Eigenkraft der Haut zur Rückbildung wieder.

Die für diese Studie interessierenden Parameter sind  $U_f$ ,  $U_a/U_f$ ,  $U_v/U_e$  und  $U_r/U_f$ . Diese Parameter werden im Ergebnisteil dargestellt und die daraus abzuleitenden Aussagen erläutert.

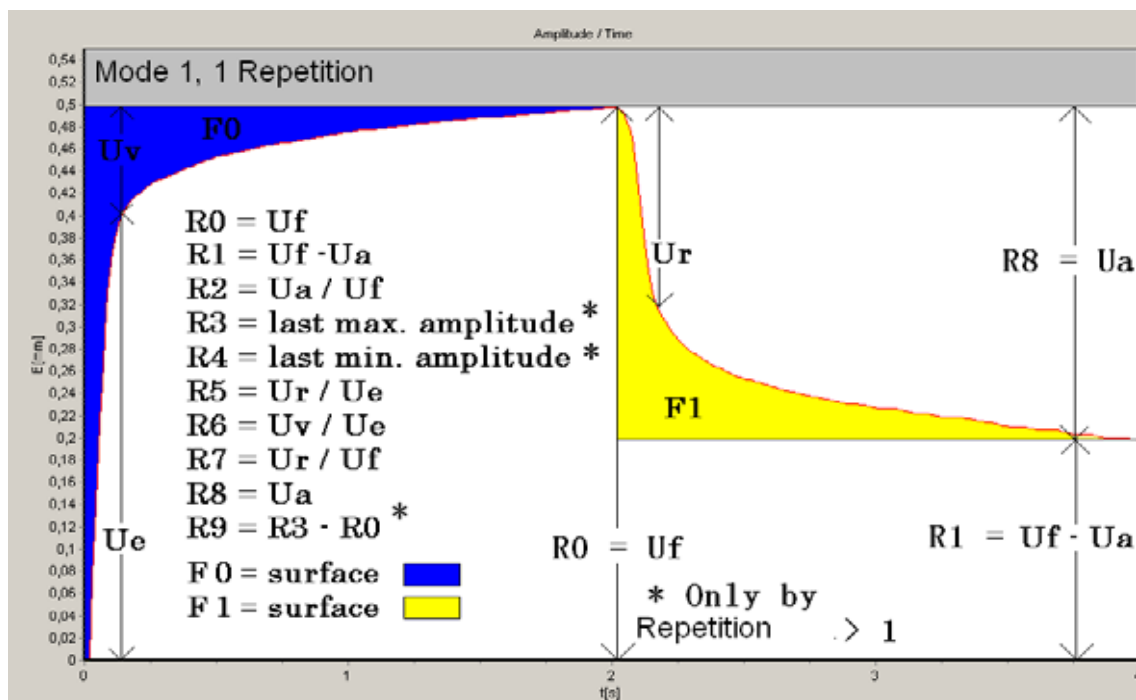


Abb.3: Darstellung einer typischen Verlaufskurve einer Cutometermessung am Unterarm.:  $U_e$ : sofortige Dehnung,  $U_v$ : verzögerte Dehnung (visko-elastischer Anteil),  $U_r$ : sofortige Rückbildung,  $U_f$ : max. Hautdehnung,  $U_a$ : komplette Rückbildung. (Quelle: Information und Gebrauchsanweisung zum Cutometer)

### 3.2.1.2 Reviscometer-Verfahren

Die Reviscometrie ist ein vergleichsweise neues Messverfahren. Sie ermöglicht einerseits einen unabhängigen Vergleich zu den Ergebnissen der Cutometrie bezüglich der Hautelastizität. Gleichzeitig sind gewisse Aussagen über Hautstrukturen möglich. Die Reviscometrie nutzt Messungen der Laufzeit künstlich erzeugter Schallwellen in der Haut (RRT = resonance running time). Dazu werden zwei Sensoren zur Messung auf die Haut aufgesetzt. Einer der Sensoren fungiert als Emitter und sendet eine akustische Schallwelle aus, der andere dient als Empfänger dieser Schallwelle. Die Schallwelle breitet sich in der Haut unterschiedlich schnell aus, je nach Grad der Feuchtigkeit, der Hautfaserausrichtung und der Elastizität. Die Zeit, die die Welle benötigt, um vom Emitter zum Empfänger zu gelangen, ist der gemessene Parameter (siehe Abb.4).

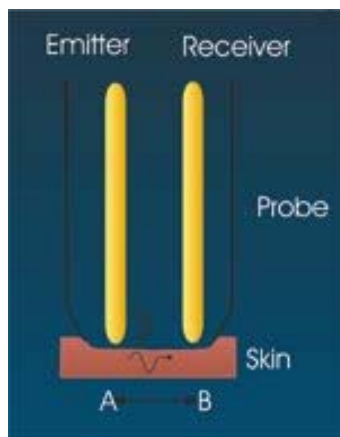


Abb.4: Darstellung der Sonde mit 2 Sensoren, sowie das Prinzip der Schallwellenausendung durch den Emitter (A), Weiterleitung in der Haut bis zum Schallempfänger (B)  
(Quelle: Information und Gebrauchsanweisung zum Reviscometer 600)

Der Messkopf wird für die Untersuchung senkrecht auf der Haut positioniert. Durch eine innerhalb der Sonde befindliche Druckfeder wird für einen konstanten Druck gesorgt. Ein Positionieraufsatz, der mit doppelseitigen Kleberingen auf der Haut befestigt wird, ermöglicht kreisförmige Messungen mit Abständen von jeweils  $10^\circ$  (siehe Abb.5). Diese relativ kleinen Winkelabstände wurden verwendet, um am Ende der Untersuchungen einen möglichst exakten RRT- Winkelverlauf zu erhalten. Bei der Wahl größerer Winkelabstände kann es unter Umständen zu einem Verlust wichtiger Daten und zur Verfälschung von Ergebnissen kommen (Ruvolo et al. 2007). Der Aufsatz wurde stets so auf der Probandenhautstelle befestigt, dass die erste Messung auf der  $0^\circ/180^\circ$ - Achse entlang der vertikalen Armachse verlief. Die gemessenen Werte wurden vom System digital angezeigt, in Excel übertragen und zur statistischen Auswertung vorbereitet.



a) Abb.5: Reviscometer Mess-Sonde  
 a) mit Positionieraufsatz auf der Haut    b) Handhabung    c) Sondeneingang mit Sensoren  
 (Quelle: Information und Gebrauchsanweisung zum Reviscometer 600)

Schallwellen breiten sich abhängig vom Verlauf der Fasern in der Haut unterschiedlich schnell aus. Dadurch werden nicht nur Aussagen über das Elastizitätsverhalten der Haut ermöglicht, sondern gleichzeitig kann auch die Faserrichtung ermittelt werden. Zur Veranschaulichung eines typischen Verlaufs einer 360°- Messung an einem Probanden zeigen Abb.6 und 7 typische Messkurven in grafischer Darstellung.

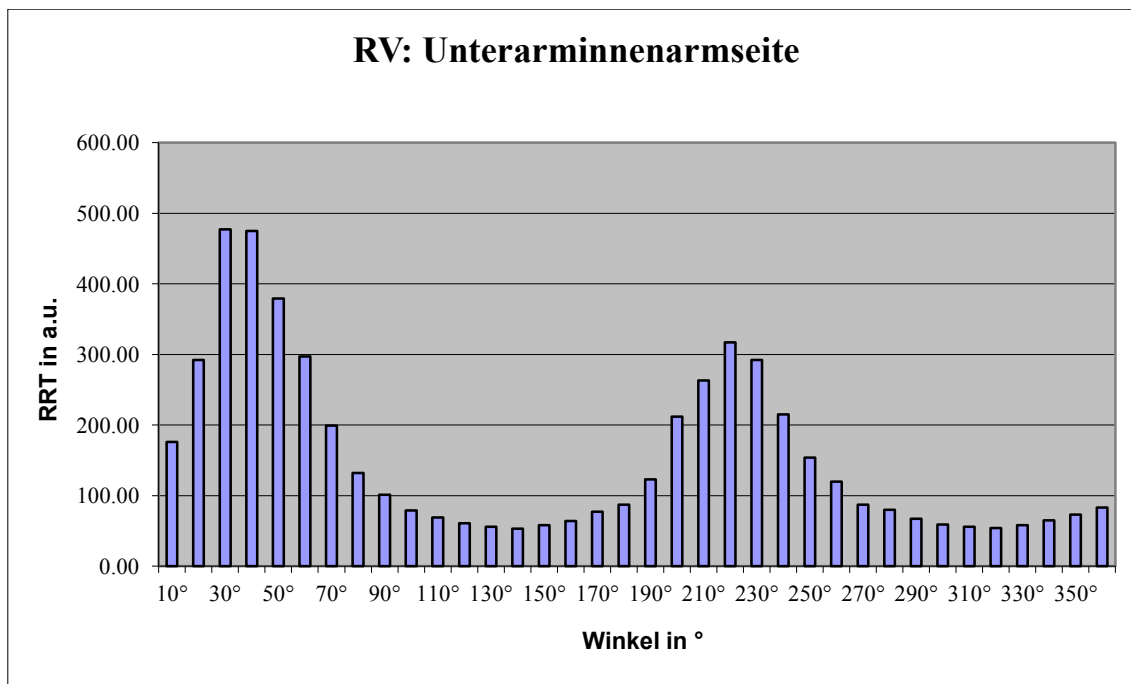


Abb.6: Darstellung eines typischen RRT-Winkelverlaufs auf der Innenarmseite. Die Werte stammen von einer 73- jährigen Probandin.

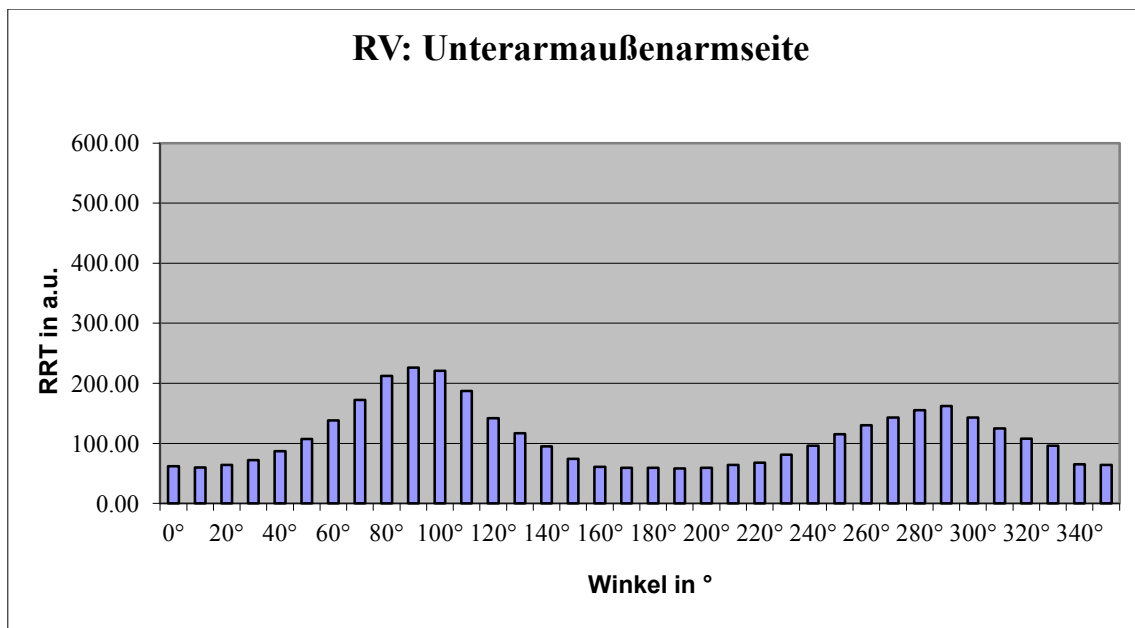


Abb.7: Darstellung eines RRT-Winkelverlaufs einer 73-jährigen Probandin von der Außenarmseite

Kleine RRT-Werte werden bei Messungen mit dem Faserverlauf der Haut beobachtet. Hohe Werte dagegen entstehen, wenn die Messung gegen den Faserverlauf erfolgt. Die Schallwelle benötigt dabei eine vergleichsweise längere Zeit, um von Emitter zu Empfänger zu gelangen. Im Vergleich zu den langjährig etablierten hautphysiologischen Methoden, ist die Reviscometrie ein vergleichsweise junges Verfahren. Die Ergebnisse werden deshalb noch intensiv diskutiert und kontrovers interpretiert (Hermanns-Le et al. 2001, Paye et al. 2007, Ruvolo et al. 2007). Die neusten Versuchsansätze für die Auswertung der Daten lieferte Ruvolo in seiner Studie 2007, in denen er seine Daten in RRT-Minima und -Maxima unterteilte, und diese in ein Verhältnis zueinander setzte. Dieses Verhältnis,  $RRT_{max.} / RRT_{min.}$ , stellt nach Ruvolo ein Maß für die Anisotropie der Haut dar (Ruvolo et al. 2007). In unserer Studie wurden die Daten nach diesem neuen Verfahren ausgewertet und mit der Auswertungsmethode nach Hermanns-Lè 2001 verglichen. Er stellte die RRT-Minima und -Maxima bezogen auf das Alter und Geschlecht separat dar. Zusätzlich wurde ein multidirektionaler Mittelwert aus allen Daten, die an einer Person gemessen wurden, berechnet (Hermanns-Le et al. 2001).

### **3.2.1.3 Bestimmung des Pigmentierungs- und Erythemgrades**

Melaningehalt und Erythemgrad sind zwei wichtige Parameter bei der Untersuchung der Haut. Für ihre Messung fanden in dieser Arbeit zwei verschiedene Untersuchungsgeräte Anwendung. Sie bieten damit einmal die Möglichkeit, die erhobenen Messparameter zu



vergleichen, und damit eine Validierung beider Geräte zu erhalten. Zum anderen kann damit die statistische Aussagekraft verbessert werden.

### **a) Mexametrie**

Das Mexameter der Firma Courage + Khazaka ermöglicht eine Farbbestimmung der Haut. Es misst den Anteil an Melanin und Hämoglobin, die im Wesentlichen die Färbung der Haut bestimmen, da sie die zwei wichtigsten Chromophore der Haut darstellen. Hämoglobin absorbiert hauptsächlich Licht im grünen Spektralbereich. In Abhängigkeit von der Stärke des Erythems und damit vom Hämoglobingehalt wird mehr oder weniger grünes Licht absorbiert. Hämoglobin befindet sich vorrangig in der Dermis und Subkutis, da dort der Großteil der Gefäße lokalisiert ist. Melanin ist dagegen v.a. in der basalen Epidermis nachzuweisen. Das Prinzip der Mexameter-Messung beruht auf Absorption. Die Spezialsonde sendet drei genau definierte Wellenlängen aus, die beim Auftreffen auf die Haut reflektiert werden. Nur das reflektierte und diffus gestreute Licht wird daraufhin von einem Empfänger in der Sonde aufgenommen. Da die ausgesendete Lichtstärke definiert ist, kann durch die Messung des reflektierten Lichtes, der Anteil des absorbierten Lichtes berechnet und als Maß des Farbgehaltes der Haut interpretiert werden (siehe Abb.8). Zu beachten ist, dass die Messungen durch zusätzliche künstliche Lichtquellen oder direkte Sonneneinstrahlung beeinflusst werden können, und es so zu einer Verfälschung der Messwerte kommen kann. Die Melanin-Messung erfolgt durch Aussendung von Licht in zwei bestimmten Wellenlängen (660 und 880 nm). Diese Wellenlängen wurden so gewählt, da sie vom Melanin unterschiedlich stark absorbiert werden (Bedienungsanleitung für Mexameter MX18 von Courage + Khazaka).

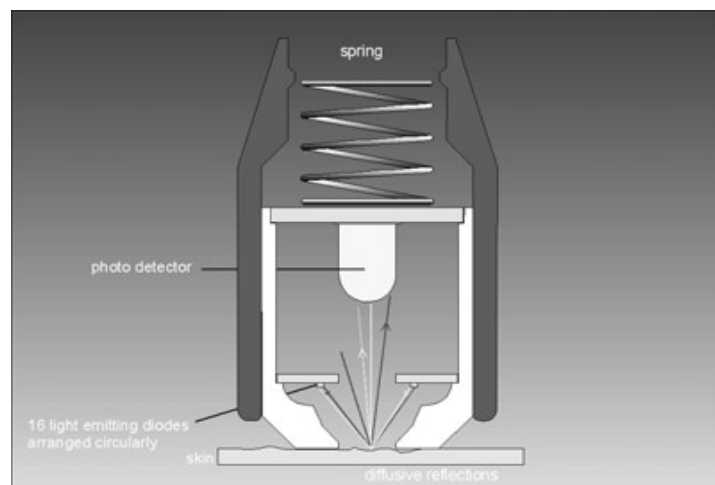


Abb.8: Darstellung eines Mexameter-Messkopfes  
(Quelle: Bedienungsanleitung für Mexameter MX18 von Courage + Khazaka)

Die Erythem-Messung erfolgt ebenfalls mit zwei verschiedenen Wellenlängen (568 und 660 nm). Dabei werden beide Wellenlängen gleichzeitig ausgesendet. Die 568 nm-Wellen liegen im Bereich des grünen Lichtes, welches vom Hämoglobin absorbiert wird. Das ausgesendete Licht der Wellenlänge 660 nm gehört zum roten Bereich und wird reflektiert und nachfolgend vom Sensor gemessen. Die erhobenen Werte werden als Zahlenverhältnis (Index) angegeben. Pro Testfeld wurden jeweils drei Messungen durchgeführt und aus den erhobenen Ergebnissen ein Mittelwert gebildet. Ein akustisches Signal zeigte die erfolgreich durchgeführte Messung an und die erhaltenen Messwerte wurden zur Auswertung in eine Excel-Tabelle übertragen.

### **b) Chromametrie**

Neben der Mexametrie können auch mit der Chromametrie (Chromameter der Firma Minolta) objektive und vom jeweiligen Untersucher unabhängige Daten zur Bestimmung des Erythemgrades und Melaningehaltes erhoben werden (siehe Abb.9). Es simuliert den Sehvorgang des menschlichen Auges, indem das weiße Licht einer Xenonlampe, die sich im Messkopf befindet, von der Hautoberfläche reflektiert wird. Diese Reflexion wird dann in einem dreidimensionalen, von der CIE (Commission Internationale de L'Éclairage) entwickelten Farbsystem analysiert (Berardesca und Maibach 1996, Wilhelm 1996). Nach Reflexion wird das Licht durch einen Filter geleitet, so dass ein spezifisches Farbspektrum zu 6 hochsensitiven Silizium-Photodioden vordringt. Die Dioden transformieren die Lichtsignale in elektrische Signale. Zur Auswertung werden diese Signale in ein dreidimensionales Koordinatensystem übertragen, das als  $L^*a^*b^*$ -Farbsystem bezeichnet wird. Die Farbkoordinate  $a^*$  umfasst dabei die Werte + 100 für sattes Rot bis -100 für sattes Grün auf einer grün-rot-Achse und ist somit zur Beurteilung erythematöser Hautveränderungen von besonderem Interesse. Der  $L^*$ -Wert gibt die Helligkeit auf einer Skala von 0 = schwarz bis 100 = weiß an. Mit dem  $b^*$ -Wert wird die Farbrichtung von blau ( $- b^*$ ) bis gelb ( $+ b^*$ ) angegeben. Mit Hilfe dieser beiden Werte lassen sich Aussagen über den Bräunungsgrad und somit den Melaningehalt der Haut treffen.

Es wurden an jedem Probanden je drei Messungen durchgeführt, wobei zwischen den Messungen jeweils der Messkopf von der Haut abgesetzt wurde. Die Werte wurden von dem Gerät ausgedruckt und manuell in eine Excel-Datei eingefügt.



Abb.9 : Aufbau des Chromameter von Minolta  
(Quelle:www.konicaminolta.com)

Da die Farbwahrnehmung durch das menschliche Auge individuell sehr verschieden ist, sind Messgeräte, die die Hautbräune und -rötung mit Werten objektivieren können, von großer Bedeutung. Die Relevanz dieser Parameter für diese Studie liegt darin, sonnengeschädigte und vorgealterte Haut, die durch Entzündungsprozesse und damit durch höhere Erythemwerte charakterisiert ist, zu erkennen. In der Altershaut sind diese Veränderungen durch Teleangiektasien und zunehmende aktinische Veränderungen noch stärker ausgeprägt. Die Melaninproduktion stellt einen Schutzmechanismus der Haut gegenüber der Sonneneinstrahlung dar. Ihre Quantifizierung ermöglicht es, Rückschlüsse auf die Fähigkeit der Haut auf schädigende Strahlung zu reagieren, zu ziehen. Mit zunehmendem Alter und in Abhängigkeit von einer artifiziellen oder natürlichen Sonnenexposition, entwickeln sich sonnenbedingte relativ persistente Pigmentveränderungen (Lentigo solaris), als Ausdruck der extrinsischen Hautalterung.

### **3.2.2 Grundlagen der Multiphotonen-Lasertomographie**

#### **3.2.2.1 Einphotonen-Fluoreszenzanregung**

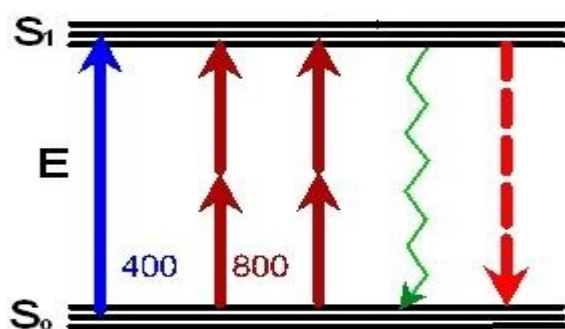
Allgemein betrachtet, entsteht eine Fluoreszenz (Emission), wenn Elektronen von Fluoreszenzmolekülen von einem höheren Energieniveau (angeregter Zustand) auf ihr Ausgangsniveau zurückfallen (Abb.10). Um Fluoreszenzmoleküle in einen angeregten Zustand zu versetzen, bedarf es einer optischen Anregung. Die dafür notwendige Energie zur Molekülanregung liefern jeweils unterschiedliche Licht- bzw. Laserquellen.

Beim Verfahren der Einphotonen-Fluoreszenzanregung kommt es durch optische Anregung eines Fluoreszenzmoleküls mit einer geeigneten Lichtquelle (z.B. UV-Lichtquelle), zur Absorption jeweils eines Photons. Hierbei wird ein Elektron des Fluoreszenzmoleküls in einen angeregten, energetisch höheren Zustand ( $S_1$ ) versetzt (Abb.10). Beim Übergang in den energetisch niedrigeren Grundzustand ( $S_0$ ) kommt es zur zeitversetzten Emission von Energie in Form eines neuen Photons (Fluoreszenz). Dabei gilt, dass das emittierte Photon die gleiche oder eine geringere Energie besitzen muss, als das absorbierte Photon der Anregungsstrahlung (Stoke'sche Regel). Dieses Verfahren ermöglicht Untersuchungen an der Haut bis zu einer Eindringtiefe von 50-80  $\mu\text{m}$ . Anwendung findet das Verfahren v.a. in der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie.

### 3.2.2.2 Zweiphotonen-Fluoreszenzanregung

Die molekulare Zweiphotonenanregung wurde erstmals 1931 von Maria Göppert-Mayer theoretisch beschrieben (Göppert-Mayer 1931). Mitte der neunziger Jahre ist die Nutzung der Zweiphotonen-Fluoreszenzanregung dann praktisch möglich geworden (Neu et al. 2002). Bei diesem Verfahren kommt es zu einer simultanen Absorption von zwei langwelligen Photonen niedriger Energie im nahen Infrarot-Bereich (800 nm) (Abb.10). Beide Photonen für sich gesehen, wären nicht in der Lage eine Anregung zu erzeugen, da sie zu wenig Energie besitzen. Somit werden hohe Energien vermieden, welche beispielsweise bei der Einphotonen-Fluoreszenzanregung notwendig wären, indem sie auf zwei unterschiedliche Photonen im niedrig-energetischen Bereich verteilt werden. Dadurch werden mögliche gewebeschädigende Wirkungen verhindert.

#### Prinzip der Ein- und Zweiphotonen-Fluoreszenzanregung



Ein- Photonen Absorption	Zwei- Photonen Absorption	thermische Relaxation	Fluoreszenz
--------------------------------	---------------------------------	--------------------------	-------------

Abb.10:  
Darstellung einer simultanen Absorption von zwei energiearmen Photonen (2x 800 nm Pfeile) und eines energiereichen Photon (1x 400 nm Pfeil). Beide können Elektronen in einen angeregten Zustand versetzen ( $S_1$ ). Der Wechsel von angeregtem Zustand zurück zum Ausgangszustand ( $S_0$ ) resultiert in thermischer Relaxation oder der gewünschten Fluoreszenz (Quelle: [www.lasermedizin.uni-hannover.de](http://www.lasermedizin.uni-hannover.de))

Um ein simultanes Eintreffen zweier (oder mehrerer) energiearmer Photonen am Fokuspunkt zu erreichen, sind sehr hohe Photonenflussdichten erforderlich. Diese enorm hohe Anzahl an Photonen pro Fläche und Zeit wird mit Objektiven hoher numerischer Apertur und Laserstrahlen hoher Leistungsintensität und -dichte erreicht. Die notwendig Lichtintensität liegt im Bereich von  $\text{MW}/\text{cm}^2$  bis  $\text{GW}/\text{cm}^2$  (König 2000).

Diese hohe Leistungsintensität eines Lasers im nahen Infrarotstrahlungsbereich (700- 1100 nm) kann einerseits durch eine konstant hohe Laserleistung verwirklicht werden (continuous wave [cw] Laserstrahlung). Andererseits kann die Lichtintensität auch über sehr kurze Pulse, die selbst eine hohe Pulsleistung aufweisen, erreicht werden. Die einzelnen Pulsenergien liegen dabei im Watt-/Kilowatt-Bereich. Vorteil dieses Verfahrens ist eine wesentlich geringere mittlere Gesamtenergie verglichen mit der cw-Laserstrahlung. Sie liegt im mW-Bereich oder sogar noch darunter (König 2000). Durch diese einzelnen hohen Pulsleistungen erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Photonen gleichzeitig auf ein Atom treffen und es dadurch anregen können. Die Pulslänge liegt im Femtosekundenbereich, wobei sich das Gewebe in den Pulspausen (Nanosekundenbereich) wieder abkühlen kann.

Wie bereits oben erwähnt, benötigt man zusätzlich noch eine hohe numerische Apertur des Objektivs. Mit Hilfe dieser wird der Laserstrahl in einem sehr kleinen Fokus gebündelt. Dabei gilt: je hoch-numerischer die Wahl der Apertur, desto größer ist die Anzahl von entstehenden Lichtreflexen, die vom Objektiv eingesammelt werden können. Zusätzlich können die hohen Photonenflussdichten besser auf ein vornehmlich im Fokus liegendes Anregungsvolumen, im Femtoliterbereich und kleiner, begrenzt werden. Dadurch reduziert sich die hohe Hintergrundfluoreszenz, sodass es kaum zu einer Ausbleichung der angeregten Moleküle außerhalb des fokussierten Areals kommt, da im benachbarten Bereich, der außerhalb des Fokus liegt, nur eine geringe Lichtintensität erreicht wird (König und Riemann 2003). Die Erregungsenergie liegt somit außerhalb des Fokus unter der Anregungsschwelle der Photonen und wird nur innerhalb des Anregungszentrums überschritten.

Das Zweiphotonen-Fluoreszenzverfahren ermöglicht die Untersuchung lebender Gewebe bis zu einer Eindringtiefe von  $200 \mu\text{m}$ . Die dafür notwendig Energie zur Molekülanregung liefert in unserem Falle ein Titanium:Sapphire-Laser.

