

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Effekt von Bisabolol auf die Barrierefunktion,
Inflammation und Hydratation der Haut sowie auf
Juckreizempfindung nach induzierter Hautirritation
bei gesunden Proband/innen im Vergleich zu Placebo

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Max Fabian Lorenz

aus Berlin

Datum der Promotion: 06.03.2020

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	4
ABSTRAKT	7
ABSTRACT	9
1. EINLEITUNG.....	11
1.1. DIE KAMILLE ALS TRADITIONELLE HEILPFLANZE	11
1.2. BISABOLOL ALS MODERNES KOSMETIKUM ODER ARZNEIMITTEL?	11
1.3. HAUTBARRIERE UND BARRIERESCHÄDIGUNG	12
1.3.1. Grundlagen der Hautbarriere	12
1.3.2. Folgen induzierter Barrierschädigung und deren Quantifizierung	13
1.3.3. Objektive Parameter der physikalischen Eigenschaften der Hautbarriere.....	15
1.3.4. Objektive Parameter der resultierenden Entzündungsreaktion.....	15
1.4. JUCKREIZ ALS SUBJEKTIVER PARAMETER IRRITierter HAUT	16
1.4.1. Histamin als Auslöser von Juckreiz.....	17
1.4.2. Cowhage als Auslöser von Juckreiz.....	18
1.4.3. Capsaicin als Auslöser von Juckreiz.....	19
1.5. AKTUELLER FORSCHUNGSSTAND ZUR WIRKUNG VON BISABOLOL	19
1.5.1. Molekulare Ebene	20
1.5.2. Zelluläre Ebene	22
1.5.3. In vivo Studien.....	22
1.5.4. Zusammenfassung des aktuellen Forschungsstandes	25
1.6. FRAGESTELLUNG UND HYPOTHESEN	25
2. MATERIAL UND METHODEN	27
2.1. STUDIENDESIGN	27
2.1.1. Versuchsaufbau	27
2.1.2. Kontrolle	28
2.1.3. Randomisierung und Verblindung	28
2.1.4. Studienzentrum und -zeitpunkt	29
2.1.5. Dokumentation	30
2.1.6. Votum der Ethikkommission	30
2.2. BARRIERESCHÄDIGUNG/ HAUTIRRITATION	31
2.3. MESSUNG DER PARAMETER	32
2.3.1. Transepidermaler Wasserverlust (TEWL)	33
2.3.2. Erythem.....	35
2.3.3. Hydratation des Stratum Corneum	36
2.3.4. Subjektive Parameter.....	37
2.4. JUCKREIZPRÜFUNG.....	38
2.4.1. Juckreizinduktion.....	38
2.4.2. Erfassung der Juckreizempfindung.....	39
2.4.3. Objektive Messung der Hautantwort auf die Juckreizinduktion.....	39
2.5. POPULATION	40
2.5.1. Einschlusskriterien	40
2.5.2. Ausschlusskriterien	40

2.5.3. Einschränkungen während der Studie	41
2.6. STUDIENPRÄPARATE UND APPLIKATION	42
2.6.1. Bisabolol.....	42
2.6.2. Placebo.....	42
2.6.3. Histamin.....	43
2.6.4. Capsaicin.....	43
2.6.5. Mucuna pruriens	43
2.7. STATISTIK.....	44
3. ERGEBNISSE.....	45
3.1. POPULATION	45
3.2. EFFEKT AUF BARRIEREFUNKTION, INFLAMMATION UND HYDRATION DER HAUT	46
3.2.1. Bisabolol verzögert die Regeneration der Barrierefunktion der Haut.....	46
3.2.2. Bisabolol verzögert die Erythemrückbildung	47
3.2.3. Bisabolol verzögert die Regeneration der Stratum Corneum-Hydratation.....	47
3.3. EFFEKT AUF JUCKREIZEMPFINDEN	48
3.3.1. Bisabolol verlängert Histamin-induzierten Juckreiz	50
3.3.2. Bisabolol zeigt keinen Effekt auf Capsaicin-induzierten Juckreiz	50
3.3.3. Bisabolol zeigt keinen Effekt auf Cowhage-induzierten Juckreiz	51
3.4. EFFEKT AUF DIE ANTWORT DER HAUT AUF JUCKREIZINDUKTION.....	52
3.4.1. Bisabolol intensiviert Hautantwort auf Histamin-Prick	52
3.4.2. Bisabolol intensiviert Hautantwort auf Capsaicin-Prick	53
3.4.3. Bisabolol intensiviert Hautantwort auf Cowhage-Applikation.....	54
3.5. EFFEKT AUF BRENNEN UND SCHMERZ	55
3.5.1. Bisabolol verzögert Nachlassen der Brenneempfindung nach Hautirritation	55
3.5.2. Bisabolol intensiviert Berührungsempfindlichkeit nach Hautirritation	55
4. DISKUSSION.....	57
4.1. PRÜFUNG DER HYPOTHESEN	57
4.2. SCHLUSSFOLGERUNGEN	58
4.2.1. Die Art und Weise der Hautirritation als Ursache für das Ausbleiben der Bisabololwirkung.....	58
4.2.2. Die Bisabololkonzentration als Ursache für das Ausbleiben der Bisabololwirkung....	59
4.2.3. Fazit.....	60
4.3. FORSCHUNGSBEDARF	60
4.4. AUSBLICK.....	60
4.5. LIMITATIONEN.....	61
5. LITERATURVERZEICHNIS	63
EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....	74
LEBENS LAUF	75
DANKSAGUNG.....	76
ANHANG	77

Abkürzungsverzeichnis

12-HPETE	12-hydroperoxyeicosatetraenoische Säure
5-HT	5-Hydroxytryptamin (Serotonin)
A	Formelzeichen für Fläche
Abb.	Abbildung
AU	Arbitrary Unit (willkürliche Einheit)
AP-1	activator-protein-1
AS	Arachidonsäure
B	Bisabolol
BALB/c-Mäuse	ein spezifischer Stamm im Labor gezüchteter Albino-Mäuse
Bi ² Si	Bisabolol in induced skin irritation (Bisabolol in induzierter Hautirritation)
bzw.	beziehungsweise
C. albicans	Candida albicans
CCL5/17/22	CC-Chemokin-Ligand 5/17/22
Cg	Carrageenan
CM	mechano-responsive C-Fasern
CMi	mechano-insensitive C-Fasern
Cö	Crotonöl
COX-2	Cyclooxygenase-2
CAP	Capsaicin
COW	Cowhage (Mucuna Pruriens)
CRF	case report form (Prüfbogen)
CSF	colony stimulating factor (Kolonie stimulierender Faktor)
CXCL9/10/11	CXC-Ligand 9/10/11
D	Formelzeichen für die Diffusionskonstante
DGAKI	Deutsche Gesellschaft für Allergologie und klinische Immunologie
Dx	Dextran
EDHF	endothelium derived hyperpolarizing factor
EEMCO	European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Products (Europäische Expertengruppe für Effizienzmessung von kosmetischen und anderen topischen Produkten)
EGF	epidermal growth factor (epidermaler Wachstumsfaktor)

Abkürzungsverzeichnis

engl.	englisch
ERK	Extrazellulärsignal-regulierte Kinase
FcεRI	hoch-affiner Rezeptor für IgE
fMLP	N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine
g	Einheitenzeichen für Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GPCR	G-protein coupled receptor (G-Protein gekoppelter Rezeptor)
h	Einheitenzeichen für Stunden
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HIS	Histamin
HOCl	hypochlorische Säure
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1 (interzelluläres Adhäsionsmolekül-1)
IFN-γ	Interferon γ
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare NO-Synthase (in Makrophagen)
k.E.	kein Effekt
KG	Körpergewicht
m	Als Formelzeichen: Masse; Als Einheitenzeichen: Meter
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1 (Monozyten chemoattrahierendes Protein-1)
mmHg	Einheitenzeichen für Millimeter-Quecksilbersäule
MW	Mittelwert
n.Chr.	nach Christus
NCBI	National Center for Biotechnology Information (Nationales Zentrum für Biotechnologie Information)
NF-κB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells (Nukleärer Faktor 'kappa-Leichtketten-Enhancer' aktivierter B-Zellen)
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	nicht-steroidale Antirheumatika
O ²⁻	Superoxidanion
p (Kleinbuchstabe)	Formelzeichen für Druck

P (Großbuchstabe)	Placebo
p38	Protein 38
PAR2/4	protease-activated receptor (Protease-aktivierter Rezeptor) 2/4
PDGF	platelet-derived growth factor (von Blutplättchen freigesetzter Wachstumsfaktor)
PGE ₂ / PGI ₂	Prostaglandin E ₂ / I ₂
Ph	Phenol
PHA	Phytohämagglutinin
PMA	Phorbol-12-myristat-13-acetat
RCT	randomised, controlled trial (randomisierte, kontrollierte Studie)
ROS	reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffspezies)
SC Hydration	Stratum Corneum-Hydration
SD	standard deviation (Standardabweichung)
SIN-1	3-Morpholino-Sydnonimin
sog.	sogenannt
SPRRs	small proline-rich proteins (kleine, Prolin-reiche Proteine)
t	Formelzeichen für Zeit
Tab.	Tabelle
TEWL	transepidermal water loss (transepidermaler Wasserverlust)
TGF- α/β	transforming growth factor α/β (Transformierender Wachstumsfaktor α/β)
T _H 1/2-Lymphozyten	Typ1/2-T-Helferzelle
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
T _{reg} -Zellen	regulatorische T-Zellen
TRPV1	transient receptor potential vanilloid receptor-1 (Transienter Rezeptor Potential Kationenkanal der Vallinoid-Subfamilie 1)
u.a.	unter anderem
v.l.n.r.	von links nach rechts
VAS	Visuelle Analogskala
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1 (vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1)
vgl.	vergleiche
x	Formelzeichen für die Variable „Abstand von Haut zu Messpunkt“
z.B.	zum Beispiel

Abstrakt

Einleitung:

Die Kamille wird seit der Antike als Heilmittel bei verschiedenen Krankheiten verwendet. Einer ihrer Hauptwirkstoffe, Bisabolol, findet aufgrund seiner zugeschriebenen anti-inflammatorischen Wirkung in diversen modernen Kosmetika und Arzneimitteln Anwendung. In vitro konnten Mechanismen aufgezeigt werden, wie Bisabolol anti-entzündlich wirkt. In vivo und besonders am Menschen hingegen ist die Datenlage schwach und nicht eindeutig. Anhand von bewährten objektiven sowie subjektiven Parametern der Barrierschädigung und folgender Entzündungsreaktion sollten daher in dieser Studie die Hypothesen bestätigt werden, dass isoliertes Bisabolol am Menschen die Hautregeneration nach Barrierschädigung fördert, anti-entzündlich wirkt und Juckreiz lindert.

Methodik:

Diese randomisierte, Placebo-kontrollierte und dreifach verblindete Interventionsstudie begann mit der Hautirritation mittels der Tesafilmabrissmethode auf den Innenseiten der Unterarme von 40 gesunden Probanden und Probandinnen. Hierbei wurde durch mechanische Reizung in Form von repetitivem Aufkleben und Abziehen von Tesafilmstreifen eine Barrierschädigung mit folgender Entzündung der oberen Hautschichten erzeugt. Der Verlauf der Hautreaktion nach Barrierschädigung wurde anhand hautphysiologischer (transepidermaler Wasserverlust, Hydratation der Haut) und klinisch-morphologischer Parameter (Erythem) direkt auf der Haut mit nicht-invasiven Messgeräten quantifiziert. Als subjektive Parameter wurden Schmerz- und Brennempfinden mittels einer visuellen Analogskala (VAS) erfasst. Diese Parameter wurden vor und direkt nach der Hautirritation, sowie drei, 24 und 48 Stunden später gemessen. Nach jeder Messung (ausgenommen der ersten und letzten) folgte eine topische Behandlung mit Bisabolol (98%) auf einem Arm und Paraffinöl als Placebo auf dem anderen. Nach Ablauf von 48 Stunden wurde eine Juckreizinduktion auf den initial Barriere-geschädigten Arealen durchgeführt, im Rahmen derer drei verschiedene Juckreizinduktoren appliziert wurden (Histamin (1%), Capsaicin (4%) und Cowhage). Die Intensität der Juckreizempfindung wurde auf beiden Armen gemessen und verglichen.

Ergebnisse:

Ein signifikant ($p < 0,05$) schnelleres Wiederherstellen der Hautfunktionalität, Abklingen der Entzündungsreaktion bzw. eine bessere Juckreiztoleranz auf der mit Placebo behandelten

Seite zeigte sich für jeden Parameter an mindestens einem der vier Messzeitpunkte. Keine der aufgestellten Hypothesen konnte bestätigt werden.

Schlussfolgerung:

Über den Grund für den Widerspruch zwischen den Ergebnissen dieser Studie und den Ergebnissen früherer Forschung lässt sich zu diesem Zeitpunkt nur spekulieren. Eine Möglichkeit wäre, dass Bisabolol nur in verdünnter Form wirkt und Wasser als Kofaktor benötigt. In dieser Studie wurde reines Bisabolol (98%) verwendet, während in anderen Studien verdünnte Formen (0,1 bis 10%) benutzt wurden. Es sind für die Klärung dieser Frage jedoch weitere Studien nötig, die einzelne Einflussfaktoren wie die Abhängigkeit von Wirkung und Konzentration genauer untersuchen.

Abstract

Introduction:

Camomile has been used for the treatment of various diseases for millenniums. One of its main active components, Bisabolol, can be found in various modern cosmetics and therapeutics for its suspected anti-inflammatory potential. Many mechanisms of action have been shown for how Bisabolol exerts its anti-inflammatory effect in vitro. However, there is only little and unclear data on in vivo effects and in humans especially. Through measurement of objective and subjective parameters of skin barrier function and inflammation this study was designed to confirm our hypotheses, that isolated Bisabolol supports skin regeneration, counteracts inflammation and alleviates itch in humans after barrier disruption.

Methods:

This triple-blinded RCT began with tape stripping inducing mild skin barrier damage on the volar forearms of 40 healthy volunteers. Inflammation of superficial skin layers was thus triggered by mechanical irritation in terms of repetitive application and removal of tape strips. The skin reaction after barrier disruption was measured by skin physiological (transepidermal water loss, stratum corneum hydration) and morphologic parameters (erythema) with specialized non-invasive devices on the skin surface. Measurements of pain and itch sensations on VAS were included as subjective parameters. All parameters were measured before and right after skin irritation, as well as three, 24 and 48 hours later. After every measurement following the tape stripping procedure (except the last one) a topical treatment with Bisabolol and paraffin oil (placebo) on either arm was conducted. Itch was induced 48 hours after skin irritation by different agents (Histamine (1%), Capsaicin (4%), Cowhage) on the initially tape-stripped areas. The intensity of itch was measured on both arms.

Results:

Significantly ($p < 0,05$) faster skin function recovery, cessation of inflammation respectively lower intensity and duration of itch was shown in all parameters in favor of placebo in at least one of the four points of measurement. No hypothesis was confirmed.

Discussion:

At this point, there is no evidence-based explanation for the contradicting results of this study and the results of recent in vitro and animal studies. Bisabolol might exert its effect only in diluted form with water as a co-factor. In this study pure Bisabolol (98%) was used, whereas in other studies Bisabolol was used in diluted form (0,1% - 10%). However, as long as there

are no further studies, which analyze single influencing factors – as the interdependency of Bisabolol's effect and concentration – this remains speculation.

1. Einleitung

1.1. Die Kamille als traditionelle Heilpflanze

Die heilende Wirkung der Kamille (*Matricaria chamomilla*) wird in der traditionellen Medizin seit Jahrtausenden beschrieben. Seit der Antike findet die Kamille als Therapeutikum bei verschiedenen Krankheitsbildern und Symptomen Verwendung [1]. Im 1901 erstmals in Deutschland erschienenen Buch „Die Frau als Hausärztin“ von Dr. Anna Fischer-Dückelmann heißt es über die Kamille: „Der aus den getrockneten Blüten angefertigte Tee hat einen aromatischen Geruch und Geschmack. Er dient seit altersher gegen Nervenregung, Krämpfe, Kolik, Zahnkrankheiten, rheumatische Schwellungen.“ [2]. Wie bei vielen pflanzlichen Mitteln traditioneller Kulturen basieren die therapeutischen Anwendungen und vermuteten Heilungseffekte auf volkstümlich überliefertem Wissen und nicht auf wissenschaftlicher Evidenz [3]. Erste Arbeiten, die sich wissenschaftlich mit den Effekten der Kamille auseinandersetzen, wurden ab Mitte der 50er Jahre publiziert [4-7]. Die Grundlage dafür wurde unter anderem 1951 gelegt, als es einem tschechischem Wissenschaftlerteam um Frantisek Sorm gelang, (-)- α -Bisabolol (im Folgenden Bisabolol genannt) als einen Wirkstoff der Kamille zu identifizieren [8]. Durch die Forschung in den späten 60er Jahren wird Bisabolol bis heute eine anti-inflammatorische und proliferationshemmende Wirkung zugeschrieben [9]. Bisabolol gilt seitdem als einer der Hauptwirkstoffe der Pflanze; dennoch gibt es für die behaupteten Effekte nur geringe Evidenz und wenige klinische Studien [10].

1.2. Bisabolol als modernes Kosmetikum oder Heilmittel?

Bisabolol ist ein monozyklischer Sesquiterpen-Alkohol [11]. Aufgrund seines angenehmen Geruchs und seiner nachgesagten anti-inflammatorischen Wirkung findet Bisabolol seit mehreren Jahren breite Verwendung in Kosmetikprodukten für die Haut wie Aftershave-Lotions, Make-Up-Produkten, Hand-, Feuchtigkeits- und Sonnencremes und therapeutischen Cremes. Viele Studien sind vor vielen Jahrzehnten nach überholten wissenschaftlichen Standards oder mit limitierten Methoden durchgeführt worden [9, 12]. Andere Studien haben nicht Bisabolol isoliert untersucht, sondern als Teil von Stoffgemischen, wie sie in Cremes vorkommen, oder von Pflanzen, die Bisabolol enthalten [13, 14]. Über die konkreten Effekte des Wirkstoffes Bisabolol gab es lange Zeit keine Forschung. Erstmals im Jahr 2011 wurden die postulierten anti-inflammatorischen Effekte von isoliertem Bisabolol in traditionellen Inflammationsmodellen untersucht [15]. Dass Bisabolol trotz fehlender Evidenz seit so langer

Zeit bei verschiedenen Symptomen therapeutisch angewendet wird, ist in Deutschland nur möglich, da die Kamille als traditionelles Heilmittel gilt. Gemäß §39 des Arzneimittelgesetzes ist für traditionelle Heilmittel hierzulande kein medizinischer Wirksamkeitsnachweis vorzulegen. Um jedoch das Potential von Bisabolol als evidenzbasiertes Therapeutikum für Krankheiten mit einer inflammatorischen Komponente zu bewerten und auszuschöpfen, muss es isoliert untersucht werden. Effekte der isolierten Substanz auf die Haut am Menschen müssen außerdem erforscht werden, weil Bisabolol in vielen aktuellen Kosmetikprodukten bereits enthalten ist.

1.3. Hautbarriere und Barrierschädigung

1.3.1. Grundlagen der Hautbarriere

Die Haut bildet eine effektive Barriere zwischen Organismus und Umwelt. Die sich daraus ableitende Schutz- bzw. Barrierewirkung ist eine der zentralen Funktionen der Haut. Histologisch korreliert die Barrierefunktion der Haut mit den kernhaltigen Zellschichten der Epidermis und deren Verbindungen (Tight junctions, Gap junctions, Desmosomen, Adhärenzverbindungen) und den proteinreichen, kernlosen Korneozyten samt ihrer Protein-Lipid-Hülle (*cornified envelope*) und der lipidreichen interzellulären Matrix des Stratum Corneum (äußerste Schicht der Epidermis) [16-18]. Der sogenannte *cornified envelope* (zu deutsch „verhornte Hülle“) beschreibt eine Ummantelung aus quervernetzten Proteinen (u.a. Involucrin, Loricrin, Filaggrin und kleinen Prolin-reichen Proteinen, sog. SPRRs) und kovalent gebundenen Lipiden (überwiegend Omega-Hydroxyceramide), von der die einzelnen Korneozyten umgeben sind [19-22]. Der *cornified envelope* vermindert den transzellulären Transport durch die Epidermis und trägt damit zur Barrierefunktion der äußersten Hautschicht bei [19, 20].

Die besondere Anordnung der Korneozyten und extrazellulären Matrix des Stratum Corneum wird als *brick and mortar-model* (Backstein und Mörtel-Modell) bezeichnet [23]. Das Modell erhielt seinen Namen aufgrund der Backstein-ähnlichen Anordnung der Korneozyten, die auf allen Seiten von homogenen Lipidschichten umgeben sind [24] (Abb. 1). Diese Lipidschichten entsprechen im Modell dem Mörtel und bestehen zu äquimolaren Teilen aus Cholesterol, freien Fettsäuren und Ceramiden [20, 25, 26]. Die Verzahnung und Kombination der hydrophilen Keratinfilamente, aus denen die Korneozyten zu 80-90% bestehen und die parallel zur Hautoberfläche verlaufen, und der hydrophoben interzellulären Lipide sind ein

zentrales Element der Hautbarriere und eine Grundlage für deren Funktionalität [27, 28]. Dies wird am Beispiel Wasser deutlich, dessen Diffusion über die Hautbarriere einerseits durch die hydrophobe extrazelluläre Matrix gehemmt wird. Durch den Aufbau gemäß des Backstein und Mörtel-Modells verlängert sich zudem die Diffusionsstrecke, sodass die ungewollte Diffusion von Wasser über die Haut in die Umwelt minimiert wird [29].

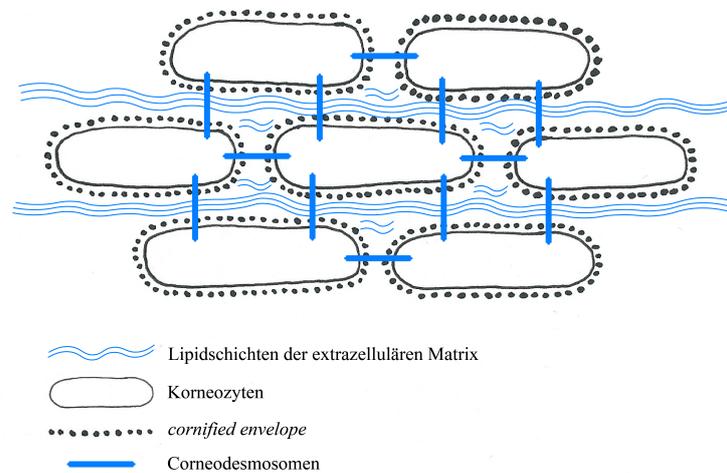


Abb. 1. Schematischer Aufbau des Stratum Corneum

Die intakte Epidermis stellt einerseits die Barriere zu einem unkontrollierten Verlust von Flüssigkeit, Proteinen, Elektrolyten und anderen Plasmakomponenten dar (sogenannte *inside-out* Barriere: bezieht sich auf Transport von innen nach außen). Andererseits verhindert die Epidermis das Eindringen verschiedener Fremdstoffe (Chemikalien, Mikroorganismen, Allergene, toxische Substanzen; sogenannte *outside-in* Barriere: bezieht sich auf Transport von außen nach innen) [30-32].

Eine Störung oder Schädigung der Hautbarriere ist in mehreren dermatologischen Krankheitsbildern zu beobachten (z.B. atopisches Ekzem, allergisches Kontaktekzem) [33, 34]. Auch bei trockener Haut kann die Hautbarriere gestört sein [35]. Die Untersuchung des Effektes von Bisabolol auf die Barrierefunktion nach Barrierschädigung ist demnach aus therapeutischer Perspektive relevant.

1.3.2. Folgen induzierter Barrierschädigung und deren Quantifizierung

Um den Effekt von Bisabolol auf die Antwort der Haut nach Irritation in Form einer akuten Barrierschädigung zu untersuchen und im Anschluss zu bewerten, sind objektive Parameter notwendig.

Um Parameter zu definieren, die das Ausmaß einer Barrierschädigung quantifizieren, ist es notwendig, die funktionellen Folgen und molekularen Reaktionen auf eine induzierte Barrierschädigung zu kennen. Eine etablierte Methode zur induzierten akuten Schädigung der Hautbarriere ist die Tesafilmabrissmethode („Tape Stripping“) [36, 37]. Mit dem repetitiven Aufkleben und Abreißen von Tesafilmstreifen ist eine kontrollierte mechanische Reizung der Haut im Sinne einer Schädigung des Stratum Corneum standardisiert möglich [36, 37].

