

Aus dem  
IUF - Leibniz Institut für umweltmedizinische Forschung  
an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. J. Krutmann

# **Photoprotektive Wirkung von oral verabreichtem Lycopin und Lutein und deren Einfluss auf die Haut**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von  
Anna Luisa Eisenhardt

2014

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen  
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf  
Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. J Krutmann  
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. W. Stahl

# Inhaltsverzeichnis

<b>Glossar</b>	<b>v</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Die Haut . . . . .	1
1.1.1 Anatomie der Haut . . . . .	1
1.1.2 Funktionen der Haut . . . . .	3
1.1.3 Schädigung der Haut durch UV-Exposition . . . . .	4
1.1.4 Photoprotektion der Haut . . . . .	7
1.2 Carotinoide . . . . .	7
1.2.1 Carotinoide als physiologische Antioxidantien gegen photooxida- tiven Stress . . . . .	9
1.2.2 Lycopin . . . . .	10
1.2.3 Lutein . . . . .	10
1.2.4 <i>In vivo</i> Studien zum UV-Schutz von Carotinoiden . . . . .	11
1.3 Molekulare Marker für UV-induzierte Schäden . . . . .	12
1.3.1 Matrixmetalloproteinase-1 (MMP-1) . . . . .	12
1.3.2 ICAM-1 . . . . .	14
1.3.3 Haemoxigenase-1 (HO-1) . . . . .	14
1.3.4 Col-1A1 und Col-1A2 . . . . .	15
1.3.5 TIMP-1 . . . . .	15
1.3.6 IL-1 und IL-6 . . . . .	15
1.4 Ziele der Arbeit . . . . .	16

## INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>17</b>
2.1	Studiendesign . . . . .	17
2.2	Probandenkollektiv . . . . .	18
2.3	Studienablauf . . . . .	19
2.4	Induktion des Erythems . . . . .	20
2.5	Bestimmung der Blutparameter . . . . .	22
2.6	Gewebeproben . . . . .	23
2.6.1	Bestimmung molekularer Marker . . . . .	23
2.7	Messung der Hautparameter . . . . .	24
2.7.1	Transepidermaler Wasserverlust (TEWL), Tewameter TM 300 (Courage&Khazaka, Köln) . . . . .	24
2.7.2	Elastizität (Cutometrie), Cutometer MPA 580 (Courage&Kha- zaka, Köln) . . . . .	27
2.7.3	Hautfarbe (Colorimetrie), Chromameter CR 300 (Minolta, Osa- ka, Japan) . . . . .	29
2.8	Statistik . . . . .	31
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>32</b>
3.1	Ergebnisse Teil 1 Lycopin . . . . .	32
3.1.1	Compliance . . . . .	32
3.1.1.1	Messung der Compliance anhand der Kapselmenge . . . . .	34
3.1.1.2	Compliance anhand der Blutwerte . . . . .	34
3.1.2	Expression molekularer Marker für UV-induzierte Schäden . . . . .	36
3.1.2.1	MMP-1 . . . . .	37
3.1.2.2	ICAM-1 . . . . .	37
3.1.2.3	HO-1 . . . . .	38
3.1.2.4	Col1A1-1 und Col1A2-1 . . . . .	38
3.1.2.5	TIMP-1 . . . . .	43
3.1.2.6	IL-1 und IL-6 . . . . .	43
3.1.2.7	Korrelation der Blutwerte mit der Expression der mo- lekularen Marker . . . . .	43
3.1.3	Veränderungen der Hautparameter . . . . .	46
3.1.3.1	Transepidermaler Wasserverlust (TEWL) . . . . .	46

## INHALTSVERZEICHNIS

---

3.1.3.2	Cutometrie . . . . .	53
3.1.3.3	Colorimetrie . . . . .	59
3.2	Ergebnisse Teil 2 Lutein . . . . .	65
3.2.1	Compliance . . . . .	66
3.2.1.1	Messung der Compliance anhand der Kapselmenge . . . . .	66
3.2.1.2	Compliance anhand der Blutwerte . . . . .	67
3.2.2	Expression molekularer Marker für UV-induzierte Schäden . . . . .	68
3.2.2.1	MMP-1 . . . . .	70
3.2.2.2	ICAM-1 . . . . .	70
3.2.2.3	HO-1 . . . . .	71
3.2.2.4	Col1A1-1 und Col1A2-1 . . . . .	71
3.2.2.5	TIMP-1 . . . . .	76
3.2.2.6	IL-1 und IL-6 . . . . .	76
3.2.2.7	Korrelation der Blutwerte mit der Expression der molekularen Marker . . . . .	79
3.2.3	Veränderungen der Hautparameter . . . . .	79
3.2.3.1	Transepidermaler Wasserverlust (TEWL) . . . . .	81
3.2.3.2	Cutometrie . . . . .	86
3.2.3.3	Colorimetrie . . . . .	91
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>99</b>
4.1	Teil 1 Lycopin . . . . .	99
4.1.1	Einfluss auf die Expression molekularer Marker . . . . .	99
4.1.2	Einfluss auf die Hautparameter . . . . .	100
4.1.3	Photoprotektive Wirkung von Lycopin . . . . .	101
4.2	Teil 2 Lutein . . . . .	102
4.2.1	Einfluss auf die Expression molekularer Marker . . . . .	102
4.2.2	Einfluss auf die Hautparameter . . . . .	103
4.2.3	Photoprotektive Wirkung von Lutein . . . . .	105
4.3	Wirkung der Einnahme von Lycopin und Lutein . . . . .	106
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>107</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>109</b>

## INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>117</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>119</b>
<b>Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>127</b>

# Glossar

## Abkürzungen

AMD	Altersbedingte Makuladegeneration
CIE	Commission Internationale de l'Eclairage
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
HDL	High Density Lipoprotein
HO	Hämoxygenase
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HWZ	Halbwertszeit
ICAM	Inter-Cellular Adhesion Molecule
IL	Interleukin
ITA	Individual Typology Angle
LDL	Low Density Lipoprotein
MED	Minimale Erythemdosis
MMP	Matrixmetalloproteinase
PCR	Polymerase Chain Reaction
PE	Probenentnahme

## GLOSSAR

---

ROS	reactive oxygen species
RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SD	Standard Deviation = Standardabweichung
SE	Standard Error
TEWL	Transepidermal Water Loss (Transepidermaler Wasserverlust)
TG	Treatment Group
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
VLDL	Very Low Density Lipoprotein

# Kapitel 1

## Einleitung

Die Haut ist als Kontaktorgan zur Umwelt vielen Einflüssen ausgesetzt. Hierunter fällt auch die akute und chronische Sonnenlichtexposition und somit die schädigende Wirkung der energiereichen ultravioletten Strahlung.

Sowohl die langwellige UVA-Strahlung im Wellenlängenbereich von 320-400 nm als auch die kurzwellige UVB-Strahlung mit den Wellenlängen von 290-320 nm sind nachweislich beteiligt bei den Vorgängen von Photoalterung, Photocarcinogenese, Photoallergie und verschiedener Photodermatosen, deren Inzidenzen bis heute stetig ansteigen.<sup>[1]</sup>

Zum Schutz gegen diese Schädigungen wurden bereits vor 80 Jahren Sonnenschutzmittel entwickelt, die heute durch eine Mischung aus chemischen und physikalischen Filtern wirken.<sup>[2]</sup> Sie werden topisch auf die Haut aufgetragen und schützen somit nur vor der bewussten Sonnenlichtexposition.

Hierbei stellt sich die Frage, ob eine zusätzliche systemische Photoprotektion möglich und sinnvoll ist.

### 1.1 Die Haut

#### 1.1.1 Anatomie der Haut

Die Haut besteht aus mehreren strukturellen Bereichen. Man unterscheidet Epidermis (mehrschichtig, verhorntes Plattenepithel) und Dermis (Bindegewebe), die fest miteinander verzahnt sind. Die darunter gelegene Subkutis stellt ein Druckpolster und eine verschiebliche Fett- und Bindegewebeschicht dar.

Das Stratum corneum, oder auch die Hornhaut, ist die oberste Schicht der Epidermis und besteht aus sog. Keratinozyten, kernlosen Hornzellen, die einen mechanischen Schutzwall darstellen. Die Dicke der Hornhaut kann bis zu 1,3 mm betragen. Die restliche Epidermis mit Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale (aufgrund vieler Mitosen auch Stratum germinativum genannt) besteht zu 90 % aus Keratinozyten. Diese sind über Gap junctions miteinander verbunden. Die Proliferation der Keratinozyten aus Stammzellen im Stratum basale wird von Wachstumsstimulatoren beeinflusst. Die Induktion geht von Zytokinen der Keratinozyten, die autokrin und parakrin wirken, aber auch von Traumata und UV-Licht aus. Die Dauer der Differenzierung der Zellen vom Stratum basale zum Stratum granulosum beträgt ca. zwei Wochen, die anschließende Entwicklung bis zur Hornschuppe nochmals zwei Wochen.