### **3.2.2.3 Multiphotonen-Lasertomographie der Haut**

Struktur- und Funktionsuntersuchungen in biologischen Systemen erfordern in einem zunehmenden Maße die Verwendung von möglichst lebensnahen Untersuchungsmodellen, bis hin zum intakten Organismus. Aktuelles Standardverfahren zur Darstellung von Hautstrukturen und ihren Veränderungen durch unterschiedlichste Einflussfaktoren, stellt die Entnahme von Gewebebiopsien dar. An einer Biopsie können sowohl immunhistochemische, biochemische als auch immunhistologische Untersuchungen durchgeführt werden. Zudem ist es ein hervorragend etabliertes und validiertes Verfahren. Nachteilig ist jedoch, dass mit dieser Technik keine Untersuchungen im Zeitverlauf möglich sind. Außerdem müssten von jeder interessierenden Region wiederum neue Biopsien gewonnen werden, um eine Aussage treffen zu können. Untersucht man mehrere Einflussfaktoren in unterschiedlichen Regionen der Haut, werden zwangsläufig auch weitere Biopsien notwendig, die untersucht werden müssen. Dagegen ist eine zeitnahe Erfassung von Veränderungen durch verschiedene Einflussfaktoren durch die MLT ohne Biopsieentnahme möglich. Zudem befindet sich das zu untersuchende Gewebe bei der histologischen Aufarbeitung stets außerhalb seiner natürlichen Umgebung, dem Organismus, und muss für die Untersuchungen durch Fixation und Färbung verändert werden. Um diese Nachteile der *in-vitro*-Untersuchung von Hautbiopsien zu umgehen, benötigt man neuere Verfahren, die eine *in-vivo*-Untersuchung der Haut ermöglichen. König et al. stellten 2003 in ihrer Studie ein Gerät vor, den MLT, mit dem Strukturbestandteile der Haut *in-vivo* optisch dargestellt und quantifiziert werden können (König und Riemann 2003). Mit dem Verfahren können optische Schnittbilder der Haut direkt am Probanden, also *in-vivo* durchgeführt werden, aber auch *ex-vivo*-Gewebeproben beurteilt werden. Die MLT ist in der Lage diese optischen Schnittbilder mit subzellulärer Auflösung und hohem Kontrast anzufertigen. Neben der Darstellung der beiden wichtigsten Faserstrukturen der Haut, Elastin und Kollagen, ist auch die Zellmorphologie und Architektur durch die MLT beurteilbar. Vorteil dieser Untersuchungsmethode ist die beliebige Wiederholbarkeit bei gleichzeitig hoher Auflösung. Deshalb wurde sie als vergleichendes Verfahren angewendet, um den Gehalt der beiden Hautfasertypen, der sich im Verlaufe der Hautalterung entscheidend verändert, zu untersuchen. Es sollte unter anderem untersucht werden, ob die MLT in der Lage ist, äquivalente Ergebnisse im Vergleich mit früheren histologischen Untersuchungen zu erbringen, und somit in der Zukunft eine möglich Ergänzung oder Alternative zur histologischen Beurteilung darstellt.

### **3.2.2.3.1 Endogene Fluorophore**

Eine Grundvoraussetzung für die Durchführung der MLT im Bereich der Haut ist die Fähigkeit der in ihr vorhandenen Biomoleküle zur Autofluoreszenz. Zu diesen sogenannten endogenen Fluorophoren gehören unter anderem Flavine, NAD(P)H-Coenzyme, metallfreie Porphyrine und Komponenten von Kollagen, Elastin, Keratin, Melanin und Lipofuszin (König und Riemann 2003).

Die vorrangig intrazellulär lokalisierte Autofluoreszenz der Haut wird überwiegend durch die stoffwechselaktiven Nicotinsäure-Derivate NADH und NADPH, sowie das Coenzym FAD, ein Flavoprotein, hervorgerufen. Gleichzeitig stellen die fluoreszierenden Pigmente Melanin als auch das Alterspigment Lipofuszin eine weitere wichtige Quelle der Autofluoreszenz dar (Marmorstein et al. 2002). Letzteres ist Abfallprodukt des Fettsäurestoffwechsels und akkumuliert im Laufe des Lebens im Zytosol der Zellen. Melanine sind schwarz-braune Pigmente, die die Färbung der Augen, Haare und Haut bewirken. Sie finden sich vorwiegend innerhalb von zytoplasmatischen Vesikeln, den Melanosomen.

Weitere endogene Fluorophore sind die Porphyrine, als wichtige Bestandteile des Hämoglobins und seiner Vorstufen, die überwiegend in den roten Blutkörperchen (*Erythrozyten*) lokalisiert sind. Auch die Hornsubstanz Keratin, ein Strukturprotein, das für die Form und Stabilität der Zellen zuständig ist und den entscheidenden Bestandteil der Hornschicht bildet, kann zur Autofluoreszenz angeregt werden.

Elastin und Kollagen stellen im Wesentlichen die Bestandteile der extrazellulären Matrix dar, und sind somit die Hauptträger der dermalen Fluoreszenz. Diese Eigenschaft wird in der vorliegenden Untersuchung genutzt, um den Gehalt an Fasern in der Dermis zu bestimmen.

#### **Generierung von second harmonics durch Kollagenfasern**

Neben der Autofluoreszenz verfügen reife Kollagenfasern über eine weitere Eigenschaft, die zur Beurteilung durch die MLT herangezogen werden kann. Es handelt sich dabei um das Phänomen der Frequenzverdopplung (second harmonic generation: SHG), das durch Laserbestrahlung in optisch nicht-linearen Materialien hervorgerufen wird. Dieser sogenannte SHG-Effekt wird in der Dermis ausschließlich durch fibrilläres Kollagen, vorrangig der Typen I und III, hervorgerufen.

Das Phänomen der Frequenzverdopplung setzt eine hohe Intensität des Laserlichtes voraus, das durch ein hoch polarisiertes Gewebe fließt. Im nichtlinearen Medium erzeugt die Polarisation eine Sekundärstrahlung bei doppelter Frequenz.

In unserem Falle entsteht also im Prozess der second harmonics Generierung innerhalb der Haut aus zwei Photonen des nahen Infrarot-Bereiches ein Photon mit doppelter Energie und halber Wellenlänge (siehe Abb.11).

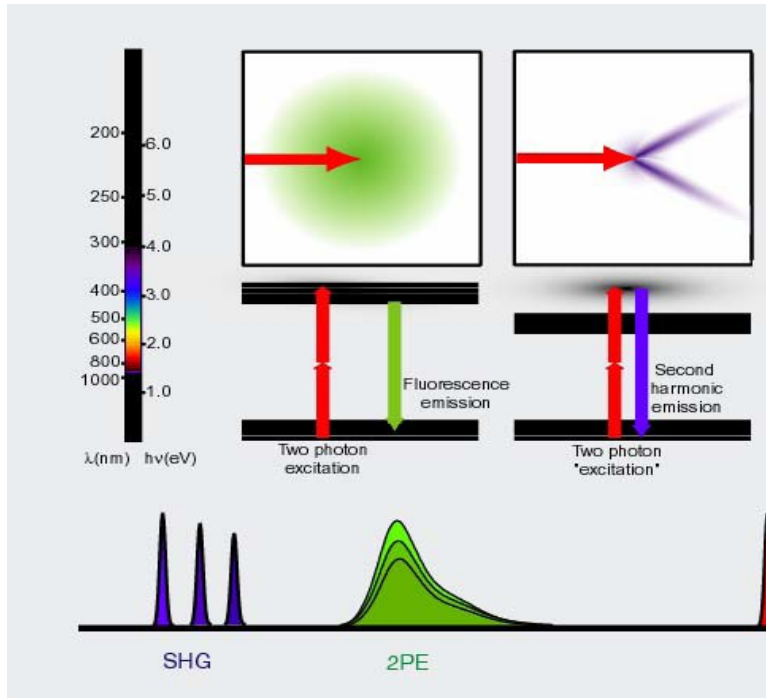


Abb.11:  
Entstehung von second harmonics (SHG) und Darstellung der Fluoreszenz-Emission.  
(Quelle: [www.drbio.cornell.edu](http://www.drbio.cornell.edu))

### 3.2.2.3.2 SAAID - AF und SHG als Maß für die Hautalterung

Der Fasergehalt der Haut wurde in unserer Studie durch die Quantifizierung der Autofluoreszenz (AF) der Elastinfasern, und durch die Messung der SHG der Kollagenfasern bestimmt. Wie bereits erwähnt, können beide Komponenten gleichzeitig bei einer Wellenlänge von 800 nm mittels des Zweiphotonen-Fluoreszenzverfahrens angeregt werden. Dabei quantifiziert das DermaInspect-System die AF- und SHG-Emission, indem durch ein Filtersystem und unter Verwendung von zwei PMTs die Intensitäten von AF und SHG gleichzeitig gemessen werden (Lin et al. 2005, Köhler et al. 2006). Aus beiden Werten wurde zur Beurteilung altersbedingter Veränderungen im Fasernetzwerk der SAAID entwickelt. Dieser Index setzt SHG und AF ins Verhältnis und ist definiert als  $SAAID = (SHG - AF) / (SHG + AF)$ , wobei für SHG und AF die jeweils ermittelten Photonwerte des gemessenen Hautareals zu Grunde gelegt werden (Köhler et al. 2006). Dieser Index, bereits von Lin et al. und Köhler et al. beschrieben, ermöglicht es Aussagen zu Faserstrukturen und -verhältnissen in der Haut zu machen und somit auch über Alterungsprozesse in der Haut. Der SAAID ermöglicht einerseits die Messung altersabhängiger Veränderungen in der Dermis (intrinsische Hautalterung). Zum anderem können Unterschiede des Alterungsprozesses



zwischen vorrangig extrinsisch und intrinsisch belasteter Haut dargestellt werden (extrinsische Hautalterung). Weiterhin können mögliche Unterschiede des Hautalterungsprozesses zwischen den Geschlechtern untersucht werden. Gleichzeitig lässt sich überprüfen, ob sich die Tendenz von Köhler et al., dass Frauen im Alter niedrigere SAAID-Werte und somit eine stärkere Hautalterung aufweisen, als gleichaltrige Männer, bestätigt (Köhler et al. 2006). Diese Aussage sollte gleichfalls im Rahmen der Studie beantwortet werden, da bei Köhler et al. eine kleinere Probandenzahl untersucht wurde und diese Tendenz womöglich nur ein zufälliges Ergebnis der Studie darstellte.

Die gemessenen Photonwerte pro Pixel wurden für jedes Bild durch die SPCImage-Software (Becker und Hickl, Berlin) exportiert und in eine Excel-Datei importiert, wo sie dann zur statistischen Auswertung genutzt wurden.

### **3.2.2.3.3 Aufbau des MLT DermaInspect**

Das Herzstück des Multiphotonen-Lasertomographen ist ein Titanium:Sapphire-Laser (Ti:Sa), der Impulsfrequenzen von 80 MHz in einem Spektralbereich von 750-850 nm erzeugen kann. Wellenlängen in diesem nahen Infrarotbereich (NIR) haben nur ein geringes Schädigungspotential, da NIR-Strahlung im sog. "optischen Fenster" vom Gewebe liegen, das sich im Bereich von 600-1200 nm befindet. Somit kann die NIR-Strahlung tief in die Haut eindringen, ohne dabei Gewebeschädigungen hervorzurufen (Fischer et al. 2008). Einer Studie von Fischer et al. 2008 zufolge, ist das Risiko eines schädigenden Einflusses durch Laserstrahlung im fs-Bereich sogar geringer als die durch die natürliche UV-Belastung der Haut (Fischer et al. 2008). Im Gegensatz zur Einphotonen-Fluoreszenzanregung, erfolgt bei der MLT eine Anregung nur im Bereich von Femtoliter-Volumen im Fokus der optischen Abbildung.

Das System DermaInspect besteht im Wesentlichen aus einem Femtosekunden-NIR-Laser, einem schwingungsgedämpften Tisch, einem Scanner-Detektor-Modul und dem Steuerungsmodul (JenLab GmbH, Jena, Deutschland). Dieses übernimmt die Steuerung der Detektoren, des Galvo- und Piezoscanner, und digitalisiert die analogen Bildsignale. Die Benutzerinteraktion erfolgt dabei über die Steuerungs- und Bildaufnahmesoftware JenLab Scan (JenLab GmbH, Jena, Deutschland). Weiterhin benötigt man die B&H-Software zur Steuerung der PMTs und SPCImage für das Exportieren der Dateien.

Der Titanium:Sapphire-Kristall ermöglicht die Erzeugung der Laserstrahlung im NIR-Bereich. Durch mehrere hintereinander geschaltete Umlenkspiegel wird der Laserstrahl mit dem Scanner-Detektor-Modul verbunden und zum Galvoscanersystem geleitet. Dort kann der Laserstrahl in x- und y-Richtung abgelenkt werden, sodass theoretisch  $350 \times 350 \mu\text{m}^2$  abgescannt werden können. Der Piezoscanner ermöglicht eine schnelle und präzise Einstellung des optischen Fokus, durch Verschiebung auf der z-Achse. In den angeregten Gewebeschichten wird die Autofluoreszenz entsprechend den biochemischen Bestandteilen der einzelnen Zellen induziert. Diese Strahlung wird mit hochempfindlichen Detektoren erfasst und der jeweiligen Position des Laserstrahls zugeordnet. Das daraus resultierende Bild wird auf dem Monitor dargestellt. Die Fluoreszenzstrahlung im sichtbaren Bereich passiert den Fluoreszenzteilner und kann mit Hilfe von Filtern auf spezifische Frequenzbereiche eingeschränkt werden. Außerdem kann durch entsprechende Filter die nicht erwünschte reflektierte Anregungsstrahlung weitestgehend geblockt werden. Weitere Filtersysteme werden verwendet, um bei der Messung Kollagenfasern und Elastinfasern voneinander abgrenzen zu können. Ein  $400 \pm 2 \text{ nm}$  Bandpassfilter wird in den Strahlenverlauf des Fluoreszenzlichtes vor den Detektor angeordnet und führt dort zur Entstehung der SHG Bilder, sodass Kollagenfasern getrennt dargestellt werden können. Eine Anwendung des  $450 \pm 40 \text{ nm}$  Langpassfilters in derselben Art und Weise, ermöglicht die Darstellung der Autofluoreszenz des Elastins separat, wobei die Signale der Kollagenfasern ausgeblendet werden.

Da beide Fasertypen, sowohl Kollagen als auch Elastin, ein Absorptionsmaximum bei  $400 \text{ nm}$  besitzen, können sie im Zweiphotonen-Verfahren angeregt werden. Für die Bildverarbeitung und Single-Photonenmessung ist das Steuermodul (Computertower) mit einer entsprechenden Soft- und Hardware ausgestattet. Dort befindet sich der jeweilige Untersucher um individuelle Einstellungen für die Messung am Computer vorzunehmen.



Abb.12:  
Das DermaInspect System mit  
Untersuchungsliege, die eine optimale  
Lagerung des Probanden ermöglicht.  
Der Untersucher befindet sich am  
Computertower (Quelle: König et al. 2006).

### **3.2.2.3.4 Der Untersuchungsablauf**

Die Multiphotonen-Lasertomographie erfolgte in einem abgeschirmten, vollständig abgedunkelten Raum, in dem die Probanden auf einer höhenverstellbaren Liege auf dem Rücken gelagert wurden. Ein vollständiger Messvorgang dauert dabei ca. 90 Minuten, wobei der Proband nach den ersten 45 Minuten (Untersuchung IA) kurz die Möglichkeit hatte sich zu bewegen, bevor die zweite Hälfte der Messungen (Untersuchung AA) durchgeführt wurde. Vor der Untersuchung wurden die zu messenden Hautareale auf der Unterarminnenseite und -außenseite rasiert (um eventuelle Artefakte durch Haare zu vermeiden und die optische Kopplung zu optimieren) und die Haut leicht gepeelt (zur Entfernung eventueller Hautschuppen etc.), um bei allen Probanden auf dem gleichen Hautniveau die Messung beginnen zu können. Die Messstelle befand sich jeweils genau in der Mitte zwischen der Handgelenksfalte und der Ellenbeuge bzw. -bogen.

Um eine optimale Verbindung zwischen Untersuchungsstelle des Probanden und dem MLT herzustellen, wurde ein Metallring mit doppelseitigem Klebeband befestigt. Dieser kann unter dem Scan-Detektor-Modul bei der Laseraustrittsstelle magnetisch und mechanisch eingerastet werden. Mit dieser Fixierung kann ein Verrutschen der Messstelle verhindert werden. Die Mitte des Metallringes weist eine dünne Glasscheibe auf, die zur optischen Kopplung mit Immersionsöl (Immersol 518 F der Firma Zeiss) benetzt wurde. Der Proband wurde so unter dem Scan-Detektor-Modul positioniert, das er 45 Minuten bequem liegen konnte. Damit konnten Bewegungsartefakte weitgehend vermieden werden. Der Untersuchungsarm des Probanden wurde auf einem speziellen Lagerungskissen mit fester Lagerungsfläche und Führungsnut erhöht positioniert (Abb.12). Diese zusätzliche Lagerungshilfe unterstützt einerseits die bequeme Lagerung des Patienten und ermöglicht über das damit gegebene Widerlager eine optimale Ankopplung zwischen Gerät und Arm. Der Laser wurde vor Beginn der Untersuchung hochgefahren und die erforderlichen Computerprogramme Mai Tai (Spectra Physics Inc., Mountain View/CA, USA), JenLab Scan (JenLab GmbH, Jena, Deutschland) und B&H gestartet. Bei jeder Untersuchung wurde zunächst die oberste Zellschicht aufgesucht. Dazu wurde die Wellenlänge auf 760 nm eingestellt, da in diesem Wellenlängenbereich eine stärkere Fluoreszenz-Intensität aufgrund des Absorptionsverhaltens des CoEnzyms NADP(H) besteht (König und Riemann 2003). Um die Messergebnisse vergleichen zu können, wurde als oberster Messpunkt (0  $\mu\text{m}$ ) die oberste Zellage unterhalb des *Str. corneum* festgelegt. Für die eigentliche Messung wurde die Wellenlänge 800 nm

gewählt, da sich mit dieser Wellenlänge die Fasern zu AF und SHG-Bildung anregen lassen. Die verwendete Energie wurde auf 49 mW eingestellt.

Vom festgelegten relativen Nullpunkt in Höhe der ersten lebenden Zelle ( $0\ \mu\text{m}$ ) ausgehend, erfolgte der erste Teil der Untersuchung, in der die Haut von  $0\ \mu\text{m}$  bis in die Tiefe von  $180\ \mu\text{m}$  untersucht wurde. Der Messfokus wurde dabei in  $20\ \mu\text{m}$ -Schritte in die Tiefe verändert. Es wurden demnach neun Areale im ersten Teil untersucht. Diese Messung wurde durchgeführt, um eine Aussage über den tiefen- und schichtabhängigen Fasergehalt der Haut, beginnend von der ersten Schicht lebender Zellen der Epidermis bis zur tieferen retikulären Dermis, zu erhalten. Für die einzelnen Messungen in den verschiedenen Tiefen wurde jeweils für 25,5 Sek. gemessen.

Der zweite Teil der Untersuchung wurde vom relativen Nullpunkt ausgehend in einer Tiefe von  $180\ \mu\text{m}$  durchgeführt. Dort wurde ein Raster von 16 Hautarealen untersucht, wobei jedes einzelne Untersuchungsareal ungefähr aus  $128 \times 128$  Pixeln besteht, entsprechend einer Fläche von ca.  $0,2 \times 0,2\ \text{mm}^2$  (Köhler et al. 2006). Insgesamt wurde also in etwa eine Fläche von  $2\ \text{mm}^2$  gemessen (siehe Abb.13).

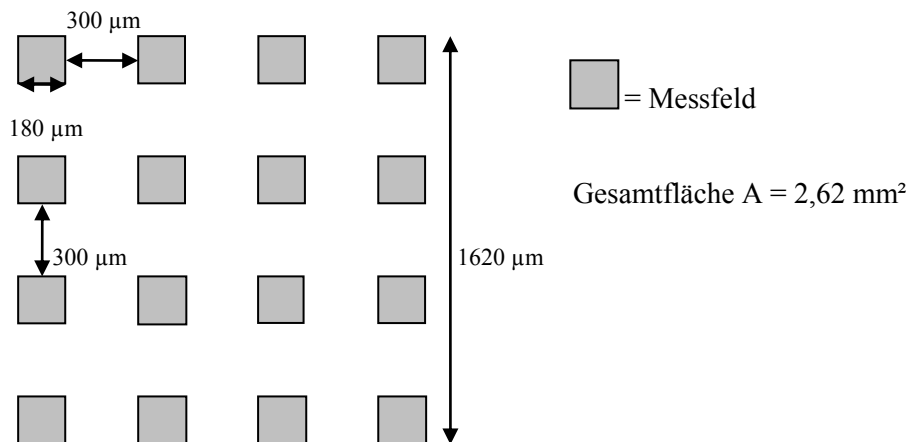


Abb.13 : Schematische Darstellung des Messrasters, das in einer relativen Tiefe von  $180\ \mu\text{m}$  in der Dermis gemessen wurde und als Grundlage zur SAAID Berechnung diente

In einer Tiefe von  $180\ \mu\text{m}$  können Artefakte durch Reteleisten, Melanin etc. weitestgehend ausgeschlossen werden. Die erhobenen Werte aus dem zweiten Teil der Untersuchung wurden zur Ermittlung des Mittelwertes für den SAAID verwendet. Als dritter Teil der Messung wurde erneut (wie im ersten Teil) ein Stapel in die Tiefe gemessen, diesmal jedoch beginnend bei einer Tiefe von  $30\ \mu\text{m}$  (ausgehend vom relativen Nullpunkt in Höhe der ersten lebenden Zelle) und einer Anregungszeit von 49,9 Sek. Die Messungen erfolgten jeweils in  $5\ \mu\text{m}$ -Schritten in die Tiefe. Hintergrund dieser Messung war eine noch genauere Darstellung des Faserverhaltens der Haut mit Beginn im Bereich der Basalmembran (ca. bei  $30\ \mu\text{m}$ ),

Übergang in die Dermis bis in die tiefere Dermis hinein (100  $\mu\text{m}$ ). Alle drei Teilmessungen wurden sowohl auf der Innenseite als auch auf der Außenseite des Unterarmes durchgeführt.

### 3.2.3 Hochfrequenzultraschall

Der Hochfrequenzultraschall ermöglicht eine relativ genaue Bestimmung der Dicke einzelner Hautschichten. Gleichzeitig können einige Strukturen in der Haut differenziert und damit bestimmte Dermatosen charakterisiert werden. Eindringtiefe und Auflösung verhalten sich beim Ultraschall umgekehrt proportional. Bei einer Frequenz von 20 MHz besitzt der Ultraschall somit nur eine beschränkte Eindringtiefe (ca. 8 mm) gegenüber konventionellen Ultraschallgeräten in der Medizin (3,5- 14 MHz), jedoch eine höhere Auflösung von Strukturen der Haut. Mit dem Hochfrequenzultraschall kann die Epidermis, Dermis und Subkutis nicht-invasiv beurteilt werden (Abb.14).

Die Untersuchung wurde sowohl auf der Unterarminnenseite als auch auf der Außenarmseite der Probanden durchgeführt. Nach Auftragen von Ultraschallgel zur Verbesserung der Schalleitung, wurde der Schallkopf dem zu messenden Hautareal angenähert ohne ihn direkt aufzusetzen. Damit sollte eine mögliche Verfälschung der Hautdickenwerte vermieden werden. Um diese Artefakte ausschließen zu können, wurden zusätzliche Hautdickenmessungen durchgeführt, bei denen der Schallkopf mit seinem Eigengewicht auf der Hautstelle auflag. Damit konnten die Werte nach der Untersuchung miteinander verglichen werden und eine Differenz aufgedeckt werden. Die gemessenen Hautdickenwerte wurden dann, bezogen auf den Einfluss von Geschlecht, Alter und Umwelt differenziert betrachtet und ausgewertet.

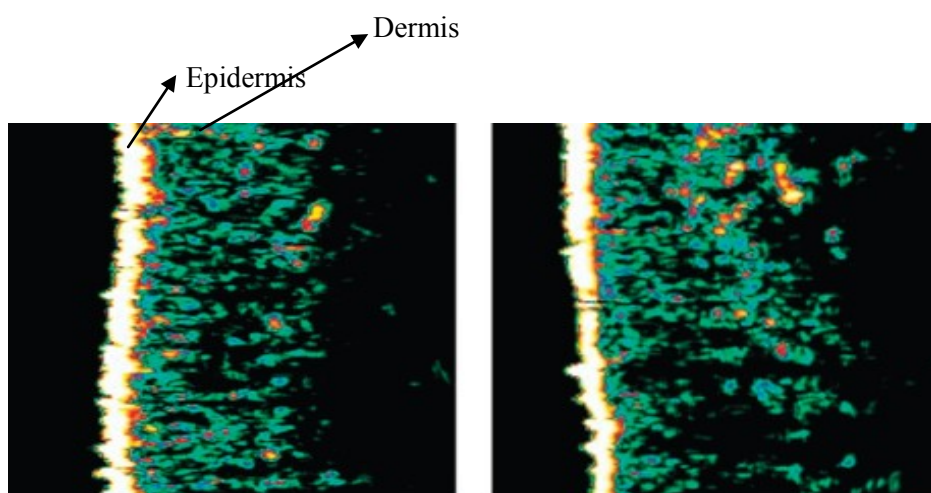


Abb.14: Darstellung eines 20 MHz- Ultraschalls der Haut. Dargestellt sind Epidermis und Dermis (Quelle: Lee et al. 2008).

### **3.3 Statistische Auswertungen**

Alle Daten wurden von einem zusätzlichen Untersucher kontrolliert, um die Datensicherheit zu gewährleisten.

Die statistische Analyse wurde mit SPSS (Version 11.5) für Windows durchgeführt.

In den Berechnungen zur Signifikanz der gemessenen Ergebnisse wurden der nichtparametrische Test für zwei verbundene (Wilcoxon-Test) bzw. zwei unabhängige Stichproben (U-Test) eingesetzt. Die jeweils angewendeten Verfahren/Teste wurden teilweise auch bei den Ergebnissen aufgeführt. Die Berechnungen erfolgten bei einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$ .

Bei nachgewiesener Signifikanz sind die entsprechenden Ergebnisse gekennzeichnet und das entsprechende p in Klammern aufgeführt. Bei Erörterung nicht signifikanter Werte und Veränderungen, wurde auf die fehlende Signifikanz ausdrücklich hingewiesen.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Hautphysiologische Untersuchungen**

#### **4.1.1 Cutometrie**

Im Bereich der Methodik wurde bereits ausführlich auf den typischen Verlauf der Cutometrie-Messkurven eingegangen. Es sollen nun noch einmal kurz auf die für diese Studie wichtigen Parameter eingegangen werden.

Als erster Parameter wurde  $U_f$  erhoben. Dieser Wert stellt den höchsten Punkt der ersten Amplitude (max. Hautdehnbarkeit) dar und lässt somit eine Aussage über die Festigkeit der Haut zu. Je niedriger die Amplitude, desto fester ist die Haut.

Im Weiteren wurde  $U_a/U_f$  bestimmt. Dieser ermöglicht eine Aussage über die Elastizität der Haut (Verhältnis der max. möglichen Dehnung der Haut [entspr. Festigkeit] zur Rückbildungsfähigkeit). Ein Wert nahe eins entspricht einer hohen Elastizität des gemessenen Gewebes.

Als dritter Parameter wurde der Anteil der Visko-Elastizität am elastischen Anteil der Kurve,  $U_v/U_e$ , bestimmt, welcher bereits auch in anderen Studien Verwendung fand (Escoffier et al. 1989, Cua et al. 1990, Elsner et al. 1990, Takema et al. 1994). Dieser Wert verhält sich reziprok zur Elastizität des gemessenen Gewebes.

Als letzter Parameter aus dieser Messreihe wurde  $U_r/U_f$  bestimmt. Er stellt den Anteil der Elastizität an der Gesamtkurve dar. Ein Wert nahe eins dokumentiert ebenfalls eine hohe Elastizität. Mit Hilfe dieses Wertes kann die Fähigkeit der Haut, nach Beendigung einer Krafteinwirkung wieder in ihren Ausgangszustand zurückzukehren, bewertet werden.

Die Ergebnisse der Untersuchungsreihe mit den errechneten Signifikanzen sind in Tabelle 1A-1D im Anhang dargestellt.

##### **4.1.1.1 Unterschiede bedingt durch unterschiedliche Umweltbelastung**

Hinsichtlich der max. Hautdehnbarkeit, also der Festigkeit der Haut, konnte bei allen vier Gruppen hochsignifikante Unterschiede im Vergleich der Unterarminnen- und -außenseiten nachgewiesen (siehe Abb. 15). Die niedrigeren Werte und somit eine höhere Steifigkeit wurden dabei jeweils auf der Außenarmseite festgestellt.

Bei Betrachtung des Bruttoelastizitätsparameter ( $U_a/U_f$ ), konnte nur für die jungen Männer eine Signifikanz im Innenseiten-Außenseiten-Vergleich nachgewiesen werden ( $p < 0,0018$ ).

Die Innenarmseite weist dabei die höheren Werte auf und stellt somit die elastischere Seite dar (siehe Anhang Tab.1B). Ur/Uf zeigte bei den jungen Vergleichsprobanden eine signifikante Differenz auf, wobei innenseitig die höheren Werte und somit die besseren Elastizitätseigenschaften gefunden wurden (siehe Anhang Tab.1D).