Eine Schädigung der Hautbarriere und ihrer Strukturen führt zu einer Beeinträchtigung ihrer Funktion. Die Funktion ist direkt an die Integrität der Hautbarriere gekoppelt [27, 28]. Der transepidermale Wasserverlust ist objektiv messbar und bildet die Barrierschädigung zuverlässig ab. Die Stratum Corneum-Hydration (SC Hydration) ist ein weiterer Parameter, der die physikalischen Eigenschaften des Stratum Corneum abbildet und sich objektiv messen lässt. Die SC Hydration wirkt sich auf die Permeabilität der Hautbarriere aus und steht so ebenfalls in Zusammenhang mit der Barrierefunktion [31]. Mit den Parametern des transepidermalen Wasserverlusts und der SC Hydration können demnach die Konsequenzen einer Hautirritation objektiv gemessen werden.

Auf molekularer Ebene konnte in Modellsystemen, in denen die Tesafilmabrissmethode angewendet wurde, gezeigt werden, dass eine mechanische Reizung der Haut zu einer Aktivierung epidermaler Keratinozyten führt. Diese produzieren und sezernieren in der Folge vermehrt TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- γ , ICAM-1, TGF- α sowie TGF- β und begünstigen so eine inflammatorische Antwort auf die Reizung der Haut [32, 38]. Langerhans-Zellen, die Immunzellen der Epidermis, wandern nach induzierter Barrierschädigung vermehrt in Lymphgefäße und die drainierenden Lymphknoten aus, was ebenfalls eine Entzündungsreaktion verstärkt [39].

Die Entzündungsreaktion ist demnach eine natürliche Folge der Barrierschädigung. Hieraus ergibt sich eine weitere Möglichkeit, die Folgen der Barrierschädigung objektiv zu messen. Eine Inflammation ist nach Galen (2. Jahrhundert n.Chr.) durch die fünf klassischen Zeichen der Entzündung charakterisiert (sogenannte Kardinalzeichen): Rötung (rubor), Schwellung (tumor), Schmerz (dolor), Überwärmung (calor) und Funktionseinschränkung (functio laesa). Rötung, Schwellung und Temperatur lassen sich objektiv erfassen. Eine objektive Quantifizierung der Barrierschädigung ist folglich anhand von Parametern der physikalischen Eigenschaften der Hautbarriere sowie anhand von Parametern der resultierenden Entzündungsreaktion möglich.

1.3.3. Objektive Parameter der physikalischen Eigenschaften der Hautbarriere

Es ist eine zentrale Funktion der Hautbarriere, Wasser gegen den osmotischen Gradienten zur Umwelt im Körper zu halten. Ist die Barrierefunktion der Haut gestört, kann Wasser nicht mehr in gleichem Maße im Körper konserviert werden und geht über die Haut verloren. Der Parameter des transepidermalen Wasserverlustes (*transepidermal water loss*, TEWL) hat sich daher als zuverlässiger Parameter zur Evaluation der Barrierefunktion der Haut etabliert [40, 41]. Insbesondere spiegelt der transepidermale Wasserverlust den Funktionsstatus der *inside-out* Barriere wieder, die Funktionalität der *outside-in* Barriere korreliert aber ebenfalls mit TEWL-Werten [41, 42]. Niedrige TEWL-Werte sind generell ein Zeichen für eine intakte Hautfunktion, während erhöhte TEWL-Werte bei Krankheitsbildern mit gestörter Barrierefunktion (z.B. atopisches Ekzem, Ichthyosis vulgaris) oder nach externer Barrierschädigung zu beobachten sind [43]. Messung des transepidermalen Wasserverlusts gilt als adäquate Methode, um die epidermale Funktion als Permeabilitätsbarriere unter physiologischen, pathologischen sowie induzierten irritativen Testbedingungen qualitativ zu erfassen [41]. Fluhr et al. konnten zeigen, dass selbst milde Hautschädigungen durch die Messung des transepidermalen Wasserverlusts erfasst werden können [41]. Besonders aussagekräftig wird der Parameter des transepidermalen Wasserverlusts dadurch, dass er proportional zu dem Ausmaß der Hautschädigung ansteigt und so zusätzlich den Grad der Hautschädigung anhand der Barrierefunktion der Haut repräsentieren kann [30]. Der Wasserverlust über die Epidermis der Haut gilt als stabiles Charakteristikum [44] und ist daher ein geeigneter Parameter, den Verlauf des Ausmaßes einer Hautschädigung zu erfassen. Ein weiterer Parameter, der mit der Funktionalität des Wasserhaushaltes in der Haut korreliert, ist die Hydratation des Stratum Corneum. Kann Wasser aufgrund einer Barrierschädigung nicht im Körper gehalten werden und über die Haut in die Umgebung evaporieren (höherer transepidermaler Wasserverlust), sinkt der Wassergehalt in der Epidermis [16, 45]. Die Hydratation des Stratum Corneum ist neben dem transepidermalen Wasserverlust ein weiterer essentieller Parameter zur Beurteilung des Funktionsstatus der Hautbarriere [31].

1.3.4. Objektive Parameter der resultierenden Entzündungsreaktion

Erythem und Überwärmung sind die beiden klassischen Entzündungsparameter, die auf einer Vasodilatation im entzündeten Gewebe basieren. Schwellung entsteht durch erhöhte vaskuläre Permeabilität und daraus folgendem Zell- und Flüssigkeitsaustritt in das Gewebe [46].

Diese vaskulären Veränderungen werden über Zytokine vermittelt. So sind beispielsweise IL-1, IL-8, ICAM-1, VCAM-1, TNF- α und E-Selectin an der Diapedese von Leukozyten aus Blutgefäßen in die Peripherie beteiligt [47-49]. IL-8 und ICAM-1 werden nach Barrierschädigung von aktivierten epidermalen Keratinozyten vermehrt produziert und eine vermehrte Expression von E-Selectin und VCAM-1 in Endothelzellen nach mechanischer Barrierschädigung konnte ebenfalls gezeigt werden [32]. Es kann demnach von einer Ödembildung nach Barrierschädigung ausgegangen werden. Im Tiermodell konnte dementsprechend an BALB/c-Mäusen gezeigt werden, dass nach Barrierschädigung durch die Tesafilmabrissmethode vermehrt Chemokine gebildet werden, die die Chemotaxis von T_H1-Lymphozyten (CXCL9, CXCL10, CXCL11), T_H2-Lymphozyten (CCL17, CCL22) und eosinophilen Granulozyten (CCL5) an den Ort der Barrierschädigung auslösen [50]. Die Infiltration von eosinophilen Granulozyten konnte in dieser Studie auch direkt mikroskopisch nachgewiesen werden [50].

Vasodilatoren (NO, PGI₂, EDHF, Bradykinin) werden von Endothelzellen produziert, wenn sie von Zytokinen aktiviert werden. So kann beispielsweise TNF- α in Kombination mit IFN- γ die NO-Synthase in Endothelzellen stimulieren [47]. TNF- α und IFN- γ werden ebenfalls von aktivierten epidermalen Keratinozyten nach mechanischer Barrierschädigung vermehrt produziert [32]. Die vermehrte Sekretion von IFN- γ nach Barrierschädigung konnte ebenfalls im Tiermodell gezeigt werden [50]. Auch Rötung und Überwärmung sind zu erwartende Folgen einer Barrierschädigung [51]. Rötung, Überwärmung und Schwellung sind demnach geeignete Parameter, um eine Barrierschädigung mit ihrer folgenden Entzündungsreaktion zu quantifizieren.

1.4. Juckreiz als subjektiver Parameter irritierter Haut

Juckreiz ist eines der therapeutisch wichtigsten Symptome von Hauterkrankungen. Chronischer Juckreiz ist ein quälendes Symptom, das die Lebensqualität der Betroffenen in vielen Bereichen negativ beeinflusst: Schwerer Juckreiz ist mit beeinträchtigter Schlafqualität, depressiven Symptomen, Unruhe und Ängstlichkeit und unspezifischen körperlichen Symptomen assoziiert [52, 53]. Eine Störung der Barrierefunktion der Haut, die bei juckenden Hauterkrankungen wie dem atopischen Ekzem, Psoriasis oder Xerosis cutis eine zentrale Rolle spielt, zählt zu den Ursachen von chronischem Juckreiz [53]. Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass eine Störung der Hautbarriere in Histamin- und Serotonin-unabhängigen Juckreizmodellen zu einem intensiveren Kratzverhalten bei Mäusen führt [54]. Im Rahmen

dieser Studie, die primär auf den Effekt von Bisabolol auf die Barrierefunktion fokussiert, wurde deshalb auch der Bisabololeffekt auf die Juckreizempfindung untersucht. Neben dem klassischen Histamin-induzierten Juckreizmodell wurden dabei auch Histamin-unabhängige Juckreizmodelle zur Evaluation des Bisabololeffektes hinzugezogen. Hierfür wurde Juckreiz durch Capsaicin und Kaktushärchen (sog. Spiculae) der *Mucuna pruriens* (engl.: Cowhage) ausgelöst.

Die Erforschung des Effektes von Bisabolol auf Cowhage-induzierten Juckreiz bietet neben dem theoretischen (biochemische, physiologische Mechanismen) gleichermaßen einen direkten praktischen Nutzen. Bei den meisten chronischen pruriginösen Erkrankungen wird der Juckreiz nicht vornehmlich durch Histamin ausgelöst [55]. Als Alternative, um Juckreiz in Studien zu induzieren und zu untersuchen, hat sich *Mucuna Pruriens* etabliert. *Mucuna Pruriens* induziert einen intensiveren Juckreiz als Histamin und bietet ein geeignetes Modell, um die Wirksamkeit von Juckreiz-lindernden Substanzen zu testen [55]. Eine Linderung des durch *Mucuna Pruriens* induzierten Juckreizes hätte therapeutisches Potential in Bezug auf das atopische Ekzem und andere chronische pruriginöse Erkrankungen.

1.4.1. Histamin als Auslöser von Juckreiz

Als Schlüsselmolekül bei der Entstehung von Juckreiz gehört Histamin zu den am besten erforschten endogenen Juckreizmediatoren [56]. Besonders bei Allergien vom Soforttyp (Typ I) kommt Histamin eine zentrale Bedeutung zu. Kommen relevante Allergene in Kontakt mit der Haut, binden sie an spezifische IgE-Antikörper. Diese sind im Rahmen einer vorangegangenen Immunantwort gegen das Antigen (das spätere Allergen) von B-Zellen synthetisiert worden ("Sensibilisierung") und über den FcεRI – den hoch-affinen Mastzellrezeptor für IgE – an die Zelloberfläche von Mastzellen gebunden. Durch Allergenkontakt quervernetzen sich diese Rezeptoren. Die Quervernetzung eines geringen Anteils an FcεRIs reicht bereits dafür aus, dass die Mastzellen degranulieren und Histamin und weitere Mediatoren freisetzen, die die für die Allergien vom Soforttyp typischen Symptome Quaddel, Rötung und Juckreiz bedingen [57-59]. Auch in entzündetem Gewebe wird Histamin durch Mastzelldegranulation freigesetzt [56]. Nach seiner Freisetzung erregt Histamin mechano-insensitive C-Fasern (CMi) über den H1-Rezeptor [60, 61]. Die Stimulation dieses G-Protein gekoppelten Rezeptors (GPCR) aktiviert die Phospholipase A₂, was zu einer Akkumulation von Arachidonsäure führt. Lipoyxygenasen verstoffwechseln Arachidonsäure unter anderem zur 12-hydroperoxyeicosatetraenoischen Säure (12-HPETE), einem Aktivator des TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid receptor-1*) [62, 63]. Die

Aktivierung des TRPV1 hat einen Calciumeinstrom zur Folge, der die Signalübertragung in der C-Faser initiiert [62]. Über den Tractus spinothalamicus (aufsteigende Faserbahn im Rückenmark) resultiert diese Signalübertragung in der Empfindung von Juckreiz u.a. im somatosensorischen Cortex [64-66].

1.4.2. Cowhage als Auslöser von Juckreiz

Juckreizempfindung basiert jedoch nicht ausschließlich auf der Freisetzung von Histamin, sondern kann auch über andere Mediatoren vermittelt werden. Cowhage (*Mucuna Pruriens*) ist eine Pflanze, deren Spiculae ähnliche Juckreizempfindungen wie Histamin verursachen. Mechanistisch unterscheiden sich die beiden Signalwege jedoch grundlegend. So aktivieren beide Stoffe distinkte, sich nicht überlappende Populationen von kutanen C-Fasern: Histamin-induzierter Juckreiz wird ausschließlich durch mechano-insensitive C-Fasern (CMi) vermittelt, während durch Cowhage-Applikation ausschließlich mechano-responsive C-Fasern (CM) aktiviert werden [67]. Mechano-responsive C-Fasern unterscheiden sich von mechano-insensitiven C-Fasern in erster Linie durch eine wesentlich höhere Reizleitungsgeschwindigkeit und einen wesentlich niedrigeren Schwellenwert der Reizauslösung [68]. Diese Funde decken sich mit denen von Davidson et al., die zeigen konnten, dass Neurone des zentralen Tractus spinothalamicus entweder von Histamin oder von Cowhage aktiviert werden, nie dagegen von beiden Substanzen [65].

Cowhage wirkt ebenfalls über einen anderen Rezeptor als Histamin. Auf den CMs aktiviert *Mucuna Pruriens* (bzw. ihre aktive Komponente, die Cysteinprotease Mucunain) die GPCRs PAR2 und PAR4 [69]. Hautbiopsien von Patienten mit atopischem Ekzem ergaben, dass PAR2 vermehrt auf primären afferenten Nervenfasern exprimiert wird, was die klinische Relevanz des Juckreizmodells mit *Mucuna Pruriens* verdeutlicht [70].

Nicht nur peripher, sondern auch auf Ebene des zentralen Nervensystems unterscheiden sich die beiden, durch Histamin oder Cowhage ausgelösten Formen des Juckreizes. Es gibt mehrere Areale im Gehirn, die durch beide Stoffe gleichermaßen aktiviert werden: Thalamus, primärer und sekundärer somatosensorischer Cortex, posteriorer parietaler Cortex, superiorer und mittlerer temporaler Cortex, posteriorer und anteriorer cingulärer Cortex, Precuneus und Cuneus. Bei durch Cowhage induziertem Juckreiz sind jedoch ebenfalls Hirnregionen mit distinkter und deutlich stärkerer Aktivität zu beobachten. Hierzu gehören der insuläre Cortex, das Claustrum, die Basalganglien, das Putamen, die Thalamuskern und das Pulvinar [64].

Die Testung dieser beider Signalwege, die am Ende in der Empfindung von Juckreiz resultieren, erlaubt also eine differenzierte Aussage über eventuelle Mechanismen der Juckreizhemmung durch Bisabolol.

1.4.3. Capsaicin als Auslöser von Juckreiz

Capsaicin ist neben Histamin und Mucuna Pruriens ebenfalls ein Stoff, der beim Menschen Juckreiz induzieren kann [71]. Nach Capsaicin-Injektion ist eine Aktivierung von Subpopulationen sowohl von mechano-responsiven als auch von mechano-insensitiven C-Fasern zu beobachten [67]. Es handelt sich also um eine dritte Form der Juckreizvermittlung. Bei der Juckreizinduktion mit Capsaicin zeigen sich auch subjektive Unterschiede zur Induktion mit Histamin und Cowhage, da der mit Capsaicin ausgelöste Juckreiz meist mit Stech- und Brennempfindungen einhergeht [72]. Die Untersuchung des durch Capsaicin verursachten Juckreizes hilft folglich, eine noch differenziertere Aussage über die Effekte von Bisabolol auf Juckreizempfinden treffen zu können.

1.5. Aktueller Forschungsstand zur Wirkung von Bisabolol

Die Kamille wird in der traditionellen Medizin gegen Beschwerden verschiedener Organsysteme (Bewegungsapparat, Verdauungssystem, Nervensystem, Immunsystem, Haut) eingesetzt. Auch in der modernen Forschung gibt es viele Studien, die Effekte von Bisabolol auf die verschiedenen Organsysteme zeigen. Im Rahmen dieser Arbeit soll an dieser Stelle nur auf die bekannten Effekte von Bisabolol auf die Haut und auf generelle anti-inflammatorische Effekte eingegangen werden.

Eine gründliche Literaturrecherche wurde im Mai und Juni 2015 durchgeführt. Am 18.05.2015 wurden dafür in der Datenbank MEDLINE des NCBI (*National Center for Biotechnology Information*; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) anhand der Suche *((Bisabolol(Title)) AND (skin OR anti inflammatory)) OR (bisabolol AND skin AND (anti-inflammatory OR itch OR barrier repair))* alle für diese Studie relevanten Arbeiten mit der Suchmaschine PubMed erfasst. Bis zum 01.03.2018 wurden regelmäßige Suchen nach neuen Studien zum Thema Bisabolol mit PubMed und Google Scholar (<https://scholar.google.de>) durchgeführt.

Die Erkenntnisse der bisherigen Forschung lassen sich gliedern in Effekte, die zum einen aus der Interaktion von Bisabolol mit spezifischen Molekülen entstehen, zum anderen durch

direkte Bisabololwirkung auf Zellen gezeigt wurden und zuletzt in in vivo Studien am Tier und Mensch erforscht wurden.

1.5.1. Molekulare Ebene

TGF- β ist ein zentrales anti-inflammatorisches Zytokin, das von vielen Zellen (u.a. Makrophagen, B-Lymphozyten, T-Lymphozyten, Keratinozyten, Fibroblasten) gebildet wird [73-77]. Es wurde gezeigt, dass fast jede Zelle des Körpers TGF- β in einer seiner verschiedenen Isoformen (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) produziert [78-80]. Immunsuppression durch Suppression von Lymphozytenproliferation, Hemmung der Aktivität von T-Helfer- und NK-Zellen und Promotion von T_{reg}-Zellen-Produktion und -Funktion gehören zu den zentralen Funktionen von TGF- β [81]. Außerdem werden Wachstumshemmung durch einen Zellzyklusarrest in der späten G1-Phase und der stimulierende Effekt auf die extrazelluläre Matrix als Hauptfunktionen beschrieben [80, 82]. In der Epidermis der Haut sind viele Zelltypen am Inflammationsprozess durch Zytokinausschüttung beteiligt: Keratinozyten, Langerhans-Zellen, Melanozyten und Merkel-Zellen [83]. Die Keratinozyten, die Hauptkomponente der Epidermis, spielen dabei eine besonders wichtige Rolle, da sie IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, CSF, TNF- α , TGF- α , EGF, PDGF und TGF- β sekretieren können [76, 83, 84]. Es konnte gezeigt werden, dass Bisabolol die TGF- β -Sekretion von Keratinozyten um fast das Doppelte steigert [76]. Dies bietet einen ersten Erklärungsansatz für die angenommene anti-inflammatorische Wirkung von Bisabolol in der Haut.

Im Gegensatz zu TGF- β gehört TNF- α zu den wichtigsten pro-inflammatorischen Zytokinen und wird vor allem von aktivierten Makrophagen sezerniert. Im Tierversuch wurde demonstriert, dass die TNF- α -Konzentration am Entzündungsherd (in der Peritonealflüssigkeit nach induzierter Peritonitis) unter Bisabololeinfluss auf fast ein Drittel reduziert wurde. Dieser Effekt ist größer als der Effekt der Positivkontrolle Dexamethason, ein weit verbreitetes therapeutisches Glucocorticoid mit anti-inflammatorischer und immunsuppressiver Wirkung [15].

Des Weiteren konnte eine verminderte Produktion von inflammatorischen Eikosanoiden mit der Applikation von Bisabolol korreliert werden [85]. Unter Bisabololtherapie mit steigender Konzentration (5, 25, 50 und 100 μ M getestet) verhielt sich die messbare PGE₂-Produktion von Makrophagen invers (13 ng/ml bei 5 μ M Bisabolol, 9 ng/ml bei 100 μ M Bisabolol) [86]. PGE₂ wirkt vor allem durch seine vasodilatativen Eigenschaften stimulierend auf die im Rahmen von Entzündungsreaktionen auftretende Plasmaexsudation und unterstützt so den inflammatorischen Prozess [87].

Analoge inverse Proportionalität konnte für die NO-Produktion von Makrophagen festgestellt werden. NO ist als Radikal und Bestandteil von Granulozyten und Makrophagen einerseits Teil der unspezifischen Immunantwort, andererseits ist es ein Modulator der COX-2-Aktivität, die wiederum direkt an der Prostaglandinsynthese beteiligt ist [86].

Mit dem Fokus auf die antioxidativen Wirkungen von Bisabolol konnten Braga et al. [88] feststellen, dass Bisabolol in ausreichend hoher Konzentration in der Lage ist, die ROS-Produktion von neutrophilen Granulozyten nach Stimulation durch sowohl *Candida albicans* (*C. albicans*) als auch N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin (fMLP) zu inhibieren (7,7 µg/ml und höher für *C. albicans*, 3,8 µg/ml und höher für fMLP; 1,9, 3,8, 7,7, 15,5 und 31 µg/ml getestet). *C. albicans* und fMLP, ein synthetisches bakterielles Tripeptid, wurden als Stimulantien zweier verschiedener inflammatorischer Signalwege verwendet. fMLP auf der einen Seite wirkt durch Bindung an Oberflächenrezeptoren neutrophiler Granulozyten, welche in der Folge die Proteinase C aktivieren und zu einer Superoxidanion-(O²⁻)-Ausschüttung führen. *C. albicans* auf der anderen Seite aktiviert neutrophile Granulozyten über den Komplement-Rezeptor 3 mit folgender Phagozytose und Degranulation [88, 89]. Die inhibierende Wirkung Bisabolols auf ROS wurde in jener Studie auch in zellfreien Systemen belegt. Dafür wurden ROS durch chemische Reaktionen in einem Linsidomin-(SIN-1)-Modell und einem H₂O₂/HOCl-System gebildet und durch Bisabolol in ausreichend hoher Konzentration analog zum Zellmodell (7,7 µg/ml und höher im SIN-1-Test, 3,8 µg/ml und höher im H₂O₂/HOCl-Test) inhibiert [88].

Kim et al. [86] zeigten, dass Bisabolol die wichtigen pro-inflammatorischen Transkriptionsfaktoren (bzw. deren Aktivierung) NF-κB und AP-1 hemmt. NF-κB und AP-1 sind neben der Transkription zentraler pro-inflammatorischer Moleküle (z.B. Zytokine: IL-1, IL-6, TNF-α; Chemokine: IL-8, MCP-1; Adhäsionsmoleküle: VCAM-1, ICAM-1) an der Regulation der Expression von iNOS (NO-Synthase in Makrophagen) und COX-2 beteiligt [86, 90]. Es konnte gezeigt werden, dass die Expression von COX-2- und iNOS-Proteinen unter Bisabololtherapie verringert ist. Die Hemmung der Transkriptionsfaktoren NFκB und AP-1 basiert einerseits auf einer Suppression der Aktivierung der AP-1- und NF-κB-Promotoren. Andererseits werden zwei der drei zentralen Signalwege, die AP-1 aktivieren (ERK und p38), gehemmt. Die Aktivierung von NF-κB wird über das NF-κB-Inhibitorprotein IκBα gehemmt: Die Phosphorylierung von IκBα, dessen inhibitorische Wirkung durch Phosphorylierung aufgehoben wird, wird inhibiert.

1.5.2. Zelluläre Ebene

Neben den Effekten auf inflammatorische Moleküle beeinflusst Bisabolol den Entzündungsprozess auch auf zellulärer Ebene. Ein inhibitorischer Effekt von Bisabolol auf T-Zellen konnte im Zellkulturmodell demonstriert werden [76]. Um eine Proliferation von T-Zellen zu induzieren, benutzten die Wissenschaftler Phytohämagglutinin (PHA), ein Lektin, das die Zellteilung von T-Zellen anregt [91, 92]. Sie konnten zeigen, dass Bisabolol die PHA-induzierte Proliferation der T-Zellen hemmt (von 45% auf 6% Proliferation). Der Effekt war stärker als der Effekt der Positivkontrolle, des Glucocorticoids Betamethason (45% auf 14% Proliferation), ein anti-inflammatorisches und immunsuppressives Medikament mit breitem Anwendungsbereich [76].

Eine weitere hemmende Wirkung übt Bisabolol auf die Migration von Leukozyten, insbesondere von neutrophilen Granulozyten, aus. Nach Induktion einer Entzündung wurde die Anzahl an Leukozyten am Entzündungsherd unter Bisabololeinfluss um die Hälfte reduziert. Da auch die Gesamtproteinlevel am Entzündungsherd unter Bisabololwirkung signifikant verringert waren (38% niedriger als Placebo), liegt eine geringere vaskuläre Permeabilität als Ursache nahe. Neutrophile Granulozyten werden in ihrer Funktion auch direkt über eine Blockierung der Myeloperoxidase-Freisetzung gehemmt [15]. Die Myeloperoxidase ist ein pro-inflammatorisches Enzym neutrophiler Granulozyten, das vor allem über die Produktion von antimikrobiellen Oxidanzien (z.B. hypochlorige Säure) wirkt [93]. Diese Ergebnisse zeigen, dass Bisabolol sowohl in die angeborene zelluläre Immunantwort (neutrophile Granulozyten), als auch in die erworbene zelluläre Immunantwort (T-Zellen) inhibitorisch auf mehreren Ebenen (Hemmung der Migration einerseits, direkte Hemmung der Mitose/ Degranulation andererseits) eingreift.