Weitere mit Spezialfunktionen ausgestattete Zelltypen der Epidermis sind die stark verzweigten Melanozyten und die Merkel-Zellen (Druckrezeptoren) im Stratum basale und die professionell antigenpräsentierenden Langerhans-Zellen, die suprabasal liegen.<sup>[3]</sup> Die Epidermis besitzt keine Blutgefäße. Sie wird daher nur durch Diffusion von Nährstoffen aus dem kapillaren Netz, das durch die Dermis bis an die Basalmembran heranreicht, versorgt.<sup>[4]</sup>

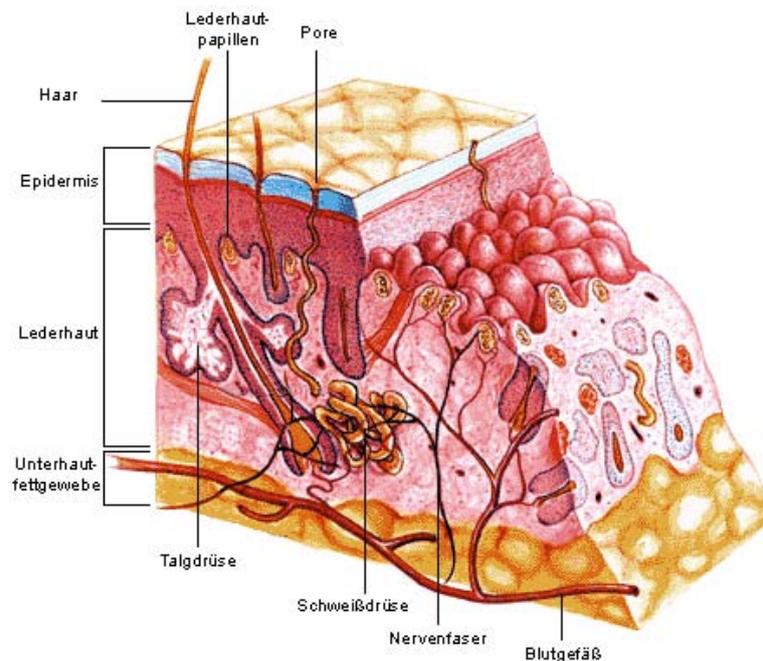
Die Dermis (Corium, Lederhaut) verleiht der Haut ihre Zugfestigkeit und Dehnbarkeit. Sie gliedert sich in das schmale oberflächliche Stratum papillare, deren Zapfen bis in die Epidermis hineinragen und ihr das typische Aussehen der Felder- bzw. Leistenhaut geben, und das Stratum reticulare, welches die tiefere und dickere Schicht aus kräftig fest gewebten Kollagenfaserbündeln und elastischen Fasern darstellt. Ihre Hauptkomponenten sind dermale Zellen (Fibroblasten, Histozyten-inaktive Form der Makrophagen- und Mastzellen) und dermale Fasern (v.a. Kollagen- und elastische Fasern). Die dermale Matrix, in welche die Zellen und Fasern eingebettet sind (Interzellulärsubstanzen), besteht aus Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen. Sie spielt aufgrund ihres großen Wasserbindungsvermögens für die Regulierung des Hautturgors eine wichtige Rolle.

Die Dermis ist gefäß- und nervenfaserreich. Sie ist mit der Epidermis fast unzerreißbar über die Basallamina verzahnt.<sup>[4] [5]</sup>

Die Subcutis (Tela subcutanea, Unterhaut) besteht aus lockerem Bindegewebe und verbindet die Haut mit den darunter gelegenen Strukturen (Faszien, Knochenhaut). In

der Unterhaut liegen viele Nerven, Gefäße, Drüsen und Haarwurzeln. Sie stellt aufgrund vieler Fettzellen einen Fettspeicher und damit einen Wärmeisolator dar.<sup>[5]</sup>

Eine schematische Darstellung der menschlichen Haut zeigt Abbildung 1.1



**Abbildung 1.1:** Aufbau der menschlichen Haut mit Epidermis, Lederhaut (Dermis) und subkutanem Fettgewebe, aus<sup>[6]</sup>

### 1.1.2 Funktionen der Haut

Die Haut übt mit ihrer großen Fläche von 1,5 bis 2 m<sup>2</sup> eine wichtige Funktion als Kontaktorgan zur Umwelt aus. Zu ihren Aufgaben gehört die Regulation des Wasserhaushaltes des Organismus und damit der Schutz vor Austrocknung. Die Wasserverdunstung bei einem Menschen ohne Epidermis betrüge 20 Liter pro Tag. Gleichzeitig agiert die Haut über vermehrte Transpiration als Temperaturregler. Als wichtiges Schutzorgan schützt sie vor Kälte und Wärme sowie vor mechanischer Beanspruchung und Verletzung, da sie stark elastisch und verformbar aber gleichzeitig sehr zugfest ist. Mit dem sog. Säureschutzmantel (saurer pH von 5,7) besitzt die Haut eine enorme Pufferkapazität. Sie bietet einen Schutz vor Infektionen durch Bakterien und Pilze. Hierbei spielt die Haut als Teil des Immunsystems eine wichtige Rolle. Mit Hilfe der freien Nervenendi-

gungen und verschiedener Rezeptoren erkennt sie Berührung, Temperatur und Schmerz. Die Haut ist der UV-Strahlung ausgesetzt und kann so die wichtige Aufgabe erfüllen, die UVB-abhängige Synthese von Cholecalciferol (Vitamin D<sub>3</sub>) aus 7-Dehydrocholesterin im Rahmen der Calcitriol- (Vitamin D-)Synthese zu gewährleisten.<sup>[7]</sup>