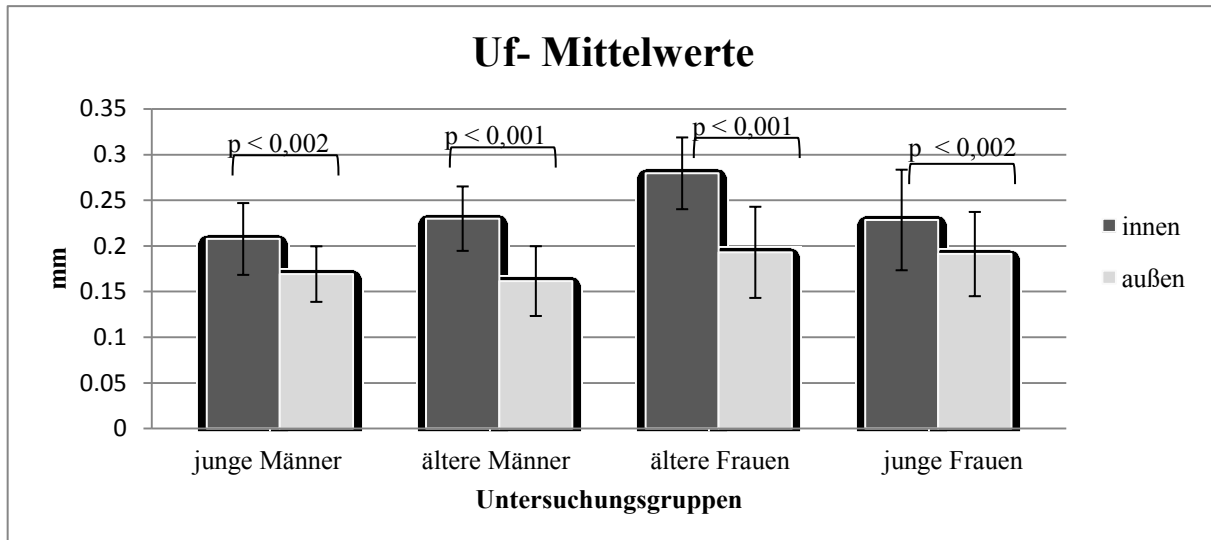


Abb.15: Darstellung der Uf-Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung aller Untersuchungsgruppen im innen-außen Vergleich mit den entsprechenden Signifikanzen

#### 4.1.1.2 Altersbedingte Unterschiede in der Elastizität

Als nächstes wurde die Abhängigkeit der Elastizität und Festigkeit der Haut vom Alter betrachtet. Bei Betrachtung der Hautfestigkeit (Uf) ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Altersgruppen. Weder bezogen auf das Geschlecht noch auf die untersuchte Armseite konnte eine Signifikanz nachgewiesen werden, jedoch zeigte sich ein starker Trend, dass die jüngeren Probanden, v.a. die weiblichen, im Vergleich die festere Haut auf der Innenarmseite aufweisen ( $p < 0,053$ ). Dagegen konnten bei den Elastizitätsparametern hochsignifikante Differenzen nachgewiesen werden. Im Altersvergleich zwischen den männlichen (siehe Abb. 17) sowie zwischen den weiblichen Probanden (siehe Abb. 16) zeigte sich beim Parameter Ua/Uf ein deutlicher Unterschied für beide Unterarmseiten (jeweils  $p < 0,001$ ), wobei die jungen Vergleichsprobanden (Gr. 1 und 4) die höheren Werte aufwiesen. Ihre Haut besitzt demnach sowohl innenseitig als auch außenseitig eine deutlich bessere Elastizitätsfunktion, als diejenige der älteren Vergleichsprobanden. Der Anteil der Visko-Elastizität (Uv/Ue) lag bei den älteren Männern der Gr. 2 signifikant höher als bei den jungen Männern ( $p < 0,001$ ). Daraus resultiert eine reduzierte Elastizitätsfunktion der Haut, bzw. weisen die jungen Männer damit auch hier beidseits eine deutlich höhere Elastizität auf. Diese Beobachtung wurde zusätzlich noch durch



den Parameter  $U_r/U_f$  bestätigt, der bei beiden Geschlechtern eine hochsignifikante Differenz im Hinblick auf den Altersunterschied aufzeigte und somit eine schlechtere Elastizitätsfunktion der Haut im Alter anzeigt (siehe Tab.1D).

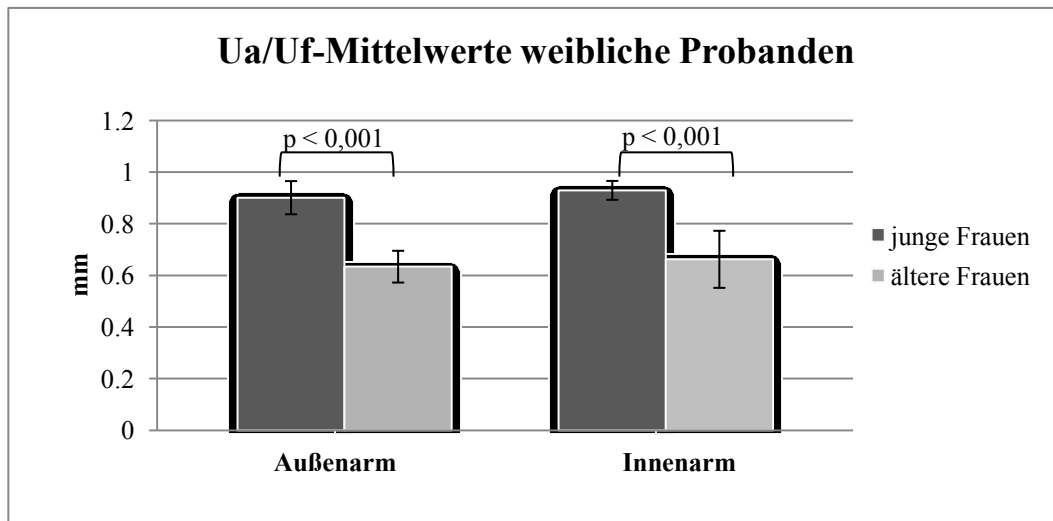


Abb.16: Darstellung der  $U_a/U_f$ -Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung der weiblichen Untersuchungsgruppen im Altersvergleich mit den entsprechenden Signifikanzen.

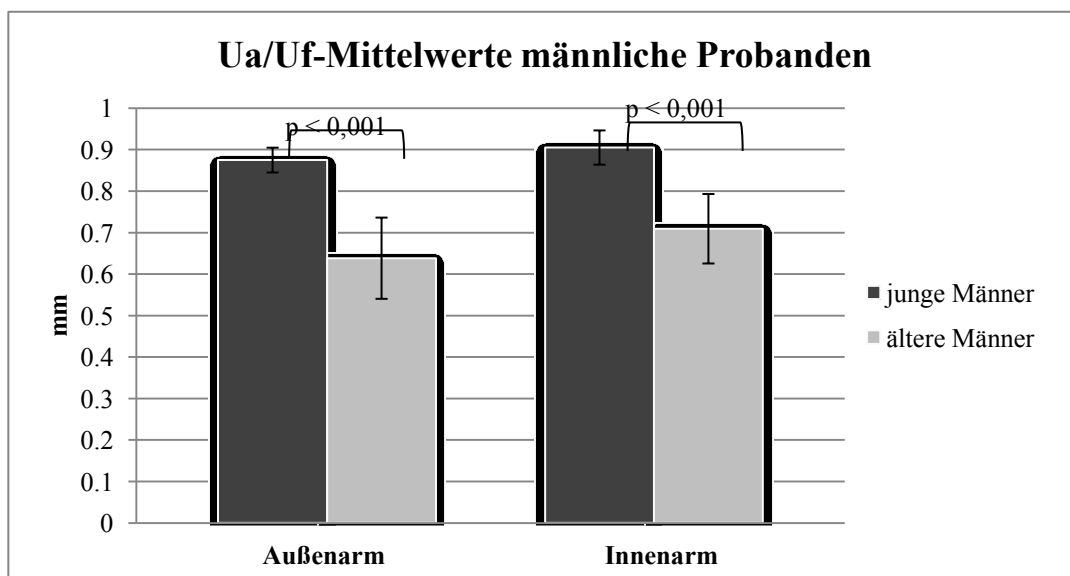


Abb.17: Darstellung der  $U_a/U_f$ -Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung der männlichen Untersuchungsgruppen im Altersvergleich mit den entsprechenden Signifikanzen.

#### 4.1.1.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Um die Hypothese zu überprüfen, dass Frauen aufgrund der Östrogenmangelsituation in der Menopause, eine vergleichsweise schnellere Hautalterung als Männer aufweisen, verglichen wir altersentsprechend unsere männlichen und weiblichen Gruppen miteinander.

Um eine valide Aussage formulieren zu können, ob die Hautalterung bei Frauen nach der Menopause akzeleriert verläuft, müssen vergleichende Untersuchungen bereits vor der

Menopause, also im jungen Alterssegment, erfolgen. Um diese Ausgangssituation zwischen den Geschlechtern zu erhalten, wurden junge Frauen mit gleichaltrigen, jungen Männern in ihren Hautfunktionen verglichen. In der vorliegenden Untersuchung konnte bei keinem erhobenen Parameter ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Allerdings ließen sich auch beim Vergleich älterer Frauen mit gleichaltrigen Männern keine Unterschiede dokumentieren.

#### **4.1.2 Reviscometer-Ergebnisse**

Wie bereits im Kapitel Methodik erwähnt, wurde bei der Messung mit dem Reviscometer RRT-Werte im Kreis, jeweils in 10°-Abständen, erhoben. Die Daten wurden sowohl nach den Ansätzen von Ruvolo als auch nach denen von Hermanns-Le ausgewertet. Ruvolo unterteilte dabei seine Daten in RRT-Minima und -Maxima und setzte diese ins Verhältnis zueinander, sodass daraus die Anisotropie der Haut berechnet werden konnte (Ruvolo et al. 2007). Hermanns-Le dagegen bezog die RRT-Minima und -Maxima jeweils auf das Alter und Geschlecht der Probanden (Hermanns-Le et al. 2001).

##### **4.1.2.1 Anisotropie und RRT's unter dem Einfluss von Alter, Geschlecht und Umwelt**

Zunächst wurden die erhobenen Werte für alle vier Gruppen separat nach Winkeln sortiert, sodass man letztlich 12 Werte (von den jeweiligen 12 Probanden) pro Winkel und Armseite für die graphische Darstellung mitteln konnte. Die Mittelwerte für die einzelnen Gruppen der jeweiligen Winkel zeigen Abb. 18 und 19. Die Abbildungen zeigen insbesondere den parallelen Verlauf der Kurven, v.a. auf der Außenarmseite. Die Messwerte wurden beim Vergleich zwischen den verschiedenen Altersgruppen (Altersvergleich) mittels Wilcoxon-Test für zwei verbundene Stichproben auf Signifikanz getestet. Sowohl auf der Außenarmseite, als auch auf der Innenarmseite, wiesen die jungen Männer der Gr. 1 signifikant höhere RRT-Werte auf, als die älteren Vergleichsprobanden der Gruppe 2 (IA:  $p < 0,001$ ; AA:  $p < 0,001$ ). Die jungen Frauen hingegen wiesen lediglich auf der Unterarmaußenseite signifikant höhere RRT-Werte im Vergleich zu den älteren Vergleichsprobandinnen auf (AA:  $p < 0,001$ ). Im Vergleich der einzelnen Altersgruppen ließ sich eine deutliche Altersabhängigkeit nachweisen. Insgesamt zeigten sich bei den älteren Probanden niedrigere Werte als bei den jungen, was (laut Paye 2007) für eine mit dem Alter zunehmende Hautsteifigkeit spricht.

Beim Vergleich zwischen den beiden Geschlechtern zeigte sich, dass die beiden jungen Vergleichsgruppen (Gr.1 und 4) sich lediglich auf der Unterarmaußenseite signifikant unterschieden (AA:  $p < 0,007$ ). Die jungen Frauen wiesen hier die höheren RRT-Werte auf und haben somit eine elastischere Haut als die gleichaltrigen männlichen Probanden. Die beiden älteren Vergleichsgruppen hingegen zeigten hochsignifikante Unterschiede auf beiden Unterarmseiten (IA und AA  $p < 0,001$ ). Auch hier wies das weibliche Geschlecht die höheren RRT-Werte auf, was für eine vergleichsweise elastischere Haut spricht.

Im Vergleich der Messwerte zwischen Unterarminnen- und -außenarmseite, zur Betrachtung eines Umwelteinflusses, lagen bei allen vier Gruppen die Werte der Unterarminnenseite signifikant höher als die der äußeren Seite (Gr.1:  $p < 0,001$ ; Gr. 2:  $p < 0,002$ ; Gr. 3:  $p < 0,003$ ; Gr. 4:  $p < 0,001$ ). Dies spricht insgesamt für eine deutlich steifere Haut auf der vermehrt extrinsisch belasteten Unterarmaußenseite der Probanden.

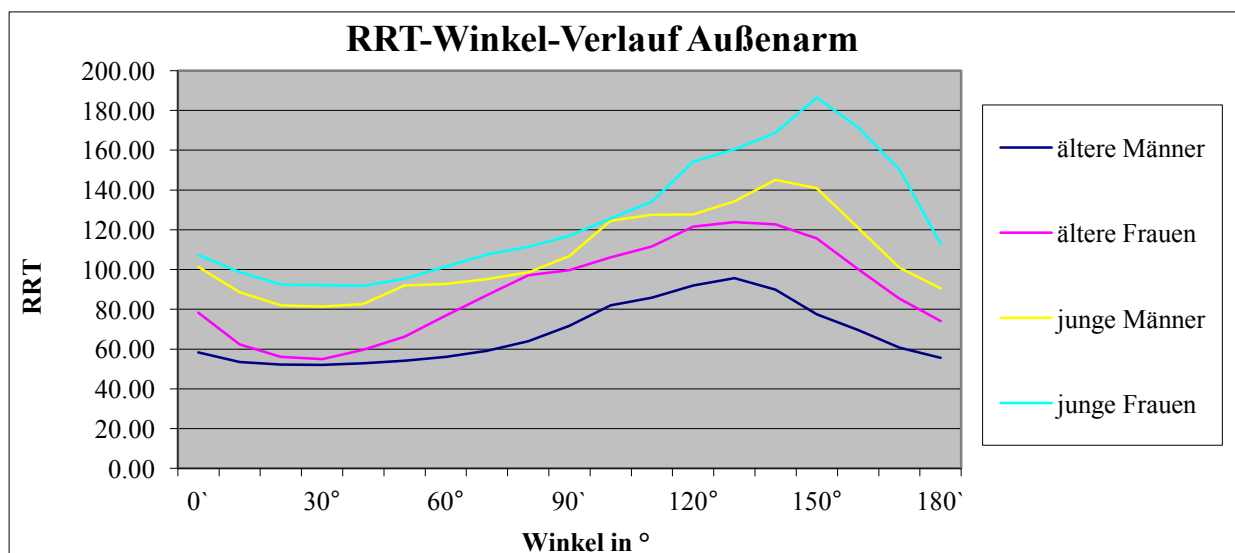


Abb.18: Darstellung der RRT's der Außenarmmessung bezogen auf die jeweiligen Winkel

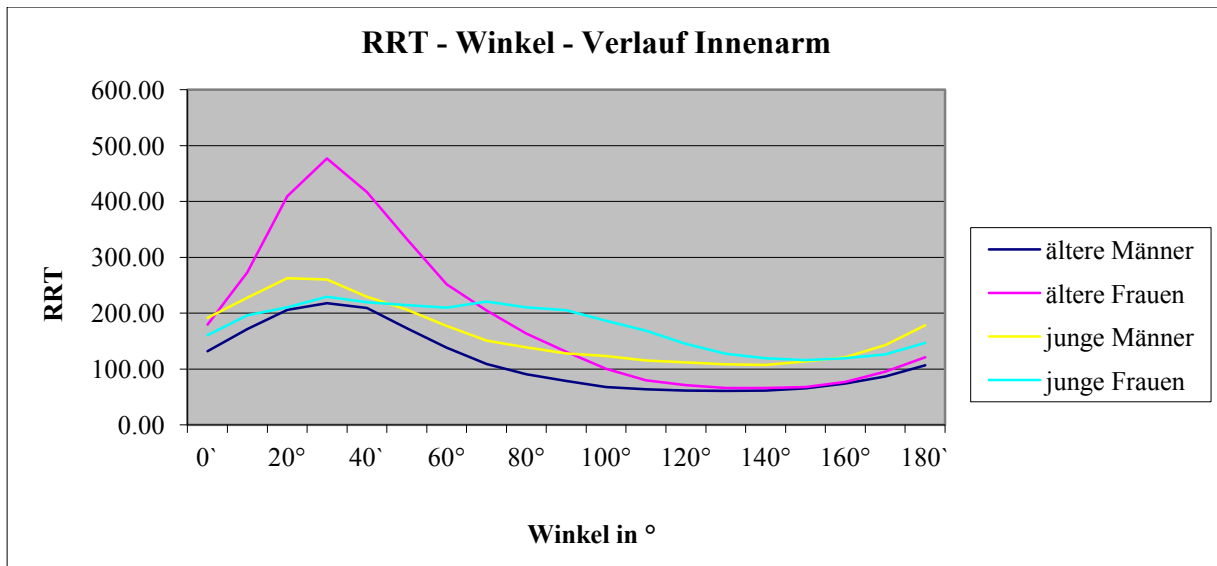


Abb.19: Darstellung der RRT's von der Innenarmmessung der 4 Probandengruppen bezogen auf die jeweiligen Winkel.

Zur Berechnung der Anisotropie der Haut wurden jeweils der RRT-Minimum- und – Maximumwert aus allen erhobenen Daten eines Probanden herausgearbeitet. Nachdem sie ins Verhältnis zueinander gesetzt wurden ( $RRT_{\max}/RRT_{\min}$ ), konnten eventuelle Unterschiede zwischen den Gruppen untersucht werden.

Signifikante Unterschiede bezüglich der Anisotropie zeigten sich im Altersvergleich beim männlichen Geschlecht lediglich auf der Unterarmaußenseite ( $p < 0,01$ ), wobei die jungen Männer (Gr.1) die höhere Anisotropie aufwiesen (siehe Abb.20). Beim weiblichen Geschlecht hingegen konnte nur auf der Unterarminnenseite ( $p < 0,001$ ) eine Signifikanz nachgewiesen werden. Hier zeigten die älteren Frauen (Gr.3) die signifikant höhere Anisotropie. Beim Vergleich der jungen und älteren Männer konnte zwar keine signifikante Differenz auf der Unterarminnenseite gemessen werden, jedoch zeigten die älteren Männer eine deutliche Tendenz zu einer höheren Anisotropie. Die extrinsisch belastete Altershaut scheint demnach mit einer Abnahme der Anisotropie einherzugehen, während vorrangig intrinsisch belastete Altershaut eher mit einer Zunahme der Anisotropie einhergeht.

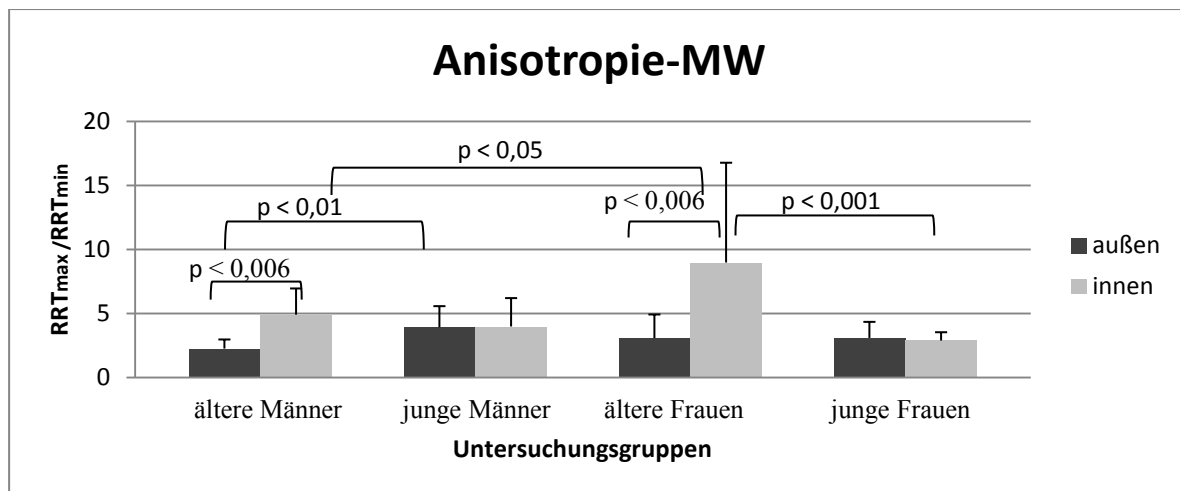


Abb.20: Darstellung der Anisotropie-MW  $\pm$  Standardabweichung aller Untersuchungsgruppen mit Angabe der entsprechenden Signifikanzen

Geschlechtsspezifische Unterschiede konnten nur beim Vergleich der älteren Vergleichsgruppen nachgewiesen werden und waren auf die Innenarmseite begrenzt ( $p < 0,05$ ). Hier wiesen die älteren Frauen die höheren Werte für Anisotropie auf (siehe Abb.20).

Die Anisotropie beim Vergleich der Unterarminnenseiten mit den -außenseiten zur Betrachtung eines möglichen Umwelteinflusses zeigte bei beiden älteren Probandengruppen (Gr. 2 und 3) hochsignifikante Unterschiede (jeweils  $p < 0,006$ ). Dabei lag bei beiden die höhere Anisotropie auf der Unterarminnenseite vor. Die jungen Probandengruppen wiesen dagegen keine signifikanten Differenzen auf.

#### **4.1.2.2 RRT-Minima, -Maxima und -MW im Vergleich**

Aus den erhobenen Daten wurden für jeden Probanden der höchste und der niedrigste Wert für die Innen- und Außenarmmessung bestimmt. Dabei stellen die Minima laut Hermanns-Le ein Maß für die intrinsische Straffheit der Hautspannungslinien dar (Hermanns-Le et al. 2001). Die Maxima und der multidirektionale MW können als ein Maß für die Elastizität der Haut betrachtet werden.

Die Ergebnisse zeigten, dass sich die Minimumwerte zwischen Unterarminnenseite und -außenarmseite zur Darstellung eines Umwelteinflusses in keiner der Gruppen unterschieden. Auch das Geschlecht wies keinen Einfluss auf die Minimumwerte auf. Lediglich in Bezug auf das Alter zeigte sich bei beiden Geschlechtern auf der Unterarminnenseite ein signifikant höherer Wert jeweils bei den jungen Vergleichsprobanden (siehe Abb.21). Im Laufe des Lebens werden demnach die Hautspannungslinien durch intrinsische Prozesse unelastischer. Extrinsische Faktoren zeigen dagegen eine entgegengesetzte Wirkung. Auf den untersuchten

Unterarmaußenseiten zeigten die Minimumwerte keine Differenzen zwischen den beiden Altersgruppen bei beiden Geschlechtern. Der intrinsische Alterungsprozess wie er auf der Innenarmseite zu finden ist, wurde möglicherweise auf der Außenarmseite durch die zusätzlich einwirkenden extrinsischen Einflüsse überlagert, und in eine gegensätzliche Richtung verändert. Dadurch würde sich eine fehlende Signifikanz auf den Unterarmaußenseiten erklären lassen.

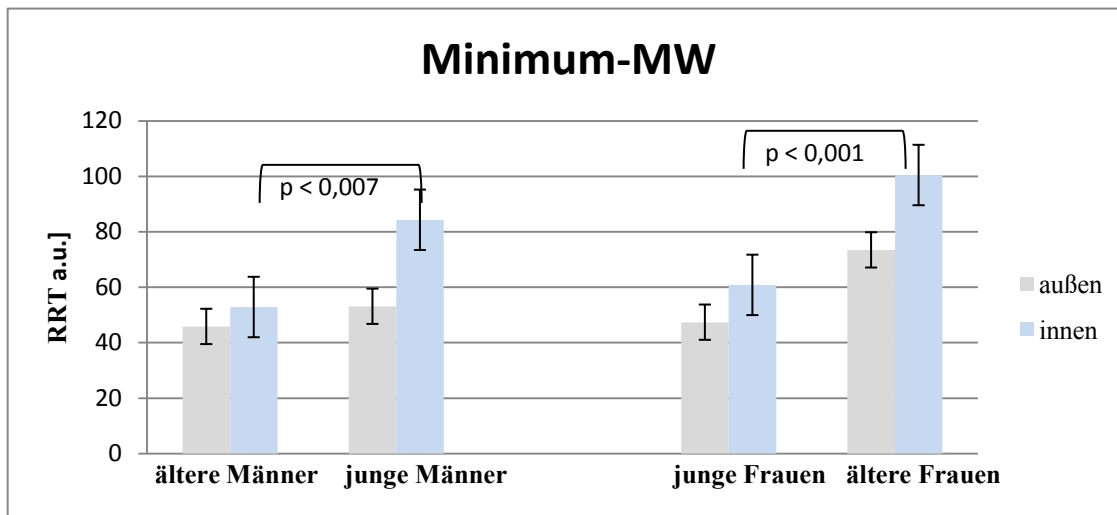


Abb.21: Darstellung der RRT-Minimum-MW  $\pm$  SEM aller vier Untersuchungsgruppen mit Angabe der vorliegenden Signifikanzen

Bei den Maximumwerten, die eine Aussage zur elastischen Funktion der Haut zulassen, zeigten alle vier Gruppen signifikante Unterschiede im Innenarm-Außenarm-Vergleich (Gr.1:  $p < 0,002$ ; Gr.2:  $p < 0,021$ ; Gr.3:  $p < 0,001$ ; Gr.4:  $p < 0,005$ , siehe Abb.22). Die Unterarmaußenseiten wiesen in allen vier Gruppen die deutlich geringeren Maximumwerte auf. Das spricht für eine schlechtere Elastizität und eine erhöhte Hautsteifigkeit für die extrinsisch belasteterer Haut der Unterarmaußenseite. Die extrinsischen Einflussfaktoren scheinen demnach bei den Maximumwerten eine entscheidende Rolle zu spielen.

Im Altersvergleich zu den Maximumwerten, zeigten die männlichen Probanden lediglich auf der Unterarmaußenseite eine signifikante Differenz ( $p < 0,008$ , siehe Abb.22). Die jungen Männer besaßen dabei die signifikant höheren Maximumwerte. Der Altersvergleich bei den weiblichen Probanden, zeigte lediglich auf der Innenarmseite eine signifikante Differenz auf, wobei die älteren Frauen die höheren Maximumwerte aufwiesen.

Ein geschlechtsspezifischer Einfluss lag in unseren Untersuchungen lediglich auf der Unterarminnenseite vor, da hier bei den älteren Vergleichsprobanden eine signifikante Differenz von  $p < 0,001$  gemessen werden konnte, bei den jungen Vergleichsgruppen jedoch kein Unterschied vorlag. Die älteren Frauen wiesen die deutlich höheren Maximumwerte im Vergleich zu den älteren Männern auf (siehe Abb.22).

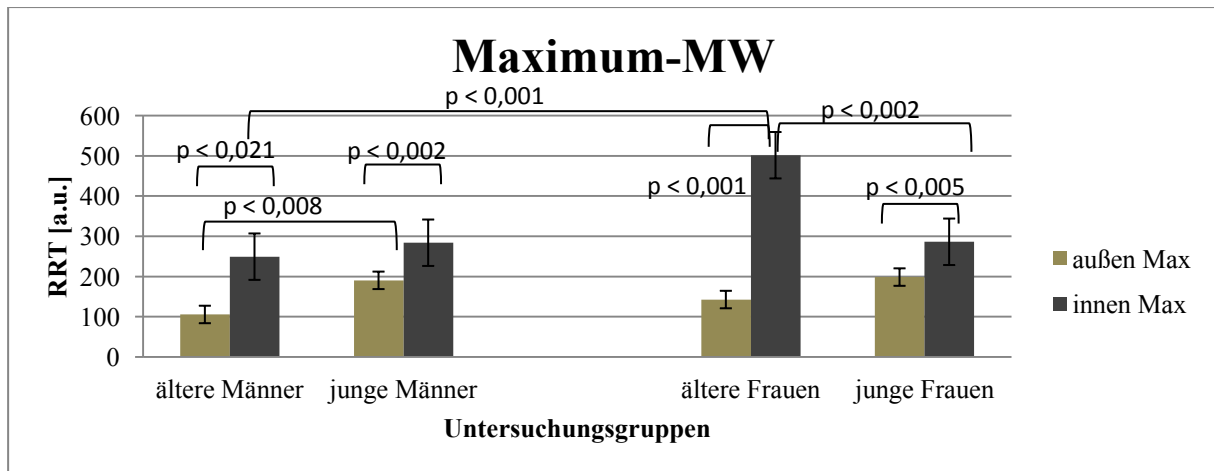


Abb.22: Darstellung der RRT-Maximum-MW  $\pm$  SEM aller Untersuchungsgruppen mit den entsprechenden Signifikanzen.

Zur Berechnung der multidirektionalen MW wurden die jeweils 36 erhobenen Messwerte pro Proband verwendet und daraus der MW gebildet. Diese zeigten, wie bereits die Maximumwerte, in allen vier Untersuchungsgruppen signifikante Differenzen zwischen Innen- und Außenarmseite, wobei sich die höheren Werte jeweils auf der Innenarmseite befanden (Gr.1:  $p < 0,002$ ; Gr.2:  $p < 0,021$ ; Gr.3:  $p < 0,002$ ; Gr.4:  $p < 0,003$ ). Auch dieser Parameter zeigte einen deutlichen Unterschied der Elastizitätsfunktion zwischen der Haut auf der Unterarmaußenseite und -innenseite an.