1.5.3. In vivo Studien

Werden Kosmetika oder Arzneimittel auf gereizte Haut appliziert, gibt es etablierte, nicht-invasive Parameter, die deren Wirkung objektiv beschreiben. So können Rötung, Schwellung und Überwärmung den zeitlichen Verlauf von Entzündungsreaktionen objektiv erfassen. TEWL und SC Hydration können die Funktionalität der Haut in Bezug auf die Regulation des systemischen Wasserhaushaltes abbilden. Juckreiz-, sowie Brenn- und Schmerzempfindungen sind aufgrund ihrer hohen Prävalenz bei Hauterkrankungen wichtige subjektive Parameter. Diese Parameter sollten für jede Substanz, die aus kosmetischen und/oder therapeutischen Gründen auf der Haut angewendet wird, erforscht werden, um die

Sicherheit dieser Produkte zu gewährleisten. Betrachtet man die Forschung zu Bisabolol, findet man, dass in Studien mit nicht-invasiver Messmethodik lediglich die Ödembildung – als einziger Repräsentant der Entzündungsreaktion – und der Juckreiz als Zielgrößen gewählt wurden, um die Wirkung von Bisabolol auf die Haut zu erfassen.

Bei allen in vivo Studien zur anti-inflammatorischen Wirkung von Bisabolol handelt es sich um Tierversuche. Am Menschen ist die seit der Antike angenommene anti-inflammatorische Wirkung von Bisabolol bzw. der Kamille noch nicht untersucht worden. In den Tierversuchen zeigt sich, dass Bisabolol, vor der Induktion der Entzündungsreaktion appliziert, in der Lage ist, die Ödembildung zu hemmen [15, 85, 94]. Dies gilt jedoch nur eingeschränkt, da dieser Effekt in Abhängigkeit von dem Induktor der Entzündung zu stehen scheint. In ausreichender Dosierung inhibiert Bisabolol durch PMA (Phorbol-12-myristat-13-acetat) [94], Dextran, Serotonin, Carrageen [9, 15], Crotonöl, Arachidonsäure und Phenol [85], nicht jedoch durch Capsaicin [85] und Histamin [15] induzierte Ödeme.

Die Konzentration von Bisabolol kann gleichermaßen dafür entscheidend sein, ob es die Entstehung eines Ödems hemmen oder reduzieren kann oder ob es wirkungslos bleibt. Diese Abhängigkeit von Konzentration und Effektstärke stellt sich aber nicht als lineare Dosis-Wirkungsbeziehung dar. In einigen Versuchen wirkt nur das höher dosierte Bisabolol (5 µg/ml wirkungslos; 10 µg/ml statistisch nicht signifikante Ödeminhibition; 25, 50 und 100 µg/ml signifikante Ödeminhibition) [15]. In der Studie von Leite et al. wirkt abhängig vom Auslöser der Entzündung das niedriger oder das höher dosierte Bisabololgemisch effektiver: Bei Entzündungsinduktion mit Crotonöl wirkt nur das niedriger dosierte Bisabolol (35 µg/µl), bei Induktion mit Phenol wirken beide Konzentrationen (35 und 70 µg/µl), das höher dosierte Gemisch jedoch effektiver [85]. Abschließend ist festzustellen, dass die anti-inflammatorische Wirkung von Bisabolol im Tierversuch nur eingeschränkt, nämlich in Abhängigkeit von der Bisabololkonzentration und dem Induktor der Inflammation, gezeigt werden kann. Tabelle 1 zeigt zusammenfassend die Ergebnisse der Studien, in denen die Wirkung von Bisabolol auf Ödemausbildung untersucht wurde.

Tabelle 1: Vergleich der Studien, die die Wirkung von Bisabolol auf Ödemausbildung untersuchten

	Rocha et al. [15]	Leite et al. [85]	Couteau et al. [94]
Kohorte	8 männliche Mäuse/ Gruppe	8 männliche Mäuse/ Gruppe	5 männliche Mäuse/ Gruppe
Induktor der Entzündung; Lokalisation	Carrageenan (Cg), Dextran (Dx), Histamin (HIS) und Serotonin (5-HT); Hinterpfote	Arachidonsäure (AS), Crotonöl (Cö), Capsaicin (CAP) und Phenol (Ph); rechtes Ohr	PMA; Ohren
Bisabolol-Konzentration	50, 100, 200 mg/ml (5, 10, 20%)	35, 70 mg/ml (3,5, 7%)	1 mg/ml (0,1%)
Effekt/Signifikanz	(50/100/200mg/ml) Cg: k.E./** Dx: -/** HIS: -/k.E./k.E. 5-HT: -/k.E./*	(35/70mg/ml) AS: **/** Cö: */k.E. Ph: **/ CAP: k.E./k.E.	kein Signifikanzniveau angegeben. Relativer Wert: 68% Inhibition des Ödems (Referenzwert: Placebo)
Ergebnisse	Bisabolol inhibiert in ausreichend hoher Dosierung Cg-, Dx- und 5-HT-induzierte Ödeme, nicht jedoch HIS-induzierte	Bisabolol inhibiert in bestimmten Konzentrationen AS-, Cö- und Ph-induzierte Ödeme, nicht jedoch CAP-induzierte	Bisabolol scheint PMA induzierte Ödeme zu inhibieren
Bewertung	<ul style="list-style-type: none"> - Keine Randomisierung, kein Gruppenvergleich (Verum / Placebo) - Keine Verblindung bei Statistik - Keine Beschreibung des Placebos - Zeitpunkt der Bisabololinjektion nicht angegeben 	<ul style="list-style-type: none"> - Keine Randomisierung, kein Gruppenvergleich (Verum / Placebo) - Keine Verblindung bei Statistik 	<ul style="list-style-type: none"> - Keine Randomisierung, kein Gruppenvergleich (Verum / Placebo) - Keine Verblindung bei Statistik - Ergebnisse schwer nachvollziehbar (nur relativ zum Placebo angegeben) - Kleine Kohorten (n=5) - Keine Angaben zur Signifikanz

k.E.: kein Effekt; *p<0,05; **p<0,01; -: nicht getestet

Juckreizempfindung ist die einzige Zielgröße, für die der Effekt von isoliertem Bisabolol am Menschen untersucht wurde. Die Datenlage dazu ist dennoch unzureichend. Es findet sich lediglich eine Arbeit, in der die Behandlung mit reinem Bisabolol eine Vergleichsgruppe zu einem Heparin-Bisabolol-Kombinationsprodukt bei Patienten und Patientinnen mit atopischem Ekzem darstellt [12]. Da das Augenmerk dieser Studie jedoch darauf lag, die Überlegenheit des Kombinationspräparates gegenüber den einzelnen Stoffen zu beweisen, wurden keine statistischen Tests durchgeführt, die das reine Bisabololpräparat mit dem

Placebo verglichen. Ohne Aussagen über statistische Signifikanz treffen zu können, lässt sich aber anhand der dokumentierten Werte eine größere Reduktion des subjektiv empfundenen Juckreizes in der Bisabololgruppe (von 43,9 auf 30,7mm auf der VAS innerhalb von 8 Wochen) gegenüber der Placebogruppe (keine Reduktion) erkennen [12]. Die Aussagekraft dieser Studie ist aber kritisch zu diskutieren. Zwischen den Gruppen gibt es teilweise große Unterschiede (z.B. Anteil 0-6-Jähriger 5,0% in Bisabololgruppe, 12,2% in Kontrollgruppe) und besonders die Baseline-Werte der Juckreizempfindung sind so unterschiedlich (59,4mm VAS in Verumgruppe, 37,9mm VAS in Kontrollgruppe), dass sich die verschiedenen Gruppen eingeschränkt vergleichen lassen. Der juckreizlindernde Effekt von Bisabolol muss daher als nicht hinreichend untersucht beurteilt werden.

1.5.4. Zusammenfassung des aktuellen Forschungsstandes

Bisabolol wirkt auf die Immunantwort durch direkte Hemmung von Migration und Funktion von Immunzellen sowie durch Beeinflussung der Freisetzung und Gentranskription zentraler Zytokine. Zusammenfassend lässt sich über den Forschungsstand sagen, dass auf molekularer und zellulärer Ebene mehrere Mechanismen erforscht wurden, die die postulierten Effekte von Bisabolol erklären können. In Bezug auf in vivo Studien besteht dagegen Forschungsbedarf, da hier keine Studien vorliegen, die die Effekte von Bisabolol auf objektive Parameter wie z.B. die Barrierschädigung untersuchen. Forschungsbedarf besteht insbesondere in Bezug auf Studien am Menschen. In diesem Bereich gibt es zu keinem der oben beschriebenen Hautparameter valide Untersuchungen, da es sich hier bei allen in vivo Studien um Tierversuche handelt. Die einzige Studie, die den Effekt von Bisabolol auf Juckreizempfindung am Menschen untersucht, ist aufgrund methodischer Mängel nicht klar zu bewerten. Dieses Defizit an evidenzbasiertem Wissen über die Bisabololwirkung muss vor dem Hintergrund der Menge an freiverkäuflichen Produkten, die Bisabolol enthalten, kritisch hinterfragt werden.

1.6. Fragestellung und Hypothesen

Um die Wirkung von Bisabolol am Menschen zu beschreiben, wurde für diese Studie ein klinisches Setting mit gesunden Probanden und Probandinnen und einheitlich induzierter Barrierschädigung ausgewählt. Folgenden Fragestellungen sollte in dieser Arbeit nachgegangen werden.

Primäre Zielgröße:

1. Welchen Effekt hat topisch appliziertes Bisabolol auf den hautphysiologischen Parameter der Barrierefunktion, gemessen durch den transepidermalen Wasserverlust, nach induzierter Barrierschädigung?

Sekundäre Zielgrößen:

2. Welchen Effekt hat topisch appliziertes Bisabolol auf die Hydratation der Haut nach induzierter Barrierschädigung?
3. Welchen Effekt hat topisch appliziertes Bisabolol auf die Erythemausbildung als Entzündungsparameter nach Hautirritation?
4. Welchen Effekt hat topisch appliziertes Bisabolol auf die Juckreizempfindung nach induziertem Juckreiz auf durch Tape Stripping vorgeschädigte Haut?

Auf Grund des in 1.5. beschriebenen Forschungsstandes sollen folgende Hypothesen untersucht werden:

1. Bisabolol wirkt sich positiv auf die Barrierefunktion der Haut aus und verringert den gesteigerten transepidermalen Wasserverlust nach induzierter Barrierschädigung besser als Placebo.
2. Bisabolol beschleunigt die Rehydratation der Haut nach induzierter Barrierschädigung im Vergleich zu Placebo.
3. Bisabolol hemmt die Erythemausbildung nach induzierter Barrierschädigung im Vergleich zu Placebo.
4. Bisabolol verringert die Intensität und Dauer des empfundenen Juckreizes nach induziertem Juckreiz auf vorgeschädigter Haut im Vergleich zu Placebo in unterschiedlichen Juckreizmodellen:
 - a. im Histamin-Modell
 - b. im Cowhage-Modell
 - c. im Capsaicin-Modell

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

2.1.1. Versuchsaufbau

In dieser Studie wurde bei gesunden Probanden und Probandinnen eine mechanische Hautschädigung mit der Tesafilmabrissmethode an den Innenseiten beider Unterarme induziert. Ein Arm wurde daraufhin über eine Zeit von 48 Stunden insgesamt viermal (direkt, drei, 24 und 48 Stunden nach Tesafilmabriss) mit dem untersuchten Wirkstoff, Bisabolol, behandelt, der andere mit Placebo (Paraffinöl). Zu fünf Zeitpunkten innerhalb dieser Zeitspanne wurden die Arme in Hinblick auf die Veränderung verschiedener Hautparameter, die den Heilungsprozess repräsentierten, miteinander verglichen. Als primärer Parameter für die Regeneration der Haut diente der transepidermale Wasserverlust. Außerdem wurden Hydratation der Haut und die Intensität des Erythems gemessen. Die Schmerz- und Brennpfindung wurde als subjektiver Parameter erfasst und mithilfe einer visuellen Analogskala (VAS) dokumentiert.

All diese Parameter wurden direkt vor der Hautirritation gemessen, direkt danach sowie nach drei, 24 und 48 Stunden. Die Zeit von drei Stunden stellt die Zeitdauer dar, die empfohlen wird, um frühe Effekte auf den transepidermalen Wasserverlust zu erfassen [30].

Bei der letzten Visite wurde nach der Messung oben genannter Parameter noch eine Juckreizprüfung durchgeführt, im Rahmen derer aufeinanderfolgend drei verschiedene Juckreiz-induzierende Substanzen (Histamin, Capsaicin, Juckbohne) auf beiden Armen auf dem irritierten Hautareal appliziert wurden. Für jede Substanz wurde nach Applikation über einen Zeitraum von 20 Minuten die Intensität des Juckreizes erfasst sowie nach Ablauf dieser Zeit auf den entsprechenden Stellen der transepidermale Wasserverlust, die Hydratation und das Erythem gemessen. So sollte ein möglicher Effekt von Bisabolol auf Juckreizempfindung gezeigt werden.

Abb. 2 zeigt den Versuchsaufbau schematisch an einem Zeitstrahl.

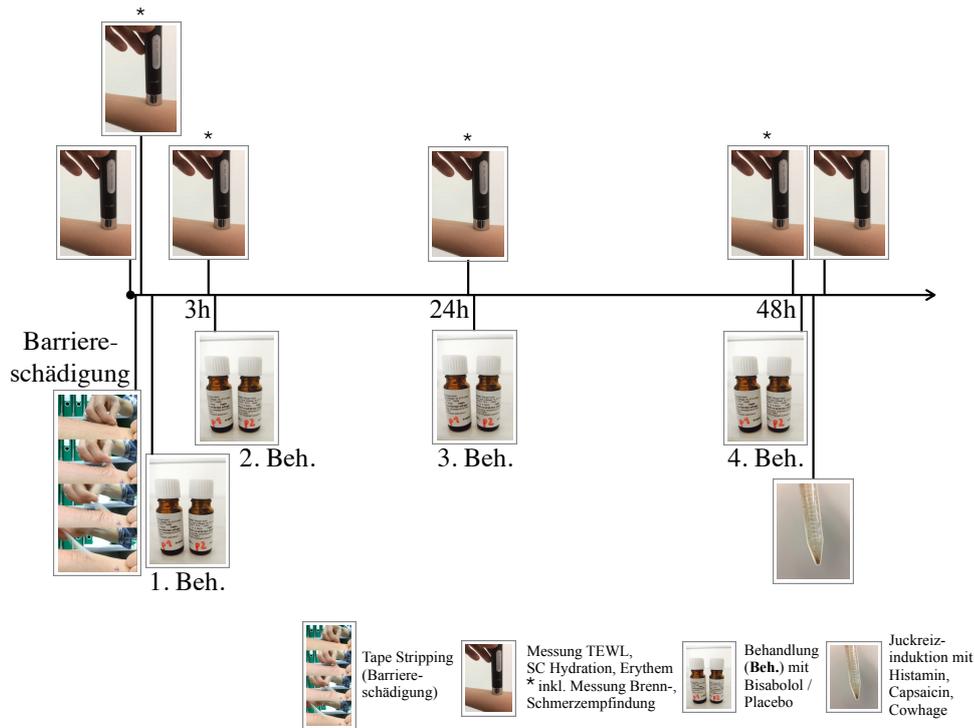


Abb. 2. Versuchsaufbau

2.1.2. Kontrolle

In dieser Placebo-kontrollierten Studie erhielt jeder Proband und jede Probandin sowohl das Verum (Bisabolol) als auch das Placebo. Jeweils eines dieser beiden Öle wurde auf die Innenseite eines Unterarms aufgetragen. Durch Baseline-Messungen zum Anfang der Studie wurde sichergestellt, dass sich die beiden Arme in Bezug auf die untersuchten Hautparameter nicht unterschieden. Durch diese Methode ließ sich eine optimale Vergleichbarkeit der Behandlungen erreichen, da beide Interventionen an denselben Individuen durchgeführt wurden.

2.1.3. Randomisierung und Verblindung

Die Erhebung der Daten erfolgte randomisiert und dreifach verblindet. Hierfür wurde für beide Präparate (Verum und Placebo) die gleiche, ölige Konsistenz gewählt.

Jeweils zwei identische Glasflaschen wurden von einer in der Studie nicht involvierten Fachkraft jeweils mit der Probandennummer und entweder der Bezeichnung „p1“ (für den rechten Arm) oder „p2“ (für den linken Arm) beschriftet. Die Grundlage dieser Beschriftung stellte eine Randomisierungsliste dar, die die Präparate (Bisabolol/ Placebo) randomisiert jeweils einem Arm (rechts bzw. „p1“/ links bzw. „p2“) zuteilte. Für diese Zuteilung wurde das Programm Research Randomizer verwendet. Diese Liste war dem Versuchsleiter bis zum

Abschluss der Dateneingabe und statistischen Auswertung nicht zugänglich. So wurde sichergestellt, dass der Versuchsleiter genauso wenig wie die Probanden und Probandinnen in der Lage war, Bisabolol von dem Placebo zu unterscheiden.

Die zufällige Verteilung auf den linken bzw. rechten Arm ist von Bedeutung, da einige Autoren feststellen konnten, dass der transepidermale Wasserverlust auf dem dominanten Arm signifikant höher ist als auf dem nicht dominanten Arm [95]. Andere Autoren konnten dieses Phänomen nicht beobachten [96].

Für die Juckreizprüfungen wurde ebenfalls eine Randomisierung durchgeführt. Es wurden drei Stoffe getestet, die jeweils an einer von drei Stellen auf den irritierten Hautarealen appliziert wurden. Die Zuteilung der jeweiligen Juckreizinduktoren an jeweils eine dieser drei Stellen auf beiden Armen wurde für jeden Probanden und jede Probandin randomisiert.

Bis zum Abschluss der Datensammlung und -eingabe war der Datensatz in die Gruppen „p1“ (rechter Arm) und „p2“ (linker Arm) gegliedert. Für die statistische Auswertung wurden die Werte anhand der Randomisierungsliste umgruppiert und gemäß der Behandlung (Bisabolol/Placebo) sortiert. An dieser Umgruppierung war der Statistiker nicht beteiligt, der weiterhin verblindet blieb. Die neuen Gruppen wurden mit den Buchstaben „A“ (Placebo) und „B“ (Bisabolol) verschlüsselt, sodass der Statistiker nicht einsehen konnte, welche dieser beiden Gruppen das Verum und welche das Placebo erhalten hatte (dreifache Verblindung).

2.1.4. Studienzentrum und -zeitpunkt

Alle Messungen und Interventionen an den Probanden und Probandinnen wurden in einem klimatisierten Raum der Klinik für Dermatologie und Allergologie am Campus Charité Mitte durchgeführt. Um Verfälschungen der Messwerte, wie sie beispielsweise durch Schwitzen auftreten können [97], vorzubeugen, wurde die Temperatur in diesem Raum konstant auf 22° Celsius gehalten. Dieser Wert wird von der EEMCO (*European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Products*) in den Leitlinien zur Messung des transepidermalen Wasserverlustes und der SC Hydration empfohlen [98, 99].

Da in Studien gezeigt werden konnte, dass Hautparameter wie der transepidermale Wasserverlust, Hydration des Stratum Corneum und Blutfluss (und damit einhergehend das Erythem) circadianen, rhythmischen Schwankungen unterliegen [100-102], wurden Termine mit den Probanden und Probandinnen ausschließlich morgens und zur Mittagszeit vereinbart. So wurde Verfälschungen vorgebeugt, wie sie beispielsweise durch die abends und nachts erhöhten Werte des transepidermalen Wasserverlusts auftreten können [97, 101]. Diese circadianen Schwankungen konnten nicht in allen Studien gezeigt werden [103].

2.1.5. Dokumentation

Alle Daten eines jeweiligen Probanden oder einer jeweiligen Probandin, die während der Studie erhoben wurden, wurden in einem Datenerhebungsformular (Case Report Form, CRF; siehe Anhang I) gemäß der Beschreibungen im Studienprotokoll dokumentiert. Jeder Proband und jede Probandin erhielt auf diesen Formularen eine spezifische Probandennummer, die seine oder ihre Person über den gesamten Verlauf der Studie repräsentierte, um die Anonymität der Probanden und Probandinnen zu gewährleisten. Die Dokumentation wurde so geplant und durchgeführt, dass es im Nachhinein ohne Probleme möglich ist anhand der Dokumentationen und dem Studienprotokoll den Verlauf der Studie nachzuvollziehen.

Alle Probanden und Probandinnen dieser Studie wurden in schriftlicher und mündlicher Form in verständlicher und vollständiger Art und Weise über die Signifikanz, das Wesen, die Ausmaße und die möglichen Risiken und Nebenwirkungen der Studie aufgeklärt. Hierfür wurde jedem Probanden und jeder Probandin im Vorhinein ein detailliertes Formular zur Probandeninformation ausgehändigt. Außerdem wurde jedem Probanden und jeder Probandin vor Beginn der Studienprozeduren im Rahmen einer zusätzlichen mündlichen Aufklärung und einer spezifischen Informationsvermittlung ausreichend Zeit und Gelegenheit gegeben, bestehende Fragen zu stellen und zu klären. Eine danach jeweils von dem Probanden oder der Probandin und von dem Studienleiter unterschriebene Einwilligungserklärung wurde zusammen mit dem CRF in dem Studienordner abgeheftet.

Die CRFs wurden einheitlich mit dem Titel der Studie, der Nummer der Visite, Zeit und Datum beschriftet. Studiendokumente werden im Archiv der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin für mindestens 15 Jahre aufbewahrt.

2.1.6. Votum der Ethikkommission

Für diese Studie wurde unter der Antragsnummer EA1/149/14 ein Antrag auf Beratung durch die Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin gestellt. Da Bisabolol in erster Linie als Bestandteil von Kosmetika verwendet wird, wurde diese Studie als medizinisch-wissenschaftliches Vorhaben geprüft, das nicht die klinische Prüfung eines Arzneimittels oder Medizinproduktes beinhaltet. Nach Vorlage der Probandeninformation, der Einwilligungserklärung, des Studienprotokolls und von Publikationen stimmte die Ethikkommission der geplanten Art und Weise der Durchführung dieser Studie zu (siehe Anhang III).

2.2. Barrierschädigung/ Hautirritation

Als Methode zur Induktion einer lokalisierten Hautirritation wurde die Tesafilmabrissmethode gewählt (Abb. 3). In dieser Studie wurden dazu abgemessene, 16 x 5cm große, hypoallergene, medizinische Klebebandstreifen der Firma 3M™ benutzt (3M™ Blenderm™ Surgical Tape). Dieses Tape wurde auch von Dickel et al. verwendet, die eine standardisierte Methode des Tesafilmabrisses erarbeiteten, die zu einer einheitlichen, reproduzierbaren Barrierschädigung führt [36, 104].

Bei der Tape Stripping Methode sind extrinsische und intrinsische Faktoren zu beachten, die beeinflussen, wie viele Kerneozyten pro abgezogenen Klebestreifen entfernt werden [37]. Zu den intrinsischen Faktoren zählen beispielsweise ethnische Herkunft, Hauttyp und Alter. Der Einfluss dieser Faktoren wurde durch die Probanden- und Probandinnenauswahl zu minimieren versucht (einheitliche ethnische Herkunft, definierte Hauttypen, geringe Altersspanne; siehe auch 2.5. Population). Zu den extrinsischen Faktoren zählen die Art des benutzten Tapes, vorher auf der Haut applizierte Stoffe und die Art und Weise des Tape Strippings (Dauer der Druckausübung, ausgeübte Kraft beim Abreißen) [37]. Deswegen wurde das Tape Stripping nach standardisierter Methodik durchgeführt [105]:

Die Streifen wurden auf einen im Vorfeld auf der Haut markierten, entsprechend großen Bereich auf der Innenseite des Unterarms aufgeklebt. Dieses Areal ist geeignet, da es eben und bei den meisten Menschen haarlos ist. Im Falle von Unterarmbehaarung wurden die Haare vor der Messung wie von Lademann et al. empfohlen vorsichtig mit einer Schere entfernt [37]. Dabei wurde darauf geachtet, die oberflächlichsten Schichten des Stratum Corneum nicht schon vor dem standardisierten Procedere zur Barrierschädigung (Tape Stripping) zu beschädigen. Gemäß der von Dickel et al. standardisierten Methodik wurden die Tesafilmstreifen mit den Fingerspitzen für zwei Sekunden mit konstanter Kraft auf die Haut gedrückt, bis sie ebenmäßig an der Haut hafteten. Dann wurden sie in einer gleichmäßigen, schnellen Bewegung und einem Winkel von 45° (siehe Abb. 3, unterstes Bild) abgerissen [104]. Der Vorgang wurde für jeden Arm an der identischen Stelle jeweils 25 Mal wiederholt (sequentielles Tape Stripping). Durch genaues Einhalten des Standardverfahrens konnte vermieden werden, dass signifikante Differenzen durch unterschiedliche Arten der Durchführung entstanden [105].