Daneben schützt sie durch Hautbräunung (Melanogenese), Verdickung der Epidermis („Lichtschwiele“) und Induktion von antioxidativ wirkenden Enzymen und DNA-Reparaturmechanismen vor den schädigenden Wirkungen der UV-Strahlung.<sup>[4]</sup> Näheres hierzu ist in Kapitel 1.1.4 beschrieben.

### 1.1.3 Schädigung der Haut durch UV-Exposition

Als positive Wirkungen des Sonnenlichtes ist vor allem die UV-abhängige Vitamin D-Synthese zu nennen.<sup>[1]</sup> Darüber hinaus steigert sich durch einen Aufenthalt in der Sonne das allgemeine Wohlbefinden. Auch die Hautbräunung zählt in der heutigen Zeit und in der mitteleuropäischen Region zu einem Schönheitsmerkmal.

Im Gegensatz dazu stehen die schädigenden Wirkungen der UV-Strahlung. Hierbei ist es wichtig, eine ausgewogene Sonnenlichtexposition zu beachten, um die negativen Wirkungen weitestgehend zu verhindern ohne die positiven Auswirkungen zu verlieren.<sup>[8]</sup>

Ultraviolette Strahlung kann in drei Anteile unterteilt werden. Sie besteht aus einem kurzwelligen, hoch energetischen Teil, dem UVC-Anteil mit der Wellenlänge von 200-290 nm, einer ebenfalls energiereichen UVB-Strahlung mit der Wellenlänge von 290-320 nm und dem Anteil einer langwelligen, energiearmen UVA-Strahlung im Bereich von 320-400 nm.

UVC-Strahlung wird typischerweise vollständig durch die Ozonschicht der Atmosphäre gefiltert und nimmt somit in der Regel keinen Einfluss auf die Haut.

UVB-Strahlung dringt bis zum Stratum basale der Epidermis in die Haut ein und löst hier die Reaktion des Sonnenbrandes und die Induktion der Melanogenese, der Bräunung, aus.<sup>[4]</sup> Die Hautrötung (Erythem) entwickelt sich nach wenigen Stunden und erreicht nach acht Stunden ihr Maximum. UVB-Licht schädigt hauptsächlich direkt zelluläre Strukturen (DNA und Proteine). Die direkten DNA-Schädigungen, wie Oxidation und DNA-Strangbruch, können durch Akkumulation von Mutationen in den Zellen der Epidermis Hautkrebs entstehen lassen.<sup>[9] [10] [11]</sup>

95 % der die Erdoberfläche erreichenden UV-Strahlung sind UVA-Strahlen. Sie kann Fensterglas durchdringen und gelangt bis in die Dermis der Haut. UVA-Licht induziert ein verzögertes Erythem, das sein langanhaltendes Maximum erst ca. 24 Stunden nach UVA-Exposition erreicht. Die zytotoxischen und cancerogenen Effekte von UVA-Licht in der Haut, welches weniger von DNA und Proteinen absorbiert wird und somit bis in die Dermis dringt, sind indirekt, sauerstoffabhängig und beinhalten die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS = Reactive Oxygen Species).<sup>[12]</sup> UVA-Strahlung wird von intrazellulären Chromophoren, z.B. Riboflavin, absorbiert, was zu einem veränderten Redox-Potential der Zelle und so zur Entstehung der ROS führt.<sup>[13]</sup>

UVA- und UVB-Strahlung können die Expression der Matrix-Metalloproteinasen (v.a. MMP-1), die Bindegewebsstrukturen, unter anderem Kollagen Typ I<sup>[14]</sup>, abbauen, induzieren.<sup>[15]</sup> Dieser Effekt, der auch als Photoaging (= Hautalterung durch UV-Strahlung) bezeichnet wird, zeigt als sichtbares Ergebnis eine vermehrte Faltenbildung der Haut.<sup>[14]</sup> Auch die Entstehung der ROS durch UV-Strahlung spielt eine Rolle beim Prozess des Photoaging<sup>[16]</sup> ebenso wie die durch ROS entstehenden Mutationen der mitochondrialen DNA (mtDNA), die sog. common-deletion Mutation.<sup>[17][18]</sup>