#### **4.1.3 Mexametrie und Chromametrie**

Der Erythemwert stellt einen wichtigen Parameter in der Beurteilung von Hautalterung und Entzündungsprozessen dar. Die Altershaut ist u.a. durch eine zunehmende Zahl von Teleangiektasien gekennzeichnet. Gleichzeitig führt die aktinische Schädigung durch eine lebenslange UV-Exposition, zu entzündlichen Veränderungen im Bereich der sonnenexponierten Areale. Zudem treten zunehmend Pigmentflecken auf, etwa in Form solarer Keratosen, die mit der Mexa- und Chromametrie ebenfalls erfasst werden können.

##### **4.1.3.1 Einfluss von Alter, Geschlecht und Umwelt auf die Erythembildung der Haut**

###### **a) Erythembestimmung mittels Chromameter**

Zur Darstellung eines Umwelteinflusses wurden die Unterarminnenseiten mit den Unterarmaußenseiten bei allen vier Gruppen verglichen. Es zeigte sich, dass sowohl die älteren Frauen ( $p < 0,028$ ), als auch die beiden jungen Vergleichsgruppen 1 und 4

einen signifikanten Unterschied aufwiesen (Gr. 1:  $p < 0,004$ ; Gr. 4:  $p < 0,009$ ). Die Außenarmseiten besaßen den höheren Erythemwert (siehe Abb.23). Im Vergleich der verschiedenen Altersgruppen zeigte sich lediglich beim männlichen Geschlecht (Gr. 1 vs. 2) ein signifikanter Unterschied bei den Erythemwerten. Im Geschlechtervergleich konnten nur bei den älteren Probanden (Gr. 2 vs. 3) signifikante Differenzen dargestellt werden. Bei beiden Vergleichen zeigte sich, dass die Unterarminnenseiten der älteren Männer (Gr. 2) jeweils die signifikant höheren Erythemwerte aufwiesen.

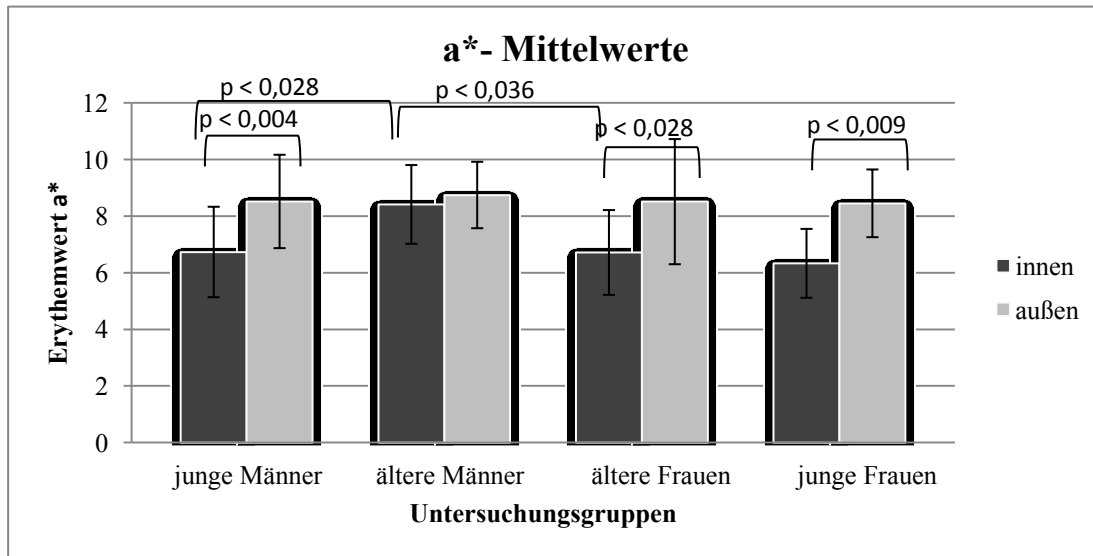


Abb.23: Darstellung des Erythemparameter  $a^* \pm$  Standardabweichung aller Untersuchungsgruppen im innen-außen Vergleich mit Angabe der entsprechenden Signifikanzen

### **b) Erythembestimmung mittels Mexameter**

Im Innenseiten-Außenseiten-Vergleich zeigten die beiden jungen Vergleichsgruppen (Gr. 1 und 4) eine signifikante Differenz, wobei die Außenarmseiten die höheren Erythemwerte aufwiesen. Im Vergleich der Geschlechter als auch des Alters, zeigte die Mexameter-Messung keine Unterschiede der Erythemwerte auf.

#### **4.1.3.2 Hautpigmentierung unter verschiedenen Einflussfaktoren**

Mit beiden Messmethoden (Chromametrie und Mexametrie) konnten im Innenseiten-Außenseiten-Vergleich der vier Gruppen, signifikante Unterschiede gefunden werden ( $L^*$ - und  $b^*$ -Wert, Melanin-Index, siehe Abb. 24-26). Erwartungsgemäß zeigten die Unterarmaußenseiten die höheren Messwerte bei  $b^*$ -Wert und Melanin-Index, als auch die niedrigeren Werte bei  $L^*$ -Wert. Die Geschlechtervergleiche (Gr.1 vs. 4; Gr.2 vs.3) wiesen bei beiden Untersuchungsmethoden keinerlei Unterschiede auf.



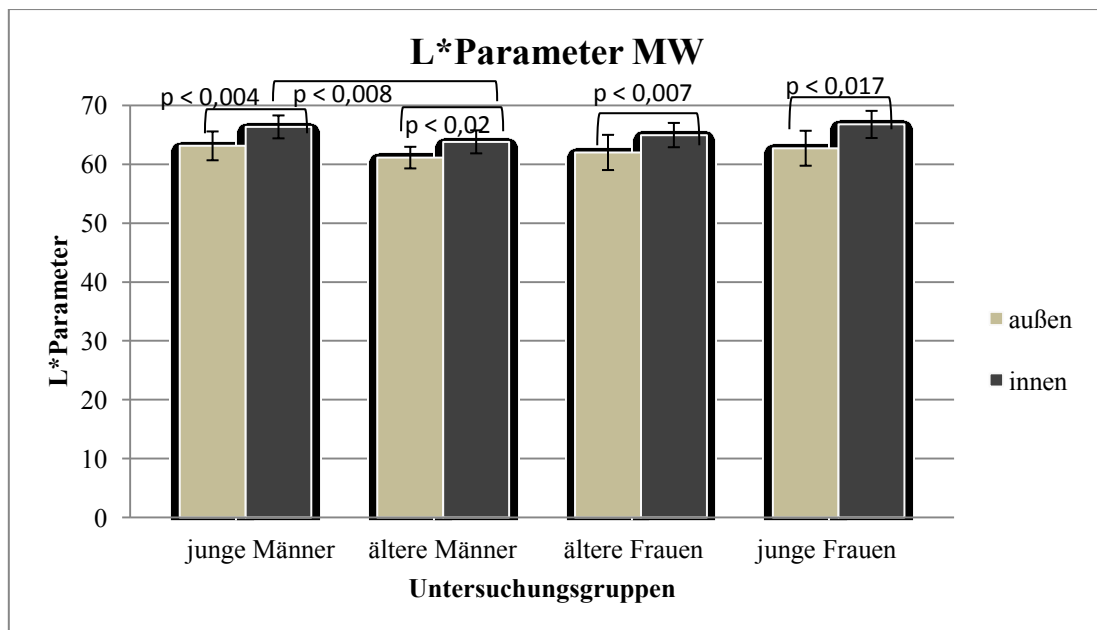


Abb.24: Darstellung des L\*-Wertes  $\pm$  Standardabweichung aller vier Untersuchungsgruppen mit Darstellung der entsprechenden Signifikanzen

Im Altersvergleich zwischen den jungen und älteren Männern zeigten die Messmethoden unterschiedliche Ergebnisse. Das Chromameter konnte beim L\*-Wert einen innenseitigen, signifikanten Unterschied feststellen, bei dem die jungen Männer den niedrigeren Wert aufwiesen ( $p < 0,008$ ). Der b\*-Wert zeigte eine Differenz auf der Außenarmseite zwischen den jungen und älteren Männern ( $p < 0,03$ ). Die jungen Männer wiesen hier die höheren Werte auf. Die Untersuchung des Melanin-Index erbrachte keinerlei Differenz.

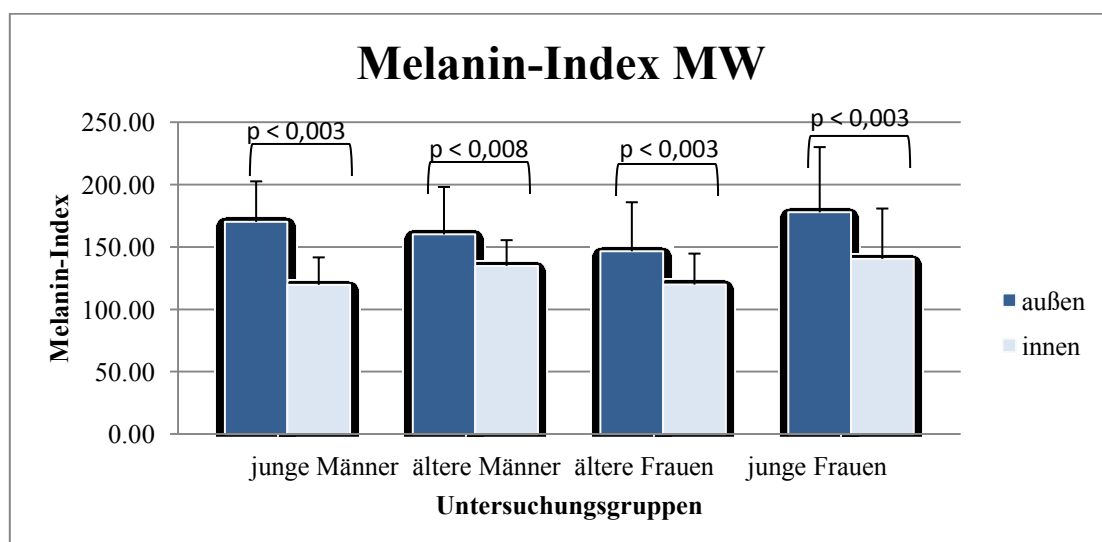


Abb. 25: Darstellung der Melanin-Indices  $\pm$  Standardabweichung aller vier Untersuchungsgruppen mit Darstellung der entsprechenden Signifikanzen

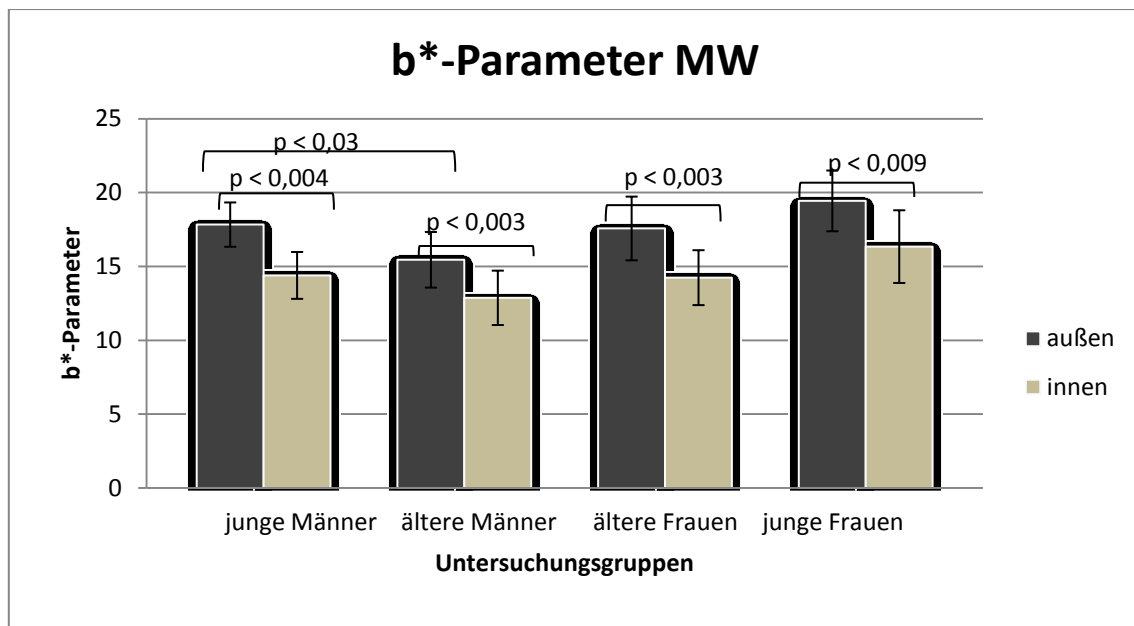


Abb.26: Darstellung des b\*-Wertes  $\pm$  Standardabweichung aller vier Untersuchungsgruppen mit Darstellung der entsprechenden Signifikanzen

#### 4.2 Einfluss von Alter, Geschlecht und Umweltbelastung auf die Hautdicke

Bei den Ergebnissen zur Hautdickenmessung zeigte sich, dass das Aufsetzen des Schallkopfes mit seinem Eigengewicht auf die Haut keinen wesentlichen Effekt auf die Werte hatte. Die Ergebnisse bei der Messung ohne den Schallkopf mit Eigengewicht aufzusetzen, waren zwar durchweg höher, jedoch in einem sehr geringen Ausmaß und ohne Signifikanz.

Zur Untersuchung eines Umwelteinflusses durch Vergleich der Innen- und Außenarmseiten, zeigte sich in allen vier Gruppen hochsignifikante Unterschiede (jeweils  $p < 0,001$ , siehe Abb.27).

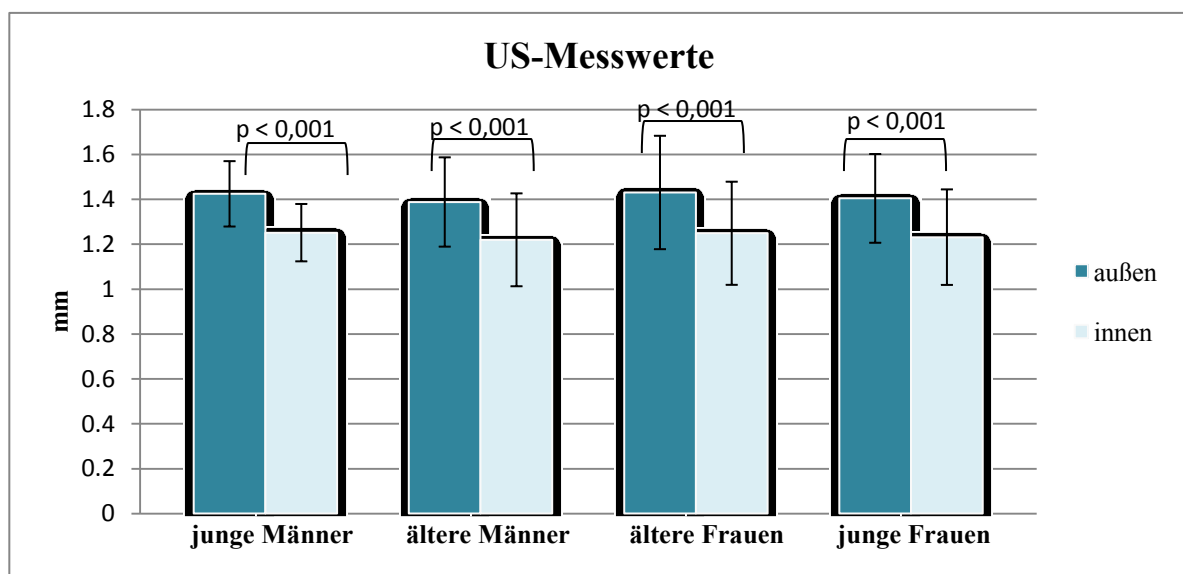


Abb.27: Darstellung der US-Messwerte  $\pm$  Standardabweichung aller Untersuchungsgruppen im innen-außen-Vergleich

Geschlechts- oder Altersspezifische Unterschiede ließen sich bei keiner Gruppen nachweisen. Weder die Vergleiche zwischen Gr.1 vs. 2 und Gr. 3 vs. 4 (Altersvergleich) noch die Vergleiche zwischen Gr. 2 vs. 3 und Gr.1 vs. 4 (Geschlechtervergleich), ließen einen Zusammenhang mit einer Veränderung der Hautdicke erkennen.

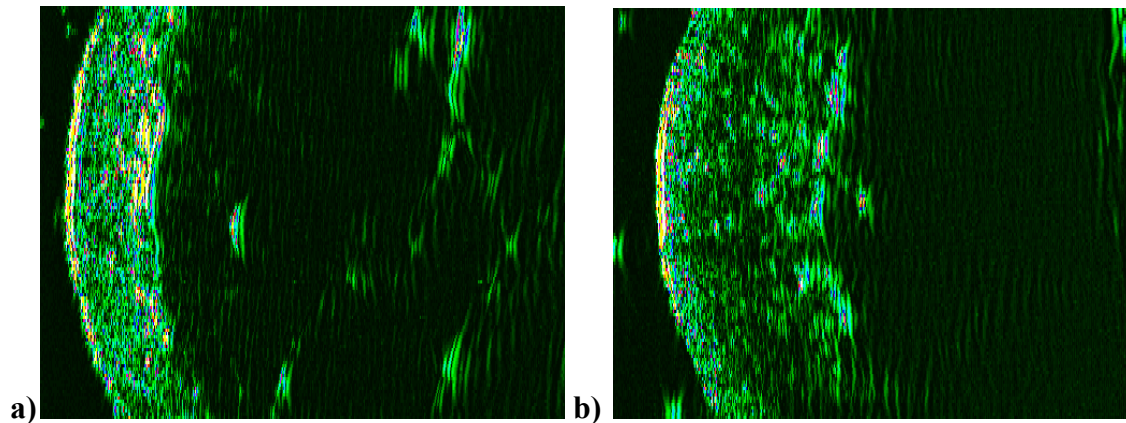


Abb.28: Darstellung eines 20 MHz-US der Unterarminnenseite (a) und -außenseite (b)

### **4.3 Ergebnisse der Multiphotonen-Lasertomographie**

Mit der Multiphotonen-Lasertomographie wurde der Fasergehalt in der Dermis semiquantitativ bestimmt. Einerseits wurde die Autofluoreszenz, die hauptsächlich durch die elastischen Fasern hervorgerufen wird, gemessen. Zum anderen wurde der Gehalt an Kollagenfasern, durch messen der SHG bestimmt. An jedem Probanden wurden drei Teilmessungen durchgeführt. Als erstes wurde ein Messstapel in 20 µm-Schritten vom relativen Nullpunkt in Höhe der ersten lebenden Zelle an (0 µm) bis in eine Tiefe von 180 µm gemessen. Ein zweiter feinerer Messstapel wurde von 30 µm bis 100 µm gemessen. Diese beiden Stapel wurden für eine Beurteilung des tiefenabhängigen dermalen Fasergehaltes herangezogen. Zusätzlich wurde eine Rastermessung von 16 Arealen ebenfalls in einer Tiefe von 180 µm (vom relativen Nullpunkt ausgehend) durchgeführt. Die dabei ermittelten Photonenzahlen stellten die Grundlage für die Berechnung des SAAID. Von den bei dem jeweiligen Probanden erhobenen 16 Rastermessungen in 180 µm Tiefe, wurden der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Messwerte, die stärker als die zweifache Standardabweichung vom Mittelwert abwichen, wurden als Ausreißer gewertet und nicht mehr in die Mittelwertberechnung mit einbezogen. Unter Verwendung der erhobenen Mittelwerte wurde der SAAID gemäß der Formel  $(SHG - AF) / (SHG + AF)$  für jeden einzelnen Probanden berechnet.

### 4.3.1 SAAID-Werte unter dem Einfluss von Umweltbelastung, Alter und Geschlecht

Der Vergleich der SAAID-Werte zwischen Unterarminnenseite und -außenseite erbrachte in allen vier Untersuchungsgruppen einen signifikanten Unterschied. Die älteren Frauen wiesen dabei die höchste Signifikanz auf ( $p < 0,001$ ), gefolgt von den älteren Männern ( $p < 0,007$ ). Die jungen Männer zeigten einen Signifikanzwert von  $p < 0,028$ , die jungen Frauen einen von  $p < 0,05$  (Abb.29). Die Haut mit der stärkeren Umweltbelastung zeigte somit die deutlich erniedrigten SAAID-Werte.

Ein Einfluss des Alters konnte ebenfalls deutlich gemacht werden. Beim Vergleich der jungen Männer vs. älteren Männer und ältere Frauen vs. junge Frauen konnten sowohl auf der Unterarminnenseite, als auch auf der Unterarmaußenseite hochsignifikante Unterschiede gemessen werden (jeweils  $p < 0,001$ ). Die signifikant niedrigeren SAAID-Werte wurden dabei an den älteren Vergleichsprobanden (Gr. 2 und 3) erhoben (siehe Abb.29).

Zur Untersuchung eines Einflusses des Geschlechts zeigte sich, dass beim Vergleich der jungen Probanden eine signifikante Differenz auf der Unterarminnenseite gemessen werden konnte. Die jungen Frauen wiesen die vergleichsweise niedrigeren SAAID-Werte auf. Der Vergleich zwischen den älteren Untersuchungsgruppen zeigte hingegen keinerlei Differenz auf beiden Unterarmseiten. Die Tendenz aus der Studie von Köhler et al., dass die Haut bei Frauen signifikant niedrigere SAAID-Werte im höheren Lebensalter verglichen mit Männern aufweist, konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden.

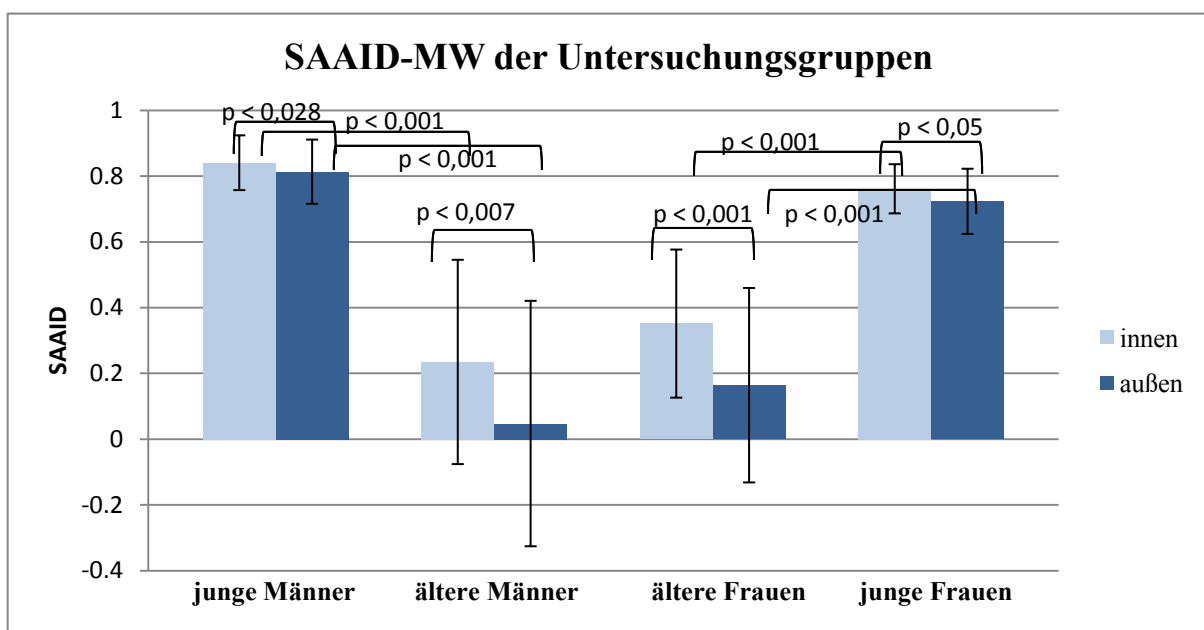


Abb. 29: Darstellung der SAAID-Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung der Unterarminnenseite und Unteraußenseite der jeweiligen Untersuchungsgruppen

Gesondert wurde zudem die Standardabweichung betrachtet. Vergleicht man sie in Bezug auf einen Umwelteinfluss (UA-IS vs. UA-AA), stellte sich in drei von vier Gruppen ein signifikanter Unterschied dar (Gr. 1:  $p < 0,028$ ; Gr.2:  $p < 0,035$ ; Gr. 3:  $p < 0,001$ ). Die Außenarmseite wies dabei die deutlich höhere Standardabweichung auf. Vergleiche der Standardabweichung unter Betrachtung des Alterseinflusses zeigten bei beiden Geschlechtern ebenfalls einen hochsignifikanten Unterschied. Diese signifikante Differenz konnte sowohl auf der Unterarminnenseite als auch auf der Unterarmaußenseite festgestellt werden (jeweils  $p < 0,001$ ).

Bei der Untersuchung zum Einfluss des Geschlechts auf Unterschiede in der Standardabweichung, konnte in beiden Altersgruppen auf der Unterarminnenseite eine signifikante Differenz gemessen werden (Gr.2 vs.3:  $p < 0,025$ ; Gr.1 vs.4:  $p < 0,026$ ). Sowohl die älteren als auch die jungen Männer wiesen im jeweiligen Vergleich die höhere Standardabweichung auf.

#### 4.3.2 SAAID in Abhängigkeit von der Messtiefe

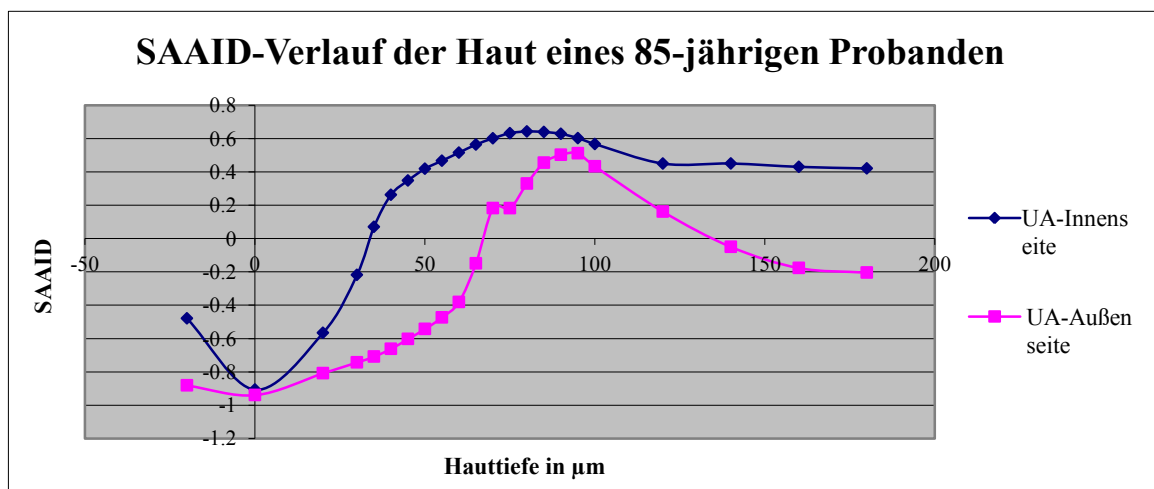


Abb.30 : Darstellung des SAAID-Verlaufs eines 85-jährigen Probanden. Auf der x-Achse liegt die Hauteindringtiefe der jeweiligen Messung, auf der y-Achse der SAAID.

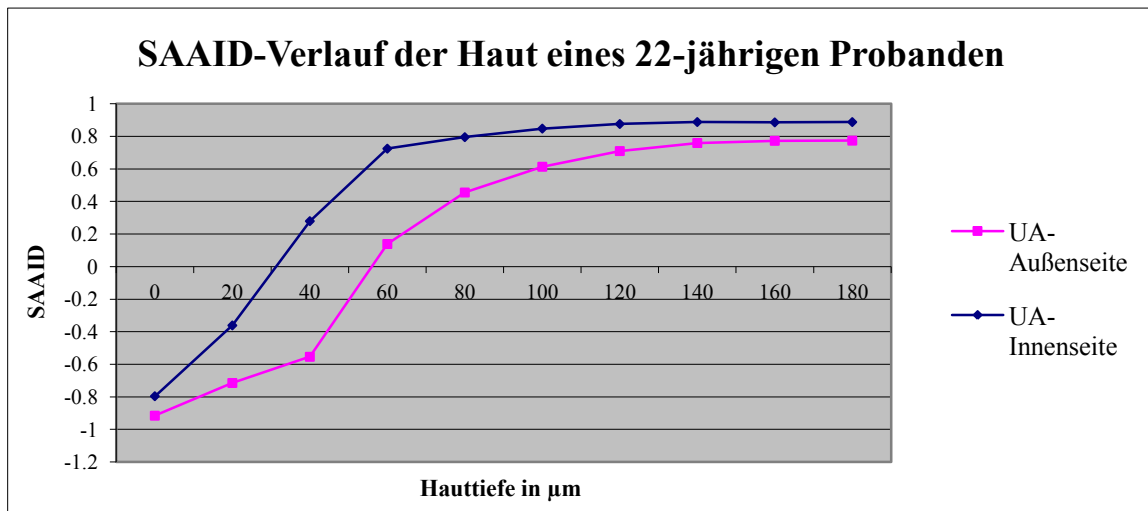


Abb.31: Darstellung des SAAID-Verlaufs eines 22-jährigen Probanden. Auf der x-Achse liegt die Hauteindringtiefe der jeweiligen Messung, auf der y-Achse der SAAID-Score.