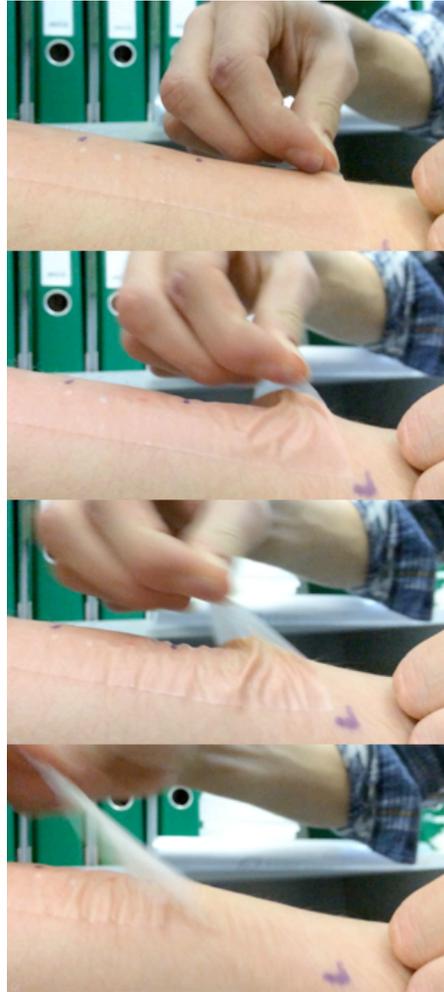


Abb. 3. Tesafilmabrissmethode (Tape Stripping)

2.3. Messung der Parameter

Um auch geringe Änderungen der Parameter des transepidermalen Wasserverlusts, Erythems und der Hydratation des Stratum Corneum erfassen zu können, wurden objektive, nicht-invasive Messverfahren dieser Zielgrößen für diese Studie eingesetzt.

Je nach Methode der Hautirritation gibt es unterschiedliche Messgeräte und –methoden, die die Veränderungen in der Haut nach Irritation am präzisesten darstellen („Diskriminierungsfähigkeit“) [106]. Es ist deshalb essentiell, die Auswahl der Messgeräte an das Studiendesign anzupassen. Nach Hautirritation mittels Tesafilmabrissmethode zeigte der transepidermale Wasserverlust in einer Vergleichsstudie von acht nicht-invasiven Messverfahren die beste Diskriminierungsfähigkeit. SC Hydratation und spektrophotometrisch gemessenes Erythem waren die objektiven Parameter mit den nächstbesten Werten [106].

Dementsprechend wurden Geräte verwendet, die diese drei Parameter nicht-invasiv und objektiv erfassen. Alle Messgeräte wurden an ein zentrales Basisgerät (MPA5; Abb. 4A)

angeschlossen, welches wiederum mit einem Computer mit dem Betriebssystem Microsoft Windows XP verbunden war.

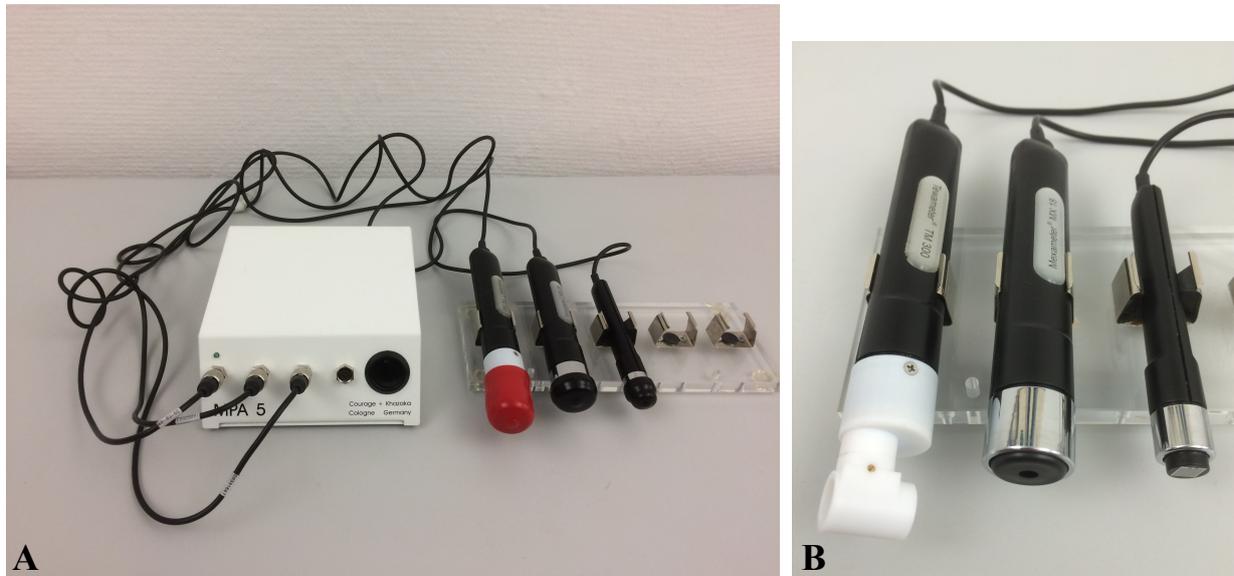


Abb. 4. A Multi Probe Adapter System (MPA), B Messgeräte v.l.n.r.: Tewameter® TM 300, Mexameter® MX 18, Corneometer® CM 825 (Courage + Khazaka electronic GmbH)

Alle Messungen an allen Probanden und Probandinnen wurden von derselben, im Vorhinein trainierten Person (Doktorand) durchgeführt.

Innerhalb des irritierten Hautareals wurde vor der Messung eine 3 x 3cm große Fläche markiert, innerhalb welcher alle Messungen durchgeführt wurden (mit Ausnahme der Messungen nach der Juckreizinduktion, siehe 2.4.).

Alle benutzten Messsonden werden wie vom Hersteller und unabhängigen Wissenschaftlern empfohlen einmal jährlich recalibriert [107]. Durch die Kalibrierüberprüfungsfunktion der benutzten Geräte wurde deren Genauigkeit in zweiwöchigen Abständen sichergestellt.

2.3.1. Transepidermaler Wasserverlust (TEWL)

Der transepidermale Wasserverlust wurde mit dem Tewameter® TM 300 gemessen (Abb. 4B). Dieses Messgerät ist mit zwei kombinierten Temperatur- und Luftfeuchtigkeitssensoren auf zwei verschiedenen Höhen innerhalb eines 20 Millimeter hohlen Zylinders mit zehn Millimeter Durchmesser ausgestattet (Abb. 5). Durch die geringe Größe des Zylinders werden Luftbewegungen darin minimiert [30]. Beide Sensoren messen die Temperatur und die relative Luftfeuchtigkeit an der jeweiligen Stelle im Zylinder, woraus jeweils der Wasserdampfdruck berechnet wird. Der Wasserdampfdruckgradient zwischen den beiden Sensoren steht in direkter Beziehung zu dem transepidermal abgegebenem Wasser an der

spezifischen Hautstelle, das aus diesem Gradienten berechnet wird [98]. Die TEWL-Werte werden in der Einheit $\text{g} / \text{h} / \text{m}^2$ angegeben und errechnen sich gemäß des Messprinzips und Fick'schen Gesetzes aus der Formel $\delta m / \delta t = -D \cdot A \cdot \delta p / \delta x$ (wobei A für die Fläche in m^2 , die Masse m für das transportierte Wasser in g, t für die Zeit in Stunden, D für die Diffusionskonstante $0.877 \text{ g} / \text{m} \text{ h}$, p für den Wasserdampfdruck der Atmosphäre in mmHg und x für den Abstand von der Haut zum Messpunkt in m steht) [41]. Abb. 5B zeigt schematisch die Messung anhand der über die Epidermis transportierten Wassermoleküle.

Die Messung wurde gemäß der EEMCO-Richtlinien zur Messung des transepidermalen Wasserverlustes durchgeführt [98]. Die aktuelleren internationalen Richtlinien zur TEWL-Messung in nicht-klinischen Settings aus dem Jahr 2013 wurden in Bezug auf Setting-unabhängige Ratschläge zusätzlich berücksichtigt [107]. Vor jeder Messung mussten sich die Probanden und Probandinnen für 15 bis 30 Minuten in Ruhe in einem Temperaturkontrollierten Raum aufhalten, um sich zu akklimatisieren. Dadurch wurde der Einfluss externer Faktoren wie Tagestemperatur oder Aktivitätslevel der Probanden und Probandinnen reduziert. Die Unterarme, auf denen gemessen wurde, waren während der Akklimatisation nicht von Kleidung bedeckt. Direkte und nahe Lichtquellen, die die Unterarme und die umgebene Luft erwärmen und einen Luftstrom erzeugen würden, wurden vermieden [108]. Zur Messung wurden die Unterarme der jeweiligen Probanden und Probandinnen in horizontaler Lage auf einen Tisch aufgelegt. Die Messsonde wurde dann senkrecht mit einem konstanten, leichten Druck auf die Messfläche auf dem jeweiligen Unterarm aufgesetzt (Abb. 5C). Ein konstanter Kontakt zwischen der Messsonde und der Haut während der Messung wurde durch den leichten Druck sichergestellt. Vor und während der Messung wurde die Messsonde nicht berührt. Die Messwerte wurden erst nach Stabilisierung des TEWL-Wertes erfasst und aufgezeichnet.

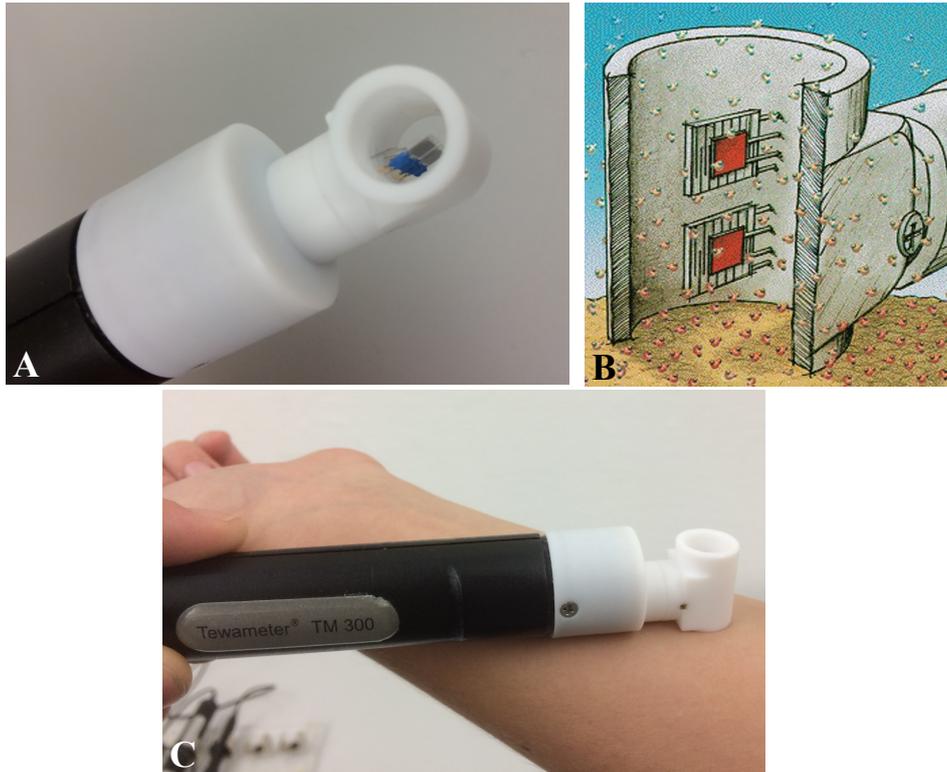


Abb. 5. Messsonde des Tewameter® TM300 (A gegenständlich; B schematisch; C Position bei Messung am Unterarm)

Bild B: <http://www.courage-khazaka.de/index.php/de/produkte/wissenschaftliche-geraete/183-tewameter-d> (am 01.03.2018)

2.3.2. Erythem

Das Erythem wurde mit dem Mexameter® MX 18 gemessen (Abb. 4B). Dieses Messgerät ist mit zirkulär angeordneten Dioden ausgestattet, die Licht drei definierter Wellenlängen aussenden: 568 nm (grün), 660 nm (rot) und 880 nm (infrarot). Ein Photosensor in der Sonde misst anschließend für die verschiedenen Wellenlängen die Lichtreflektion in einem Hautareal von fünf Millimetern Durchmesser, woraus auf das von der Haut absorbierte Licht geschlossen werden kann [109] (Abb. 6B). Im Absorptionsspektrum von Oxyhämoglobin zeigen sich Absorptionsbanden im Wellenlängenintervall von 520 bis 580 nm [110]. Bei steigender Wellenlänge sinkt die Lichtabsorption von Oxyhämoglobin drastisch, sodass im Bereich über 600 nm nur minimale Anteile des Lichts absorbiert werden. Misst man demnach die Lichtreflektion über einem Erythem (hoher absoluter Oxyhämoglobinanteil aufgrund von Vasodilatation), lässt sich feststellen, dass wesentlich mehr Licht aus dem grünen Spektrum (490 bis 570 nm) absorbiert (d.h. weniger reflektiert) wird. Die Reflektion und Absorption von Licht aus dem roten Spektrum (640 bis 780 nm) ändert sich dagegen nur geringfügig, da sehr wenig von diesem Licht vom Oxyhämoglobin absorbiert wird. Aus dem Verhältnis von

reflektiertem bzw. absorbierten roten und grünen Licht kann daher auf den Blutgehalt in den oberflächlichen Hautschichten geschlossen werden [110]. Man spricht dabei vom „Erythemindex“, aus dem das Messgerät Erythemwerte auf einer willkürlichen Skala von 0 bis 999 bestimmt. Die Werte werden in der Einheit AU (*arbitrary units*, willkürliche Einheiten) angegeben. Analog zum Messprinzip des Erythemwertes kann das Mexameter® MX 18 aus der Absorption und Reflektion des Lichtes aus dem roten und nahen infraroten Spektrum (780 bis 3000 nm) einen Melaninindex errechnen und auf den Melaningehalt der Haut schließen. In dieser Studie wurden lediglich die Erythemwerte aufgezeichnet.

Die Messung wurde gemäß der EEMCO-Richtlinien zur Messung von Hautfarbe durchgeführt [111]. Auf benachbarten Stellen innerhalb des markierten Areal wurden jeweils drei Messungen für die Bestimmung des Erythemwertes durchgeführt und der Durchschnittswert jeweils notiert. Das Messgerät wurde senkrecht auf die Haut gestellt und mit minimalem Druck stabilisiert (Abb. 6A). Eine zu hohe Druckausübung auf den Sondenkopf zählt zu den zentralen Fehlerquellen bei der Messung des Erythemwertes mit portablen, spektrophotometrischen Geräten [111]. In dem Mexameter® MX 18 ist daher eine Feder in dem Sondenkopf installiert, die für eine konstante, minimale Druckausübung auf die Haut sorgt und den Messvorgang auslöst (Abb. 6B).



Abb. 6. Messung mit dem Mexameter® MX18 (A gegenständlich am Unterarm; B schematisch)

Bild B: <http://www.courage-khazaka.de/images/MEXAPRINZdeu.jpg>

(am 01.03.2018)

2.3.3. Hydratation des Stratum Corneum

Die Hydratation des Stratum Corneum wurde mit dem Corneometer® CM 825 gemessen (Abb. 4B, Abb. 7A). Die Messung mit diesem Gerät beruht auf einem Kapazitätsprinzip, bei dem

die Messsonde als Kondensator (engl.: *capacitor*) fungiert. Sie ist mit zwei Elektroden unterschiedlicher Ladung ausgestattet, die durch die Haut (fungiert als Dielektrikum) voneinander getrennt sind. Die Elektroden erzeugen ein elektromagnetisches Feld, das die Permittivität (Dielektrizitätskonstante) des Stratum Corneum ermittelt. Basierend auf der bekannten Permittivität von Wasser, kann so von der gemessenen Permittivität des Stratum Corneum auf den Wassergehalt geschlossen werden [99, 103, 107] (Abb. 7B). Die Werte werden in relativen Einheiten (*arbitrary units*) von 0 bis 130 angegeben.

Die Messung wurde gemäß der EEMCO-Richtlinien zur Messung der Hydration des Stratum Corneum durchgeführt [99]. Die aktuelleren internationalen Richtlinien zur Stratum Corneum Hydration-Messung in nicht-klinischen Settings aus dem Jahr 2013 wurden in Bezug auf Setting-unabhängige Ratschläge zusätzlich berücksichtigt [107]. Das Messgerät wurde senkrecht auf die Haut gestellt (vgl. Abb. 6A) und der Messvorgang wurde durch kontrollierte, minimale Druckausübung ausgelöst. In dem Corneometer® CM 825 ist ebenfalls eine Feder im Sondenkopf installiert, die den Druck auf die Haut reguliert und konstant auf 3,5N hält sowie die Messung auslöst. An drei benachbarten Stellen innerhalb des markierten Hautareals wurde jeweils die SC Hydration gemessen und der Durchschnittswert wurde notiert. Zwischen den Messungen wurde jeweils fünf Sekunden gewartet, um Verfälschungen der Werte durch Okklusion vorzubeugen. Da Schmutzpartikel auf der Messsonde die Messung verfälschen können, wurde die Sonde nach jeder Messreihe gereinigt.



Abb. 7. Messsonde des Corneometer® CM 825 (A gegenständlich, B schematisch)

Bild B: <http://www.courage-khazaka.de/index.php/de/produkte/wissenschaftliche-geraete/138-corneometerde> (am 01.03.2018)

2.3.4. Subjektive Parameter

Um die subjektiven Empfindungen des Brennens und des Schmerzes bei Berührung zu erfassen, wurde eine Visuelle Analogskala von 10cm Länge verwendet.

Auf dieser Skala gaben die Probanden und Probandinnen die Stärke der entsprechenden Empfindung (Brennen, Schmerz) von 0 (keine Brenn- bzw. Schmerzempfindung) bis 10 (stärkste vorstellbare Brenn- bzw. Schmerzempfindung) an.

2.4. Juckreizprüfung

Alle drei Juckreizinduktoren, die in dieser Studie zur Evaluation des Effektes von Bisabolol auf die Juckreizempfindung benutzt wurden (Histamin, Capsaicin, Cowhage), wurden innerhalb des zu Beginn der Studie irritierten Hautareals an drei verschiedenen Stellen aufgetragen (Abb. 8). Diese drei Stellen waren so weit wie möglich voneinander entfernt, um einer gegenseitigen Beeinflussung der drei nacheinander durchgeführten Tests vorzubeugen. Die Zuordnung der Substanzen zu den drei Stellen innerhalb des Areals geschah gemäß der in 2.1.3. beschriebenen Randomisierung zufällig. Die sich daraus ergebene Anordnung (z.B. Histamin proximal, Capsaicin mittig, Cowhage distal) galt bei jedem Probanden und jeder Probandin für beide Arme, sodass sich die Anordnung zwischen dem rechten und linken Arm nie unterschied.

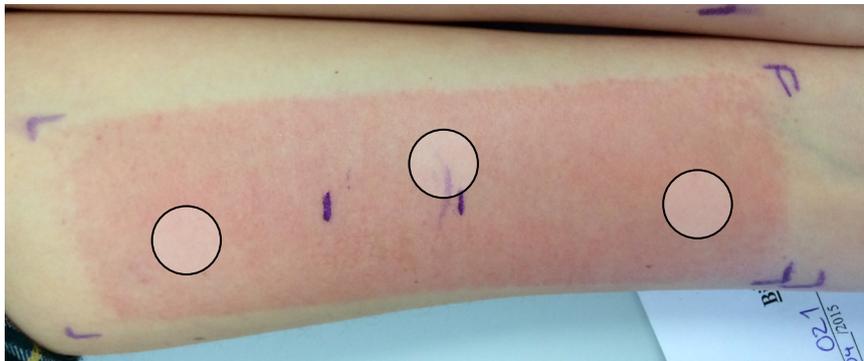


Abb. 8. Stellen für die Juckreizinduktion am Unterarm

2.4.1. Juckreizinduktion

Die Juckreizinduktion mit Histamin (1%) und Capsaicin (4%) erfolgte in Form eines Pricktests. Für die oberflächliche Verletzung der Haut innerhalb dieses Tests wurden jeweils Einmal-Lanzetten der Firma ALK-Abelló Allergie-Service GmbH aus rostfreiem Stahl mit einer normierten Spitze von 1mm verwendet, die für die Durchführung von Pricktests

produziert werden. Pricktests wurden in dieser Studie gemäß der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Allergologie und klinischen Immunologie (DGAKI) durchgeführt [112]. Dementsprechend wurde ein Tropfen des jeweiligen Stoffes mit einer Pipette auf die in der Randomisierungsliste festgelegte Stelle aufgebracht. Die drei Stellen befanden sich durch das Studiendesign bedingt auf den Innenseiten der Unterarme, auf denen die Durchführung von Pricktests empfohlen wird [57]. Mit der Lanzette wurde die Haut senkrecht durch den aufgetragenen Tropfen hindurch mit leichtem Druck oberflächlich angestochen, ohne dass daraus eine Blutung resultierte. Für jeden Stich wurde in dieser Studie eine neue Lanzette verwendet, um einer Vermischung der Stoffe an der Lanzettenspitze vorzubeugen [112].

Um Juckreiz durch *Mucuna Pruriens* zu induzieren, wurden 40 manuell abgezählte Härchen der Pflanze auf die entsprechende Stelle gelegt. Diese wurden im Folgenden vom Versuchsleiter mit dem Finger (latex- und puderfreie Einweghandschuhe wurden hierfür verwendet) für zehn Sekunden auf die Haut gerieben.

2.4.2. Erfassung der Juckreizempfindung

Um die Juckreizempfindung auf eine Weise zu quantifizieren, die einen Vergleich ermöglichte, wurde eine Visuelle Analog Skala (VAS) von 10cm Länge verwendet. Auf dieser gaben die Probanden und Probandinnen über einen Zeitraum von 20 Minuten zu jeder vollen Minute die Intensität des empfundenen Juckreizes an. Die Skalen boten Optionen von 0 (gar kein Juckreiz) bis 10 (stärkster vorstellbarer Juckreiz). Aus den maximal 21 angegebenen Werten (Minute 0 bis 20) ließ sich nach Durchführung der Tests eine Kurve anfertigen, die den Verlauf der Juckreizempfindung vom Zeitpunkt der Applikation des Juckreiz-induzierenden Agens bis zum Ende des Tests nach 20 Minuten darstellte.

Für die statistische Auswertung wurden folgende zwei Parameter verwendet: Zum einen die Gesamtdauer, die der Juckreiz anhielt, und zum anderen der maximal empfundene Juckreiz, also der höchste Wert auf der VAS [113, 114].

2.4.3. Objektive Messung der Hautantwort auf die Juckreizinduktion

Neben den subjektiven Werten der Juckreizempfindung sollten auch objektive Werte die Reaktion der Haut auf die Juckreizinduktion quantifizieren. Dafür wurden auf den jeweiligen Hautarealen, auf denen Histamin, Capsaicin und Spiculae der *Mucuna Pruriens* aufgetragen wurden, nach Ablauf der 20 Minuten Messungen des transepidermalen Wasserverlusts, der SC Hydratation und des Erythems durchgeführt.

2.5. Population

2.5.1. Einschlusskriterien

Alter, Geschlecht und ethnische Zugehörigkeit der Probanden und Probandinnen haben Auswirkungen auf die Hautfunktion und biophysikalische Eigenschaften der Haut. So sinkt die Hydratation des Stratum Corneum gleichmäßig mit Zunahme des Alters [107]. In gealterter Haut findet sich zudem eine ungleichmäßigere Verteilung der Hauthydratation und geringere Werte für den transepidermalen Wasserverlust, die auf einer Zunahme der Größe von Korneozyten beruhen [97]. Diesen zwei Parametern kommt in dieser Studie große Bedeutung zu. Außerdem lässt die mechanische Funktion der Haut mit dem Alter nach [97]. Da das Tape Stripping eine mechanische Belastung für die Haut darstellt, kann vermutet werden, dass das Alter auch starke Auswirkungen auf die Effektstärke des Tape Strippings hat. Aus diesem Grund wurde für die Studienpopulation dieser Studie eine relativ schmale Altersspanne von 18 bis 29 Jahren gewählt.