Liegt ein Missverhältnis zwischen Oxidantien und Antioxidantien mit Übergewicht der Oxidantien vor, spricht man von oxidativem Stress. Die diesen hervorrufenden reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) können, wie erwähnt, zu Schäden an verschiedenen Molekülen wie DNA, Proteinen und Lipiden führen.<sup>[19][20]</sup> Photooxidativer Stress entsteht, wenn die reaktiven Sauerstoffspezies durch UV-Strahlung hervorgerufen werden.<sup>[21]</sup>

Die chronischen Folgen vermehrter UV-Strahlung können schließlich im Bereich der Hautkanzerogenese zu verschiedenen malignen Erkrankungen und ihren Vorstufen führen.<sup>[22][23][11]</sup> Hierbei seien nur beispielhaft als Präkanzerosen die aktinische Keratose und das Lentigo maligna Melanom und als maligne Hauterkrankungen das Spinaliom, das Basaliom und das maligne Melanom genannt als Folge vermehrter und langjähriger UV-Exposition.<sup>[4][24]</sup>

Abbildung 1.2 zeigt schematisch die Eindringtiefe von UV-Strahlung in die Haut und die dadurch induzierten bzw. beeinflussten Proteine, von denen einige ausgewählt in dieser Arbeit untersucht werden.

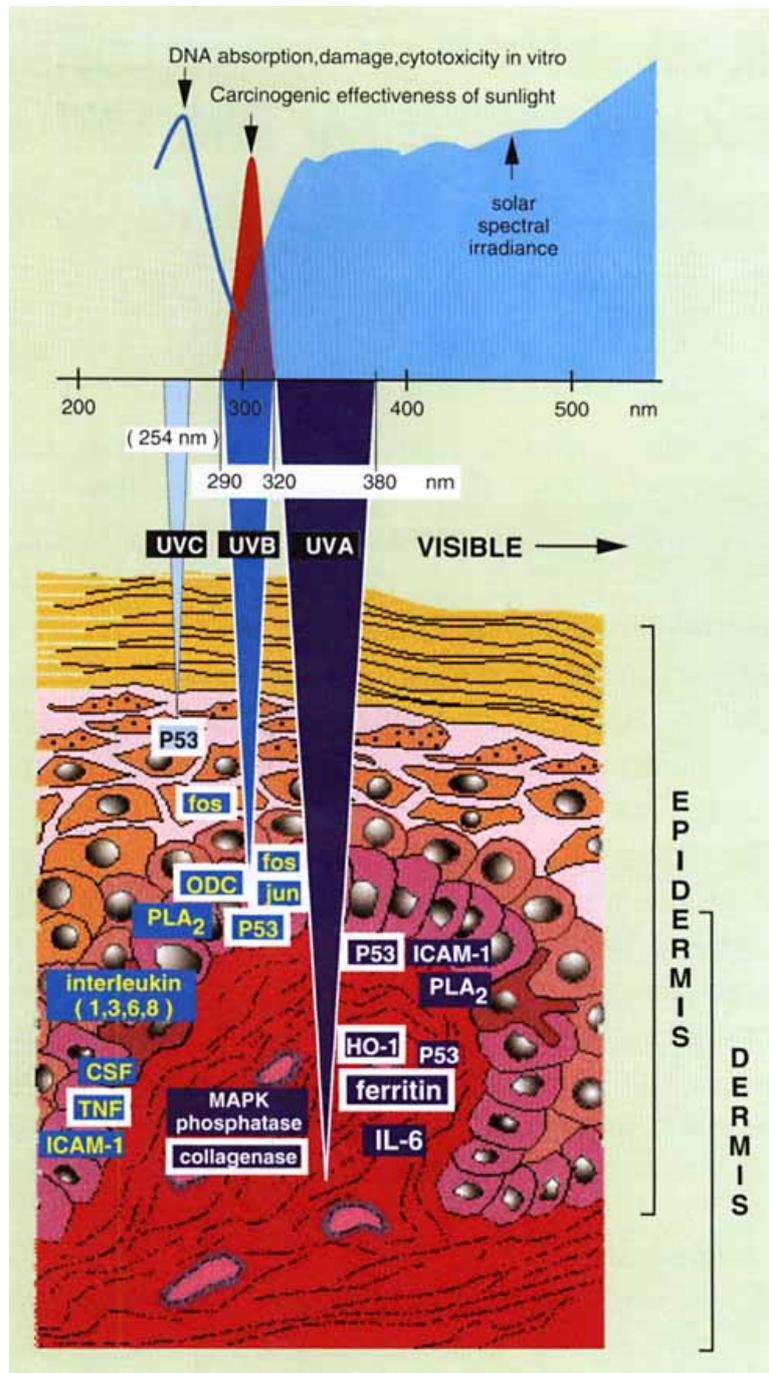


Abbildung 1.2: Spektrum des Sonnenlichts, Eindringtiefe von UV-Strahlung und Aktivierung verschiedener Gene durch UVA-, UVB- und UVC-Strahlen<sup>[25]</sup>