In Abbildung 30 und 31 ist beispielhaft der SAAID in Abhängigkeit von der Messtiefe eines jungen und eines älteren Probanden dargestellt. Man erkennt, dass die Kurven der Unterarmaußenseite jeweils deutlich unterhalb denen der Unterarminnenseite verlaufen. Ein signifikanter Einfluss durch Umweltfaktoren scheint also bereits in jüngeren Jahren vorzuliegen. Weiterhin lässt sich eine deutliche Verschiebung der Außenarmkurve darstellen. Sowohl bei den jüngeren, als auch bei den älteren Probanden beginnt das dermale Kollagen, zu sehen am steigenden SAAID-Wert, verspätet ab einer Hauteindringtiefe von ungefähr 50-60  $\mu\text{m}$ . Im Gegensatz dazu beginnt das dermale Kollagen bei der Innenarmkurve etwa bei einer Hauteindringtiefe von 30  $\mu\text{m}$ .

Bei genauer Betrachtung des SAAID Kurvenverlaufes zeigt sich, dass die Kurven der älteren Probanden einen niedrigeren Anstieg und einen niedrigeren SAAID-Maximumwert aufweisen. Weiterhin erkennt man, dass die Kurven der älteren Vergleichsprobanden nach Erreichen des SAAID-Maximalwertes abfallen, um sich dann auf einem niedrigeren SAAID-Wert relativ konstant zu halten (siehe Abb.30). Im Vergleich dazu, weisen die SAAID-Kurven der jüngeren Probanden einen konstanten Verlauf auf Höhe des SAAID-Maximalwertes auf (siehe Abb.31).

Zum Verständnis der Kurvenverläufe ist zu sagen, dass der Kurvenbeginn im negativen SAAID-Bereich durch ein hohes AF-Signal bzw. ein niedriges SHG-Signal entsteht. Die hohen Autofluoreszenzen entstehen vorrangig durch Mitochondrien und andere Zellbestandteile in diesem Bereich. Kollagenfasern, die hohe SHG-Signale produzieren können, liegen in diesem Bereich in noch sehr geringer Zahl vor. Der Durchtritt durch den Nullpunkt der y-Achse ist definiert durch ein gleich großes SHG- und AF-Signal. Die Tiefe in

der das Phänomen auftritt, entspricht nach Korrelation mit den morphologischen Bildern, in etwa der dermoepidermalen Junctionszone. Unterhalb der Basalmembran steigen bei allen untersuchten Probanden die SAAID-Kurven an. Dieser Effekt wird durch ein zunehmendes SHG-Signal hervorgerufen, der mit einem steigenden Gehalt an Kollagenfasern korreliert. Der weitere Verlauf der Kurven ist dann vom jeweiligen Anteil des SHG bzw. AF-Signales abhängig. Bei einer Verminderung des SHG-Signales bzw. Anstieg des AF-Signales nach dem Erreichen des Maximalwertes, kommt es zu einem Abfall des Kurvenverlaufes. Bei Konstanz der SHG- und AF-Signale verlaufen die Kurven auf Höhe des Maximalwertes.

Die Kurven der jungen Vergleichsgruppen (Gr.1 und 4) weisen alle einen deutlich höheren Anstieg auf, als diejenigen der älteren Probanden. Dieser höhere Anstieg ist bedingt durch einen höheren Kollagengehalt der jüngeren Haut, bzw. durch einen niedrigeren Gehalt in der Altershaut. Der letzte Abschnitt der Kurven zeigt bei den jungen Untersuchungsgruppen einen konstanten Verlauf auf Höhe des SAAID-Maximalwertes (siehe Abb.31). Der Kollagengehalt der Haut im Verhältnis zum Elastingehalt bleibt somit in der jüngeren Haut bis in die tieferen Schichten der Dermis konstant. Bei den älteren Probanden (Gr. 2 und 3) zeigt sich in diesem Bereich wie bereits beschrieben ein anderer Verlauf (siehe Abb.30). Dieser Befund kann so interpretiert werden, dass sich direkt nach dem Durchtritt durch die Basalmembran ein Abschnitt der Dermis befindet, in dem der Kollagengehalt (SHG) noch relativ hoch ist. Dann nehmen jedoch die Kollagenfasern im Verhältnis zum Elastingehalt ab und die Elastinfasern zu (AF). Dieser Bereich in dem der SAAID-Wert noch hoch ist, wird als sogenannte Grenzzone bezeichnet. Er stellt einen schmalen Bereich mit hohem Kollagengehalt unterhalb der Basalmembran dar. Bei älteren Menschen trennt diese die Epidermis vom Bereich der solaren Elastose. Die solare Elastose entsteht durch den Einfluss von UV-Strahlung auf die Haut. Durch verschiedene Mechanismen kommt es zur Produktion von qualitativ minderwertigen Elastinfasern und zum Umbau von bereits vorhandenen Elastinfasern. Dies führt wiederum zur Ablagerung und damit zur Zunahme von elastotischem Material, sowie zur Desorganisation des Fasernetzwerkes. Dies äußerte sich in den Messungen in einer Zunahme des Elastinsignals im Sinne einer AF-Steigerung.

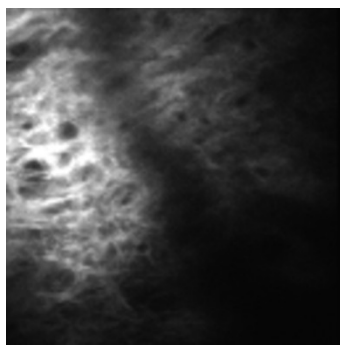
### **4.3.3 Morphologie der Haut**

Bei der MLT-Messung wurden nicht nur die Photonenwerte gemessen, sondern auch grauwertcodierte Darstellungen der gemessenen Fluoreszenzintensität innerhalb der

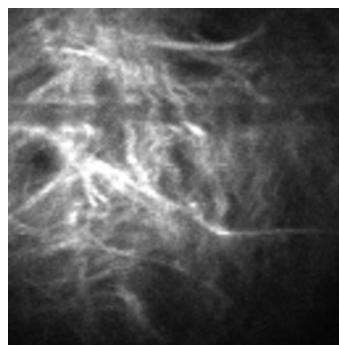
Fokusebene der jeweiligen Position angefertigt. Anhand dieser lassen sich Aussagen über die Morphologie der Hautfasern und das allgemeine Erscheinungsbild der Dermismatrix treffen. Es wurden getrennt voneinander AF-Bilder (Elastinfaserdarstellung) und SHG-Bilder (Kollagenfaserdarstellung) angefertigt. Zur Charakterisierung der Haut wurden sowohl die Faserarchitektur als auch das Erscheinungsbild der Matrix als Kriterien verwendet und bewertet.

#### a ) Kollagenfaserdarstellung durch second harmonics Generierung

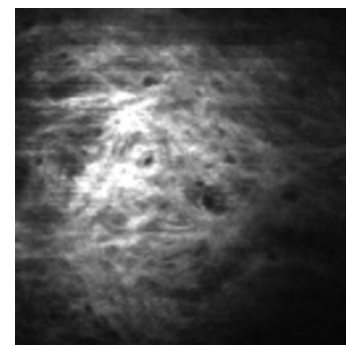
Im Vergleich der morphologischen Bilder zeigte sich, dass die Kollagenfasern der älteren Probanden (siehe Abb.32) deutlich unregelmäßiger erscheinen, als diejenigen der jungen Probandengruppen (siehe Abb.33). Das dichte Kollagengeflecht der Haut der jungen Probanden erlaubt keine Darstellung einzelner Fasern, wodurch die Abbildung einen amorphen Charakter aufweist. Die Fasern zeigen überwiegend eine straffe gebündelte Form. Dagegen haben die Kollagenfasern der älteren Haut eine deutlich gewellte und ausgedünnte Form, was zu einem inhomogeneren Erscheinungsbild führt. Das Kollagenbild der jüngeren Untersuchungsgruppen stellt sich insgesamt viel homogener und kompakter dar, was unter anderem die jugendliche Hautstraffheit bedingt.



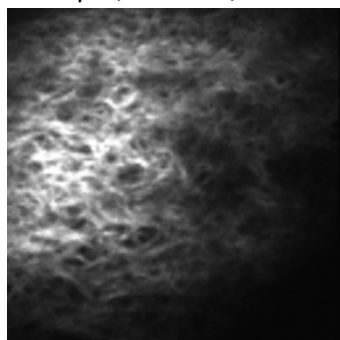
z: 90  $\mu\text{m}$ , 85 Jahre, IA



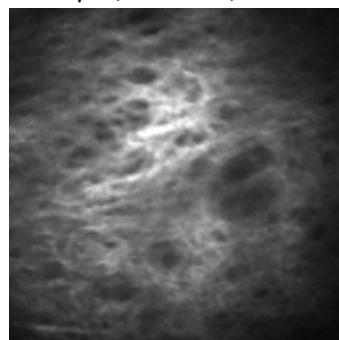
z: 80  $\mu\text{m}$ , 85 Jahre, AA



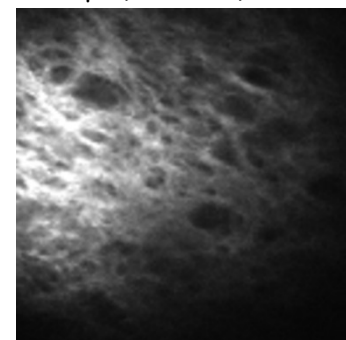
z: 80  $\mu\text{m}$ , 77 Jahre, AA



z: 65  $\mu\text{m}$ , 71 Jahre, IA



z: 90  $\mu\text{m}$ , 70 Jahre, AA



z: 45  $\mu\text{m}$ , 77 Jahre, AA

Abb.32: Darstellung der Kollagenfasern durch Bildung von SHG von älteren Probanden. Bilder aus verschiedenen Hauttiefen sind dargestellt (z) mit Angabe von Alter und Armseite



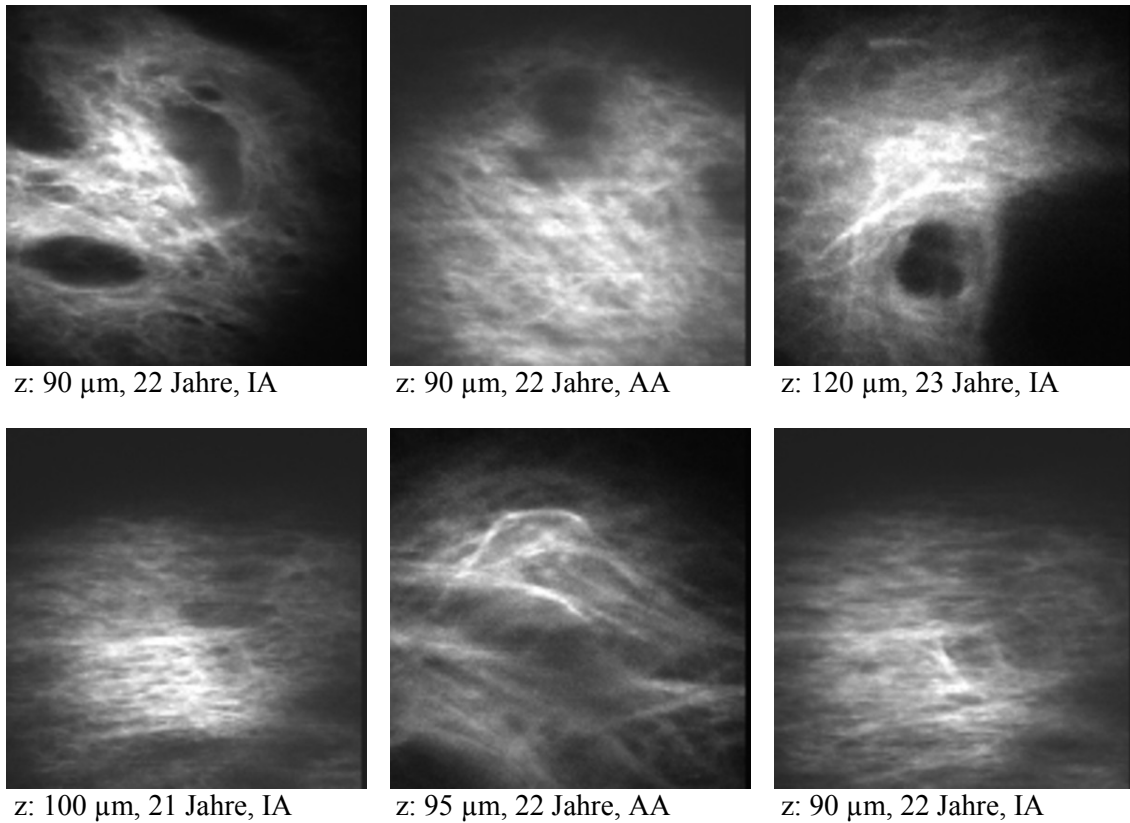


Abb.33: Darstellung der Kollagenfasern durch Bildung von SHG von jüngeren Probanden. Bilder aus verschiedene Hauttiefen sind dargestellt (z) mit Angabe von Alter und Armseite

#### b) Elastinfaserdarstellung durch Autofluoreszenz

Die Elastinfaserdarstellungen zeigten bei den jüngeren Probanden, besonders gut ab einer Hauteindringtiefe von ca. 80  $\mu\text{m}$  (vom relativen Nullpunkt ausgehend), ein deutliches, feines Fasernetzwerk, das aus geraden und gestreckten Elastinfasern besteht (siehe Abb.34).

Der Nachweis größerer amorpher Areale wird überwiegend in der Altershaut beobachtet. Die Fasern wirken dabei gewellt, unregelmäßig und verplumpt (siehe Abb.35).

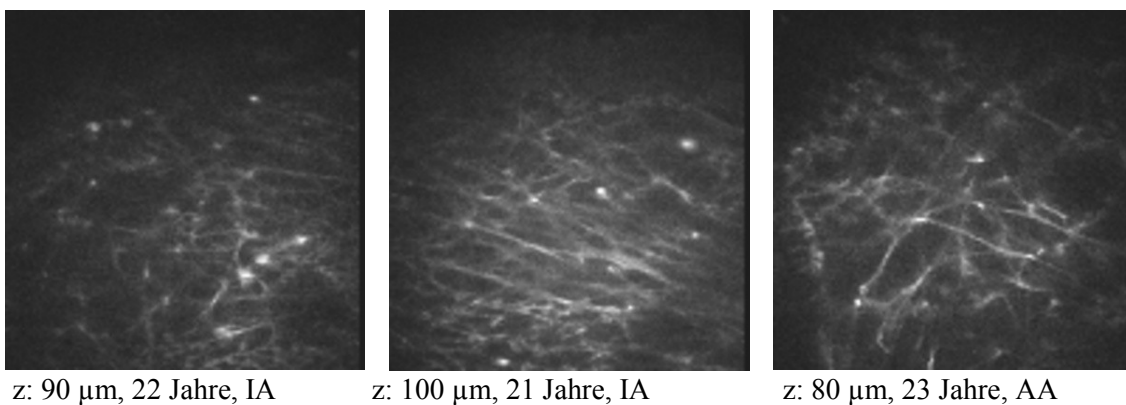
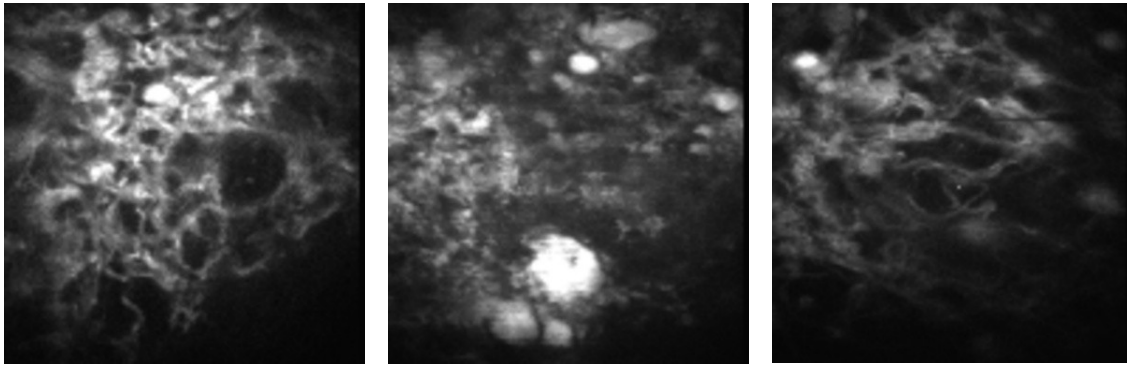


Abb.34: Bilder des Elastinfasernetzwerkes von jüngeren Probanden in unterschiedlichen Hauteindringtiefen (z) mit Angabe von Alter und Armseite (IA: Innenarm, AA : Außenarm)



z: 85  $\mu\text{m}$ , 71 Jahre, IA

z: 90  $\mu\text{m}$ , 77 Jahre, AA

z: 85  $\mu\text{m}$ , 77 Jahre, AA

Abb.35: Bilder des Elastinfasernetzwerkes von älteren Probanden in unterschiedlichen Hauteindringtiefen (z) mit Angabe von Alter und Armseite (IA: Innenarm, AA : Außenarm)

## **5. Diskussion**

Die Haut ist das wichtigste und eines der größten Kontaktorgane des menschlichen Körpers zur Umwelt. Als gesamtes Organ weist es unter anderem zwei wichtige Eigenschaften auf, Flexibilität und relative Resistenz gegenüber mechanischer Deformierung. Diese Tatsache erlaubt es uns zu bewegen und temporär Druck und Dehnung auszuhalten (Pierard 1999). Diese Eigenschaften und Fähigkeiten der Haut verändern sich jedoch im Laufe des Lebens durch den Einfluss unterschiedlichster Faktoren. Dabei interessierte uns v.a. welchen Stellenwert die natürliche Hautalterung (intrinsisch) im Gegensatz zu der durch Umwelteinflüsse bedingten Hautalterung (extrinsisch) besitzt. Sind Frauen aufgrund ihrer Genetik zu einer schnelleren Hautalterung disponiert? Unterscheidet sich vorrangig extrinsisch gealterte Haut im Vergleich zu einer relativ geschützten, vorrangig intrinsisch gealterten Haut?

In dieser Arbeit sollten mit Hilfe etablierter hautphysiologischer Methoden und dem neuartigen Verfahren der Multiphotonen-Lasertomographie, funktionelle und strukturelle Unterschiede zwischen den verschiedenen Formen der Hautalterung untersucht werden. Unsere Studie konnte darstellen, dass bereits bei jungen Menschen extrinsisch belastete Haut strukturelle Veränderungen im Kollagen- und Elastinfasernetzwerk aufweisen. Dies äußerte sich in der MLT mit signifikant niedrigeren SAAID-Werten auf den Unterarmaußenseiten. Strukturelle Unterschiede zwischen den Geschlechtern zeigten sich bei den jungen Vergleichsprobanden auf der Innenarmseite. Die Haut älterer Menschen wies sowohl bei vorrangig extrinsischer als auch intrinsischer Belastung starke strukturelle Veränderungen der dermalen Fasermatrix auf. Die SAAID-Werte waren im Vergleich zu den jungen Probanden durchweg signifikant niedriger. Zusätzlich ließ sich darstellen, dass die Unterarmaußenseiten bei den älteren Probanden deutlich niedrigere SAAID-Werte aufwiesen, als die Innenseiten. Auch in diesem Alter liegt demnach noch zusätzlich ein großer Einfluss der Umweltfaktoren auf die dermale Fasermatrix vor.

Die Untersuchung funktioneller Eigenschaften der Haut, unter dem Aspekt einer vermehrten extrinsischen Belastung, ergab, dass die Hautsteifigkeit und -dicke deutlich zunimmt, die elastischen Eigenschaften der Haut jedoch abnehmen. Zusätzlich konnten vermehrt erythematöse Veränderungen extrinsisch belasteter Haut nachgewiesen werden. Eine Beeinflussung durch das Alter im Sinne einer vorrangig intrinsisch belasteten Haut zeigte sich v.a. in einer deutlichen Reduktion der Hautelastizität. Das Geschlecht als ein wesentlicher Einflussfaktor für eine unterschiedlich schnelle Progredienz der Hautalterung konnte in

unserer Studie ausgeschlossen werden. Das konnte sowohl durch Untersuchung struktureller als auch funktioneller Eigenschaften dargelegt werden.

### **Elastizität und Steifigkeit der Haut beeinflusst durch Umweltfaktoren**

Mit der Cuto- und Reviscometrie kann untersucht werden, welchen Einfluss Umweltfaktoren im Sinne einer extrinsischen Hautalterung auf die Hautfunktionen Elastizität und Festigkeit besitzen. Umweltfaktoren wirken beinahe ein Leben lang auf unsere Haut ein. Dies führt zu verschiedensten Veränderungen in der Hautstruktur und damit auch den Hautfunktionen. Als umweltbelastetere Seite zeigte die Unterarmaußenseite bei den erhobenen Parametern beider Verfahren in fast allen Untersuchungen die deutlicheren Zeichen der Hautalterung.

In der Cutometrie wies die Unterarmaußenseite bei allen vier Untersuchungsgruppen eine deutlich steifere Haut auf (Uf-Parameter). Die Elastizitätsparameter der Cutometrie,  $U_a/U_f$  und  $U_r/U_f$ , wiesen bei den jungen männlichen Probanden (Gr. 1) im innen-außen-Vergleich auf eine deutlich schlechtere Elastizitätsfunktion auf der Außenarmseite hin. Die Umweltbelastung äußert sich also bereits zum Teil in der Haut junger Menschen durch eine Verschlechterung der Elastizitätsfunktion.

In den Untersuchungen mit dem Reviscometer zeigte sich ebenfalls in allen vier Gruppen ein signifikant niedriger RRT-Wert der umweltbelasteteren Unterarmaußenseite. Dies spricht ebenfalls für eine deutlich erhöhte Steifigkeit der Haut in diesem Bereich. Der Hautelastizitätsparameter der Reviscometrie (Maximumwert) wies ebenfalls in allen vier Gruppen deutlich niedrigere Werte auf der Unterarmaußenseite auf, was für eine schlechtere Elastizitätsfunktion der umweltbelasteteren Haut spricht.

Beide Untersuchungen konnten eine signifikant erhöhte Hautsteifigkeit durch vermehrte extrinsische Beeinflussung feststellen. Zusätzlich konnte die Reviscometrie einen deutlichen Einfluss der Umweltfaktoren auf Veränderungen der Hautelastizität in allen Altersgruppen darstellen. Die Cutometrie konnte lediglich bei den jungen männlichen Probanden Signifikanzen dahingehend erheben. Die höhere Steifigkeit der extrinsisch belasteten Haut kann einmal im Sinne einer Elastizitätsminderung interpretiert werden, zum anderen als eine Verminderung des Feuchtigkeitsgehaltes der Haut v.a. der oberen Hautschichten, was zu einer Verringerung der Beweglichkeit innerhalb der Haut führt (Dobrev H. 2000). Die stärkere Einwirkung von Umwelteinflüssen (Sonneneinstrahlung, mech. Belastungen etc.) auf dieser Armseite, äußert sich demnach in einer deutlichen Verschlechterung der Fähigkeit der Haut, sich auf Dehnungsreize hin mit einer adäquaten elastischen Reaktion einer mechanischen

Belastung anzupassen. Umweltfaktoren, besonders die UV-Strahlung, sind demnach ursächlich für diese Unterschiede und Veränderungen zu benennen, da jeweils die stärker umweltbelastete Unterarmaußenseite eine höhere Hautsteifigkeit aufweist.

Die Belastung durch Umweltfaktoren wirkt bereits in der Haut junger Menschen, was durch die signifikanten Veränderungen bei unseren jungen Vergleichsprobanden dargestellt werden konnte. Ein größerer Einfluss durch intrinsische Alterungsprozesse ist bei den jungen Probanden nicht zu erwarten, sodass die signifikante Differenz zwischen den beiden untersuchten Armseiten hauptsächlich durch die extrinsischen Prozesse verursacht wurde. Die signifikanten Differenzen bei den älteren Probanden können sowohl durch intrinsische Hautalterungsprozesse v.a. auf der Innenarmseite als auch durch extrinsische Prozesse auf der Unterarmaußenseite bedingt sein. Eine exakte Differenzierung welcher der beiden Vorgänge dabei die entscheidende Rolle einnimmt, kann aus unseren Ergebnissen jedoch nicht spezifiziert werden.

Unsere Ergebnisse der Cutometrie zum Einfluss von Umweltfaktoren auf Veränderungen der Hautsteifigkeit und -elastizität korrelieren gut mit früheren Studien. Adhoue et al. konnten in ihren Untersuchungen zum Einfluss von Sonnenexposition auf Veränderungen biophysikalischer Fähigkeiten der Haut feststellen, dass UV-exponierte Haut eine deutlich reduzierte Elastizität aufweist (Adhoue et al. 1992). Zu vergleichbaren Ergebnissen hinsichtlich Veränderungen der Haut kamen auch Takema und Leveque in ihren Untersuchungen. Sie konnten in ihren Studien darstellen, dass die Haut unter dem vermehrten Einfluss von UV-Belastung, eine deutliche Elastizitätsreduktion und eine Zunahme der Hautsteifigkeit aufweist (Leveque et al. 1989, Takema et al. 1994).

Da die Reviscometrie noch ein vergleichsweise neues Verfahren darstellt, gibt es aktuell nur wenige Publikationen zum Vergleich der Ergebnisse. Clarys et al. konnten aber beispielsweise ebenfalls einen Effekt der Umweltbelastung in ihrer Studie zeigen. Bei ihnen zeigte sich zwar kein signifikanter Unterschied zwischen den Unterinnen- und -außenseiten, jedoch ein eindeutiger Trend zu einem Abfall der RRT-Werte bei umweltbelasteter Haut (Clarys et al. 2005).

Aufgrund der erhobenen Daten lässt sich sagen, dass der Einfluss von extrinsischen Faktoren auf die Haut von großer Bedeutung ist. Es besteht jedoch die Möglichkeit Einfluss auf diese Hautveränderungen durch entsprechende Schutzmaßnahmen zu nehmen. Zum einen ist durch Tragen von langer, dunkler Kleidung ein guter Schutz der bedeckten Körperteile möglich. Zusätzlich sollte für Körperregionen wie beispielsweise das Gesicht die Nutzung von

Sonnenschutzcremes erfolgen. Dieser chemische Schutz (Sonnenschutzcremes) ist im Vergleich zum physikalischen Schutz (Kleidung) der Haut zwar nicht so effektiv, zeigt aber in Studien einen deutlichen Effekt bei der Prävention und Rückbildung von Photoaging im Vergleich zur ungeschützten Haut (Yaar und Gilchrest 2007).

### **Einfluss des Alters auf Hautelastizität und -steifigkeit**

Der Einflussfaktor Alter besitzt eine bedeutende Rolle bei Veränderungen der Hautelastizität. Die Untersuchungsergebnisse der Cutometrie zeigten bei den Elastizitätsparametern ( $U_a/U_f$ ,  $U_r/U_f$ ) hochsignifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersgruppen. Sowohl bei der Bruttoelastizität ( $U_a/U_f$ ), als auch bei der sog. biologischen Elastizität ( $U_r/U_f$ ), wiesen die jungen Vergleichsprobanden die deutlich besseren Werte auf. Das bedeutet, dass sie im Vergleich die elastischere Haut besitzen und die Altershaut aufgrund intrinsischer und zum kleinen Teil auch extrinsischer Hautalterungsprozesse lediglich noch eine reduzierte Elastizitätsfunktion aufweist. Dazu passend konnten wir einen signifikanten Anstieg der Visko-Elastizität ( $U_v/U_e$ ) mit steigendem Alter darstellen. Die Altershaut verbleibt nach mechanischen Krafteinwirkungen aufgrund der höheren Visko-Elastizität länger in der verformten Position und kommt nur verzögert, bedingt durch die schlechtere Elastizität, wieder in ihre Ausgangsposition zurück. Der Prozess der Hautalterung nimmt demnach entscheidend Einfluss auf die elastischen Funktionen der Haut und ihre Rückbildungsfähigkeit. Das Alter hatte nach unseren Cutometrie-Ergebnissen keinen Einfluss auf Veränderungen der Hautsteifigkeit.