In Bezug auf ethnische Gruppen wurden lediglich hellhäutige Europäer (engl.: *caucasians*) mit Hauttyp II oder III nach Thomas B. Fitzpatrick in diese Studie eingeschlossen [115]. Menschen mit dem Hauttyp II zeichnen sich durch helle Haut und Augen sowie blonde Haare aus, den Hauttyp III kennzeichnen hellbraune Haut und Haare sowie helle oder braune Augen. Dieses Einschlusskriterium ist bedeutsam, da stark pigmentierte Haut im Vergleich zu heller Haut eine resistenterere und nach Irritation schneller heilende Barriere darstellt [116].

2.5.2. Ausschlusskriterien

Waren auf der Innenseite der Unterarme Hauterkrankungen oder –verletzungen, Narben oder Tattoos zu sehen, wurden die Probanden und Probandinnen aus dieser Studie ausgeschlossen. Ein vorhandenes atopisches Ekzem oder ein atopisches Ekzem in der medizinischen Vorgeschichte galten außerdem als Ausschlusskriterien. Denn bei Menschen mit atopischem Ekzem konnten auch auf Ekzem-freier, äußerlich gesunder Haut höhere TEWL-Werte festgestellt werden [98]. Um eine eventuelle Veranlagung einer atopischen Diathese festzustellen, wurde der Erlangen Atopie Score erfasst [117]. Mit diesem Scoring-System lässt sich basierend auf anamnestischen Angaben und klinischen Symptomen die Wahrscheinlichkeit einer atopischen Diathese diagnostizieren (siehe Anhang II).

Körperliche Betätigung beeinflusst die Blutzirkulation und besonders die Durchblutung der Haut, was sich wiederum auf die mit dem Mexameter gemessenen Erythem-Werte auswirkt. Probanden und Probandinnen dieser Studie durften deshalb mindestens vier Stunden vor jeder

Messung keinen Sport treiben. Dementsprechend durften die Probanden und Probandinnen nicht unter dem Einfluss vasoaktiver Substanzen stehen. Exzessiver Konsum von Alkohol, Tabak oder Drogen war mit der Teilnahme an dieser Studie deshalb nicht vereinbar. Ebenfalls durften diese Substanzen mindestens vier Stunden vor jeder Messung nicht konsumiert werden [111]. Da Koffein über eine Stimulation des autonomen Nervensystems gleichermaßen direkten Einfluss auf die Durchblutung der Haut hat [118], durfte innerhalb von vier Stunden vor einer Messung kein Koffein konsumiert werden.

Um die subjektiven Parameter der Juckreiz- und Schmerzempfindung sowie einige der objektiv gemessenen Parameter nicht zu beeinflussen, war die Einnahme von folgenden Medikamenten vor und während der Studie nicht gestattet: Antihistaminika, Ketotifen und nicht-steroidale Antirheumatika (NSARs wie Acetylsalicylsäure, Ibuprofen, Diclofenac) oder Analgetika durften mindestens drei Tage vor der ersten Messung nicht eingenommen worden sein. Topisch angewendete Antihistaminika oder topisch angewendete Corticosteroide oder Mastzell-Stabilisatoren durften mindestens sieben Tage vor der ersten Messung nicht aufgetragen worden sein. Antidepressiva sowie orale Corticosteroide durften 14 Tage vor der ersten Messung nicht eingenommen worden sein. Alle oben genannten Medikamente durften während der Studie nicht benutzt werden.

Probanden oder Probandinnen mit Symptomen einer klinisch signifikanten Erkrankung, die die Ergebnisse der Studie beeinflussen hätten können, oder systemischen Zeichen einer Infektion wurden aus dieser Studie ebenfalls ausgeschlossen. Wurde in der medizinischen Vorgeschichte eine Hypersensitivität gegenüber Kamille oder Bisabolol festgestellt, führte dies zum Ausschluss aus der Studie. Ebenso wurde eine intensive UV-Exposition innerhalb von drei Wochen vor der ersten Messung als Ausschlusskriterium behandelt. Da in dieser Studie auch subjektive Parameter ausgewertet wurden, führten neurologische Erkrankungen oder Ausfallserscheinungen mit Paresen, sensorischen Beeinträchtigungen oder autonomer Dysfunktion zum Ausschluss aus dieser Studie. Eine gleichzeitige Teilnahme an einer weiteren klinischen Interventionsstudie war für die Probanden und Probandinnen dieser Studie nicht zulässig. Gerichtlich oder behördlich untergebrachte Menschen durften nicht an dieser Studie teilnehmen.

2.5.3. Einschränkungen während der Studie

Um zusätzliche Irritationen der Haut zu vermeiden, mussten intensive UV-Expositionen während des Studienzeitraumes vermieden werden. Sonnenbaden, sowie der Gebrauch von Sauna oder Solarium waren während der Studie nicht erlaubt. Kurzes Duschen ohne Duschgel

war erlaubt, das Benutzen jeglicher kosmetischer oder anderer topischer Produkte für die Haut war während der Studie jedoch nicht gestattet.

2.6. Studienpräparate und Applikation

2.6.1. Bisabolol

Das Verum wurde von der Robugen GmbH Pharmazeutische Fabrik hergestellt. Es bestand zu 98% aus natürlichem (-)- α -Bisabolol, dem untersuchten Wirkstoff. Die restlichen 2% bestanden aus einem Gemisch aus β -Bisabolen, cis- γ -Bisabolen und trans- γ -Bisabolen. Weitere Inhaltsstoffe waren nicht enthalten.

Das Studienpräparat wurde in 40 kleinen Glasflaschen geliefert, die bei Raumtemperatur gelagert wurden. Jedem Probanden und jeder Probandin wurde eine Glasflasche zugeordnet. Pro Behandlung wurden 0,25 ml, also fünf Tropfen, auf das irritierte Hautareal aufgetragen und dann vom Versuchsleiter 15 Sekunden lang auf die 16 x 5cm große, irritierte Hautfläche verteilt und eingerieben. Daraus ergab sich auf der Haut eine Bisabololkonzentration von $3,1\mu\text{l}/\text{cm}^2$.

2.6.2. Placebo

Als Placebo für diese Studie wurde reines Paraffinöl (100%) ohne weitere Inhaltsstoffe verwendet. In Studien konnte gezeigt werden, dass Paraffinöl nach Applikation auf die Haut nur in den obersten Schichten des Stratum Corneum nachweisbar ist und nicht in tiefere Hautschichten eindringt [119, 120]. Es kann also davon ausgegangen werden, dass Paraffinöl – abgesehen von der okkludierenden, feuchtigkeitsretinierenden Wirkung einer jeden hydrophoben Substanz auf der Haut – keine Wirkung entfaltet.

Das Paraffinöl wurde analog in 40 kleinen Glasflaschen geliefert, die sich von denen, die das Verum enthielten, nicht unterscheiden ließen. Auch die Flaschen, die das Placebo enthielten, wurden bei Raumtemperatur gelagert. Jedem Probanden und jeder Probandin wurde eine Glasflasche mit Placebo zugeordnet. Bei der Applikation des Placebos wurden analog 0,25ml ($3,1\mu\text{l}/\text{cm}^2$) verwendet und auf die gleiche Weise auf dem irritierten Hautareal verteilt und eingerieben, da der Studienleiter die beiden Stoffe als Folge der Versuchsdurchführung nicht unterscheiden konnte.

2.6.3. Histamin

Für den Histamin-Pricktest wurde eine Lösung mit 10 mg/ml Histamin (1%) der Firma HAL Allergy verwendet. Diese Lösung enthielt neben dem Histamin Phenol und Glycerol und wurde wie vom Hersteller gefordert konstant zwischen 2 und 8°C gelagert.

2.6.4. Capsaicin

Für die Induktion des Juckreizes mit Capsaicin wurde eine Lösung mit 40mg/ml Capsaicinoiden (4%) verwendet, die von der Charité Apotheke hergestellt wurde. Daneben bestand die Lösung zu 30% aus Polysorbat 80 (auch *Tween 80*) und zu 66% aus isotonischer Kochsalzlösung (0,9% Natriumchlorid). Die Capsaicinlösung wurde ebenfalls konstant zwischen 2 und 8°C gelagert.

2.6.5. Mucuna pruriens

Natürliche Haare der Pflanze *Mucuna pruriens* aus Südamerika wurden benutzt, um den Juckreiz für diesen Induktor auszulösen (Abb. 9). Die Haare wurden bei Raumtemperatur in einem luftdichten Behälter aufbewahrt.



Abb. 9. Spiculae der *Mucuna pruriens* (A an der Pflanze, B im luftdichten Behälter)

Bild A: <http://www.feedipedia.org/node/270> (am 01.03.2018)

2.7. Statistik

Beide Arme aller Probanden und Probandinnen, die in den Randomisierungsprozess einbezogen worden waren, wurden gemäß des Intention-To-Treat-Prinzips bei der statistischen Auswertung berücksichtigt. Dieses Prinzip wurde für randomisierte klinische Studien entwickelt, um Probleme wie fehlende Adhärenz oder fehlende Werte zu lösen [121]. Es ist dadurch charakterisiert, dass alle Patienten und Patientinnen bzw. Probanden und Probandinnen in der Analyse der Daten am Ende der Studie berücksichtigt werden, unabhängig davon, ob sie die Studie gemäß des Studienprotokolls und bis Studienende durchgeführt haben. Dadurch unterscheidet es sich von seinem Gegenstück, der Per-Protocol-Analyse, bei der nur die Studienteilnehmenden in der Analyse berücksichtigt werden, die die Studie gemäß des Studienprotokolls absolviert haben. Das Intention-To-Treat-Prinzip hilft, Bias durch Studienabbruch vorzubeugen, und gilt daher als das robustere Verfahren [122, 123].

Für die Erfassung der Daten wurde das Programm Excel 2013, für die statistische Auswertung das Programm GraphPad Prism 6 benutzt. P-Werte kleiner als fünf Prozent wurden hierbei als statistisch signifikant angesehen. Zum Vergleich der Messwerte wurden für alle Variablen die Mittelwerte der jeweils mit Placebo und mit Bisabolol behandelten Arme verglichen. Zu Beginn der Analyse wurde für alle Variablen ein D'Agostino-Pearson omnibus Test angewendet, um die Normalverteilung der getesteten Variablen zu prüfen. Waren die Werte normalverteilt, wurde zur Signifikanzprüfung ein abhängiger t-Test (*paired t-test*) für verbundene Stichproben durchgeführt. Waren die Werte nicht normalverteilt, wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test (*Wilcoxon matched-pairs signed rank test*) für abhängige Stichproben benutzt. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ festgelegt.

3. Ergebnisse

3.1. Population

20 männliche Probanden (Durchschnittsalter 23,2, Altersspanne 20 bis 29) und 20 weibliche Probandinnen (Durchschnittsalter 21,8, Altersspanne 18 bis 25) mit einem durchschnittlichen Alter von 22,5 Jahren wurden für die Studie rekrutiert, die alle Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten. Im Verlauf brach kein Proband und keine Probandin die Studie obligatorisch oder freiwillig ab, sodass alle Werte und Ergebnisse für die Auswertung herangezogen werden konnten.

Um zu prüfen, ob die Voraussetzungen für die Therapie mit Bisabolol und der Behandlung mit dem Placebo gleich waren, wurden die Ausgangswerte der mit Bisabolol behandelten Arme mit denen der mit Placebo behandelten Arme aller Probanden und Probandinnen vor dem Tape Stripping und vor Therapiebeginn (nach Tape Stripping) verglichen. Die Tabellen 2 und 3 zeigen, dass die Voraussetzungen für beide Areale gleich waren.

Tabelle 2: Vergleich der Arme (Ausgangswert vor Tape Stripping)

	Placebo (MW ± SD)	Bisabolol (MW ± SD)	p-Wert
SC Hydration	33,46 ± 5,40 AU	33,40 ± 5,85 AU	0,891
Erythem	193,75 ± 46,87 AU	198,00 ± 47,90 AU	0,252
TEWL	8,00 ± 2,43 g/ h/ m ²	8,12 ± 2,58 g/ h/ m ²	0,578

MW: Mittelwert; **SD:** Standardabweichung; **SC:** Stratum Corneum; **AU:** Arbitrary Units; da vorher bestehender Juckreiz, Schmerz oder vorher bestehendes Brennempfinden zum Ausschluss aus der Studie geführt hätten, ist ein Vergleich für diese Zielgrößen hier nicht aufgeführt.

Tabelle 3: Vergleich der Arme (Ausgangswert vor Therapiebeginn, nach Tape Stripping)

	Placebo (MW ± SD)	Bisabolol (MW ± SD)	p-Wert
SC Hydration	57,73 ± 17,02 AU	58,10 ± 16,40 AU	0,840
Erythem	338,75 ± 55,94 AU	339,20 ± 62,00 AU	0,252
TEWL	59,50 ± 13,62 g/ h/ m ²	58,89 ± 14,72 g/ h/ m ²	0,943
Brennen	2,39 ± 1,80 cm	2,34 ± 1,74 cm	0,685
Schmerz	1,32 ± 1,67 cm	1,31 ± 1,48 cm	0,994

MW: Mittelwert; **SD:** Standardabweichung; **SC:** Stratum Corneum; **AU:** Arbitrary Units; Werte für Brennempfinden (Brennen) und Berührungsempfindlichkeit (Schmerz) angegeben in cm auf der VAS.

3.2. Effekt auf Barrierefunktion, Inflammation und Hydratation der Haut

TEWL, SC Hydratation und Erythem wurden über den gesamten Beobachtungszeitraum von 48 Stunden gemessen (vor und direkt nach dem Tape Stripping, sowie erneut nach drei, 24 und 48 Stunden nach dem Tape Stripping). Es lässt sich konstatieren, dass sich die Baseline-Werte sowie die Werte direkt nach dem Tape Stripping, also vor der ersten Behandlung, von Arm zu Arm nicht signifikant unterscheiden ($p > 0,05$; Abb. 10, Abb. 11, Abb. 12).

3.2.1. Bisabolol verzögert die Regeneration der Barrierefunktion der Haut

Bereits nach drei Stunden zeigt sich bei dem Parameter des transepidermalen Wasserverlusts ein signifikanter Unterschied (Abb. 10). Die Arme, die drei Stunden zuvor erstmals mit Bisabolol behandelt wurden, zeigen die höheren Werte. Sie weisen demnach eine schlechtere Barrieregeneration auf, da sie über die Epidermis mehr Wasser verlieren als die Haut der anderen Seite, auf die das Placebo appliziert wurde. Dieses Phänomen zeigt sich erneut, wenn auch nicht signifikant, nach 24 Stunden sowie dann wieder signifikant nach 48 Stunden.

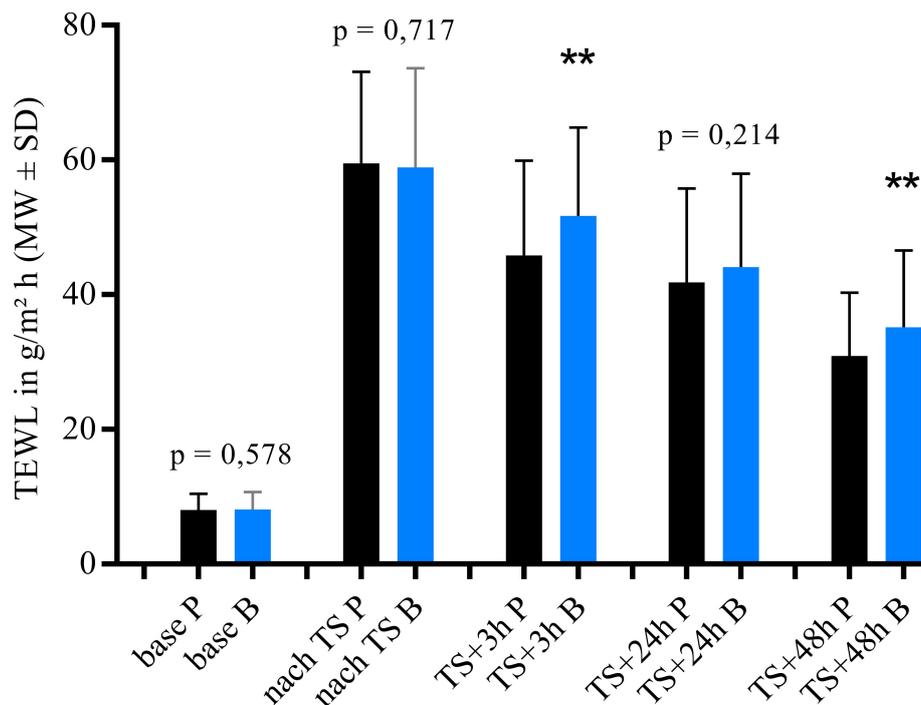


Abb. 10. Bisabololwirkung auf den transepidermalen Wasserverlust. Schwarz/P: Placebo, blau/B: Bisabolol. base: Baseline. TS: Tape Stripping. ** $p < 0,01$. Die Balken zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD).

3.2.2. Bisabolol verzögert die Erythemrückbildung

Die Untersuchungen zeigen, dass Bisabolol die Ausprägung des Erythems im Vergleich zum Placebo kaum beeinflusst. Bis zum Zeitraum von 24h können keine signifikanten Unterschiede der Hautrötung auf beiden Armen festgestellt werden. Erst nach 48h ist eine statistisch signifikante Verzögerung der Erythemrückbildung auf dem mit Bisabolol behandelten Arm zu konstatieren (Abb. 11).

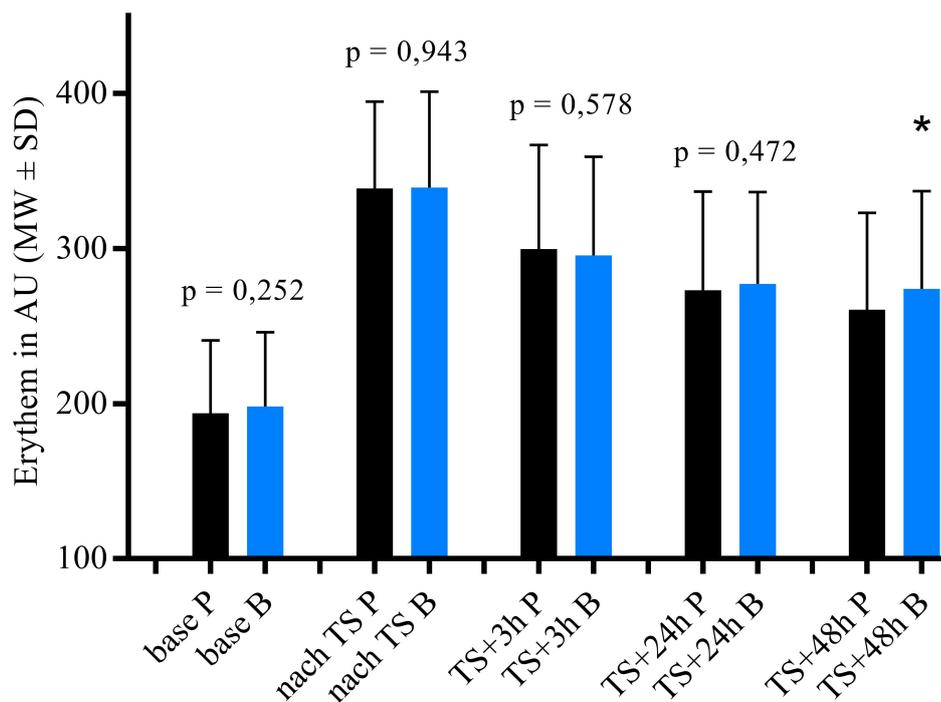


Abb. 11. Bisabololwirkung auf das Erythem. Schwarz/P: Placebo, blau/B: Bisabolol. base: Baseline. TS: Tape Stripping. AU: Arbitrary Units. * $p < 0,05$. Die Balken zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD).

3.2.3. Bisabolol verzögert die Regeneration der Stratum Corneum-Hydration

Den eindrucklichsten Effekt in dieser Reihe zeigt Bisabolol auf die Hydratation der Haut. Zu allen Zeitpunkten nach dem ersten Auftragen des Bisabolols und Placebos zeigen die Arme, die mit Bisabolol behandelt wurden, hoch signifikant niedrigere Werte im Vergleich zum Placebo (Abb. 12). Auf der Seite, auf der Placebo aufgetragen wurde, ist die Haut zu allen Zeitpunkten besser hydriert.

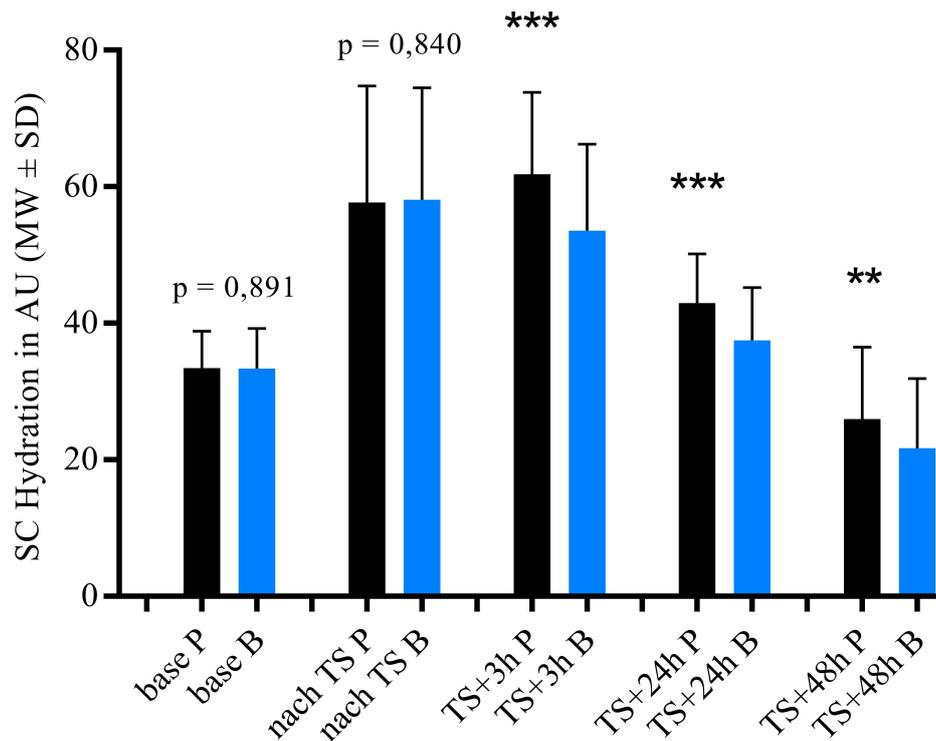


Abb. 12. Bisabololwirkung auf die SC Hydration. Schwarz/P: Placebo, blau/B: Bisabolol. **base:** Baseline. **TS:** Tape Stripping. **AU:** Arbitrary Units. ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Die Balken zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardabweichung (SD).

3.3. Effekt auf Juckreizempfinden

Juckreiz ließ sich in dieser Studie mit Histamin, Capsaicin und Cowhage auslösen. Der am stärksten empfundene Juckreiz wurde dabei nach Cowhageapplikation angegeben. Hier war die maximale Juckreizintensität durchschnittlich annähernd doppelt so hoch wie bei der Juckreizauslösung mit Histamin und Capsaicin (Median 5,8 bzw. 6,0 bei Cowhage; 2,7 bzw. 3,1 bei Histamin und 3,0 bzw. 3,4 bei Capsaicin; Abb. 13A). Die durchschnittliche Dauer der Juckreizempfindung unterscheidet sich dagegen nur minimal zwischen den verschiedenen Juckreizinduktoren (Median 10,0 bzw. 13,0 Minuten bei Histamin, 9,5 Minuten bei Capsaicin, 10,0 bzw. 12,0 Minuten bei Cowhage; Abb. 13B).