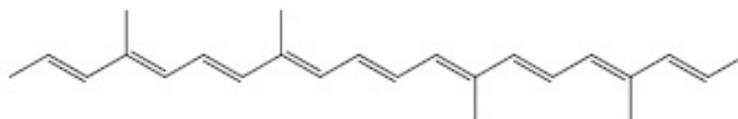
### 1.1.4 Photoprotektion der Haut

Die Hautbräunung (Melanogenese) und die Verdickung der Epidermis (Lichtschwiele) zählen zu den natürlichen Schutzmechanismen der Haut vor UV-Strahlung, wie auch die Induktion von antioxidativ wirksamen Enzymen und DNA-Reparaturmechanismen.<sup>[26]</sup> Die im Rahmen der Bräunung entstehenden Melaninpigmente absorbieren, streuen und reflektieren die UV-Strahlung. Die so genannte Lichtschwiele führt ebenso zum Schutz über Absorption und Streuung des Lichtes.<sup>[4]</sup>

Zu den enzymatischen Schutzmechanismen zählen die Enzyme Superoxid-Dismutase, Katalase und die Glutathion-Peroxidase. Die nicht-enzymatischen Antioxidantien wirken ebenfalls als Schutz vor oxidativem Stress. Unter Antioxidantien versteht man chemische Verbindungen, die geeignet sind, die Oxidation von Molekülen durch ROS zu verhindern bzw. zu modulieren. Hierzu zählen im menschlichen Organismus unter anderem die Vitamine C und E, Glutathion, Flavonoide und Carotinoide. Dabei gelten Carotinoide als effektive Singulett-Sauerstoffinaktivatoren.

## 1.2 Carotinoide

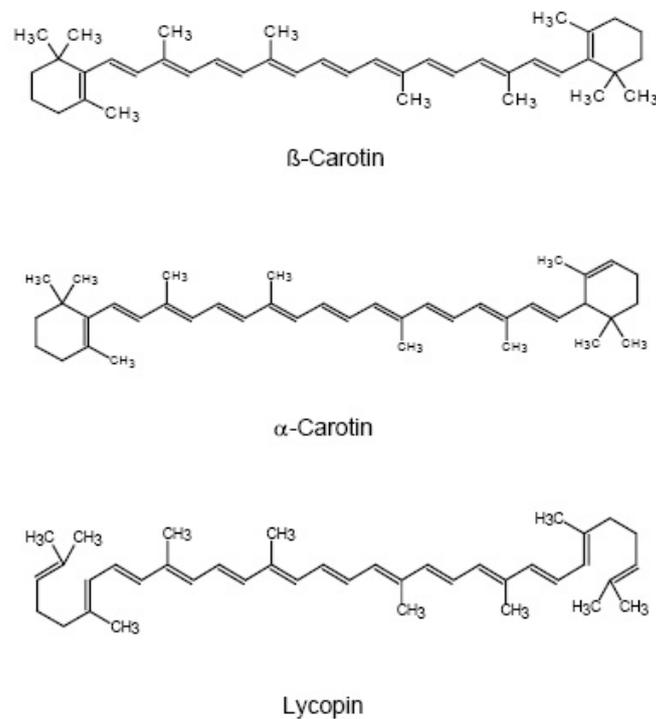
Carotinoide sind lipophile natürliche Farbstoffe und geben vor allem gelb bis rotem Obst und Gemüse ihre Farbe. Tiere und Menschen sind auf die Nahrungsaufnahme von Carotinoiden angewiesen, da sie nicht in der Lage sind, sie *de novo* zu synthetisieren. Carotinoide sind aus einer Kette von 40 Kohlenstoffatomen aufgebaut. Die zentrale Kette des Moleküls besitzt neun konjugierte Kohlenstoffdoppelbindungen und trägt an den Enden zyklische oder azyklische Substituenten. Abbildung 1.3 zeigt dieses Grundgerüst.



**Abbildung 1.3:** Zentrale Kette des Carotinoidmoleküls

Das System der Kohlenstoffdoppelbindungen ist verantwortlich für die meisten biochemischen Funktionen ebenso wie für die charakteristische Farbe der Carotinoide. Es stellt das eigentliche Chromophor dar, das für die Lichtabsorption von Carotinoiden verantwortlich ist.