Unsere Ergebnisse der Cutometrie werden durch einige andere Studien bestätigt. Cua et al. zeigten in ihrer Studie zu den elastischen Fähigkeiten der Haut des Menschen, dass sich die visko-elastischen Eigenschaften der Haut ( $U_v/U_e$ ) signifikant zwischen jung und alt unterscheiden, wobei der Anteil der Visko-Elastizität im Alter ansteigt (Cua et al. 1990). Zusätzlich wiesen seine Untersuchungen einen signifikanten Unterschied bei der sog. biologischen Elastizität ( $U_r/U_f$ ) auf, was sich in einem deutlichen Abfall im Verlaufe des Alters darstellte (Cua et al. 1990). Diese Ergebnisse wurde von Agache et al. ebenfalls bestätigt, der einen signifikanten Unterschied bei der Visko-Elastizität zwischen jung und alt nachweisen konnte (Agache et al. 1980). Takema et al. zeigten in ihrer Studie zu altersbedingten Veränderungen der Gesichtshaut gleichfalls einen, bei ihnen linearen, Anstieg des Verhältnisses  $U_v/U_e$  (auf der Innenarmseite) mit steigendem Alter, auf (Takema et al. 1994).

Elsner et al. stellten in ihrer Studie einen signifikanten Abfall des Elastizitätsparameters  $U_r/U_f$  mit steigendem Alter fest (Elsner et al. 1990). Im Gegensatz dazu konnte aber keine Altersabhängigkeit der visko-elastischen Eigenschaften nachgewiesen werden, was möglicherweise durch den zu geringen Altersunterschied zwischen den Vergleichsgruppen begründet ist. Nach Daly ist die Funktion der Visko-Elastizität abhängig von der Dermismatrix. Veränderungen ihrer Zusammensetzung können zu Störungen dieser Funktionen führen (Daly und Odland 1979). Dabei interagieren die Materialien der „Grundsubstanz“ der Dermis mit Kollagenfaserbestandteilen, was somit zum visko-elastischen Verhalten beiträgt (Daly und Odland 1979). Dementsprechend können sowohl Veränderungen der Dermismatrix als auch der Faserarchitektur zur Störung der Visko-Elastizität führen.

Hinsichtlich unserer Ergebnisse zu Veränderungen der Hautsteifigkeit stellten Daly und Odland in ihrer Studie dar, dass es keinen Zusammenhang zwischen der Zunahme der Steifigkeit und zunehmendem Alter gibt (Daly und Odland 1979). Auch Smalls et al. konnten in ihren Untersuchungen zu den Effekten unterschiedlicher Einflussfaktoren auf die biomechanische Fähigkeiten der Haut feststellen, dass das Alter keinen Einfluss auf die Hautsteifigkeit besitzt (Smalls et al. 2006).

Die Reviscometrie ermöglicht durch die Erhebung von RRT's die Untersuchung struktureller und funktioneller Eigenschaften der Haut. Signifikante Differenzen ergaben sich bei den RRT's in unseren Untersuchungen v.a. in Abhängigkeit vom Alter der Probanden. Beide untersuchten Unterarmseiten bei den männlichen und die Außenarmseite bei den weiblichen Probanden zeigten im Altersvergleich signifikante Differenzen. Die älteren Probanden wiesen dabei die deutlich niedrigen Werte auf, was einer höheren Ausbreitungsgeschwindigkeit entspricht.

Unsere Ergebnisse korrelieren dabei mit zahlreichen anderen Untersuchungen, die ebenfalls zeigen konnten, dass sich die Schallwellenausbreitungsgeschwindigkeit mit zunehmendem Alter verändert. Davis et al. konnten in ihrer Studie feststellen, dass die Schallwellengeschwindigkeit positiv mit dem Alter der Probanden korreliert (Davis et al. 1989), und auch Potts et al. konnten in ihrer Studie einen Anstieg der Schallausbreitungsgeschwindigkeit mit steigendem Alter nachweisen (Potts et al. 1984). Clarys et al. untersuchten in ihrer Studie ebenfalls den Einfluss des Alters auf die RRT. Auch sie konnten eine signifikante Reduktion der RRT bei älteren Probanden feststellen, was mit einer höheren Ausbreitungsgeschwindigkeit verbunden ist (Clarys et al. 2005).

Im Gegensatz dazu beschrieben Hermanns-Le et al. in ihrer Studie, dass in ihrer Untersuchung die RRT-Werte im Alter ansteigen und somit die Ausbreitungsgeschwindigkeit verringert ist (Hermanns-Le et al. 2001). Allerdings wurde in dieser Untersuchung nur an vier Winkelpositionen gemessen, während in unseren Untersuchungen jeweils eine Bestimmung an 36 Winkelpositionen durchgeführt wurde. Aufgrund der geringeren Datenmenge kann es daher möglicherweise zu einer Verfälschung der Daten kommen, was die Diskrepanz der Ergebnisse erklären könnte.

Die Interpretation der Reviscometrie-Ergebnisse wird gegenwärtig kontrovers diskutiert. Ein Teil der Autoren sehen in den reduzierten RRT ein Maß für eine vermehrte Hautsteifigkeit im Alter, verbunden mit einer verminderten Elastizität (Vexler et al. 1999, Paye et al. 2007). Der Einfluss des Alters auf die Haut soll sich demnach als erhöhte Steifigkeit und herabgesetzte Elastizität darstellen. Diese Interpretation würde gut mit unseren Ergebnissen der Cutometrie korrelieren.

Andere Forscher dagegen, beispielsweise Uhoda et al., sehen die RRT als ein Maß der Hautstraffheit. Sie wiesen in ihrer Studie nach, dass die Applikation einer Substanz (2-Dimethylaminoethanol) die RRT-Werte im Vergleich zur Placebogruppe verringerte und somit zur Steigerung der Hautstraffheit führte (Uhoda et al. 2002). Ein Anstieg der Hautstraffheit ist nach Meinung von Uhoda et al. durch einen Abfall der RRT's charakterisiert. Es stehen sich demnach Hautstraffheit und -steifigkeit als mögliche Interpretationsvarianten gegenüber.

Eine dritte Erklärungsvariante stellt ein unterschiedlicher Hydratationsgrad der Haut dar. Potts et al. zeigten, dass die Ausbreitungsgeschwindigkeit mit steigendem Wassergehalt des Stratum corneum sinkt (Potts et al. 1984), zusätzlich konnten Uhoda et al. zeigen, dass ausgetrocknete, irritierte Haut, erniedrigte RRT-Werte, und somit eine erhöhte Ausbreitungsgeschwindigkeit aufweist (Uhoda und Pierard 2003).

Die resonance running time kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Unsere Ergebnisse korrelieren jedoch mit den Ergebnissen der Studien von Vexler et al. und Paye et al, sodass wir die Reduktion der RRT-Werte als ein Maß für eine vermehrte Hautsteifigkeit interpretieren. Zusammenfassend für unsere Daten kann man festhalten, dass die erniedrigte Ausbreitungsgeschwindigkeit der Altershaut damit zu erklären ist, dass es einmal, bedingt durch einen Elastizitätsverlust durch die Verminderung der Fasergehaltes, und zum anderem durch einen verminderten Wassergehalt der Haut, zu einem deutlichen Anstieg der Hautsteifigkeit kommt.



### **Einfluss des Geschlechts auf Hautelastizität und -steifigkeit**

Auch ein Einfluss des Geschlechtes auf die Hautalterung wird immer wieder diskutiert und untersucht. Unsere Cutometrie-Ergebnisse zeigen, dass keiner der erhobenen Elastizitätsparameter signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern darstellen kann. Cua et al. widmeten sich in ihrer Studie ebenfalls diesem Thema und stellten ebenso fest, dass keine signifikanten Differenzen zwischen beiden Geschlechtern sowohl bei  $U_v/U_e$  als auch bei  $U_r/U_f$  vorlagen (Cua et al. 1990).

In unseren Untersuchungen mit der Reviscometrie fiel dagegen ein deutlicher geschlechtsspezifischer Einfluss auf, v.a. beim Vergleich der älteren Probanden. Dabei wiesen die weiblichen Probanden die signifikant höheren Werte und dementsprechend die vergleichsweise schlaffere Haut auf. Andere Studien dagegen, beispielsweise Hermanns-Le et al. und Davis et al., konnten beide in ihren Untersuchungen keine geschlechtsspezifische Unterschiede feststellen (Davis et al. 1989, Hermanns-Le et al. 2001). Die beiden Untersuchungsverfahren zeigen demnach unterschiedliche Ergebnisse. Nach den Cutometrie-Daten liegen keine geschlechtsspezifischen Einflüsse auf die Elastizitätsfunktion der Haut vor, die Reviscometrie-Daten lassen jedoch einen Einfluss des Geschlechtes vermuten.

Abschließend sei zum RRT-Wert gesagt, dass er aufgrund der Möglichkeit auf verschiedenste Art und Weise beeinflusst zu werden, was frühere Studien zeigten, aktuell nur einen begrenzten Aussagewert besitzt. In unserem Untersuchungsmodell konnte zwei Einflussfaktoren bestimmt werden, die einen wesentlichen Einfluss auf die resonance running time besitzen, das Alter und die Umweltbelastung. Jedoch wirken diese untersuchten Faktoren parallel und individuell unterschiedlich stark auf die Haut ein. Eine exakte Differenzierung ist schwierig durchzuführen. Es benötigt weiterer intensiver Untersuchungen, die den Stellenwert der RRT für ähnliche Untersuchungsmodelle wie unseres, bestimmt. In anderen Studienmodellen, beispielsweise der Testung der Wirkung einer Feuchtigkeitscreme, also der Einwirkung eines einzelnen Einflussfaktors, kann die resonance running time durchaus als ein wichtiger und aussagekräftiger Parameter Anwendung finden (Paye et al. 2007).

### **Cutometrie und Reviscometrie im Vergleich**

Die Cutometrie und die Reviscometrie sind geeignete Verfahren, um Aussagen über die Hautelastizität und -festigkeit treffen zu können. Ein Vergleich der Ergebnisse beider

Untersuchungsmethoden sollte zeigen, ob die Ergebnisse beider Verfahren eine ähnliche Interpretation zulassen und ob sich aus der differenten Methodik jeweils zusätzliche Aussagen ermitteln lassen.

Die Cutometrie-Ergebnisse zeigten für stark extrinsisch belastete Haut (Unterarmaußenseite) eine vermehrte Festigkeit ( $U_f$ ) im Vergleich zu relativ umweltgeschützter Haut der Unterarminnenseite. Die Reviscometrie zeigte übereinstimmende Ergebnisse, denn auch sie konnte hochsignifikante Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Armseiten bei der Hautfestigkeit (RRT-Wert) nachweisen. Bei den Veränderungen der Elastizitätsparameter durch Umwelteinflüsse wiesen die beiden Untersuchungen jedoch unterschiedliche Ergebnisse auf. Die Cutometrie-Parameter für die Elastizität,  $U_a/U_f$  und  $U_r/U_f$ , zeigten keine größere Beeinflussung durch Umweltfaktoren. Lediglich die jungen männlichen Probanden wiesen eine schlechtere Elastizität auf der Außenarmseite auf. Der Maximumwert bei der Reviscometrie, der eine Aussage zur Hautelastizität zulässt, zeigte dagegen einen signifikanten Einfluss der extrinsischen Faktoren. In allen vier Vergleichsgruppen war die stärker umweltbelastete Unterarmaußenseite durch deutlich erniedrigte Elastizitätsparameter gekennzeichnet.

Beim Vergleich der Ergebnisse zum Einflussfaktor Alter, wurden ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse beobachtet. Bei der Cutometrie spielte das Alter keine entscheidende Rolle in Bezug auf die Hautfestigkeit ( $U_f$ ). Dagegen zeigten die Ergebnisse der Reviscometrie, dass das Alter durchaus einen relevanten Einfluss besitzt. Es konnte nachgewiesen werden, dass v.a. beim männlichen Geschlecht, signifikante Unterschiede auf beiden Unterarmseiten bei der Hautfestigkeit vorlagen. Beim Einfluss des Alters auf Veränderungen der Elastizität stimmten die beiden Untersuchungsverfahren grundsätzlich überein. Die Cutometrie wies eine elastischere Haut der jungen Vergleichsprobanden auf beiden Unterarmseiten bei beiden Geschlechtern nach. Die Reviscometrie konnte jeweils nur auf einer untersuchten Unterarmseite signifikante Differenzen bezogen auf das Alter nachweisen. Bei den älteren männlichen Probanden zeigte die Unterarmaußenseite eine deutlich reduzierte Elastizität. Bei den älteren weiblichen Probandinnen wies die Unterarminnenseite eine deutlich reduzierte Elastizität auf.

Bei der Untersuchung eines möglichen Einflusses durch das Geschlecht korrelierten beide Untersuchungsverfahren hinsichtlich der Elastizitätsfunktionen weitgehend. Die Cutometrie zeigte, dass weder die jungen noch die älteren Vergleichsprobanden eine unterschiedliche Elastizität aufweisen. Die Reviscometrie konnte beim Vergleich der Maximumwerte, also der Elastizität, auch nur auf der Unterarminnenseite der älteren Probanden einen signifikanten

Unterschied nachweisen. Hinsichtlich eines Einflusses auf die Hautfestigkeit zeigten die beiden Methoden jedoch Unterschiede. Die Cutometrie konnte keinen Einfluss des Geschlechts in beiden Altersgruppen ausmachen. Die Reviscometrie hingegen konnte v.a. bei den älteren Vergleichsprobanden eine unterschiedliche Hautfestigkeit nachweisen. Die älteren Männer wiesen dabei eine deutlich höhere Hautfestigkeit auf.

Zusammenfassend lässt sich konstatieren, dass sich mit Hilfe beider Methoden wichtig Informationen über spezielle Hautfunktionen und -eigenschaften erheben lassen. Es hat sich jedoch im Vergleich gezeigt, dass doch teilweise erheblich Unterschiede bei den Ergebnissen vorliegen. Möglicherweise kann man die für die Vergleiche verwendeten Parameter, RRT-Wert vs.  $U_f$  und Maximumwert vs.  $U_a/U_f$ ,  $U_r/U_f$ , nicht so einfach gegenüberstellen. Die unterschiedlichen Methodiken der Untersuchungsgeräte, Ansaugprinzip vs. Schallwellenlaufzeitbestimmung, erfassen möglicherweise unterschiedliche Strukturen und damit Eigenschaften der Haut. Dadurch kann es möglicherweise zur Erhebung unterschiedlicher Ergebnisse kommen. Trotzdem liefern beide Untersuchungen wichtige Ergebnisse, und v.a. die Anisotropie bei der Reviscometrie stellt einen neuen interessanten Parameter dar, der weiterer Untersuchungen bedarf.

### **Anisotropie**

Die menschliche Haut besitzt nicht in alle Richtungen das gleiche Maß an Dehnungs- und Bewegungsvermögen, ein Phänomen, das insbesondere bei der Durchführung operativer Eingriffe beachtet werden muss. In einige Richtungen ist die Haut sehr stark dehnbar, in andere wiederum nur sehr eingeschränkt. Die sogenannten Hautspannungslinien, wurden von Karl Langer, einem Anatomie-Professor, an Kadavern mit Totenstarre 1861 entdeckt und beschrieben (Langer 1861, Wilhelmi et al. 1999). Diese sind unter anderem für die Anisotropie der Haut mitverantwortlich, von der zum Teil die mechanischen Fähigkeiten der Haut abhängig sind. Diese Eigenschaft der Anisotropie, also der Fähigkeit der Haut abhängig von der Richtung der einwirkenden Kraft dehnbar und elastisch oder unelastisch und angespannt zu reagieren, verändert sich jedoch im Laufe des Alterns und unter dem Einfluss intrinsischer und extrinsischer Faktoren. Einige Autoren gehen davon aus, dass junge Menschen eine vergleichsweise isotrope Haut aufweisen im Vergleich zu älteren. Ihren Studien zufolge nimmt das Ausmaß an Anisotropie durchweg in der Altershaut zu (Vexler et al. 1999, Ruvolo et al. 2007).

Die Anisotropie in unserer Untersuchung entsteht aus dem Verhältnis von  $RRT_{\max}/RRT_{\min}$  (Ruvolo et al. 2007). Wie in vielen Studien festgestellt, verändert sich der Minimum-Wert in diesem Verhältnis fast nie. Er zeigt weder eine Beeinflussung durch das Alter (Hermanns-Le et al. 2001), durch Hautaustrocknung (Paye et al. 2007), durch das Geschlecht (Hermanns-Le et al. 2001, Ruvolo et al. 2007) oder durch Umwelteinflüsse. Auch in unserer Studie erwies sich der RRT-Minimum-Wert als kaum beeinflussbarer Parameter. Sowohl der Geschlechtervergleich, als auch die Untersuchung zum Umwelteinfluss zeigten keinerlei Unterschiede auf. Daraus folgend muss eine Veränderung der Anisotropie durch ein veränderten RRT-Maximum-Wert bedingt sein.

Untersuchungen zum Nachweis eines Umwelteinflusses auf den RRT-Maximum-Wert zeigten, dass bei allen vier Probandengruppen im Innenseiten-Außenseiten-Vergleich deutlich erniedrigte Werte auf der Außenarmseite nachzuweisen waren. Der RRT-Maximum-Wert zeigte also eine deutliche Beeinflussung durch extrinsische Faktoren. Die maximale Hautdehnbarkeit nimmt demnach durch den Einfluss der Umweltfaktoren signifikant ab, die Haut wird steifer.

Weiterhin zeigte der Maximum-Wert eine Beeinflussung durch das Alter und Geschlecht, demzufolge auch die Anisotropie der Haut. Diese wies sowohl auf der Unterarmaußenseite als auch auf der Unterarminnenseite einen signifikanten Einfluss durch das Alter auf. Sie verhält sich jedoch abhängig von den beeinflussenden Faktoren sehr unterschiedlich. Auf der Unterarmaußenseite weist die Haut der jungen Probanden eine deutlich höhere Anisotropie auf, als die der älteren Probanden. Die Unterarminnenseite dagegen zeigte eine höhere Anisotropie der älteren Probanden. Geht man davon aus, dass die jungen Probanden eine altersentsprechende, gesunde Haut haben, erscheint es so, dass intrinsische (Alter) und extrinsische (Umweltbelastung) Einflussfaktoren unterschiedliche Auswirkungen auf die Veränderung der Anisotropie der Haut haben. Während der Umwelteinfluss anscheinend eher zu einer vermehrten Hautsteifigkeit aufgrund von Austrocknung, Faserumbau und Hautdickenzunahme führt, beeinflusst das Alter die Haut eher im Sinne eines Festigkeits- und Straffheitsverlust, was dann als schlaffere Haut imponiert. Dies würde auch erklären, warum die Anisotropie beim Innenarm-Außenarmvergleich zum einen nur bei den älteren Probanden einen signifikanten Unterschied aufwies (junge Haut ist keinem der beiden Hautalterungsformen lang genug exponiert) und zum anderen, die umweltgeschützte Innenarmseite die höhere Anisotropie im Vergleich zur Außenarmseite aufweist. Die Umweltbelastung scheint demnach einen deutlich stärkeren Effekt zu haben, da sie die

natürlichen Altersveränderungen im Sinne der Anisotropie-Zunahme auf der Außenarmseite völlig überdeckt.

Zur Anisotropie der Haut liegen gegenwärtig nur geringe Anzahlen von Untersuchungen vor. In den bisherigen Studien wurde ausschließlich ein Anstieg der Anisotropie mit zunehmendem Alter festgestellt (Hermanns-Le et al. 2001, Ruvolo et al. 2007). In der Studie von Ruvolo et al. wurde allerdings keine differenzierte Betrachtung der Innen- und Außenarmmessungen vorgenommen. Aus der Studie geht nicht eindeutig hervor, wie die beiden verschiedenen Messlokalisationen letztlich in die Auswertung eingebaut wurden, sodass hier durchaus eine Fehlerquelle liegen könnte. Gleichzeitig weichen die Kurvenverläufe und- werte völlig von unseren und anderen publizierten Studien ab, sodass ein Vergleich mit diesen Ergebnissen kaum möglich ist.

In der Studie von Hermanns-Le 2001, wurde eine steigende Anisotropie im Alter auf der Unterarminnenseite nachgewiesen (Hermanns-Le et al. 2001). Dieses Ergebnis stimmt mit unserem überein, da wir innenseitig ebenfalls bei den älteren Frauen einen signifikanten Anstieg und bei den älteren Männern eine Tendenz zur ansteigenden Anisotropie nachweisen konnten. Jedoch haben Hermanns-Le et al. keine Betrachtung des Umwelteinflusses durch Messung einer sonnenexponierten Hautstelle vorgenommen. Somit konnten sie den Effekt der extrinsischen Hautalterung, nämlich eine Reduktion der Anisotropie, nicht feststellen.

Eine Untersuchung zum Einfluss des Geschlechtes auf die Anisotropie konnte in den wenigen dazu durchgeführten Studien nicht nachgewiesen werden (Hermanns-Le et al. 2001). Unsere Studie zeigte, dass in jungen Jahren keine Differenzen vorliegen, im Alter ließen sich jedoch Unterschiede nachweisen. Auf der Unterarminnenseite wiesen die älteren Frauen eine höhere Anisotropie im Vergleich zu den gleichaltrigen Männern auf. Das könnte bedeuten, dass die reinen altersabhängigen (intrinsischen) Veränderungen der Haut bei älteren Frauen mit einer deutlich schlafferen Haut einhergehen.

Bei der Verwendung und Auswertung des Parameters Anisotropie müssen einige Dinge beachtet werden. Zum einen muss genau darauf geachtet werden, an welcher Körperstelle untersucht wurde. Eine unterschiedliche Umweltbelastung zeigte sich in unsere Studie als ein wesentlicher Einflussfaktor und sollte dementsprechend beachtet werden. Zum anderen ist es wichtig in welcher Körperhaltung die Messungen durchgeführt wurden, da Studien zeigen konnten, dass allein ein gestreckter bzw. gebeugter Arm eine unterschiedliche Anisotropie

aufweisen (Nizet et al. 2001). Dabei zeigte die entspannte Armhaltung in gebeugter Form eine deutlich höhere Anisotropie (Nizet et al. 2001). Um einen sinnvollen Studienvergleich zu ermöglichen, sollte immer auch auf diese Aspekte geachtet werden.

### **Erythem- und Pigmentierungsgrad**

#### **Unterschiedliche Einflussfaktoren auf den Erythemgrad der Haut**

Da das menschliche Auge nicht in der Lage ist Farbwahrnehmungen präzise zu quantifizieren, ist es notwendig die Hautfarbe bzw. das Ausmaß von Erythem und Pigmentierung apparativ zu bestimmen (Takiwaki 1998, Stamatatos et al. 2004). Die Bestimmung des Erythemgrades der Haut, stellt einen wichtigen Indikator für Veränderungen der Gefäßarchitektur in der Haut, die typisch für die Hautalterung sind, dar. Zusätzlich korrelieren entzündliche Reaktionen der Haut mit einem erhöhten Erythemwert. Beide Veränderungen sind Zeichen der UV-induzierten Schädigung der Haut.

In unserer Studie konnte sowohl in den Gruppen der jungen Vergleichsprobanden (Gr. 1 und 4), als auch in der Gruppe der älteren Frauen (Gr. 3) ein signifikanter Unterschied zwischen Innen- und Außenarm hinsichtlich des Erythemwertes nachgewiesen werden. Dies ist am ehesten durch den stärkeren Einfluss der UV-Strahlung in diesem Bereich zu erklären. Krutmann et al. konnten in ihren Untersuchungen feststellen, dass die UV-Strahlung in der Lage ist über molekulare Mechanismen zu einer, zum Teil sehr stark ausgeprägten, Erweiterung und Verdrehung der Gefäße in der Haut, zu führen (Krutmann 2003). Zusätzlich dazu können entzündliche Prozesse in der sonnenbelasteten Haut auftreten, was zur Gefäßdilatation und damit zu einer erythematösen Haut führt. Diese Prozesse können jedoch mit Hilfe der Chroma- und Mexametrie nicht differenziert werden. Dazu müssten histologische oder andere bildgebende Verfahren der Haut verwendet werden.

Interessanterweise zeigte sich bei den älteren Männern als einziges kein signifikanter Unterschied zwischen Innen- und Außenseite. Verursacht wird dieses Phänomen durch einen wesentlich höheren Erythemwert im Bereich der Innenarmseite. Dies zeigt sich sowohl im Altersvergleich als auch im Geschlechtervergleich, bei der die älteren Männer jeweils innenseitig signifikant höhere Erythemwerte aufweisen. Als mögliche Ursachen lässt sich dabei eine stärkere intrinsische Beeinträchtigung der Gefäßarchitektur der Männer, oder aber eine bereits insgesamt fortgeschrittenere intrinsische Belastung der Haut mit daraus

resultierenden Veränderungen bei den Männern diskutieren. Ein unterschiedlich starker Einfluss durch die UV-Strahlung der den Unterschied erklären könnte, ist natürlich ebenfalls möglich. Wir würden jedoch eher von einer ungefähr gleichen Sonnenbelastung zwischen den beiden Geschlechtern auf der Unterarminnenseite ausgehen.

Der Fakt, dass auf der Unterarmaußenseite kein signifikanter Unterschied im Alters- und Geschlechtervergleich aufgezeigt werden konnte, kann durch eine gleichstarke UV-Belastung aller Individuen erklärt werden. In diesem Falle übernimmt der Umweltfaktor im Vergleich zum Alters- oder Geschlechtsfaktor die größere Rolle im Hinblick auf die Veränderungen, die zu einem erhöhten Erythemgrad führen.

### **Pigmentierung der Haut**

Die Pigmentierung der Haut ist gewissermaßen eine Schutzreaktion der Haut auf eine UV-Belastung. Entscheidend für den Schutz der Haut ist der individuelle Hauttyp, der vor UV-Strahlung schützen kann. Durch vermehrte UV-Exposition kann die Haut maximal zusätzlich einen Lichtschutzfaktor von 4-6 erreichen. Der Schutz der Hautstruktur vor schädigenden UV-Strahlen ist demnach aufgrund des genetisch determinierten Hauttypus teilweise vorgegeben, kann sich individuell jedoch durch vermehrte UV-Exposition anpassen und den Schutz vor frühzeitiger Hautalterung optimieren.

Bei unseren Untersuchungsergebnissen zur Hautpigmentierung zeigte die sonnenbelastete Unterarmaußenseite erwartungsgemäß bei allen Untersuchungsgruppen einen deutlich höheren Pigmentierungsgrad. Aufgrund der stärkeren Sonneneinstrahlung kommt es zu einer vermehrten Melaninproduktion in den Melanozyten und Weitergabe an die umgebenden Zellen.

Im Altersvergleich zwischen den jungen und älteren Männern zeigte sich, dass die Außenarmseite der jungen Männer signifikant stärker pigmentiert war. Eine mögliche Interpretation dafür ist, dass die jüngere Haut besser und schneller in der Lage ist, sich an Sonnenbelastung durch Melaninproduktion anzupassen, die ältere Haut sich jedoch nur noch langsam an Sonneneinstrahlung anpassen kann (Gilchrest et al. 1979). Letztendlich spielen dabei aber sowohl Veranlagungen als auch Freizeitverhalten der Probanden eine wesentliche Rolle, sodass keine präzisen Aussagen zu möglichen Ursachen gemacht werden können.

### **Vergleich der Methoden der Erythem- und Pigmentierungsbestimmung**

Der Rötungs- und Pigmentierungsgrad der Haut wurde in dieser Studie mit Hilfe zweier verschiedener Methoden quantifiziert. Es zeigte sich, dass das Mexa- und Chromameter v.a. bei den Werten zur Hautpigmentierung, eine gute Übereinstimmung aufweisen. Auch Clarys et al. konnten dies in ihrer Studie feststellen. Bei ihnen lag eine gute Korrelation zwischen dem L\*-Wert vom Chromameter und dem Melanin-Index des Mexameters vor (Clarys et al. 2000).

Bei den Erythemwerten zeigten sich dagegen Unterschiede zwischen den Methoden in unsere Studie auf, die bei Clarys et al. wiederum eine gute Korrelation aufwiesen (Clarys et al. 2000). Die Messungen mit dem Chromameter erbrachten zusätzliche signifikante Ergebnisse im Vergleich zu Mexametrie. Beim der Mexameter-Untersuchung konnten wir keinen Geschlechts- oder Alterseinfluss ausmachen. In der Chromametrie dagegen beobachteten wir, dass jeweils die älteren Männer im Alters- und Geschlechtervergleich signifikant höhere Erythemwerte aufweisen. Zusätzlich konnte noch ein signifikanter Unterschied zwischen Innenarmseite und Außenarmseite bei den älteren Frauen nachgewiesen werden, der in der Mexametrie nicht vorlag.

Mögliche Ursache hierfür könnte sein, dass in der Studie von Clarys et al. ein Erythem mittels Methyl-Nicotin-Lösung induziert wurde. Es wurde also ein sehr ausgeprägtes, deutliches Erythem künstlich induziert, was von beiden Untersuchungsgeräten gut gemessen werden konnte. Der Grad der Hautrötung bei unseren Probanden war hingegen natürlichen Ursprungs und nicht so stark ausgeprägt, sodass sich die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen den beiden Methoden durch eine zu geringe Sensitivität des Mexameters bei gering ausgeprägtem Erythem erklären lässt.