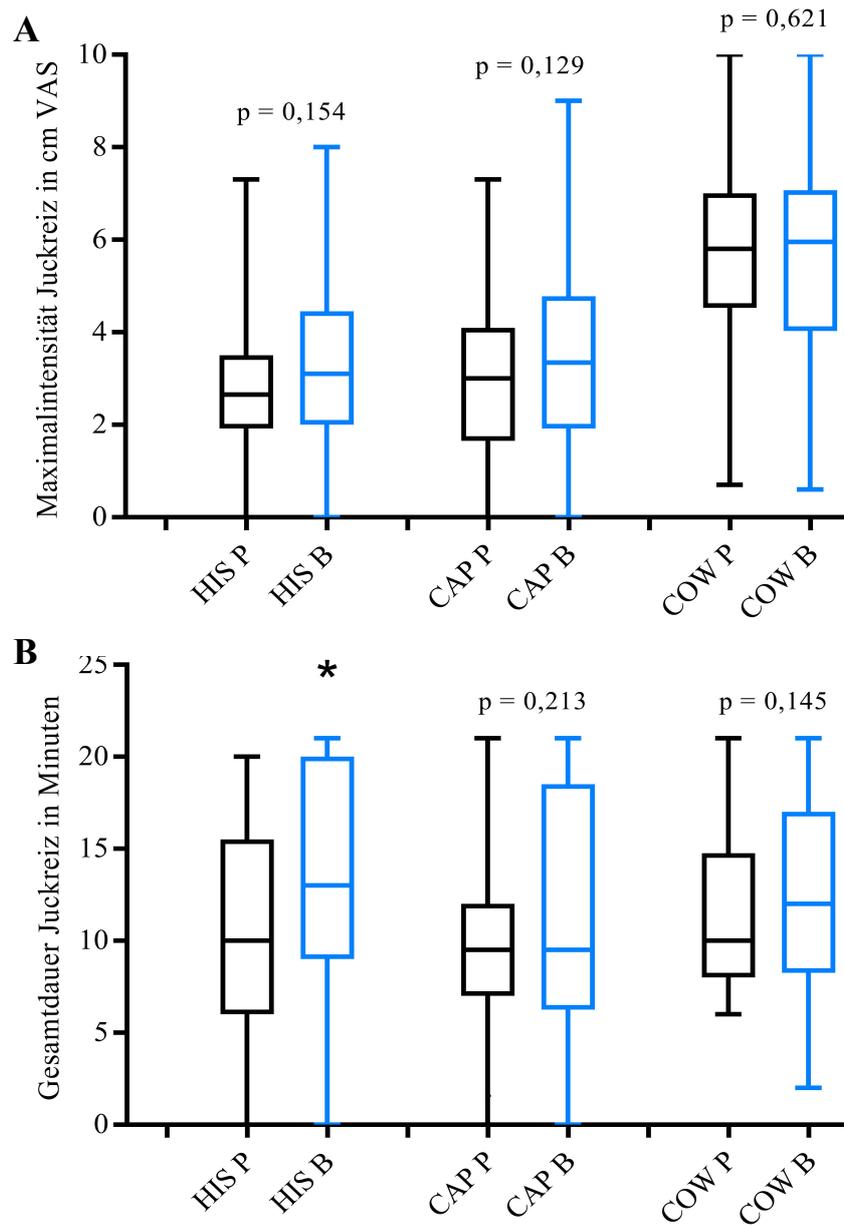


Abb. 13. Bisabololwirkung nach Juckreizinduktion mit Histamin, Capsaicin und Cowhage.
A: Auf den maximal empfundenen Juckreiz. **B:** Auf die Gesamtdauer des Juckreizes.
 Schwarz/P: Placebo, blau/B: Bisabolol. HIS: Histamin, CAP: Capsaicin, COW: Cowhage.
 cm VAS: Zentimeter auf Visueller Analogskala. * $p < 0,05$. Die Boxplots zeigen Minimalwert,
 25. Perzentile, Median, 75. Perzentile und Maximalwert.

3.3.1. Bisabolol verlängert Histamin-induzierten Juckreiz

Anhand der Kurve (Abb. 14) lässt sich erkennen, dass der Juckreiz an dem mit Placebo behandelten Arm schneller nachlässt, als an dem mit Bisabolol behandelten Arm. Analog dazu zeigt sich ein signifikanter Unterschied bei dem Vergleich der jeweiligen Gesamtdauer des Juckreizes (Abb. 13B): Auf der Seite, die zuvor über 48 Stunden regelmäßig mit Bisabolol therapiert wurde, dauerte es im Schnitt 2,7 Minuten länger, bis kein Juckreiz mehr spürbar war (nach Histamin-Prick 13,0 vs. 10,3 Minuten im Placebo-Arm). Nicht nur in Bezug auf die Dauer, sondern auch in Bezug auf die maximale Juckreizintensität zeigt der Bisabolol-Arm die höheren Durchschnittswerte (3,4 vs. 3,0 Punkte auf der VAS; Abb. 13A). Hier ist der Unterschied jedoch nicht statistisch signifikant.

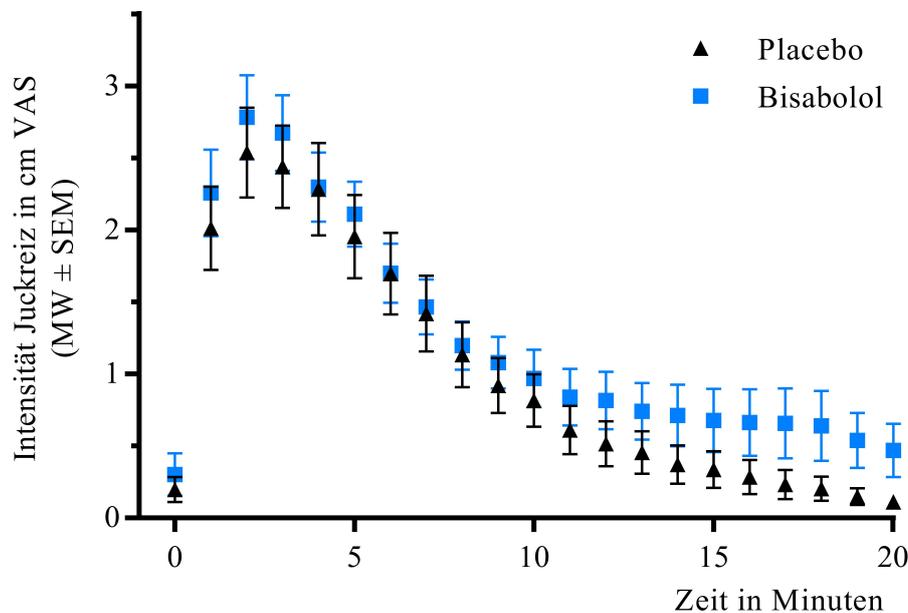


Abb. 14. Bisabololwirkung auf Histamin-induzierten Juckreiz. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardfehler (SEM); cm VAS: Zentimeter auf Visueller Analogskala.

3.3.2. Bisabolol zeigt keinen Effekt auf Capsaicin-induzierten Juckreiz

Beim Capsaicin-induzierten Juckreiz finden sich ähnlich wie beim Histamin-induzierten Juckreiz auf der Seite, auf der mit Bisabolol behandelt wurde, die leicht höheren Durchschnittswerte für die Dauer des Juckreizempfindens wie auch für den am stärksten empfundenen Juckreiz (Abb. 13, Abb. 15). Hier zeigen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

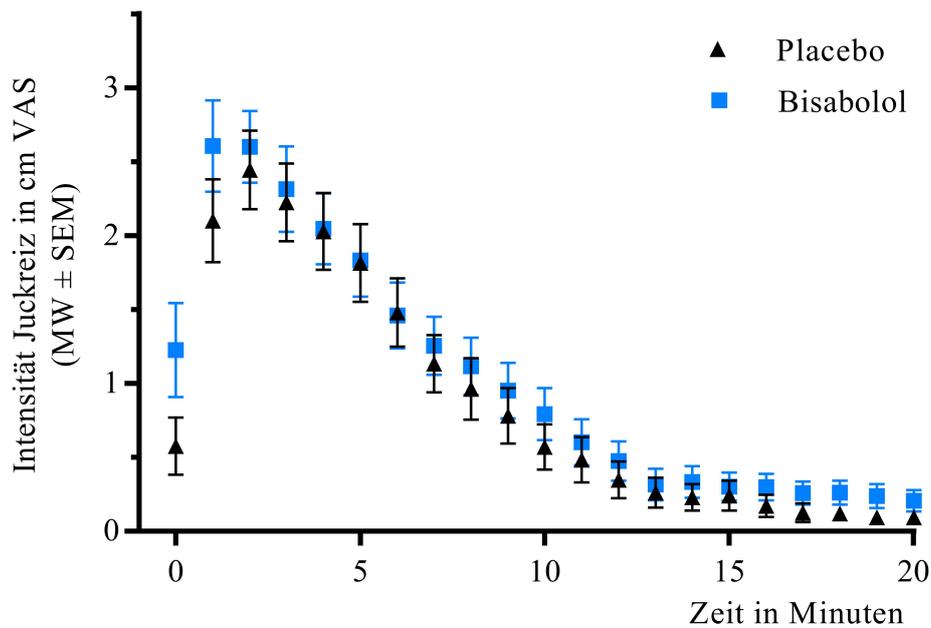


Abb. 15. Bisabololwirkung auf Capsaicin-induzierten Juckreiz. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardfehler (SEM); cm VAS: Zentimeter auf Visueller Analogskala.

3.3.3. Bisabolol zeigt keinen Effekt auf Cowhage-induzierten Juckreiz

Die durchschnittliche maximale Intensität des durch Cowhage ausgelösten Juckreizes unterscheidet sich zwischen den beiden Armen nur marginal (5,56 Punkte auf VAS für den Placebo-Arm vs. 5,44 Punkte für den Bisabolol-Arm; Abb. 13, Abb. 16). Auch bei Betrachtung der durchschnittlichen Gesamtdauer ist kein statistisch signifikanter Unterschied zu finden. Wie auch bei Juckreizinduktion durch Histamin und Capsaicin zeigt hier jedoch Bisabolol die höheren Werte (durchschnittlich 12,7 Minuten vs. 11,7 Minuten im Placebo-Arm).

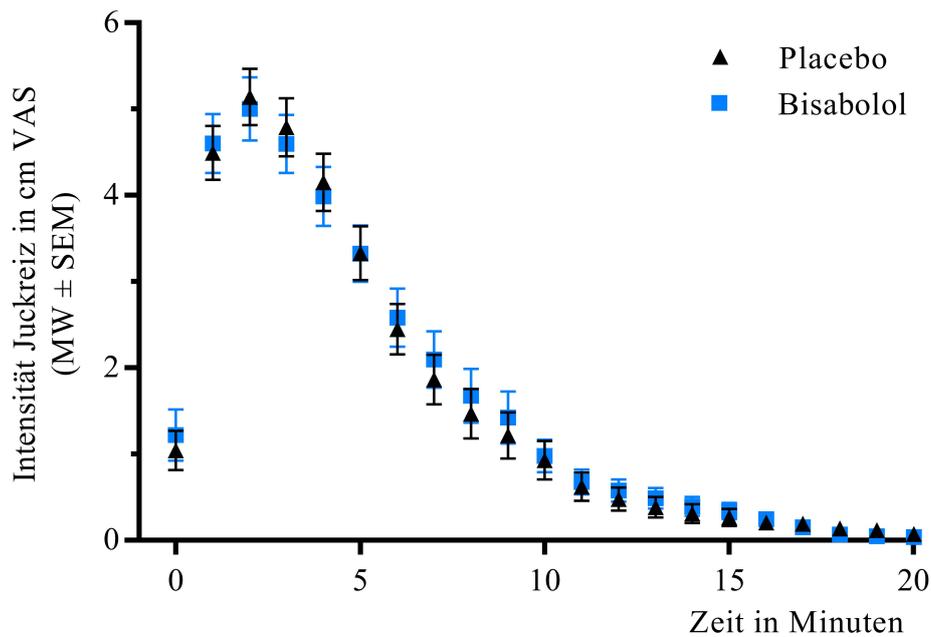


Abb. 16. Bisabololwirkung auf Cowhage-induzierten Juckreiz. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardfehler (SEM); cm VAS: Zentimeter auf Visueller Analogskala.

3.4. Effekt auf die Antwort der Haut auf Juckreizinduktion

Tabelle 4 zeigt die Ausgangswerte für TEWL, SC Hydration und Erythem 48 Stunden nach der Barrierschädigung und vor der Juckreizinduktion.

Tabelle 4. Werte vor der Juckreizinduktion

	Placebo (MW ± SD)	Bisabolol (MW ± SD)	p-Wert
SC Hydration	25,98 ± 10,56 AU	21,70 ± 10,21 AU	0,001
Erythem	260,70 ± 62,40 AU	274,10 ± 62,94 AU	0,033
TEWL	30,93 ± 9,40 g/ h/ m ²	35,18 ± 11,39 g/ h/ m ²	0,035

MW: Mittelwert; SD: Standardabweichung; SC: Stratum Corneum; AU: Arbitrary Units.

3.4.1. Bisabolol intensiviert Hautantwort auf Histamin-Prick

Nach Durchführung des Histamin-Pricktests entwickelte sich in dem Bisabolol-Arm ein absolut wie auch relativ zum Ausgangswert vor Juckreizinduktion signifikant intensiveres Erythem als in dem Placebo-Arm (Tabelle 5). Auch der transepidermale Wasserverlust hatte

sich nach dem Juckreiztest signifikant schlechter regeneriert, wenn der Arm in den vorangegangenen 48 Stunden regelmäßig mit Bisabolol behandelt worden war. Die Hydratation der Haut der jeweils mit unterschiedlichen Stoffen behandelten Arme unterschied sich nicht statistisch signifikant.

Tabelle 5: Antwort der Haut auf Histamin-Prick

	Placebo (relative und absolute Werte; MW, absolute Werte ± SD)	Bisabolol (relative und absolute Werte; MW, absolute Werte ± SD)	p-Wert
SC Hydration	179,4% 41,38 ± 11,80 AU	213,3% 39,37 ± 14,20 AU	0,056 0,228
Erythem	120,9% 312,40 ± 80,31 AU	131,8% 357,78 ± 90,61 AU	0,030 <0,0001
TEWL	79,9% 24,18 ± 7,83 g/ h/ m ²	96,1% 33,40 ± 12,63 g/ h/ m ²	<0,0001 <0,0001

MW: Mittelwert; **SD:** Standardabweichung; **SC:** Stratum Corneum; **AU:** Arbitrary Units. Prozentangaben beziehen sich auf Messungen vor Juckreizinduktion (48 Stunden nach Hautirritation, siehe Tab. 4).

3.4.2. Bisabolol intensiviert Hautantwort auf Capsaicin-Prick

Nach Durchführung des Pricktests mit Capsaicin ließen sich zwischen Placebo- und Bisabolol-Arm signifikante Unterschiede in der Erythemausbildung und in dem TEWL messen: Das Erythem hatte sich auf dem Bisabolol-Arm in signifikant höherem Ausmaß intensiviert und der transepidermale Wasserverlust signifikant weniger regeneriert als im Placebo-Arm (Tabelle 6). Im Bezug auf die SC Hydration unterschieden sich lediglich die absoluten Werte signifikant. Im Bezug auf die Werte vor Juckreizinduktion zeigt sich keine relative signifikante Differenz.

Tabelle 6: Antwort der Haut auf Capsaicin-Prick

	Placebo (relative und absolute Werte; MW, absolute Werte \pm SD)	Bisabolol (relative und absolute Werte; MW, absolute Werte \pm SD)	p-Wert
SC Hydration	191,4% 43,41 \pm 10,94 AU	202,3% 36,39 \pm 13,34 AU	0,892 0,0004
Erythem	109,7% 283,88 \pm 86,54 AU	119,3% 325,70 \pm 98,02 AU	0,050 <0,0001
TEWL	83,7% 25,40 \pm 10,77 g/ h/ m ²	98,2% 33,06 \pm 12,35 g/ h/ m ²	0,001 <0,0001

MW: Mittelwert; **SD:** Standardabweichung; **SC:** Stratum Corneum; **AU:** Arbitrary Units. Prozentangaben beziehen sich auf Messungen vor Juckreizinduktion (48 Stunden nach Hautirritation, siehe Tab. 4).

3.4.3. Bisabolol intensiviert Hautantwort auf Cowhage-Applikation

Nach Applikation der Cowhage-Härchen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Bisabolol- und Placebo-Arm beim TEWL (Tabelle 7). Wie auch nach Juckreizinduktion mit Histamin und Capsaicin regenerierte sich der mit Bisabolol behandelte Arm signifikant weniger als der Placebo-Arm. Für die SC Hydration und das Erythem zeigen sich keine signifikanten relativen Unterschiede. Der statistisch signifikante Unterschied zwischen den absoluten Werten der SC Hydration beruht wie auch bei den Werten nach Capsaicin-Prick auf den schon vor Juckreizinduktion signifikant unterschiedlichen Ausgangswerten (Tabelle 4).

Tabelle 7: Antwort der Haut auf Cowhage-Applikation

	Placebo (relative und absolute Werte; MW, absolute Werte \pm SD)	Bisabolol (relative und absolute Werte; MW, absolute Werte \pm SD)	p-Wert
SC Hydration	188,7% 44,73 \pm 14,30 AU	184,6% 34,99 \pm 13,94 AU	0,452 <0,0001
Erythem	119,1% 306,18 \pm 76,46 AU	120,1% 326,83 \pm 96,82 AU	0,817 0,071
TEWL	86,0% 26,18 \pm 9,64 g/ h/ m ²	94,9% 32,73 \pm 12,45 g/ h/ m ²	0,022 <0,0001

MW: Mittelwert; **SD:** Standardabweichung; **SC:** Stratum Corneum; **AU:** Arbitrary Units. Prozentangaben beziehen sich auf Messungen vor Juckreizinduktion (48 Stunden nach Hautirritation, siehe Tab. 4).

3.5. Effekt auf Brennen und Schmerz

3.5.1. Bisabolol verzögert Nachlassen der Brennempfindung nach Hautirritation

Die durch den Tesafilmabriss verursachte Empfindung des Brennens der Haut reduzierte sich auf der Seite, auf der das Placebo appliziert wurde, schneller als auf der Seite, auf der Bisabolol aufgetragen wurde. Nach drei Stunden zeigt sich eine signifikant stärkere Ausprägung des Brennempfindens auf dem Bisabolol-Arm (Abb. 17). Dieser Unterschied ist an den folgenden Zeitpunkten jedoch nicht mehr zu beobachten.

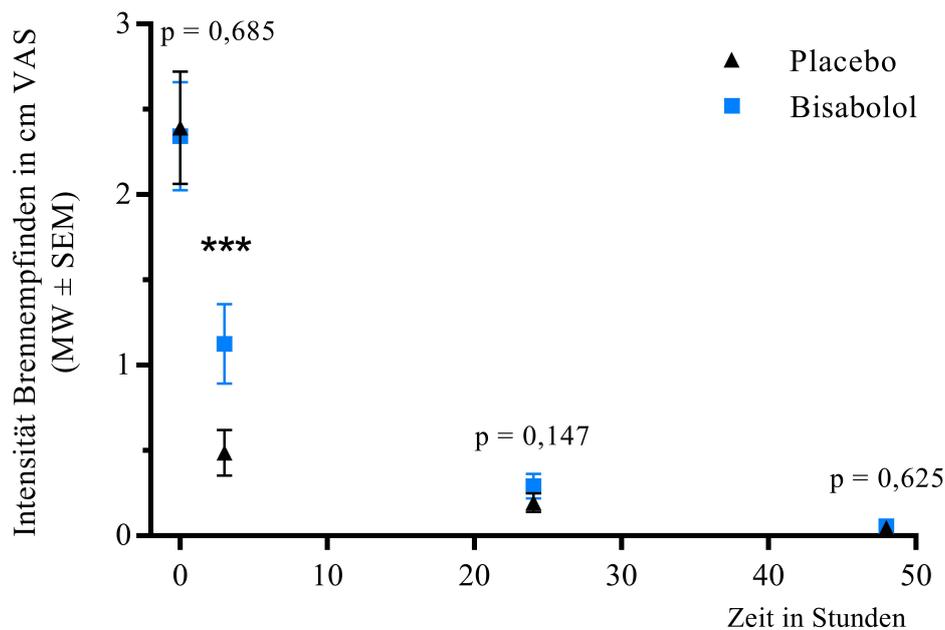


Abb. 17. Bisabololwirkung auf Brennempfinden. *** $p < 0,001$. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardfehler (SEM); **cm VAS**: Zentimeter auf Visueller Analogskala.

3.5.2. Bisabolol intensiviert Berührungsempfindlichkeit nach Hautirritation

Im Gegensatz zur Brennempfindung zeigt sich der Unterschied in der Berührungsempfindlichkeit über den gesamten Messzeitraum (Abb. 18). Der Arm, der über 48 Stunden mit Bisabolol behandelt wurde, war zu allen Zeitpunkten signifikant empfindlicher bei Berührung. Besonders eindrücklich ist hier, dass die Berührungsempfindlichkeit des Bisabolol-Arms nach drei Stunden sogar noch wesentlich höher war als direkt nach der Hautirritation. Im Placebo-Arm hingegen ließ die Berührungsempfindlichkeit ab dem Zeitpunkt der Hautirritation konstant nach.

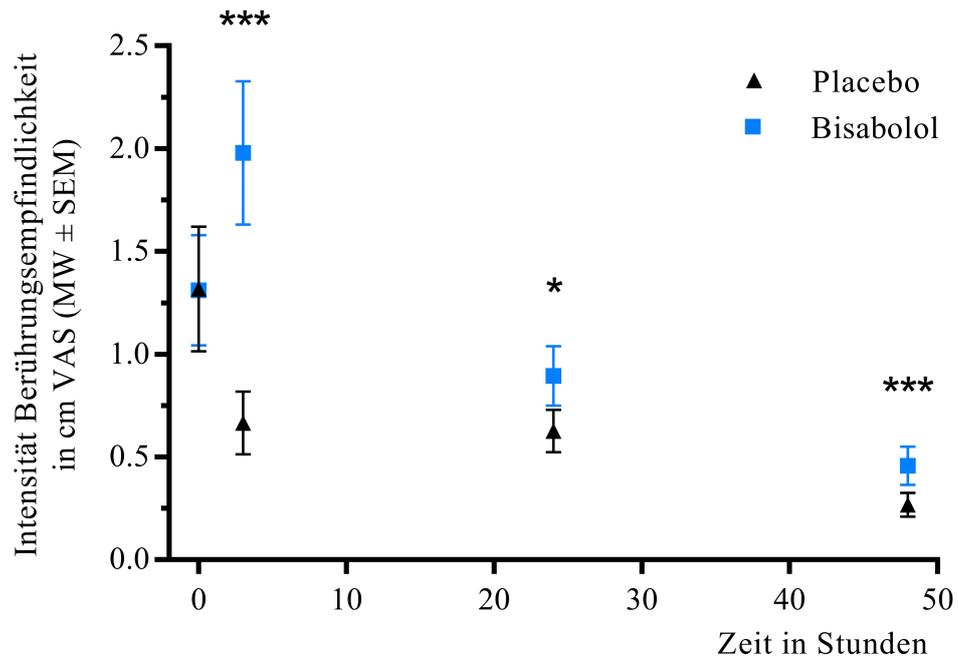


Abb. 18. Bisabololwirkung auf Berührungsempfindlichkeit. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$. Die Punkte zeigen jeweils den Mittelwert (MW) mit Standardfehler (SEM); cm VAS: Zentimeter auf Visueller Analogskala. P-Wert bei $t=0$: 0,994.

4. Diskussion

4.1. Prüfung der Hypothesen

Die Ergebnisse dieser Studie stehen im deutlichen Gegensatz zu dem, was nach dem Stand der aktuellen Forschung zu erwarten gewesen war.

Die 1. Hypothese (vgl. 1.6.) konnte nicht bestätigt werden: Verglichen mit Placebo wirkt sich Bisabolol nicht positiv auf die Barrierefunktion der Haut im Sinne einer zusätzlichen Verminderung des transepidermalen Wasserverlusts nach Barrierschädigung aus. Bisabolol wirkt stattdessen verzögernd auf die Wiederherstellung der nach Hautirritation gestörten Barrierefunktion der Haut, der primären Zielgröße dieser Studie.

Die 2. Hypothese konnte ebenfalls nicht verifiziert werden: Bisabolol führt in Bezug auf die Hydratation des Stratum Corneum zu einer verstärkten Austrocknung der Haut. Im Vergleich zum Placebo trägt Bisabolol zu einer verlängerten Hautfunktionsstörung nach induzierter Hautirritation bei, statt die Regeneration der Funktionalität zu unterstützen.

Die 3. Hypothese stellte sich nicht als richtig heraus: In Bezug auf das Erythem zeigt sich erst nach 48 Stunden ein signifikanter, jedoch medizinisch kaum relevanter Unterschied. Trotzdem kann Bisabolol auch hier die Entzündungsreaktion nicht hemmen. Dies wäre zu erwarten gewesen, da *in vitro* ein direkter inhibitorischer Einfluss von Bisabolol auf vasodilatative Faktoren nachgewiesen ist (Hemmung der Transkription von VCAM-1 und ICAM-1 über Inhibition von NF- κ B und AP-1). In diesem Versuch am Menschen lassen sich dieser Effekt und die anti-inflammatorische Wirkung von Bisabolol im Vergleich zum Placebo nicht replizieren. Alle drei vor der Studie aufgestellten Hypothesen zur Wirkung von Bisabolol auf die Barrierschädigung und die darauf folgende Entzündungsreaktion können nicht bestätigt werden.