Die Klasse der Carotinoide unterteilt sich in zwei Gruppen. Moleküle aus Kohlenwasserstoffverbindungen ohne funktionelle Gruppe werden als Carotine bezeichnet, zu denen beispielsweise  $\beta$ -Carotin,  $\alpha$ -Carotin und Lycopin zählen. Xanthophylle, z.B. Zeaxanthin und Lutein, tragen zusätzlich mindestens ein Sauerstoffatom z.B. in Form einer Hydroxy- oder Ester-Gruppe. Die Abbildungen 1.4 und 1.5 zeigen Beispiele für die Gruppen der Carotine und der Xanthophylle.<sup>[20]</sup>



**Abbildung 1.4:** Beispiele für Carotine

Durch das Vorliegen mehrerer Doppelbindungen sind verschiedene cis/trans-Konfigurationen der Carotinoide möglich. Die meisten Pflanzen weisen die all-trans-Isomere der Carotinoide auf, wohingegen im menschlichen Blut verschiedene cis-Isomere vorliegen.<sup>[20]</sup>

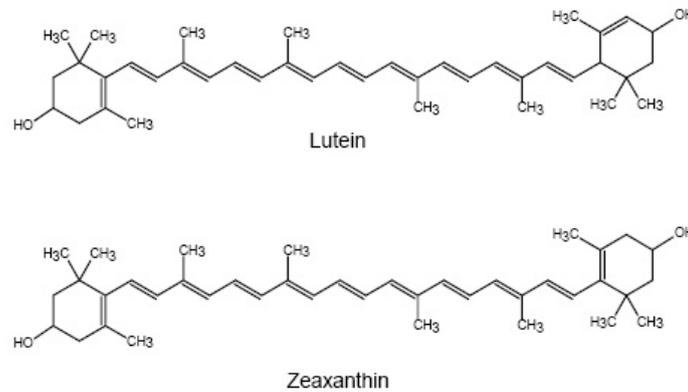


Abbildung 1.5: Beispiele für Xanthophylle

### 1.2.1 Carotinoide als physiologische Antioxidantien gegen photooxidativen Stress

Durch verschiedene Einflussfaktoren, wie unter anderem UV-Strahlung, ist der menschliche Körper oxidativem Stress ausgesetzt. Das System der Kohlenstoffdoppelbindungen der Carotinoide trägt zur ihrer antioxidativen Eigenschaft und damit zu ihrer photoprotektiven Wirkung bei. Carotinoide sind in der Lage, ROS, vor allem Singulett-Sauerstoff  $^1\text{O}_2$  und Peroxyl-Radikale, abzufangen und zu desaktivieren. Hierbei erfolgt die Desaktivierung des Singulett-Sauerstoffs physikalisch. Der Singulett-Sauerstoff überträgt seine Anregungsenergie auf das Carotinoid. Dieses kann die Energie in Form von Wärme an die Umgebung abgeben und geht so unverändert aus der Reaktion hervor. Diese Reaktion ist in Abbildung 1.6 gezeigt.



Abbildung 1.6: Desaktivierung von Singulett-Sauerstoff

Darüber hinaus zeichnen sich Carotinoide dadurch aus, dass sie effektiv angeregte Moleküle, die Radikale erzeugen, desaktivieren.<sup>[20]</sup> Neben dem physikalischen Weg sind Carotinoide in der Lage chemisch mit ROS zu reagieren. Dies nimmt aber nur einen kleinen Teil (0,05 %) des antioxidativen Vermögens von Carotinoiden ein.<sup>[27]</sup>

### 1.2.2 Lycopin

Lycopin ist eines der mengenmäßig häufigsten Carotinoide im menschlichen Blut. Sein Hauptvorkommen zeigt es in roten Früchten, darunter vor allem in Tomaten. Verschiedene Studien lassen auf einen positiven Effekt von Lycopin bei kardiovaskulärem Erkrankungsrisiko, Prostata- und Lungenkrebs schließen.<sup>[28]</sup> Lycopin besteht aus 40 Kohlenstoffatomen in linearer Anordnung und enthält 13 Doppelbindungen, elf davon konjugiert vorliegend. Es besitzt keine Ringstruktur, vgl. Abbildung 1.4. Lycopin wurde als der effektivste Fänger von Singulett-Sauerstoff identifiziert. Seine Fähigkeit als Singulett-Sauerstoff-Fänger ist doppelt so hoch wie die von  $\beta$ -Carotin.<sup>[29]</sup> Auch im Vergleich mit den Vitaminen C und E schnitt Lycopin als Carotinoid mit der stärksten antioxidativen Aktivität ab.<sup>[30]</sup>

Nach dem Verzehr von Lycopinhaltiger Nahrung wird das Carotin im Dünndarm, vor allem im Duodenum, mit Gallensäuren emulgiert. Es bilden sich zusammen mit anderen Nahrungsfetten Mizellen. Nach passiver Diffusion schließt es sich in den Mukozellen mit weiteren lipophilen Stoffen zu Chylomikronen zusammen. Über das Lymphsystem gelangt es in die Blutbahn. In der Leber erfolgt der Einbau in Lipoproteine sehr niederer Dichte (VLDL). Diese werden anschließend im Blut enzymatisch zu Lipoproteinen niederer Dichte (LDL) gespalten. Lycopin und andere reine Kohlenwasserstoffe befinden sich hauptsächlich in LDL im Gegensatz zu Xanthophyllen<sup>[31]</sup>, vgl. Kapitel 1.2.3.