Beiden Methoden ist gemein, dass sie einen Schwachpunkt in der Detektion haben, welche Chromophore in bestimmten Wellenlängen das Licht absorbiert haben und welche nicht. Letztendlich kann ein Anstieg der Hautchromophoren, Melanin oder Hämoglobin, zu einer Veränderung in beiden Variablen führen, ohne dass eine Unterscheidung des ursächlichen Auslösers vorgenommen werden kann (Takiwaki 1998, Stamatas et al. 2004). Dieses Phänomen beruht auf den Absorptionsmaxima der Chromophore. Hierbei kommt es zu Überschneidungen der Absorptionsspektren, was zu einer fehlerhaften Messung führen kann. Besondere Bedeutung weist dieses Phänomen bei Untersuchung auf, bei denen versucht



wurde einen Effekt zu induzieren, z.B. durch UV-Bestrahlung, da durch die Alteration nicht nur die Hautpigmentierung, sondern auch die Durchblutung, beeinflusst wird.

Da unsere Studie jedoch unter standardisierten Bedingungen durchgeführt wurde, sind die erhobenen Werte als objektive, verwertbare Parameter anzusehen. Es wurden keine künstlich induzierten Veränderungen vorgenommen, die Untersuchungen wurden im Winter durchgeführt (minimierte Sonnenbelastung) und die Probanden erhielten alle vor der Untersuchung Ruhe- und Akklimatisierungszeit.

### **Ursachen für Veränderungen der Hautdicke**

Die Methode der Ultraschalldiagnostik ist bereits seit Jahrzehnten etabliert. Alexander und Miller waren 1979 die ersten die diese Methodik zur Untersuchung der Haut einsetzten, wobei jedoch erst Mitte der 80er Jahre hochfrequentere (15- 20 MHz) Geräte in der Ultraschall-technik genutzt wurden (Lee et al. 2008). Damit wurde eine deutlich bessere Bildauflösung für Untersuchungen der Haut erreicht. Die Hautdicke wird von zwei wesentlichen Faktoren beeinflusst. Einerseits führt die intrinsische Hautalterung zu einer Atrophie, also zu einer Abnahme der Hautdicke. Andererseits kann eine vermehrte UV-Belastung zur Entwicklung einer Lichtschwiele führen, die mit einer reaktiven Zunahme der Hautdicke verbunden ist (de Rigal et al. 1989, Takema et al. 1994).

Unsere Ergebnisse zur Hautdickenmessung zeigten, dass als einziges ein signifikanter Unterschied zwischen den Unterarminnen- und -außenseiten nachzuweisen war. Die extrinsisch belastete Haut wies dabei die signifikant dickere Haut auf. Beim Vergleich der Geschlechter, als auch beim Altersvergleich, konnten keine signifikanten Unterschiede gemessen werden.

Bereits Takema et al. haben den Aspekt der Hautdickenveränderung untersucht. Auch sie konnten in ihrer Studie einen signifikanten Unterschied zwischen sonnenexponierten und nicht-exponierten Hautstellen messen (Takema et al. 1994). Leveque et al. untersuchten den Einfluss des Sonnenlichtes auf die Haut von Teilnehmern der Tour de France und konnten ebenfalls einen Anstieg der Hautdicke auf der sonnenexponierten Hautseite nachweisen (Leveque et al. 1989). In all diesen Untersuchungen wurde deutlich, dass eine chronische Belastung der Haut v.a. mit UV-Strahlung, eine starke Beeinträchtigung der Hautstruktur und -architektur zur Folge hat, und die Haut als Schutz mit einer Zunahme der Hautdicke reagiert. Diese Schutzreaktion scheint dabei bereits sehr frühzeitig zu beginnen, da bereits die Haut

unserer jungen Vergleichsprobanden signifikante Unterschiede aufweist. Da sich im Laufe des zunehmenden Lebensalters keine Dynamik zwischen den Hautdickenwerten zeigte, lässt sich konstatieren, dass die maximale Hautdickenzunahme im Rahmen der Schutzreaktion bereits im Alter unserer jungen Probanden ihr Maximum erreicht hat und Weiteren Verlauf konstant bleibt.

In unserer Studie konnte kein Einfluss von Alter und Geschlecht auf Veränderungen der Hautdicke nachgewiesen werden. Die Untersuchungen von de Rigal et al. konnten dagegen gerade ab einem Alter von 70 Jahren eine signifikante Abnahme der Hautdicke mit zunehmendem Alter nachweisen (de Rigal et al. 1989). Takema et al. konnten ebenfalls in ihrer Studie einen linearen Abfall der Hautdicke mit zunehmendem Alter darstellen. Dass im Vergleich zu diesen Studien (de Rigal et al. 1989, Takema et al. 1994) bei uns keine Veränderungen durch das Alter nachweisbar waren, kann einmal durch eine zu geringe Probandenzahl bedingt sein. So testeten beispielsweise Takema et al. in ihrer Studie 170 Probanden und de Rigal et al. 142 Probanden. Zum Anderen kann es daran liegen, dass das Durchschnittsalter unserer älteren Probanden mit 72 Jahren bei den weiblichen und 74 Jahren bei den männlichen Probanden zu „jung“ war. Es ist dadurch möglich, dass die Veränderungen, die sich nach de Rigal et al. gerade ab dem 70. Lebensjahr anfangen abzuspielen, bei unseren Probanden noch nicht vorliegen.

### **MLT-Messergebnisse und morphologische Bilder**

Hautphysiologische Untersuchungsmethoden sind sehr gut etablierte Verfahren. Ihre Durchführung, Auswertung und Interpretation sind durch eine hohe Zahl an durchgeführten Studien valide und aussagekräftig. Sie sind jedoch auch immer anfällig für Messfehler bei der Untersuchungsdurchführung durch die individuellen Untersucher. Weiterhin ermöglichen sie nur Teilaspekte der Haut und ihrer Funktionen zu analysieren. Es bedarf also anderer Methoden die weniger anfällig für Untersucherfehler sind und die möglicherweise die Haut mit ihren Strukturen und Funktionen in einem besseren Zusammenhang analysieren können. Ein solches Verfahren stellt möglicherweise die Multiphotonen-Lasertomographie dar. Dieses Verfahren sollte in unserer Studie Anwendung finden und mit Ergebnissen histologischer und hautphysiologischer Methoden verglichen werden. Untersucht werden sollten dabei v.a. Veränderungen, die durch extrinsische und intrinsische Hautalterung hervorgerufen werden.

## Veränderung von Hautstrukturen beeinflusst durch Umweltfaktoren

Der Begriff der Umweltbeeinflussung umfasst eine Vielzahl von Faktoren, die auf unsere Haut wirken können. Dabei sind UV-Strahlung, Tabakrauch, mechanischer Stress, chemische Belastung, Ozon und nach neuesten Erkenntnissen auch Infrarotstrahlung einige wenige, aber die bedeutendsten Faktoren. Unsere Haut ist diesen Faktoren den Großteil unseres Lebens ausgesetzt, sodass man vermuten könnte, dass sie ihre Spuren im Sinne struktureller Veränderungen an ihr hinterlassen. Diesen Aspekt wollten wir untersuchen und verwendeten dazu die vergleichsweise neue Methode der Multiphotonen-Lasertomographie. Mit diesem Verfahren ist man in der Lage, eine nicht-invasive *in-vivo*-Bestimmung von Hautfaserarchitektur und -gehalt durchzuführen. Aufgrund seines Funktionsprinzips, der Induktion von Autofluoreszenz von Elastinfasern und second harmonics Generierung von Kollagenfasern, ist es möglich, selektiv den Gehalt dieser beiden Fasern in der Haut von Probanden zu bestimmen. Elastin und Kollagen stellen dabei den größten Faseranteil in der Dermis dar und sind für die Festigkeit und Elastizität der Haut im Wesentlichen verantwortlich. Kollagen nimmt ca. 80-90% des Volumens der extrazellulären Matrix ein (Krutmann 2003). Der Anteil der Kollagenproteine nimmt jedoch im Laufe des Lebens ab, pro Jahr ca. 1%, bei gleichzeitigem Anstieg des Anteils an Matrixmetalloproteinasen (Schürer 2003). Das Ausmaß dieses Verhältnisses wird aber durch verschiedene Umwelteinflüsse deutlich verschlechtert, sodass es unter anderem zu einem vermehrten Abbau des Kollagens durch die zusätzlich aktivierten Matrixmetalloproteinasen kommt. Relativ gut ist dieser Mechanismus bei der ultravioletten Strahlung untersucht. Man geht zurzeit davon aus, dass UV-Strahlung sowohl eine hemmende Wirkung auf die Neusynthese von Kollagenfasern hat, als auch eine beschleunigende Wirkung beim Abbau auf bereits vorhandenes Kollagen (Krutmann 2003). Vor allem UVB-Strahlung zeigt, dass es zu einer vorübergehenden Störung der dermalen Fibroblasten und ihrer Funktion führen kann. Eine Induktion der bereits genannten Matrixmetalloproteinasen, die zu einem vermehrten Abbau von Kollagenproteinen führen, wird sowohl durch UVB- als auch durch UVA-Strahlung verursacht. Diese Beobachtungen konnten sowohl *in-vitro* als auch *in-vivo* getätigt werden (Krutmann 2003). Unsere Untersuchungen sollten diese genannten Ergebnisse wenn möglich bestätigen und damit zeigen, dass der MLT in der Zukunft genutzt werden kann, strukturelle Veränderungen der Haut *in-vivo*, also ohne schmerzhaftes Biopsie-Entnahmen, darzustellen und sowohl Hautalterungserscheinungen, Hautkrankheiten, als auch therapeutische Wirkungen nachzuweisen. Weiterhin kann für Erforschung der Wirkung von Externa, die beispielsweise

eine Veränderung der Hautstruktur versprechen, ein Nutzen aus dem MLT gezogen werden. Durch die Möglichkeit immer wieder an der gleichen Hautstelle untersuchen zu können, sind die Zwischenergebnisse und Ergebnisse solcher Studien deutlich besser zu vergleichen und auszuwerten.

### **Einfluss der Umwelt auf Fasermorphologie und SAAID**

In unserer Untersuchung wurde an 48 Probanden der Einfluss von extrinsischen Einflussfaktoren auf die Haut untersucht. Für die Ergebnisse wurden jeweils die Unterarminnenseiten mit den Unterarmaußenseiten verglichen.

Wie im Kapitel der Ergebnisse bereits beschrieben, zeigte sich in den Untersuchungsgruppen der älteren Probanden, dass der SAAID der Unterarmaußenseiten signifikant niedriger war, als derjenige der Innenarmseiten. Ein niedriger SAAID-Wert bedeutet, dass ein niedrigerer Kollagengehalt im Verhältnis zum Elastingehalt vorliegt, was sich aus dem Index  $\text{SAAID} = (\text{SHG} - \text{AF}) / (\text{SHG} + \text{AF})$ , ergibt. Ein weiteres interessantes Ergebnis unserer

Untersuchungen mit dem MLT war, dass ein schädigender Einfluss der Umwelt bereits bei den Probanden der jungen Vergleichsgruppen nachzuweisen war, denn auch bei diesem Vergleich wiesen die Unterarmaußenseiten einen signifikant schlechteren SAAID-Wert auf. Es wird somit deutlich, dass sich eine schädigende Wirkung, vor allem der UV-Strahlung, bereits in der Haut junger Menschen, zumindest im Bereich der von uns untersuchten Körperregion, darstellen lässt. Hauptursache für die Veränderung des SAAID-Wertes ist bei den jungen Probanden in unseren Untersuchungen v.a. eine Abnahme des Kollagengehaltes und weniger eine Zunahme von elastotischem Material im Sinne einer solaren Elastose. Bei den Probanden der älteren Vergleichsgruppen zeigten sich dagegen, in einem ungefähr gleichem Maße, eine Abnahme des Kollagens und eine Zunahme von elastotischem Material. Es scheint also, dass der primäre Schaden, den die Umwelteinflüsse bereits in der Haut junger Menschen verursachen, eine Reduktion der Kollagenfasern zur Folge hat. Durch das Andauern des Umwelteinflusses und der Schädigung tritt dann an die Stelle der Kollagenfasern im weiteren Verlauf das elastotische Material. Dieses Material besitzt jedoch nicht die Eigenschaften der normalen Elastinfasern unserer Haut, sondern stellt Neuproduktion von qualitativ minderwertigem, unreifem Elastin und Ablagerungen von fragmentierten, elastischen Fasern dar, die nicht die Funktion der normalen Elastinfasern wahrnehmen können. Dieses veränderte elastische Material, das sich direkt an die Grenzzone in der Dermis anschließt, wird als solare Elastose bezeichnet. Es wird heute allgemein davon

ausgegangen, dass diese Elastose eine Folge direkter biologischer Wirkungen der UV-Strahlung auf die Synthese der elastischen Fasern darstellt (Krutmann 2003).

Zusätzlich zu dem SAAID-Wert zeigte sich, dass auch die Standardabweichung dieser Messungen ein Indikator dafür ist, dass eine vermehrt sonnengeschädigte Haut vorliegt. In den Messungen wiesen drei der vier Untersuchungsgruppen eine signifikant höhere Standardabweichung auf den Unterarmaußenseiten im Vergleich zu den Unterarminnenseiten auf. Diese hohen Werte der Standardabweichung zeigen einen ständigen Wechsel zwischen Messungen mit hohen und niedrigen AF- bzw. SHG-Signalen an. Die stark schwankenden AF-Signale sprechen dabei für die Elastose, also die stellenweise Ablagerung elastotischen Materials, in der sonnengeschädigten Haut. Gleichzeitig weist die sonnenexponierte Haut ein buntes Bild von Hautveränderungen mit entzündlichen Abschnitten und Pigmentveränderungen auf. Diese verursachen ebenfalls erhöhte AF-Signale und lassen sich dementsprechend als Zeichen extrinsisch belasteter Haut interpretieren. Dieser Befund deckt sich mit den histologischen Beobachtungen. Die unterschiedlich hohen SHG-Signale deuten auf die Zerstörungen des sonst homogenen Kollagennetzwerkes hin, welches durch den vermehrten Abbau von Kollagenfasern verursacht wird.

Eine Untersuchungsmethode sollte, um valide Aussagen über die Ergebnisse treffen zu können, eine möglichst niedrige Standardabweichung aufweisen. Andernfalls sind die erhobenen Werte nur beschränkt aussagekräftig, da sie ungenau sind. Die MLT wies bei unseren Untersuchungen beim Vergleich der Unterarminnenseiten und -außenseiten sehr hohe intraindividuell Schwankungen der Standardabweichung auf. Die umweltbelastetere Außenarmseite wies die deutlich höhere Standardabweichung auf. Dies ist aber nicht bedingt durch eine ungenaue Methode, denn die interindividuellen Vergleiche der Unterarminnenseiten zeigte sehr niedrige Standardabweichung. Die MLT ist also grundsätzlich in der Lage Messergebnisse mit sehr geringer Standardabweichung zu erheben. Zusätzlich kann die Standardabweichung in unserem Falle als eine Art Parameter angewendet werden, der ein Indikator für sonnengeschädigte Haut darstellt.

Bei den Verläufen der SAAID-Werte von der Hautoberfläche in die Tiefe von 180  $\mu\text{m}$ , zeigten unsere Ergebnisse durchweg einen Beginn im negativen Bereich. Da der Nenner des SAAID-Index,  $\text{SAAID} = (\text{SHG} - \text{AF}) / (\text{SHG} + \text{AF})$ , nicht negativ werden kann, liegt die Ursache also in den hohen Autofluoreszenz-Werten im Zähler. Diese hohen Werte stammen in dieser geringen Hauttiefe (10-30  $\mu\text{m}$ ) wahrscheinlich zum Großteil von Zellbestandteilen

wie den Mitochondrien der Zellen der Epidermis sowie Melaninablagerung in den dermalen Papillen. Im weiteren Verlauf der Kurve steigen die SAAID-Werte steil an. Der Zähler des Index wird deutlich größer als der Nenner und liegt im positiven Bereich. Dies muss wiederum bedingt sein durch eine deutliche Zunahme der Kollagenfasern ab einer Eindringtiefe von 40-50  $\mu\text{m}$ . Hier beginnt physiologischerweise das *Str. papillare* der Dermis. Ab einer Hauttiefe von 160- 180  $\mu\text{m}$  kann man davon ausgehen, dass Strukturen, die die Messungen verfälschen könnten (Haare, Melaninnester), ausgeblendet werden. Genau in dieser Tiefe wurde dann die Messung für die Mittelung der SAAID-Werte, die oben genannt wurden, vorgenommen.

Die Verläufe der SAAID-Werte mit immer tieferem Eindringen in die Dermis zeigten in allen vier Untersuchungsgruppen, dass in jeder gemessenen Hauttiefe die Werte der extrinsisch belasteteren Außenarmseite signifikant niedriger sind. Die Veränderungen des Fasergehaltes beschränken sich also nicht nur auf einen bestimmten Bereich der Dermis sondern betreffen sie im Gesamten.

Sichtbare morphologische Korrelate zu unseren, durch den Laser gemessenen Veränderungen durch extrinsische Beeinflussung in der jungen Vergleichsgruppe, konnten wir in unseren Bildern nicht finden. Die Bilder der Innenarm- und Außenarmseite stellen für den Betrachter keine Unterschiede dar. Es zeigte sich ein durchaus gleich erscheinendes Bild. Das Kollagenfasernetzwerk wirkt relativ homogen und die Faserarchitektur zeigt sich nicht pathologisch verändert. Das Kollagenfaserbild insgesamt wirkt amorph und einheitlich. Die gemessene Verringerung der Kollagenfasern auf der Außenarmseite zeigt in den Bildern also keine morphologischen Korrelate. Die Elastinfasern erscheinen sehr zart und bilden ein deutlich erkennbares, feines Fasernetzwerk in dem die Fasern gestreckten und gespannt erscheinen.

Für eine alleinige Aussage über den Faserzustand der Haut, v.a. nach extrinsischer Beeinflussung, sind die morphologischen Bilder also nicht exakt genug. Sie sind jedoch eine gute Ergänzung zur Laseruntersuchung um eine Veranschaulichung der Messwerte zu erhalten.

Aus diesen Ergebnissen kann man schließen, dass ein Schutz vor Umwelteinflüssen zur Verhinderung vorzeitiger Hautalterung, soweit das möglich ist, bereits in jeder Altersklasse betrieben werden sollte. Auch wenn die Bilder der jungen Haut keine morphologischen Veränderungen darstellen, so zeigen jedoch die Messergebnisse der Laseruntersuchung

signifikante Unterschiede auf, sodass man davon ausgehen muss, dass der Schaden im molekularen Bereich bereits besteht. Ein konsequenter UV-Schutz sowohl physikalisch durch Kleidung, Hüte etc. als auch chemisch durch die Verwendung von Sonnenschutzcremes könnte diese frühe Schädigung der Haut verhindern bzw. vermindern.

Die morphologischen Bilder der älteren Probanden lassen ebenfalls keine sichtbaren Unterschiede zwischen Innen- und Außenarm erkennen. Die Kollagenfasern der älteren Haut wirken sowohl innenseitig als auch außenseitig deutlich unregelmäßig, ausgedünnt und das Erscheinungsbild ist inhomogener. Dies spricht insgesamt für eine Verringerung des Kollagens in der Altershaut, was den Eindruck eines inhomogenen grobfaserigen Netzwerkes entstehen lässt.

Die Elastinfaserdarstellung bei den älteren Probanden zeigt ebenfalls an beiden untersuchten Armseiten ein von amorphen Ablagerungen gezeichnetes Bild. Die Fasern wirken gewellt, unregelmäßig und verdickt. Die feine Faserarchitektur der jungen Haut ist völlig aufgehoben. Die morphologischen Bilder lassen also Effekte in der Haut durch Alterungsprozesse erkennen, jedoch lassen sie keine separate Unterscheidung von intrinsischer oder extrinsischer Hautalterung zu.

### **Einfluss von Alter und Geschlecht auf Fasermorphologie und SAAID**

Unsere Haut unterliegt, wie der gesamte Körper, einem natürlichen Alterungsprozess. Dabei interessierten wir uns besonders für die Veränderungen, die sich in der Dermis abspielen. Mittels der MLT untersuchten wir sowohl 24 junge Probanden (12 männlich und 12 weiblich), die die Vergleichsgruppe mit der jugendlichen, nicht gealterten Haut darstellen, als auch die Haut von 24 älteren Probanden (12 männlich und 12 weiblich), die die Gruppe mit der Haut unter dem Einfluss des Alterungsprozesses repräsentieren.

Beim Vergleich der SAAID-Werte unter Betrachtung des Einflussfaktor Alter, die auf einer Hauteindringtiefe von 180 µm gemessen wurden, zeigten sich auf beiden untersuchten Unterarmseiten hochsignifikante Unterschiede für beide Geschlechter. Die Altershaut wies eine deutliche Reduktion des Kollagengehaltes bei gleichzeitiger Zunahme von elastotischem Material auf. Um vorrangig die intrinsische Hautalterung zu beurteilen, eignet sich die Betrachtung der Innenarmseiten der beiden Gruppen. Bei selektiver Betrachtung der beiden Hautfasertypen, erwies sich der Kollagengehalt am deutlichsten verändert. Die Altershaut

reagiert demnach mit einer enormen Reduktion des Kollagenfasergehaltes. Ebenfalls signifikante Unterschiede zeigte das AF-Signal. Dabei ist die AF-Zunahme zum einen bedingt durch die vermehrte Neuproduktion von elastotischem Material, dass qualitativ in einem deutlich reduziertem Zustand ist, und zum anderen durch eine Ablagerung von degeneriertem elastotischen Material.

Bei Betrachtung der Außenarmseiten beider Gruppen, zeigte sich ein sehr ähnliches Bild. Auch hier lag ein deutlicher Unterschied beim SHG-Signal der Kollagenfasern vor. Der Kollagengehalt ist demnach ebenfalls auf der extrinsisch belasteten Außenarmseite deutlich reduziert. Noch größer war jedoch der Unterschied beim AF-Signal. Man kann davon ausgehen, dass das höchstwahrscheinlich an der noch stärker vorangeschrittenen solaren Elastose und Akkumulation von elastotischem Material in der Haut der Unterarmaußenseite der älteren Vergleichsprobanden liegt. Waller und Maibach konnte in ihrer Studie 2006 ebenfalls eine vermehrte Akkumulation von elastotischem Material mit zunehmendem Alter in der papillären Dermis nachweisen (Waller und Maibach 2006).

Der Verlauf der SAAID-Werte mit steigender Eindringtiefe in die Dermis zeigte beim Altersvergleich v.a. nach dem Durchtritt durch die Basalmembran interessante Auffälligkeiten. Bei den jungen Probanden bleibt der SAAID-Wert nach Erreichen des Maximalwertes auf dem gleichen Niveau. Das bedeutet, dass der Fasergehalt und das Verhältnis der Fasern zueinander, durch die gesamte Dermis hindurch konstant bleiben. Bei der Altershaut hingegen zeigt sich nach Erreichen des Maximalwertes ein Abfall der SAAID-Werte und damit der Kurve. Durch den Prozess der Hautalterung kommt es zu einem unterschiedlichen Fasergehalt in den verschiedenen Dermissschichten. Direkt nach dem Durchtritt durch die Basalmembran liegt ein Bereich mit vergleichsweise hohem Kollagenanteil. Dieser Bereich wird als sogenannte Grenzzone bezeichnet und ist für die Hautstraffheit im Alter verantwortlich. Je breiter diese Zone ist, desto straffer erscheint die Haut. Die Grenzzone ist in unseren Untersuchungen auf der UV-geschützten Innenarmseite breiter als auf der sonnenbelasteten Außenarmseite. Die UV-Strahlung weist demnach einen deutlich negativen Effekt für die Grenzzonenbreite der Haut auf. Darauf folgt ein Bereich mit einem kontinuierlichen Abfall der Kurve, der die Umwandlung des Verhältnisses zwischen Kollagen- und Elastingehalt anzeigt. Die Kollagenfasern nehmen im Verlauf in die tiefere Dermis deutlich ab, parallel dazu steigt das Ausmaß der solaren Elastose in unserem gemessenen Bereich. Diese Verhältnis, dargestellt durch den SAAID-Wert, pegelt sich in der Altershaut auf einem bestimmten Niveau ein. Dieses Niveau ist dabei sehr individuell, je nach



Ausmaß der Hautschädigung und –veränderung. Insgesamt verlaufen die SAAID-Kurven der älteren Probanden deutlich unterhalb deren, von den jungen Probanden. Das veränderte Faserverhältnis lässt sich in der gesamten Dermis nachweisen.

Wie bereits im vorangegangenen Teil kurz beschrieben, zeigen die morphologischen Bilder der beiden verschiedenen Altersgruppen deutliche Unterschiede auf. Das Kollagenbild der jungen Probanden erscheint amorph und homogen, ohne dass einzelne Fasern direkt erkennbar sind. Das Kollagenbild der Altershaut wirkt dagegen sehr aufgelockert und damit grobfaseriger. Durch die Abnahme des Kollagengehaltes werden auch einzelne Fasern sichtbar und das Bild wirkt weniger homogen. Die einzelnen Fasern sind in der Haut der älteren Probanden deutlich gewellter und ausgedünnt.

Das Elastinbild zeigt noch deutlichere Unterschiede. Während bei den jungen Probanden zarte, gespannte, einzelne Elastinfasern ein feines Netzwerk bilden, ist das Elastinbild der Altershaut stark von amorphen Ablagerungen geprägt. Die einzelnen Elastinfasern wirken gewellt, unregelmäßig und verdickt. Dazwischen zeigen sich die Ablagerungen von elastotischem Material.

Während also Unterschiede aufgrund der unterschiedlichen Umwelteinflüsse zwischen Innen- und Außenarmseite morphologisch keine Korrelate aufzeigen, sind die Veränderungen aufgrund des Alterungsprozesses sehr deutlich auch in den Morphologie-Bildern zu erkennen.

Ein geschlechtsspezifischer Vergleich unserer Untersuchungsgruppen sollte zeigen, ob möglicherweise eine unterschiedlich starke Hautalterung auf struktureller Ebene zwischen den Geschlechtern vorliegt. Weder der SAAID-Score, noch der SAAID-Verlauf und die morphologischen Bilder konnten jedoch entscheidende Unterschiede aufweisen. Strukturell kann man demnach von einer ähnlich verlaufenden Hautalterung bei Mann und Frau ausgehen. Die entscheidenden Einflussfaktoren für die strukturelle Hautalterung sind das genetische Altern an sich und die unterschiedlichen extrinsischen Einfluss- und Schädigungsfaktoren, denen sich jeder Mensch individuell unterschiedlich stark aussetzt.

### **MLT im Vergleich zur konventionellen Histologie**

Zahlreiche histologische Untersuchungen zu Veränderungen der Hautstrukturen durch unterschiedliche Alterungsprozesse sind bereits in der Vergangenheit durchgeführt worden.

Die Verwendung und Untersuchung von Hautbiopsien stellt dabei heute noch den Goldstandard dar. Die histologische Aufarbeitung ermöglicht standardisierte Auswertungen und Interpretationen, da es ein Verfahren mit langjährigen Erfahrungen ist und im Studienvergleich den größten Pool an Ergebnissen besitzt. Nachteilig sind jedoch gewisse Notwendigkeiten für die Untersuchungen, wie Fixation, Färbung und anderen Manipulationsverfahren, da sie erst die Darstellbarkeit von Strukturbestandteilen der Haut gewährleisten. Um diese Nachteile zu umgehen, verwendeten wir in unserer Studie die vergleichsweise neue Untersuchungsmethode der Multiphotonen-Lasertomographie zur Darstellung und Messung von Strukturbestandteilen der Haut.

Unsere Untersuchungen zum Einfluss des Alters mit der MLT konnte eine signifikante Reduktion des Kollagengehaltes der Haut beider Unterarmseiten mit steigendem Alter nachweisen. Diese Ergebnisse stimmen mit früheren histologischen Studien überein, die ebenfalls einen signifikanten Abfall des Kollagengehaltes in der Haut mit steigendem Alter nachweisen konnten (Shuster et al. 1975, Lovell et al. 1987, El-Domyati et al. 2002). Zusätzlich wies in unserer Studie sowohl intrinsisch, als auch extrinsisch belastete Haut eine signifikante Zunahme von elastotischem Material auf, die auf der extrinsisch belasteten Unterarmaußenseite jedoch viel deutlicher ausgeprägt ist. Dies ist nach unseren morphologischen Bildern, v.a. bedingt durch eine starke Verklumpung der Elastinfasern, sowie amorphen Ablagerungen in der Matrix. Diese Beobachtung konnte u.a. auch Warren et al. in ihrer histologischen Studie nachweisen (Warren et al. 1991). Sie konnten zeigen, dass das elastotische Material sowohl durch zunehmendes Alter als auch durch stärkere Sonnenexposition vermehrt in der Dermis abgelagert wird (Warren et al. 1991). Weiterhin konnten Waller und Maibach in ihrem Review zeigen, dass in Altershaut Elastin langsam abgebaut wird und in der papillären Dermis akkumuliert (Waller und Maibach 2006). Histologische Untersuchungen von Bernstein et al. konnten eine Hochregulation der Elastinproduktion in extrinsisch belasteter Haut nachweisen. Seine Untersuchung zum Elastingehalt der Haut konnten starke Akkumulationen von elastischem Material in sonnenbelasteter Haut feststellen (Bernstein et al. 1994).