Die 4. Hypothese zur lindernden Wirkung von Bisabolol auf Juckreizempfindung ließ sich ebenfalls nicht belegen. Auch hier sprechen die statistisch signifikanten Ergebnisse eher für eine Intensivierung und Verlängerung des Juckreizempfindens durch Bisabolol. Nach Juckreizinduktion mit Histamin, Capsaicin und Cowhage zeigte sich neben dem intensiveren Juckreiz außerdem im Vergleich zum Placebo eine signifikant stärker ausgeprägte Barrierefunktionsstörung der Haut (signifikant höhere TEWL-Werte bei allen Juckreizinduktoren) und eine stärkere Entzündungsreaktion nach Histamin- und Capsaicin-Pricktest im Sinne einer signifikant höheren Erythemintensivierung.

Auch auf die subjektiven Parameter zeigte Bisabolol keine lindernde Wirkung. Die Regeneration des durch Hautirritation bedingten Brennens der Haut verzögerte sich durch die

Bisabololapplikation. Auf die Berührungsempfindlichkeit des gereizten Hautareals wirkte sich Bisabolol negativ aus. Drei Stunden nach der Hautirritation verspürten die Probanden und Probandinnen signifikant mehr Schmerz bei Berührung, wenn nach der Barrierschädigung Bisabolol auf die irritierte Haut aufgetragen wurde.

4.2. Schlussfolgerungen

Das Ausbleiben der Bisabololwirkung wird mit dieser Studie nicht das erste Mal beschrieben. Es gibt mehrere Beispiele von Studien, in denen Bisabolol unter bestimmten Bedingungen wirkungslos blieb [15, 85, 88]. Dass Bisabolol zu einer relativen Erhöhung inflammatorischer Parameter im Vergleich zum Placebo führt, ist hingegen eine Beobachtung, die so in der Literatur nicht zu finden ist. Einerseits mag dies jedoch dem Publikationsbias zugrunde liegen, d.h. der Tatsache, dass negative Ergebnisse selten publiziert werden und damit in der Recherche nicht auffindbar sind. Außerdem darf man statistische Signifikanz nicht ohne Betrachtung der biologischen Relevanz bewerten. Die Ergebnisse sind zwar teilweise höchst signifikant aus einem statistischen Blickwinkel. Beurteilt man sie jedoch in einem biomedizinischen Kontext, sind die Veränderungen der Werte, die durch Bisabolol bedingt werden, nicht so hoch, dass man die Verwendung von Bisabolol in Kosmetikprodukten für die Haut als gefährlich einstufen müsste. Aus diesem Grund sollte sich die Interpretation der Ergebnisse darauf fokussieren, warum sich keine positive Wirkung gezeigt hat (im Gegensatz dazu, warum sich eine negative Wirkung gezeigt hat).

Wie oben erwähnt ist in der Bisabololforschung bekannt, dass der Stoff unter bestimmten Bedingungen wirkungslos bleibt. Die Hauptdeterminanten dafür sind in Bezug auf die anti-inflammatorische Wirkung wie in der Einleitung beschrieben die Art und Weise, auf die die Entzündung ausgelöst wird, und die Bisabololkonzentration.

4.2.1. Die Art und Weise der Hautirritation als Ursache für das Ausbleiben der Bisabololwirkung

Wird die Hautirritation durch die Applikation chemischer Substanzen induziert, besteht die Möglichkeit, dass direkte Interaktionen zwischen der applizierten chemischen Substanz und Bisabolol die Bisabololwirkung beeinflussen. Durch die mechanische Hautirritation wurde dies ausgeschlossen. Die Effekte des Tape Strippings sind bereits in der Beschreibung der Methodik genannt worden. Viele dieser Effekte entsprechen den Punkten in der Entzündungsreaktion, an denen Bisabolol inhibitorisch eingreift. So steigen durch das Tape

Stripping die TNF- α -Level, auf die Bisabolol wiederum einen hemmenden Einfluss hat. Die Hautreizung durch die Tape Stripping Methode resultiert in höheren IL-8-Spiegeln und einer vermehrten Expression von Adhäsionsmolekülen, was eine Einwanderung und Aktivierung neutrophiler Granulozyten zur Folge hat. Neutrophile Granulozyten werden funktionell und in deren Migration durch Bisabolol gehemmt. IFN- γ , das nach dem Tape Stripping ebenfalls vermehrt messbar ist, aktiviert u.a. Makrophagen. Auch Makrophagen werden von Bisabolol auf mehreren Ebenen gehemmt (NF- κ B, AP-1, PGE₂, NO, iNOS, COX-2) [32, 124].

Die Art und Weise der Hautirritation (Tape Stripping Methode) kann demnach nicht der kritische Faktor sein, der erklären kann, warum Bisabolol in dieser Studie keine heilende und anti-inflammatorische Wirkung gezeigt hat.

4.2.2. Die Bisabololkonzentration als Ursache für das Ausbleiben der Bisabololwirkung

In den Studien der Vergangenheit, in denen die Wirkung von Bisabolol untersucht worden ist, wurde Bisabolol immer in verdünnter Form angewendet. Konzentrationen von 0,1% bis 10% wurden für die meisten Studien gewählt [15, 76, 86, 94].

Reines Bisabolol in unverdünnter Form ist noch nicht untersucht worden. Es lässt sich also auf dem Boden von Beobachtungen anderer Wissenschaftler oder Wissenschaftlerinnen nicht beurteilen, wie wahrscheinlich es ist, dass die hohe Bisabololkonzentration in dieser Studie ursächlich für die ausbleibende Wirkung war. Dies gilt auch, weil sich aus bereits vorhandenen Ergebnissen kein Trend abzeichnen lässt, ob Bisabolol eher in hohen oder eher in niedrigen Konzentrationen wirkt (siehe Einleitung, 1.5.3.). Trägt man Ergebnisse von in der Vergangenheit durchgeführten Studien zusammen, erkennt man kein Muster, in welchen Konzentrationen die Bisabololwirkung eintritt. So war Bisabolol in der Studie von Kim et al. aus dem Jahr 2011 Bisabolol in einer Konzentration von 25 μ mol/l in allen Teilversuchen wirksam [86]. 25 μ mol/l entspricht bei einer molaren Masse von 222,37 g/mol [125] und einer Dichte von 0,93g/cm³ [126] einer Konzentration von 0,6%. In der Studie von Rocha et al. aus demselben Jahr entfaltete Bisabolol in der Konzentration von 0,5% hingegen in keinem Teilversuch seine Wirkung. In dieser Studie waren nur höhere Konzentrationen (1% und 2%) wirksam [15].

Aus vorigen Versuchen lässt sich folglich keine Aussage über die Wahrscheinlichkeit eines kausalen Zusammenhangs zwischen hoher Bisabololkonzentration und ausbleibender positiver Wirkung treffen. Es lässt sich einerseits konstatieren, dass die Konzentration allein wahrscheinlich nicht der entscheidende Faktor ist. Andererseits lässt sich nicht ausschließen,

dass Bisabolol in reiner, unverdünnter Form nicht wirksam ist oder irritativ wirkt. Hierfür wäre es eine mögliche Erklärung, dass Bisabolol für seine anti-inflammatorische Wirkung Wasser oder geladene Teilchen, die üblicherweise in Lösungsmitteln enthalten sind (Natrium, Chlorid), als Kofaktor benötigt. Dies bleibt an dem jetzigen Punkt der Forschung jedoch Spekulation.

4.2.3. Fazit

Es wäre vorschnell, den Schluss zu ziehen, dass unverdünntes Bisabolol keine heilende oder keine anti-inflammatorische Wirkung besitzt. Die Wirkung von Bisabolol steht in komplexer Abhängigkeit von dem Stoff, der die Entzündung induziert, der Bisabololkonzentration und höchstwahrscheinlich noch vielen weiteren Einflussfaktoren. Diese Determinanten der Bisabololwirkung können zu diesem Zeitpunkt nicht getrennt voneinander beurteilt werden.

4.3. Forschungsbedarf

Da, wie oben dargelegt, die hohe Bisabololkonzentration einen Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben könnte, wäre es interessant, diese Dosis-Wirkung-Beziehung genauer zu untersuchen. Bisabolol wurde vorher noch nie in Konzentrationen über 10% getestet. Eine Studie, in der Bisabolol in verschiedenen Konzentrationen (beispielsweise 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100%) unter identischen Bedingungen angewandt würde und seine Effekte untersucht würden, könnte interessante Aufschlüsse darüber geben, wie die Dosis mit der Wirkung zusammenhängt.

Die Untersuchung der Bisabololwirkung auf Juckreizempfindung ist vor allem vor einem therapeutischen Hintergrund interessant. Hier wäre es wichtig, prospektive, randomisierte, Placebo-kontrollierte Studien auch an Patienten durchzuführen.

4.4. Ausblick

Neben der jahrtausendelangen Tradition gibt es mehrere Studien, die durch signifikante und relevante Ergebnisse eine anti-inflammatorische Wirkung von Bisabolol unter bestimmten Bedingungen zeigen [15, 76, 85, 86, 88]. Diese muss jedoch auch nach dieser Studie noch am Menschen repliziert werden. Gelingt dies, würde sich aus therapeutischer Sicht ein großes klinisches Potential eröffnen. Obwohl anti-inflammatorische Arzneimittel mit belegter Wirkung zur Verfügung stehen, finden alternative, pflanzliche Medikamente, deren

Wirksamkeit nicht ausreichend belegt ist, beispielsweise unter Patienten und Patientinnen mit atopischem Ekzem breite Verwendung [127]. Pflanzliche Öle werden vor allem aufgrund ihrer angenommenen Sicherheit und Armut an Nebenwirkungen, geringen Kosten und ihrem natürlichem Ursprung immer populärer [128, 129]. In Entwicklungsländern sind 80% der Bevölkerung von pflanzlichen und anderen traditionellen Heilmitteln abhängig [130]. Auch in der westlichen Welt nimmt die Beliebtheit und der Gebrauch pflanzlicher Produkte exponentiell zu [129].

Die hohe Nachfrage nach pflanzlichen Arzneimitteln, die vielversprechenden Ergebnisse aus der *in vitro* Forschung und aus Tierversuchen zu Bisabolol und die in der Einleitung beschriebene ethische Verantwortung, konkrete Effekte am Menschen eines so weit verbreiteten Produktes zu erforschen, sind Gründe für die weitere Forschung an dieser Substanz. Es ist daher wahrscheinlich, dass in der Zukunft weitere Studien zu diesem Thema durchgeführt werden.

4.5. Limitationen

Die Messung des Erythems wurde in einem ganz zu Beginn der Studie festgelegten Areal innerhalb der wesentlich größeren Fläche der Hautirritation durchgeführt. Das Tape Stripping führte jedoch in vielen Fällen zu keinem über die gesamte Dauer der Studie homogenem Erythem. Oft war das Erythem an einzelnen Stellen des irritierten Areals stärker oder weniger ausgeprägt als an anderen (Abb. 19). Die punktuelle Messung konnte diese Inhomogenität jedoch nicht erfassen, sodass subjektiv sehr große Unterschiede objektiv teilweise kleiner gemessen wurden (in Abb. 19 beispielsweise wäre der Unterschied wohl größer gemessen worden, wäre die Sonde im proximalen Bereich des irritierten Areals aufgesetzt worden).



Abb. 19. Inhomogenes Erythem am rechten Arm drei Stunden nach Tape Stripping

Bei der Dokumentation des durch Capsaicin induzierten Juckreizes berichteten die Probanden und Probandinnen oft über ein innerhalb einer Minute sehr stark schwankendes Empfinden. Die punktuelle Erfassung des Juckreizes zu jeder vollen Minute kann so in einzelnen Fällen zu einer nicht ganz treffenden Repräsentation des Juckreizes auf der VAS geführt haben. Dies wäre beispielsweise der Fall gewesen, wenn die kurzzeitigen Maxima der Juckreizempfindung stets zwischen den vollen Minuten gelegen hätten.

Aufgrund der Rekrutierung von gesunden Probanden und Probandinnen waren die Möglichkeiten der Untersuchung der Bisabololwirkung auf Juckreizempfinden generell limitiert. In diesem Modell wurde erst mit Bisabolol behandelt und dann der Juckreiz induziert. Ist das Ziel jedoch, Bisabolol als potentiell Therapeutikum zu beurteilen, sollte die Behandlung nicht präventiv im Vorhinein, sondern erst nach Auftreten bzw. Induktion des Juckreizes erfolgen. Dies erfordert jedoch ein ganz anderes Studiendesign, als in dieser Studie angestrebt wurde. Als weitere Limitation ist das Fehlen einer Negativkontrolle zu werten. Dementsprechend war es in dem gewählten Studiendesign vor allem im Sinne der Verblindung nicht möglich, eine weitere Vergleichsgruppe einzubeziehen, bei der die Haut nach Irritation gar nicht behandelt wurde. Dies hätte Aufschluss darüber geben können, ob die Wirkung von Bisabolol auf die irritierte Haut schädlich oder lediglich der Applikation eines beliebigen Öles nicht überlegen ist.

5. Literaturverzeichnis

1. Rättsch C, *Kamille*. 2014, AT Verlag: Heilpflanzen der Antike. p. 178-180.
2. Fischer Dückelmann A, *Kamille*. 1921, Süddeutsches Verlags-Institut: Die Frau als Hausärztin. p. 924.
3. McKay DL and Blumberg JB, *A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile tea (Matricaria recutita L.)*. *Phytother Res*, 2006. **20**(7): p. 519-30.
4. Janku I and Zita C, *[Anti-inflammatory effect of certain substances from chamomile]*. *Cesk Farm*, 1954. **3**(3): p. 93-5.
5. Zita C, *[Effect of the pure substance of the chamomille volatile oils on heat burns]*. *Cas Lek Cesk*, 1955. **94**(8): p. 203-8.
6. Kristen G and Schmidt W, *[Chamomile & azulene; pharmacology, therapy & galenicals]*. *Arch Pharm Ber Dtsch Pharm Ges*, 1957. **290/62**(8-9): p. 105-14.
7. Hava M and Janku I, *The pharmacology of camomile and juniper*. *Rev Czech Med*, 1957. **3**(2): p. 130-8.
8. Sorm F, Zaoral M, and Herout V, *On terpenes. XXXI. On the composition of the oil of Matricaria chamomilla L.* 1951: Collection of Czechoslovak Chemical Communications. p. 626–638.
9. Jakovlev V and von Schlichtegroll A, *[On the inflammation inhibitory effect of (-)-alpha-bisabolol, an essential component of chamomilla oil]*. *Arzneimittelforschung*, 1969. **19**(4): p. 615-6.
10. Russell K and Jacob SE, *Bisabolol*. *Dermatitis*, 2010. **21**(1): p. 57-8.
11. Kamatou GPP and Viljoen AM, *A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils*. 2010: Journal of the American Oil Chemists' Society. p. 1-7.
12. Arenberger P, Arenbergerová M, Drozenová H, Hladíková M, and Holcová S, *Effect of topical heparin and levomenol on atopic dermatitis: a randomized four-arm, placebo-controlled, double-blind clinical study*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011. **25**(6): p. 688-94.
13. Veraldi S, De Micheli P, Schianchi R, and Lunardon L, *Treatment of pruritus in mild-to-moderate atopic dermatitis with a topical non-steroidal agent*. *J Drugs Dermatol*, 2009. **8**(6): p. 537-9.

14. Lee SH, Heo Y, and Kim YC, *Effect of German chamomile oil application on alleviating atopic dermatitis-like immune alterations in mice*. J Vet Sci, 2010. **11**(1): p. 35-41.
15. Rocha NF, Rios ER, Carvalho AM, Cerqueira GS, Lopes AeA, Leal LK, Dias ML, de Sousa DP, and de Sousa FC, *Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of (-)- α -bisabolol in rodents*. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2011. **384**(6): p. 525-33.
16. Proksch E, Brandner JM, and Jensen JM, *The skin: an indispensable barrier*. Exp Dermatol, 2008. **17**(12): p. 1063-72.
17. Mojumdar EH, Gooris GS, Barlow DJ, Lawrence MJ, Deme B, and Bouwstra JA, *Skin lipids: localization of ceramide and fatty acid in the unit cell of the long periodicity phase*. Biophys J, 2015. **108**(11): p. 2670-9.
18. Kezic S and Jakasa I, *Filaggrin and Skin Barrier Function*. 2016: Agner T (ed): Skin Barrier Function. Curr Probl Dermatol. p. 1-7.
19. Bouwstra JA and Honeywell-Nguyen PL, *Skin structure and mode of action of vesicles*. Adv Drug Deliv Rev, 2002. **54 Suppl 1**: p. S41-55.
20. Behne M, Uchida Y, Seki T, de Montellano PO, Elias PM, and Holleran WM, *Omega-hydroxyceramides are required for corneocyte lipid envelope (CLE) formation and normal epidermal permeability barrier function*. J Invest Dermatol, 2000. **114**(1): p. 185-92.
21. Tong L, Corrales RM, Chen Z, Villarreal AL, De Paiva CS, Beuerman R, Li DQ, and Pflugfelder SC, *Expression and regulation of cornified envelope proteins in human corneal epithelium*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006. **47**(5): p. 1938-46.
22. Steven AC and Steinert PM, *Protein composition of cornified cell envelopes of epidermal keratinocytes*. J Cell Sci, 1994. **107 (Pt 2)**: p. 693-700.
23. Elias PM, *Epidermal barrier function: intercellular lamellar lipid structures, origin, composition and metabolism*. 1991: Journal of Controlled Release.
24. Heisig M, Lieckfeldt R, Wittum G, Mazurkevich G, and Lee G, *Non steady-state descriptions of drug permeation through stratum corneum. I. The biphasic brick-and-mortar model*. Pharm Res, 1996. **13**(3): p. 421-6.
25. Rabionet M, Bayerle A, Marsching C, Jennemann R, Gröne HJ, Yildiz Y, Wachten D, Shaw W, Shayman JA, and Sandhoff R, *1-O-acylceramides are natural components of human and mouse epidermis*. J Lipid Res, 2013. **54**(12): p. 3312-21.

26. Menon GK, Cleary GW, and Lane ME, *The structure and function of the stratum corneum*. Int J Pharm, 2012. **435**(1): p. 3-9.
27. Nemes Z and Steinert PM, *Bricks and mortar of the epidermal barrier*. Exp Mol Med, 1999. **31**(1): p. 5-19.
28. Forslind B, *A domain mosaic model of the skin barrier*. Acta Derm Venereol, 1994. **74**(1): p. 1-6.
29. Rawlings AV and Harding CR, *Moisturization and skin barrier function*. Dermatol Ther, 2004. **17 Suppl 1**: p. 43-8.
30. Roelandt T, Roseeuw D, and Hachem JP, *Practical Use and Significance of Transepidermal Water Loss Measurements*. 2011, Fluhr, Joachim W.: Practical Aspects of Cosmetic Testing. p. 253-259.
31. Darlenski R, Sassning S, Tsankov N, and Fluhr JW, *Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties*. Eur J Pharm Biopharm, 2009. **72**(2): p. 295-303.
32. Nickoloff BJ and Naidu Y, *Perturbation of epidermal barrier function correlates with initiation of cytokine cascade in human skin*. J Am Acad Dermatol, 1994. **30**(4): p. 535-46.
33. Boguniewicz M and Leung DY, *Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation*. Immunol Rev, 2011. **242**(1): p. 233-46.
34. Proksch E, Fölster-Holst R, and Jensen JM, *Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema*. J Dermatol Sci, 2006. **43**(3): p. 159-69.
35. Lu N, Chandar P, Tempesta D, Vincent C, Bajor J, and McGuinness H, *Characteristic differences in barrier and hygroscopic properties between normal and cosmetic dry skin. I. Enhanced barrier analysis with sequential tape-stripping*. Int J Cosmet Sci, 2014. **36**(2): p. 167-74.
36. Dickel H, Goulioumis A, Gambichler T, Fluhr JW, Kamphowe J, Altmeyer P, and Kuss O, *Standardized tape stripping: a practical and reproducible protocol to uniformly reduce the stratum corneum*. Skin Pharmacol Physiol, 2010. **23**(5): p. 259-65.
37. Lademann J, Jacobi U, Surber C, Weigmann HJ, and Fluhr JW, *The tape stripping procedure--evaluation of some critical parameters*. Eur J Pharm Biopharm, 2009. **72**(2): p. 317-23.

38. Wood LC, Jackson SM, Elias PM, Grunfeld C, and Feingold KR, *Cutaneous barrier perturbation stimulates cytokine production in the epidermis of mice*. J Clin Invest, 1992. **90**(2): p. 482-7.
39. Holzmann S, Tripp CH, Schmuth M, Janke K, Koch F, Saeland S, Stoitzner P, and Romani N, *A model system using tape stripping for characterization of Langerhans cell-precursors in vivo*. J Invest Dermatol, 2004. **122**(5): p. 1165-74.
40. Kottner J, Lichterfeld A, and Blume-Peytavi U, *Transepidermal water loss in young and aged healthy humans: a systematic review and meta-analysis*. Arch Dermatol Res, 2013. **305**(4): p. 315-23.
41. Fluhr JW, Feingold KR, and Elias PM, *Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models*. Exp Dermatol, 2006. **15**(7): p. 483-92.
42. Fluhr JW, Darlenski R, Lachmann N, Baudouin C, Msika P, De Belilovsky C, and Hachem JP, *Infant epidermal skin physiology: adaptation after birth*. Br J Dermatol, 2012. **166**(3): p. 483-90.
43. Darlenski R and Fluhr JW, *Influence of skin type, race, sex, and anatomic location on epidermal barrier function*. Clin Dermatol, 2012. **30**(3): p. 269-73.
44. Pinnagoda J, Tupker RA, Smit JA, Coenraads PJ, and Nater JP, *The intra- and inter-individual variability and reliability of transepidermal water loss measurements*. Contact Dermatitis, 1989. **21**(4): p. 255-9.
45. Thune P, Nilsen T, Hanstad IK, Gustavsen T, and Lövig Dahl H, *The water barrier function of the skin in relation to the water content of stratum corneum, pH and skin lipids. The effect of alkaline soap and syndet on dry skin in elderly, non-atopic patients*. Acta Derm Venereol, 1988. **68**(4): p. 277-83.
46. Scott A, Khan KM, Cook JL, and Duronio V, *What is "inflammation"? Are we ready to move beyond Celsus?* Br J Sports Med, 2004. **38**(3): p. 248-9.
47. Sprague AH and Khalil RA, *Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease*. Biochem Pharmacol, 2009. **78**(6): p. 539-52.
48. Bevilacqua MP, Pober JS, Wheeler ME, Cotran RS, and Gimbrone MA, *Interleukin 1 acts on cultured human vascular endothelium to increase the adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes, and related leukocyte cell lines*. J Clin Invest, 1985. **76**(5): p. 2003-11.

49. Bevilacqua MP, Pober JS, Mendrick DL, Cotran RS, and Gimbrone MA, *Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(24): p. 9238-42.
50. Onoue A, Kabashima K, Kobayashi M, Mori T, and Tokura Y, *Induction of eosinophil- and Th2-attracting epidermal chemokines and cutaneous late-phase reaction in tape-stripped skin*. Exp Dermatol, 2009. **18**(12): p. 1036-43.
51. Weigand DA and Gaylor JR, *Removal of stratum corneum in vivo: an improvement on the cellophane tape stripping technique*. J Invest Dermatol, 1973. **60**(2): p. 84-7.
52. Zachariae R, Lei U, Haedersdal M, and Zachariae C, *Itch severity and quality of life in patients with pruritus: preliminary validity of a Danish adaptation of the itch severity scale*. Acta Derm Venereol, 2012. **92**(5): p. 508-14.
53. Leslie TA, *Itch Management in the Elderly*. Curr Probl Dermatol, 2016. **50**: p. 192-201.
54. Fujii M, Nabe T, Tomozawa J, and Kohno S, *Involvement of skin barrier dysfunction in itch-related scratching in special diet-fed hairless mice*. Eur J Pharmacol, 2006. **530**(1-2): p. 152-6.
55. Papoiu AD, Tey HL, Coghill RC, Wang H, and Yosipovitch G, *Cowhage-induced itch as an experimental model for pruritus. A comparative study with histamine-induced itch*. PLoS One, 2011. **6**(3): p. e17786.
56. Shim WS and Oh U, *Histamine-induced itch and its relationship with pain*. Mol Pain, 2008. **4**: p. 29.
57. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, Durham S, Fokkens W, Gjomarkaj M, Haahtela T, Bom AT, Wöhrl S, Maibach H, and Lockey R, *The skin prick test - European standards*. Clin Transl Allergy, 2013. **3**(1): p. 3.
58. Galli SJ and Tsai M, *Mast cells in allergy and infection: versatile effector and regulatory cells in innate and adaptive immunity*. Eur J Immunol, 2010. **40**(7): p. 1843-51.
59. Gould HJ, Sutton BJ, Bevil AJ, Bevil RL, McCloskey N, Coker HA, Fear D, and Smurthwaite L, *The biology of IGE and the basis of allergic disease*. Annu Rev Immunol, 2003. **21**: p. 579-628.
60. Schmelz M, Schmidt R, Weidner C, Hilliges M, Torebjork HE, and Handwerker HO, *Chemical response pattern of different classes of C-nociceptors to pruritogens and algogens*. J Neurophysiol, 2003. **89**(5): p. 2441-8.