Diese Ergebnisse konnten wir durch die Untersuchungen mit dem MLT ebenfalls nachweisen. Die Untersuchungen zum Einfluss des Alters in unserer Studie konnten signifikante Unterschiede sowohl beim SAAID-Index als auch bei den SAAID-Verläufen zwischen den verschiedenen Altersgruppen nachweisen. Sowohl die Unterarminnenseiten als auch die Außenseiten wiesen bei den älteren Probanden den signifikant niedrigeren SAAID-Wert auf,

was zum einen durch den stark reduzierten Kollagengehalt erklärt werden kann. Zum anderen lässt sich dieser Aspekt noch durch die signifikante Zunahme von elastotischem Material erklären.

Die Untersuchungen zum Einfluss von Umwelteinflüssen zeigten, dass die exponierte Haut die deutlich niedrigeren SAAID-Werte aufwies. Dies ist zum einen durch die vermehrten Ablagerungen von elastotischen Material in extrinsisch belasteter Haut bedingt und zum anderen vom vermehrten Kollagenabbau unter anderem durch Aktivierung von MMP's.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Multiphotonen-Lasertomograph ein sehr geeignetes Gerät zu Untersuchung von oberflächlichen Hautstrukturen darstellt. Er ermöglicht eine nicht-invasive *in-vivo* Untersuchung und weist vergleichbare Ergebnisse zu früheren histologischen Studien. Weitere Forschung mit und um den MLT stellt daher eine wichtige Aufgabe für die Zukunft dar.

## **6. Schlussfolgerung**

Ziel dieser Arbeit war es, den Stellenwert der Multiphotonen-Lasertomographie bei der Untersuchung der verschiedenen Formen der Hautalterung und ihren unterschiedlichen strukturellen und funktionellen Unterschieden zu evaluieren. Dieses Verfahren sollte einerseits mit dem Aussagegehalt etablierter hautphysiologischer Methoden verglichen werden. Gleichzeitig sollten im Rahmen der Untersuchungen Unterschiede in der intrinsischen und extrinsischen Hautalterung beurteilt werden. Es sollte auch gezeigt werden, welche Faktoren wie stark einen Einfluss auf die Veränderung der Struktur und Funktion der Haut haben. Wie in der Einleitung beschrieben, gibt es zwei unterschiedliche Formen der Hautalterung. Einmal die natürlich, genetisch determinierte, intrinsische Hautalterung und zum anderen die extrinsische Form, die durch unterschiedlichste Umweltfaktoren, v.a. aber der UV-Strahlung, bedingt ist.

Wie unsere Studie zeigen konnte, lassen sich deutliche strukturelle und funktionelle Unterschiede durch die verschiedenen Methodiken aufzeigen, die sich dann auch teilweise in einem durchaus unterschiedlichen klinischen Hauterscheinungsbild darstellen.

### **Intrinsische Hautalterung**

Vorrangig intrinsisch gealterte Haut stellte sich in unseren funktionellen Untersuchungen als deutlich schlaffere, unelastischere Haut dar, auch im Vergleich zur extrinsisch gealterten Haut. Der Visko-Elastizitätsanteil der Haut, gemessen in der Cutometrie, steigt vor allem durch den Einfluss der intrinsischen Hautalterung an. Das bedeutet, die Haut besitzt nicht mehr die elastische Fähigkeit, sich sofort nach Beendigung einer einwirkenden Kraft wieder zu repositionieren.

Diese Ergebnisse der Cutometrie korrelieren gut mit unseren Ergebnissen der strukturellen Hautuntersuchung mittels MLT. Sowohl der SAAID-Index und -Verlauf als auch die morphologischen Bilder weisen eine Reduktion von Kollagenfasern, was die reduzierte Hauttraffheit erklärt, als auch von funktionsfähigen elastischen Fasern auf, was die verminderte Elastizität und Rückstellfähigkeit erklärt.

Intrinsisch gealterte Haut erscheint zusätzlich noch vergleichsweise dünn, dargestellt im Ultraschall, und geschmeidig, in den Cutometer- und Reviscometer-Untersuchungen gemessen, durch eine niedrigere Hautsteifigkeit. Klinisch fällt dies durch eine fast transparentwirkende Haut mit durchschimmernden vaskulären Strukturen auf.

Die Anisotropie zeigte einen Anstieg in intrinsisch gealterter Haut. Dies stellt sich in unseren Reviscometer-Messungen als Zunahme des Maximalwertes, der eine steigende Schlaffheit durch den reduzierten Kollagengehalt der reinen Altershaut anzeigt, dar.

Rein intrinsisch gealterte Haut zeigt also v.a. Eigenschaften, die auf eine Minderversorgung durch Zellen, Nährstoffversorgung und Produktionskraft zurückzuführen sind. Die Haut ist dünner, unelastischer aufgrund eines reduzierten Fasergehaltes und neigt zu Trockenheit aufgrund einer veränderten Matrixzusammensetzung der Dermis. Alle verwendeten Untersuchungsverfahren konnten Aspekte dieser Charakteristika darstellen und sind somit alleine oder in Kombination gut geeignete Verfahren in der Diagnostik struktureller und funktioneller Veränderungen der Haut.

### **Intrinsische Hautalterung im Geschlechtervergleich**

Zwischen beiden untersuchten Geschlechtern konnte in dieser Studie keine beschleunigte Hautalterung bei Frauen beobachtet werden. Einige Unterschiede konnte zwar festgestellt werden, z.B. dass die älteren Frauen signifikant höhere RRT-Werte auf beiden Unterarmseiten aufweisen, was für eine elastischere Haut spricht, oder dass die älteren Männer signifikant höhere Erythemwerte aufweisen. Daraus lässt sich jedoch kein Zusammenhang feststellen, sodass man auf eine akzelerierte Hautalterung schließen könnte. Strukturell konnten ebenfalls keinerlei Unterschiede aufgezeigt werden. Nach den Ergebnissen unsere Studie kann man davon ausgehen, dass keine Unterschiede im Ausmaß der intrinsischen Hautalterung zwischen den Geschlechtern vorliegen.

### **Extrinsische Hautalterung**

Bei der Beurteilung der extrinsischen Hautalterung zeigten sich in den hautphysiologischen Messungen eine vermehrte Hautsteifigkeit und ein verminderter Feuchtigkeitsgehalt. Die Zunahme der Hautsteifigkeit wird dabei u.a. durch die Hautdickenzunahme bedingt. Auch eine Zunahme der solaren Elastose, die verklumptes, vermehrtes und degeneriertes elastotisches Material darstellt, die an die Grenzzone der Dermis angrenzt, scheint Mitursache für eine solche vermehrte Steifigkeit zu sein. Diese solare Elastose stellte sich in unseren Untersuchungen mit der MLT in extrinsisch belasteter Haut als stark vermehrt dar. Die Ergebnisse der MLT würden demnach gut mit denen der hautphysiologischen Untersuchungen korrelieren. Beide Untersuchungsverfahren zeigen, trotz unterschiedlicher

methodischer Ansätze, deutliche strukturelle bzw. funktionelle Unterschiede auf, welche zusammengenommen ein einheitliches Bild der extrinsisch belasteten Haut darstellt.

Ein zusätzlich bestehender verminderter Feuchtigkeitsgehalt ist möglicherweise durch eine veränderte Zusammensetzung der Dermismatrix mit verminderten und veränderten Gehalt an Glycosaminoglykanen, Proteoglykanen und anderen wasserbindenden Proteinen, die durch UV-Strahlung alteriert werden, bedingt.

Eine verminderte Hautelastizität ließ sich in den hautphysiologischen Messungen der extrinsisch belasteten Haut ebenfalls nachweisen. Dies war aber zum Teil durch die Zunahme der Hautsteifigkeit verdeckt wurde, weshalb es möglicherweise nicht so deutlich, wie bei der intrinsisch gealterter Haut, erscheint. Zusätzlich zeigte sich bei den hautphysiologischen Messungen eine Elastizitätsminderung bereits in jugendlicher Haut. Die Schädigung und damit die funktionellen Defizite treten also bedeutend früher auf, was bei intrinsisch gealterter Haut nicht vorkommt.

Die Ergebnisse der hautphysiologischen Untersuchung korreliert gut mit den Ergebnissen der MLT. So konnte ein deutlicher Verlust an Kollagenfasern in extrinsisch belasteter Haut nachgewiesen werden, was die reduzierte Elastizität der Hautphysiologie erklärt. Weiterhin konnten wir durch die MLT ebenfalls eine deutliche Schädigung v.a. des Kollagenfasernetzwerkes bei jungen Menschen feststellen, was wiederum die Elastizitätsminderung in extrinsisch belasteter Haut junger Menschen erklärt. Die solare Elastose, die v.a. in längerfristig extrinsisch belasteter Haut vorkommt (ältere Probanden), stellt eine zusätzliche Mitursache für die deutliche Elastizitätsminderung der Haut dar, da sie einen Verlust an funktionsfähigen Elastinfasern darstellt und zusätzlich durch die Ablagerungen des degenerierten, elastotischem Materials die Integrität und Zusammenarbeit der anderen dermalen Hautbestandteile stark beeinträchtigt und somit auch ihre Funktionen.

Zeichen eines chronischen Entzündungsprozesses in der Haut zeigt sich sowohl bei junger als auch bei älterer extrinsisch belasteter Haut. Dies zeigt, dass diese Form der Hautalterung bereits in sehr jungen Jahren beginnt, und somit bereits in diesem Alter konsequent auf UV-Schutz, Nikotinmeidung etc. geachtet werden muss, um eine frühzeitige Hautschädigung, -alterung und ihre Folgen zu vermeiden.

**Literaturverzeichnis**

- A.O. Barel, Courage W, Clarys P Suction chamber method for measurement of skin mechanics: the new digital version of the Cutometer, Laboratory of General and Biological Chemistry, Faculty of Physical Education and Physiotherapy, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium
- Adhoute H, de Rigal J, Marchand JP, Privat Y, Leveque JL: Influence of age and sun exposure on the biophysical properties of the human skin: an in vivo study: *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1992 Jun;9(3):99-103.
- Affinito P, Palomba S, Sorrentino C, Di Carlo C, Bifulco G, Arienzo MP, Nappi C (1999) Effects of postmenopausal hypoestrogenism on skin collagen. *Maturitas* 33:239-247
- Agache PG, Monneur C, Leveque JL, De Rigal J (1980) Mechanical properties and Young's modulus of human skin in vivo. *Arch Dermatol Res* 269:221-232
- Ahn S, Kim S, Lee H, Moon S, Chang I (2007) Correlation between a Cutometer and quantitative evaluation using Moire topography in age-related skin elasticity. *Skin Res Technol* 13:280-284
- Barel AO, Clarys P, Alewaeters K, Duez C, Hubinon JL, Mommaerts M (2001) The Visi-Chroma VC-100: a new imaging colorimeter for dermatocosmetic research. *Skin Res Technol* 7:24-31
- Bentley JP, Brenner RM, Linstedt AD, West NB, Carlisle KS, Rokosova BC, MacDonald N (1986) Increased hyaluronate and collagen biosynthesis and fibroblast estrogen receptors in macaque sex skin. *J Invest Dermatol* 87:668-673
- Berardesca E, Maibach H (1996) Racial differences in skin pathophysiology. *J Am Acad Dermatol* 34:667-672
- Bernstein EF, Chen YQ, Tamai K, Shepley KJ, Resnik KS, Zhang H, Tuan R, Mauviel A, Uitto J (1994) Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. *J Invest Dermatol* 103:182-186
- Böni R, Burg G (2000) [Aging skin: physiological bases, preventive measures and therapeutic modalities]. *Schweiz Med Wochenschr* 130:1272-1278
- Böni R, Dummer R (1995) Entwicklung zahlreicher melanozytärer Nävuszellnävi unter Immunsuppression. *Zbl. Haut* 70:1-2
- Brincat M, Moniz CF, Studd JW, Darby AJ, Magos A, Cooper D (1983) Sex hormones and skin collagen content in postmenopausal women. *Br Med J (Clin Res Ed)* 287:1337-1338
- Brincat MP (2000) Hormone replacement therapy and the skin. *Maturitas* 35:107-117
- Clarys P, Alewaeters K, Lambrecht R, Barel AO (2000) Skin color measurements: comparison between three instruments: the Chromameter(R), the DermaSpectrometer(R) and the Mexameter(R). *Skin Res Technol* 6:230-238
- Courage + Khazaka Electronic GmbH, Köln, Germany
- Cua AB, Wilhelm KP, Maibach HI (1990) Elastic properties of human skin: relation to age, sex, and anatomical region. *Arch Dermatol Res* 282:283-288
- Daly CH, Odland GF (1979) Age-related changes in the mechanical properties of human skin. *J Invest Dermatol* 73:84-87
- Davis BR, Bahniuk E, Young JK, Barnard CM, Mansour JM (1989) Age-dependent changes in the shear wave propagation through human skin. *Exp Gerontol* 24:201-210
- de Rigal J, Escoffier C, Querleux B, Faivre B, Agache P, Leveque JL (1989) Assessment of aging of the human skin by in vivo ultrasonic imaging. *J Invest Dermatol* 93:621-625
- Dobrev H. Use of Cutometer to assess epidermal hydration. *Skin Res Technol*. 2000 Nov;6(4):239-244.

- Effendy I, Kerscher K, Gelber A, Krause W, Williams S (2005) Haut und Alter. In: Thieme, p Seite 3-8
- El-Domyati M, Attia S, Saleh F, Brown D, Birk DE, Gasparro F, Ahmad H, Uitto J (2002) Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol* 11:398-405
- Elsner P, Wilhelm D, Maibach HI (1990) Mechanical properties of human forearm and vulvar skin. *Br J Dermatol* 122:607-614
- Escoffier C, de Rigal J, Rochefort A, Vasselet R, Leveque JL, Agache PG (1989) Age-related mechanical properties of human skin: an in vivo study. *J Invest Dermatol* 93:353-357
- Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI (2008) Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *Int J Cosmet Sci* 30:87-95
- Fischer F, Volkmer B, Puschmann S, Greinert R, Breitbart W, Kiefer J, Wepf R (2008) Risk estimation of skin damage due to ultrashort pulsed, focused near-infrared laser irradiation at 800 nm. *J Biomed Opt* 13:041320
- Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J (1996) Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 35:1-10
- Galvao MM, Sotto MN, Kihara SM, Rivitti EA, Sabbaga E (1998) Lymphocyte subsets and Langerhans cells in sun-protected and sun-exposed skin of immunosuppressed renal allograft recipients. *J Am Acad Dermatol* 38:38-44
- Gilchrest BA (1989) Skin aging and photoaging: an overview. *J Am Acad Dermatol* 21:610-613
- Gilchrest BA, Blog FB, Szabo G.J Effects of aging and chronic sun exposure on melanocytes in human skin; *Invest Dermatol*. 1979 Aug;73(2):141-3
- Göppert-Mayer M (1931) Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen. *Annalen der Physik* 9:273-295
- Gross B, Landthaler M, Hohenleutner U (2003) [Smoking -- effects on the skin]. *J Dtsch Dermatol Ges* 1:801-809; quiz 810, 812
- Hermanns-Le T, Jonlet F, Scheen A, Pierard GE (2001) Age- and body mass index-related changes in cutaneous shear wave velocity. *Exp Gerontol* 36:363-372
- Kaatz M, Elsner P, Koehler MJ (2008) Changes in skin topography during hormone therapy. *Menopause*
- Köhler MJ, König K, Elsner P, Buckle R, Kaatz M (2006) In vivo assessment of human skin aging by multiphoton laser scanning tomography. *Opt Lett* 31:2879-2881
- König K (2000) Multiphoton microscopy in life sciences. *J Microsc* 200:83-104
- König K, Ehlers A, Stracke F, Riemann I (2006) In vivo drug screening in human skin using femtosecond laser multiphoton tomography. *Skin Pharmacol Physiol* 19:78-88
- König K, Riemann I (2003) High-resolution multiphoton tomography of human skin with subcellular spatial resolution and picosecond time resolution. *J Biomed Opt* 8:432-439
- Krutmann J (2003) [Premature skin aging by ultraviolet radiation and other environmental hazards. The molecular basis]. *Hautarzt* 54:809-817
- Langer K (1861) *Zür Anatomie und Physiologie der Haut. Über die Spältbarkeit der Cutis.*
- Lavker RM, Zheng PS, Dong G (1987) Aged skin: a study by light, transmission electron, and scanning electron microscopy. *J Invest Dermatol* 88:44s-51s
- Lee HK, Seo YK, Baek JH, Koh JS (2008) Comparison between ultrasonography (Dermascan C version 3) and transparency profilometry (Skin Visiometer SV600). *Skin Res Technol* 14:8-12
- Lin SJ, Wu R, Jr., Tan HY, Lo W, Lin WC, Young TH, Hsu CJ, Chen JS, Jee SH, Dong CY (2005) Evaluating cutaneous photoaging by use of multiphoton fluorescence and second-harmonic generation microscopy. *Opt Lett* 30:2275-2277



- Lovell CR, Smolenski KA, Duance VC, Light ND, Young S, Dyson M (1987) Type I and III collagen content and fibre distribution in normal human skin during ageing. *Br J Dermatol* 117:419-428
- Neu TR, Kuhlicke U, Lawrence JR (2002) Assessment of fluorochromes for two-photon laser scanning microscopy of biofilms. *Appl Environ Microbiol* 68:901-909
- Nizet JL, Pierard-Franchimont C, Pierard GE (2001) Influence of body posture and gravitational forces on shear wave propagation in the skin. *Dermatology* 202:177-180
- Paye M, Mac-Mary S, Elkhyat A, Tarrit C, Mermet P, Humbert PH (2007) Use of the Reviscometer for measuring cosmetics-induced skin surface effects. *Skin Res Technol* 13:343-349
- Pierard GE (1998) EEMCO guidance for the assessment of skin colour. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 10:1-11
- Pierard GE (1999) EEMCO guidance to the in vivo assessment of tensile functional properties of the skin. Part 1: relevance to the structures and ageing of the skin and subcutaneous tissues. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 12:352-362
- Potts RO, Buras EM, Jr., Chrisman DA, Jr. (1984) Changes with age in the moisture content of human skin. *J Invest Dermatol* 82:97-100
- Rodrigues L (2001) EEMCO guidance to the in vivo assessment of tensile functional properties of the skin. Part 2: instrumentation and test modes. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14:52-67
- Ruvolo EC, Jr., Stamatas GN, Kollias N (2007) Skin viscoelasticity displays site- and age-dependent angular anisotropy. *Skin Pharmacol Physiol* 20:313-321
- Schürer NY (2003) [Anti-aging. Facts and visions]. *Hautarzt* 54:833-838
- Sellheyer K (2003) Pathogenesis of solar elastosis: synthesis or degradation? *J Cutan Pathol* 30:123-127
- Shuster S, Black MM, McVitie E (1975) The influence of age and sex on skin thickness, skin collagen and density. *Br J Dermatol* 93:639-643
- Smalls LK, Randall Wickett R, Visscher MO (2006) Effect of dermal thickness, tissue composition, and body site on skin biomechanical properties. *Skin Res Technol* 12:43-49
- Stamatas GN, Zmudzka BZ, Kollias N, Beer JZ (2004) Non-invasive measurements of skin pigmentation in situ. *Pigment Cell Res* 17:618-626
- Takema Y, Yorimoto Y, Kawai M, Imokawa G (1994) Age-related changes in the elastic properties and thickness of human facial skin. *Br J Dermatol* 131:641-648
- Takiwaki H (1998) Measurement of skin color: practical application and theoretical considerations. *J Med Invest* 44:121-126
- Uhoda E, Pierard GE (2003) Irritation cutanee et vitesse de propagation d'ondes ultrasonores. *Int J Cosmet Sci* 25:31-35
- Uhoda I, Faska N, Robert C, Cauwenbergh G, Pierard GE (2002) Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. *Skin Res Technol* 8:164-167
- Vaziri H, Benchimol S (1996) From telomere loss to p53 induction and activation of a DNA-damage pathway at senescence: the telomere loss/DNA damage model of cell aging. *Exp Gerontol* 31:295-301
- Verdier-Sevrain S, Bonte F, Gilchrist B (2006) Biology of estrogens in skin: implications for skin aging. *Exp Dermatol* 15:83-94
- Vexler A, Polyansky I, Gorodetsky R (1999) Evaluation of skin viscoelasticity and anisotropy by measurement of speed of shear wave propagation with viscoelasticity skin analyzer. *J Invest Dermatol* 113:732-739

- Waller JM, Maibach HI (2006) Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure. *Skin Res Technol* 12:145-154
- Warren R, Gartstein V, Kligman AM, Montagna W, Allendorf RA, Ridder GM (1991) Age, sunlight, and facial skin: a histologic and quantitative study. *J Am Acad Dermatol* 25:751-760
- Wilhelm KP (1996) Prevention of surfactant-induced irritant contact dermatitis. *Curr Probl Dermatol* 25:78-85
- Wilhelmi BJ, Blackwell SJ, Phillips LG (1999) Langer's lines: to use or not to use. *Plast Reconstr Surg* 104:208-214
- Yaar M, Gilchrist BA (2007) Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol* 157:874-887

**8. Anhang**

<b>A Uf - Parameter</b>							
junge Männer		ältere Männer		ältere Frauen		junge Frauen	
außen	innen	außen	innen	außen	innen	außen	innen
0,138	0,153	0,166	0,234	0,168	0,252	0,138	0,179
0,166	0,239	0,193	0,257	0,258	0,287	0,239	0,323
0,226	0,291	0,127	0,227	0,178	0,253	0,174	0,181
0,198	0,238	0,115	0,192	0,209	0,273	0,204	0,206
0,142	0,16	0,131	0,163	0,235	0,312	0,25	0,255
0,165	0,204	0,115	0,258	0,231	0,317	0,217	0,226
0,134	0,195	0,146	0,195	0,228	0,335	0,187	0,259
0,215	0,211	0,214	0,238	0,099	0,234	0,172	0,271
0,176	0,23	0,212	0,226	0,154	0,265	0,242	0,242
0,158	0,161	0,217	0,283	0,143	0,226	0,089	0,145
0,14	0,209	0,177	0,221	0,253	0,343	0,202	0,292
0,172	0,199	0,127	0,283	0,159	0,254	0,178	0,161
<b>p = 0,001</b>		<b>p &lt; 0,001</b>		<b>p &lt; 0,001</b>		<b>p = 0,001</b>	

<b>B Ua /Uf Parameter</b>							
junge Männer		ältere Männer		ältere Frauen		junge Frauen	
außen	innen	außen	innen	außen	innen	außen	innen
0,84	0,923	0,658	0,691	0,675	0,755	0,869	0,944
0,892	0,909	0,653	0,632	0,719	0,665	0,929	0,963
0,793	0,787	0,67	0,765	0,621	0,513	0,943	0,873
0,876	0,933	0,614	0,617	0,549	0,776	0,799	0,898
0,868	0,896	0,721	0,818	0,733	0,771	0,98	0,988
0,868	0,928	0,692	0,638	0,571	0,582	0,949	0,938
0,908	0,949	0,644	0,815	0,573	0,559	0,931	0,949
0,885	0,907	0,513	0,714	0,631	0,514	0,936	0,971
0,887	0,879	0,515	0,647	0,639	0,807	0,897	0,888
0,895	0,915	0,443	0,756	0,699	0,559	0,775	0,903
0,885	0,919	0,64	0,752	0,578	0,739	0,853	0,897
0,888	0,914	0,798	0,566	0,62	0,71	0,953	0,941

<b>C</b>							
<b>Uv / Ue Parameter</b>							
junge Männer		ältere Männer		ältere Frauen		junge Frauen	
außen	innen	außen	innen	außen	innen	außen	innen
0,598	0,608	0,659	0,788	0,556	0,672	0,605	0,689
0,483	0,496	0,726	0,716	0,609	0,79	0,503	0,448
0,523	0,607	0,736	0,658	0,768	0,686	0,568	0,508
0,509	0,426	0,656	0,768	0,407	0,52	0,619	0,674
0,604	0,627	0,837	0,719	0,533	0,609	0,436	0,433
0,485	0,583	0,577	0,806	0,625	0,72	0,466	0,592
0,577	0,631	0,677	0,508	0,782	0,708	0,533	0,497
0,507	0,54	0,585	0,543	0,562	0,804	0,607	0,506
0,447	0,411	0,693	0,756	0,662	0,701	0,704	0,646
0,446	0,543	0,918	0,717	0,638	0,669	0,509	0,706
0,54	0,45	0,553	0,753	0,705	0,559	0,584	0,569
0,485	0,515	0,76	0,535	0,685	0,567	0,529	0,546

<b>D</b>							
<b>Ur /Uf Parameter</b>							
junge Männer		ältere Männer		ältere Frauen		junge Frauen	
außen	innen	außen	innen	außen	innen	außen	innen
0,399	0,542	0,262	0,31	0,282	0,352	0,493	0,514
0,526	0,601	0,3	0,299	0,305	0,306	0,548	0,594
0,524	0,525	0,291	0,361	0,226	0,187	0,54	0,492
0,589	0,68	0,292	0,262	0,191	0,401	0,368	0,553
0,525	0,567	0,321	0,428	0,326	0,398	0,516	0,69
0,482	0,639	0,315	0,274	0,234	0,224	0,649	0,677
0,541	0,655	0,299	0,448	0,214	0,212	0,578	0,699
0,54	0,601	0,191	0,311	0,288	0,209	0,569	0,712
0,494	0,56	0,194	0,269	0,27	0,417	0,57	0,599
0,517	0,569	0,168	0,377	0,281	0,216	0,337	0,545
0,498	0,619	0,277	0,365	0,252	0,366	0,548	0,575
0,512	0,601	0,366	0,197	0,257	0,338	0,462	0,617

Tabelle 1 A-D: Darstellung der erhobenen Messdaten der Cutometrieparameter Uf (Tab. 1A), Ua /Uf (Tab.1B), Uv /Ue (Tab. 1C) und Ur /Uf (Tab.1D) mit Angabe der signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen.

### **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Dr. med. M. Kaatz, Dr. med. Johannes Köhler

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 28.06.2011

Unterschrift

## **Danksagung**

An erster Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. med. P. Elsner für die Möglichkeit, auf dem Gebiet der Dermatologie in seiner Klinik der Friedrich-Schiller-Universität Jena meine Dissertation erstellen zu dürfen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. habil. M. Kaatz für die Überlassung des Themas, die geduldige und persönliche Betreuung bei der Durchführung dieser Studie sowie für die fachliche Unterstützung in der Zeit bis zur Fertigstellung der Arbeit.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. med. J. Köhler ganz herzlich für die umfassende Unterstützung bei der Konzipierung, Durchführung und Auswertung der Untersuchungen danken. Außerdem möchte ich mich bei Frau N. Schmidt für Ihre immer verfügbare Hilfe und Ihre Unterstützung bedanken.

Ein besonderer Dank gilt ebenso meinen Eltern sowie meinem Lebensgefährten Gerrit Schauer mann für ihre Unterstützung und aufgebrachte Geduld während der Erstellung dieser Arbeit.

Ohne die zahlreichen freiwilligen Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben, wäre diese Untersuchung in dieser Form nicht zustande gekommen. Ich möchte mich auf diesem Wege nochmals für ihre geduldige Mitarbeit bedanken.

## Lebenslauf

### Persönliche Informationen

Nadja Kindler  
12.12.1984  
Suhl

### Schulische Ausbildung

1991- 1995 1. Grundschule Suhl  
1995- 2003 Johan-Gottfried Herder Gymnasium Suhl  
2003 Abitur

### Studium

2003-2009 Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
2005 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
2009 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung  
Nov. 2009 Approbation als Ärztin

### Praktisches Jahr

08.2008 – 12.2008 Klinik für Innere Medizin, Pneumologie, Schlaf- und  
Beatmungsmedizin bei Dr. med. Deppermann am  
Helios Klinikum Erfurt  
12.2008 – 03.2009 Klinik für Unfallchirurgie und Wiederherstellungschirurgie bei  
PD Dr. med. Schulz am Sophien-Hufeland Klinikum Weimar  
03.2009 – 07.2009 Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe bei Prof. Dr.  
Runnebaum und Prof. Dr. Schleußner an der  
Friedrich-Schiller-Universität Jena

### ärztliche Tätigkeit

seit Januar 2010: Assistenzärztin in der Klinik für Innere Medizin I, Abteilung  
Kardiologie/Pneumologie/Angiologie