61. Andersen HH, Elberling J, and Arendt-Nielsen L, *Human surrogate models of histaminergic and non-histaminergic itch*. Acta Derm Venereol, 2015. **95**(7): p. 771-7.
62. Shim WS, Tak MH, Lee MH, Kim M, Koo JY, Lee CH, and Oh U, *TRPV1 mediates histamine-induced itching via the activation of phospholipase A2 and 12-lipoxygenase*. J Neurosci, 2007. **27**(9): p. 2331-7.
63. Shin J, Cho H, Hwang SW, Jung J, Shin CY, Lee SY, Kim SH, Lee MG, Choi YH, Kim J, Haber NA, Reichling DB, Khasar S, Levine JD, and Oh U, *Bradykinin-12-lipoxygenase-VRI signaling pathway for inflammatory hyperalgesia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. **99**(15): p. 10150-5.
64. Papoiu AD, Coghill RC, Kraft RA, Wang H, and Yosipovitch G, *A tale of two itches. Common features and notable differences in brain activation evoked by cowhage and histamine induced itch*. Neuroimage, 2012. **59**(4): p. 3611-23.
65. Davidson S, Zhang X, Yoon CH, Khasabov SG, Simone DA, and Giesler GJ, *The itch-producing agents histamine and cowhage activate separate populations of primate spinothalamic tract neurons*. J Neurosci, 2007. **27**(37): p. 10007-14.
66. Ishiuchi Y, Coghill RC, Patel TS, Oshiro Y, Kraft RA, and Yosipovitch G, *Distinct patterns of brain activity evoked by histamine-induced itch reveal an association with itch intensity and disease severity in atopic dermatitis*. Br J Dermatol, 2009. **161**(5): p. 1072-80.
67. Namer B, Carr R, Johanek LM, Schmelz M, Handwerker HO, and Ringkamp M, *Separate peripheral pathways for pruritus in man*. J Neurophysiol, 2008. **100**(4): p. 2062-9.
68. Weidner C, Schmelz M, Schmidt R, Hansson B, Handwerker HO, and Torebjörk HE, *Functional attributes discriminating mechano-insensitive and mechano-responsive C nociceptors in human skin*. J Neurosci, 1999. **19**(22): p. 10184-90.
69. Reddy VB, Iuga AO, Shimada SG, LaMotte RH, and Lerner EA, *Cowhage-evoked itch is mediated by a novel cysteine protease: a ligand of protease-activated receptors*. J Neurosci, 2008. **28**(17): p. 4331-5.
70. Steinhoff M, Neisius U, Ikoma A, Fartasch M, Heyer G, Skov PS, Luger TA, and Schmelz M, *Proteinase-activated receptor-2 mediates itch: a novel pathway for pruritus in human skin*. J Neurosci, 2003. **23**(15): p. 6176-80.
71. Green BG and Shaffer GS, *The sensory response to capsaicin during repeated topical exposures: differential effects on sensations of itching and pungency*. Pain, 1993. **53**(3): p. 323-34.

72. Sikand P, Shimada SG, Green BG, and LaMotte RH, *Similar itch and nociceptive sensations evoked by punctate cutaneous application of capsaicin, histamine and cowhage*. Pain, 2009. **144**(1-2): p. 66-75.
73. Assoian RK, Fleurdelys BE, Stevenson HC, Miller PJ, Madtes DK, Raines EW, Ross R, and Sporn MB, *Expression and secretion of type beta transforming growth factor by activated human macrophages*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(17): p. 6020-4.
74. Kehrl JH, Roberts AB, Wakefield LM, Jakowlew S, Sporn MB, and Fauci AS, *Transforming growth factor beta is an important immunomodulatory protein for human B lymphocytes*. J Immunol, 1986. **137**(12): p. 3855-60.
75. Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, Sporn MB, and Fauci AS, *Production of transforming growth factor beta by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth*. J Exp Med, 1986. **163**(5): p. 1037-50.
76. Frikeche J, Couteau C, Roussakis C, and Coiffard LJ, *Research on the immunosuppressive activity of ingredients contained in sunscreens*. Arch Dermatol Res, 2015. **307**(3): p. 211-8.
77. Falanga V, Qian SW, Danielpour D, Katz MH, Roberts AB, and Sporn MB, *Hypoxia upregulates the synthesis of TGF-beta 1 by human dermal fibroblasts*. J Invest Dermatol, 1991. **97**(4): p. 634-7.
78. Sporn MB and Roberts AB, *Transforming growth factor-beta: recent progress and new challenges*. J Cell Biol, 1992. **119**(5): p. 1017-21.
79. Taylor AW, *Review of the activation of TGF-beta in immunity*. J Leukoc Biol, 2009. **85**(1): p. 29-33.
80. Bonewald LF, *Regulation and regulatory activities of transforming growth factor beta*. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 1999. **9**(1): p. 33-44.
81. Wan YY and Flavell RA, *'Yin-Yang' functions of transforming growth factor-beta and T regulatory cells in immune regulation*. Immunol Rev, 2007. **220**: p. 199-213.
82. Koff A, Ohtsuki M, Polyak K, Roberts JM, and Massagué J, *Negative regulation of G1 in mammalian cells: inhibition of cyclin E-dependent kinase by TGF-beta*. Science, 1993. **260**(5107): p. 536-9.
83. Ansel J, Perry P, Brown J, Damm D, Phan T, Hart C, Luger T, and Hefeneider S, *Cytokine modulation of keratinocyte cytokines*. J Invest Dermatol, 1990. **94**(6 Suppl): p. 101S-107S.

84. Galkowska H, Wojewodzka U, and Olszewski WL, *Chemokines, cytokines, and growth factors in keratinocytes and dermal endothelial cells in the margin of chronic diabetic foot ulcers*. Wound Repair Regen, 2006. **14**(5): p. 558-65.
85. Leite GeO, Leite LH, Sampaio ReS, Araruna MK, de Menezes IR, da Costa JG, and Campos AR, *(-)- α -Bisabolol attenuates visceral nociception and inflammation in mice*. Fitoterapia, 2011. **82**(2): p. 208-11.
86. Kim S, Jung E, Kim JH, Park YH, Lee J, and Park D, *Inhibitory effects of (-)- α -bisabolol on LPS-induced inflammatory response in RAW264.7 macrophages*. Food Chem Toxicol, 2011. **49**(10): p. 2580-5.
87. Williams TJ, *Prostaglandin E2, prostaglandin I2 and the vascular changes of inflammation*. Br J Pharmacol, 1979. **65**(3): p. 517-24.
88. Braga PC, Dal Sasso M, Fonti E, and Culici M, *Antioxidant activity of bisabolol: inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and cell-free systems*. Pharmacology, 2009. **83**(2): p. 110-5.
89. McCall CE, Bass DA, DeChatelet LR, Link AS, and Mann M, *In vitro responses of human neutrophils to N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine: correlation with effects of acute bacterial infection*. J Infect Dis, 1979. **140**(3): p. 277-86.
90. Maeda S and Omata M, *Inflammation and cancer: role of nuclear factor-kappaB activation*. Cancer Sci, 2008. **99**(5): p. 836-42.
91. Nowell PC, *Phytohemagglutinin: an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes*. Cancer Res, 1960. **20**: p. 462-6.
92. Ceuppens JL, Baroja ML, Lorre K, Van Damme J, and Billiau A, *Human T cell activation with phytohemagglutinin. The function of IL-6 as an accessory signal*. J Immunol, 1988. **141**(11): p. 3868-74.
93. Hampton MB, Kettle AJ, and Winterbourn CC, *Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing*. Blood, 1998. **92**(9): p. 3007-17.
94. Couteau C, Chauvet C, Papisaris E, and Coiffard LJ, *Influence of certain ingredients on the SPF determined in vivo*. Arch Dermatol Res, 2012. **304**(10): p. 817-21.
95. Rodrigues L and Pereira LM, *Basal transepidermal water loss: right/left forearm difference and motoric dominance*. 1998: Skin Research and Technology. p. 135-137.
96. Schnetz E, Kuss O, Schmitt J, Diepgen TL, Kuhn M, and Fartasch M, *Intra-and inter-individual variations in transepidermal water loss on the face: facial locations for bioengineering studies*. Contact Dermatitis, 1999. **40**(5): p. 243-7.

97. Berardesca E, *Factors Influencing Measurements*. 2011, Fluhr, Joachim W.: Practical Aspects of Cosmetic Testing. p. 89-99.
98. Rogiers V and EEMCO, *EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences*. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol, 2001. **14**(2): p. 117-28.
99. Berardesca E and EEMCO, *EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods*. Skin Res Technol, 1997. **3**(2): p. 126-32.
100. Le Fur I, Reinberg A, Lopez S, Morizot F, Mechkouri M, and Tschachler E, *Analysis of circadian and ultradian rhythms of skin surface properties of face and forearm of healthy women*. J Invest Dermatol, 2001. **117**(3): p. 718-24.
101. Yosipovitch G, Xiong GL, Haus E, Sackett-Lundeen L, Ashkenazi I, and Maibach HI, *Time-dependent variations of the skin barrier function in humans: transepidermal water loss, stratum corneum hydration, skin surface pH, and skin temperature*. J Invest Dermatol, 1998. **110**(1): p. 20-3.
102. Mehling A and Fluhr JW, *Chronobiology: biological clocks and rhythms of the skin*. Skin Pharmacol Physiol, 2006. **19**(4): p. 182-9.
103. Constantin MM, Poenaru E, Poenaru C, and Constantin T, *Skin Hydration Assessment through Modern Non-Invasive Bioengineering Technologies*. Maedica (Buchar), 2014. **9**(1): p. 33-8.
104. Dickel H, Bruckner TM, Erdmann SM, Fluhr JW, Frosch PJ, Grabbe J, Löffler H, Merk HF, Pirker C, Schwanitz HJ, Weisshaar E, and Brasch J, *The "strip" patch test: results of a multicentre study towards a standardization*. Arch Dermatol Res, 2004. **296**(5): p. 212-9.
105. Breternitz M, Flach M, Prässler J, Elsner P, and Fluhr JW, *Acute barrier disruption by adhesive tapes is influenced by pressure, time and anatomical location: integrity and cohesion assessed by sequential tape stripping. A randomized, controlled study*. Br J Dermatol, 2007. **156**(2): p. 231-40.
106. Fluhr JW, Kuss O, Diepgen T, Lazzerini S, Pelosi A, Gloor M, and Berardesca E, *Testing for irritation with a multifactorial approach: comparison of eight non-invasive measuring techniques on five different irritation types*. Br J Dermatol, 2001. **145**(5): p. 696-703.
107. du Plessis J, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner M, Franken A, Kudla I, and Holness L, *International guidelines for the in vivo assessment*

- of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration.* Skin Res Technol, 2013. **19**(3): p. 265-78.
108. Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, and Serup J, *Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis.* Contact Dermatitis, 1990. **22**(3): p. 164-78.
109. Clarys P, Alewaeters K, Lambrecht R, and Barel AO, *Skin color measurements: comparison between three instruments: the Chromameter(R), the DermaSpectrometer(R) and the Mexameter(R).* Skin Res Technol, 2000. **6**(4): p. 230-238.
110. Diffey BL, Oliver RJ, and Farr PM, *A portable instrument for quantifying erythema induced by ultraviolet radiation.* Br J Dermatol, 1984. **111**(6): p. 663-72.
111. Piérard GE, *EEMCO guidance for the assessment of skin colour.* J Eur Acad Dermatol Venereol, 1998. **10**(1): p. 1-11.
112. Ruëff F, Bergmann KC, Brockow K, Fuchs T, Gröbl A, Jung K, Klimek L, Müsken H, Pfaar O, Przybilla B, Sitter H, Wehrmann W, and Immunology GSfAaC, *[Skin tests for diagnostics of allergic immediate-type reactions. Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology].* Pneumologie, 2011. **65**(8): p. 484-95.
113. Hawro T, Saluja R, Weller K, Altrichter S, Metz M, and Maurer M, *Interleukin-31 does not induce immediate itch in atopic dermatitis patients and healthy controls after skin challenge.* Allergy, 2014. **69**(1): p. 113-7.
114. Hawro T, Lehmann S, Altrichter S, Fluhr JW, Zuberbier T, Church MK, Maurer M, and Metz M, *Skin provocation tests may help to diagnose atopic dermatitis.* Allergy, 2016. **71**(12): p. 1745-1752.
115. Fitzpatrick TB, *Soleil et peau [Sun and skin].* 1975: Journal de Médecine Esthétique. p. 33-34.
116. Reed JT, Ghadially R, and Elias PM, *Skin type, but neither race nor gender, influence epidermal permeability barrier function.* Arch Dermatol, 1995. **131**(10): p. 1134-8.
117. Diepgen T, Fartasch M, and Hornstein O, *Criteria of Atopic Skin Diathesis.* 1991: Dermatosen in Beruf und Umwelt. p. 79-83.
118. Quinlan PT, Lane J, Moore KL, Aspen J, Rycroft JA, and O'Brien DC, *The acute physiological and mood effects of tea and coffee: the role of caffeine level.* Pharmacol Biochem Behav, 2000. **66**(1): p. 19-28.

119. Stamatas GN, de Sterke J, Hauser M, von Stetten O, and van der Pol A, *Lipid uptake and skin occlusion following topical application of oils on adult and infant skin*. J Dermatol Sci, 2008. **50**(2): p. 135-42.
120. Patzelt A, Lademann J, Richter H, Darvin ME, Schanzer S, Thiede G, Sterry W, Vergou T, and Hauser M, *In vivo investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier*. Skin Res Technol, 2012. **18**(3): p. 364-9.
121. Gupta SK, *Intention-to-treat concept: A review*. Perspect Clin Res, 2011. **2**(3): p. 109-12.
122. Heritier SR, Gebiski VJ, and Keech AC, *Inclusion of patients in clinical trial analysis: the intention-to-treat principle*. Med J Aust, 2003. **179**(8): p. 438-40.
123. Montori VM and Guyatt GH, *Intention-to-treat principle*. CMAJ, 2001. **165**(10): p. 1339-41.
124. Hoth M and Wischmeyer E, *Unspezifisches Immunsystem*. 2010: Duale Reihe Physiologie. p. 195-204.
125. Heng KY, Kei TY, Singh KJ, Hairui L, Ai-Ling P, and Lifeng K, *Essential monographs: Bisabolol*. 2014, Woodhead Publishing: Handbook of Cosmeceutical Excipients and their Safeties. p. 108.
126. Das M, *Chamomile Oil and Extract: Localization, Chemical Composition, Extraction, and Identification*. 2015, CRC Press, Taylor & Francis Group: Chamomile: Medicinal, Biochemical, and Agricultural Aspects. p. 165.
127. Thandar Y, Gray A, Botha J, and Mosam A, *Topical Herbal Medicines for Atopic Eczema: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials*. Br J Dermatol, 2016.
128. Mortimer S and Reeder M, *Botanicals in Dermatology: Essential Oils, Botanical Allergens, and Current Regulatory Practices*. Dermatitis, 2016. **27**(6): p. 317-324.
129. Pazyar N, Yaghoobi R, Rafiee E, Mehrabian A, and Feily A, *Skin wound healing and phytomedicine: a review*. Skin Pharmacol Physiol, 2014. **27**(6): p. 303-10.
130. Duraz AY and Khan SA, *Knowledge, attitudes and awareness of community pharmacists towards the use of herbal medicines in muscat region*. Oman Med J, 2011. **26**(6): p. 451-3.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Max Fabian Lorenz, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Effekt von Bisabolol auf die Barrierefunktion, Inflammation und Hydratation der Haut sowie auf Juckreizempfindung nach induzierter Hautirritation bei gesunden Proband/innen im Vergleich zu Placebo“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Publikationen zu dieser Monographie sind nicht vorhanden.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Danksagung

In erster Linie gilt mein besonderer Dank meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Joachim Fluhr für die Vermittlung dieses Promotionsthemas und seiner zuverlässigen Unterstützung während des Projektes. Ich bin sehr dankbar dafür, wie viel ich von ihm über das gute wissenschaftliche Arbeiten lernen konnte; besonders aber auch für die vielen Ratschläge, die weit über das wissenschaftliche Arbeiten selbst hinausgingen.

Mein Dank gilt weiterhin meinem Zweitbetreuer, Prof. Dr. Marcus Maurer, den ich besonders in seiner Art, die Arbeitsgruppe zu leiten, und in seiner positiven Ausstrahlung sehr schätze. Der ganzen Arbeitsgruppe danke ich sehr für ihre Offenheit und Hilfsbereitschaft bei allerlei Fragen und Problemen. Ohne sie wäre diese Arbeit sehr viel mühsamer gewesen.

Ich bedanke mich außerdem bei der Robugen GmbH für die finanzielle Förderung dieses spannenden Forschungsprojektes.

Zuletzt möchte ich mich von ganzem Herzen bei meinen Eltern bedanken, von denen ich weiß, dass ich ihren bedingungslosen Rückhalt bei allem habe, das mir am Herzen liegt. Danke für dieses Privileg.

Anhang

- I. CFR
- II. Erlangen Atopie Score
- III. Votum der Ethikkommission

Bi²Si Studie: CFR

Bi²Si Studie V1

Probandennummer: _____

Datum(tt/mm/)_____/_____/201__

Uhrzeit _____

Geschlecht _____

Corneometer V1 Baseline :

Rechts Baseline	Links Baseline	

Corneometer V1 nach dem Tape-Stripping :

Rechts direkt nach TS	Links direkt nach TS	
p1	p2	Behandlung mit

Corneometer V1 3 Stunden nach Tape-Stripping :

Rechts 3h nach TS	Links 3h nach TS	
p1	p2	Behandlung mit

Bi²Si Studie: CFR

Bi²Si Studie V1

Probandennummer: _____

Datum(tt/mm/)______/_____/201_

Uhrzeit _____

Geschlecht _____

Mexameter V1 Baseline :

Rechts Baseline	Links Baseline	

Mexameter V1 nach dem Tape-Stripping :

Rechts gleich nach TS	Links gleich nach TS	
p1	p2	Behandlung mit

Mexameter V1 3 Stunden nach Tape-Stripping :

Rechts 3h nach TS	Links 3h nach TS	
p1	p2	Behandlung mit

Bi²Si Studie: CFR

Bi²Si Studie V1

Probandennummer: _____

Datum(tt/mm/)______/_____/201_

Uhrzeit _____

Geschlecht _____

Tewameter V1 Baseline :

Rechts Baseline	Links Baseline	

Tewameter V1 nach dem Tape-Stripping :

Rechts gleich nach TS	Links gleich nach TS	
p1	p2	Behandlung mit

Tewameter V1 3 Stunden nach Tape-Stripping :

Rechts 3h nach TS	Links 3h nach TS	
p1	p2	Behandlung mit

Bi²Si Studie: CFR

Bi²Si Studie V2

Probandennummer: _____

Datum(tt/mm/)______/_____/201_

Uhrzeit _____

Geschlecht _____

Corneometer V2 (nach 24 Stunden):

Rechts	Links	

Mexameter V2 (nach 24 Stunden):

Rechts	Links	

Tewameter V2 (nach 24 Stunden):

Rechts	Links	
p1	p2	Behandlung mit

Bi²Si Studie: CFR

Bi²Si Studie V3

vor Juckreizinduktion

Probandennummer: _____

Datum(tt/mm/)______/_____/201_

Uhrzeit _____

Geschlecht _____

Corneometer V3 (nach 48 Stunden):

Rechts	Links	

Mexameter V3 (nach 48 Stunden):

Rechts	Links	

Tewameter V3 (nach 48 Stunden):

Rechts	Links	
p1	p2	Behandlung mit

Bi²Si Studie: CFR

Bi²Si Studie V3

Indikator: HISTAMIN / COWHAGE / CAPSAICIN

Tag des Tests: _____ Uhrzeit _____ Probandennummer _____

Juckreiz: **Rechts**

Zeitpunkt	kein	maximal
0) juckend/itching	0.....	10
1) juckend/itching	0.....	10
2) juckend/itching	0.....	10
3) juckend/itching	0.....	10
4) juckend/itching	0.....	10
5) juckend/itching	0.....	10
6) juckend/itching	0.....	10
7) juckend/itching	0.....	10
8) juckend/itching	0.....	10
9) juckend/itching	0.....	10
10) juckend/itching	0.....	10
11) juckend/itching	0.....	10
12) juckend/itching	0.....	10
13) juckend/itching	0.....	10
14) juckend/itching	0.....	10
15) juckend/itching	0.....	10
16) juckend/itching	0.....	10
17) juckend/itching	0.....	10
18) juckend/itching	0.....	10
19) juckend/itching	0.....	10
20) juckend/itching	0.....	10

Corneometer	Mexameter	Tewameter

Bi² Si Studie: CFR

Bi²Si StudieV3

Indikator: HISTAMIN / CAPSAICIN / COWHAGE

Tag des Tests: _____ Uhrzeit _____ Probandennummer _____

Juckreiz: **Links**

Zeitpunkt	kein	maximal
0) juckend/itching	0.....	10
1) juckend/itching	0.....	10
2) juckend/itching	0.....	10
3) juckend/itching	0.....	10
4) juckend/itching	0.....	10
5) juckend/itching	0.....	10
6) juckend/itching	0.....	10
7) juckend/itching	0.....	10
8) juckend/itching	0.....	10
9) juckend/itching	0.....	10
10) juckend/itching	0.....	10
11) juckend/itching	0.....	10
12) juckend/itching	0.....	10
13) juckend/itching	0.....	10
14) juckend/itching	0.....	10
15) juckend/itching	0.....	10
16) juckend/itching	0.....	10
17) juckend/itching	0.....	10
18) juckend/itching	0.....	10
19) juckend/itching	0.....	10
20) juckend/itching	0.....	10

Corneometer	Mexameter	Tewameter

Erlangen Atopie Score

<i>Atopische Familienanamnese (Verwandte 1. Grades)</i>	nein	ja	k.A.	Bewertung
Ekzeme	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	max. 2 Pkt.
Rhin./ Asthma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	max. 0,5 Pkt.
<i>Atopische Eigenanamnese</i>				
Rhin./ Konjunkt.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
Asthma allergicum	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
Milchschorf	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
Juckreiz verstärkt bei Schwitzen auf unbefallener Haut	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	3 Pkt.
Textilunverträglichkeit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	3 Pkt.
Metallunverträglichkeit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
Photophobie	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
<i>Atop. Minimalformen (anamn./klinisch)</i>				
Xerosis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	3 Pkt.
Ohrrhagaden	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2 Pkt.
sog. Dyshidrose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2 Pkt.
Pityriasis alba	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2 Pkt.
sog. Winterfuß / Pulp. sicca	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2 Pkt.
Brustwarzenekzem	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2 Pkt.
Perlèche	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
<i>Atopische Stigmata</i>				
Palmare Hyperlinearität	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	max. 2 Pkt.
Hertoghe Zeichen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	max. 2 Pkt.
sog. „dirty neck“	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	max. 2 Pkt.
Keratosis pilaris	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	max. 1 Pkt.
<i>Dermales Neurovegetativum</i>				
Weißer Dermographism. (unbefallene Haut)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	3 Pkt.
Akrozyanose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
<i>Laborwerte</i>				
IgE über 150 U/ml	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.
über 400 U/ml	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2 Pkt.
Positiver Phadiatop® (inhalativer Atopietest)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	1 Pkt.

Votum der Ethikkommission



Charité | 10117 Berlin

Herrn
PD Dr. Joachim Fluhr
Dermatologie

CCM

Ethikkommission
Ethikausschuss I am Campus Charité - Mitte

Vorsitzender: Prof. Dr. R. Uebelhack

Geschäftsführung: Dr. med. Katja Orzechowski
ethikkommission@charite.de

Korrespondenzadresse: Charitéplatz 1, 10117 Berlin
Tel.: 030/450-517222
Fax: 030/450-517952

<http://ethikkommission.charite.de>

Datum: 22.01.2015

Die Wirkung von Bisabolol auf die Barrierefunktion der Haut, Entzündungsparameter, Hydratation sowie auf Juckreiz bei mechanisch induzierter Hautirritation

Antragsnummer: EA1/149/14

Vorgang vom 21.01.2015, Eingang am 21.01.15

Sehr geehrter Herr Dr. Fluhr,

hiermit bestätigen wir Ihnen den Eingang Ihres Schreibens vom 21.01.2015 mit folgenden Anlagen:

- Ethikantrag, Version vom 19.11.2014
- Probandeninformation, Version 1.4 vom 04.12.2014
- Einwilligungserklärung, Version 1.4 vom 04.12.2014

Die Auflage laut Votum vom 11.06.2014 ist somit erfüllt. Wir wünschen viel Erfolg bei der Durchführung o.g. Studie.

Mit freundlichen Grüßen



Prof. Dr. med. R. Uebelhack
Vorsitzender