### 1.2.3 Lutein

Lutein gehört, wie auch sein Stereoisomer Zeaxanthin, zur Gruppe der Xanthophylle. Es kommt vor allem in gelbem und grünem Gemüse vor. Lutein besteht wie Lycopin aus 40 Kohlenstoffatomen mit elf konjugierten Doppelbindungen. An beiden Enden der Kette trägt es eine Ringstruktur und eine Hydroxylgruppe, vgl. Abbildung 1.5. Lutein ist fettlöslich und neben  $\beta$ -Carotin und Lycopin eines der häufigsten Carotinoide im menschlichen Blut. Seine höchste Konzentration weist es in der Macula lutea und der Linse des Auges auf und ist zusammen mit Zeaxanthin das in diesen Geweben einzig vorkommende Carotinoid.<sup>[32]</sup> Hier spielt es eine wichtige Rolle beim Schutz des Auges vor altersbedingter Makuladegeneration (AMD) und Katarakt, was in verschiedenen

Studien gezeigt werden konnte. Die beiden Xanthophylle absorbieren einerseits blaues Licht, wirken demnach als Filter, und dienen andererseits als Antioxidantien.<sup>[33]</sup>

Die Aufnahme von Lutein über die Nahrung verläuft wie die anderer Carotinoide, vgl. Kapitel 1.2.2. Jedoch sind Lutein und Zeaxanthin sowohl in Lipoproteinen hoher Dichte (HDL)<sup>[31]</sup> als auch in LDL zu finden.<sup>[31]</sup>

#### 1.2.4 *In vivo* Studien zum UV-Schutz von Carotinoiden

Tabelle 1.1 zeigt einen Überblick einiger ausgewählter *In vivo* Studien zum UV-Schutz von Carotinoiden.

Eine der ersten Studien über die Effekte von oral verabreichtem  $\beta$ -Carotin auf die Erythemstehung führte Mathes-Roth 1972 durch. Die Probanden erhielten täglich 180 mg  $\beta$ -Carotin über zehn Wochen. Die MED (Minimale Erythemdosis; die Schwellendosis an UV-Bestrahlung, die zu einem Erythem der Haut führt und für jeden Menschen individuell verschieden ist) stieg nach dieser Intervention an.<sup>[34]</sup> Weitere Studien ähnlicher Behandlungslänge bestätigten diese Ergebnisse.<sup>[35]</sup><sup>[36]</sup> Im Gegensatz dazu zeigte  $\beta$ -Carotin den Effekt einer erhöhten MED bzw. einer verringerten Erythembildung nach UV-Bestrahlung nicht, wenn die Dauer der  $\beta$ -Carotin-Einnahme unter zehn Wochen lag. Zu diesem Ergebnis kam z.B. eine Studie mit einer Einnahme von 90 mg  $\beta$ -Carotin täglich über einen Zeitraum von drei Wochen.<sup>[37]</sup>

Eine 2008 veröffentlichte Metaanalyse von Köpcke und Krutmann verglich sieben Studien über die photoprotektive Wirkung von  $\beta$ -Carotin miteinander. Dabei bestätigte sich die oben genannte Annahme, dass eine  $\beta$ -Carotin-Supplementierung vor Sonnenbrandentstehung schützen kann - wenn die Einnahmedauer mindestens zehn Wochen beträgt. Darüber hinaus steigert sich die Photoprotektion bei jedem weiteren Einnahmemonat.<sup>[38]</sup>

Verschiedene Gemische von Carotinoiden konnten einen Schutz vor Erythembildung zeigen. Wurden über eine Dauer von zwölf Wochen je 8 mg  $\beta$ -Carotin, Lycopin und Lutein täglich eingenommen, konnte derselbe Schutzeffekt nachgewiesen werden wie nach der Einnahme von 24 mg  $\beta$ -Carotin pro Tag. In beiden Gruppen war die Erythembildung nach der Intervention verringert.<sup>[39]</sup> Auch die Kombination von  $\beta$ -Carotin mit Tocopherol, Selen und Lycopin konnte einen positiven Effekt auf den UV-Schutz der Haut nachweisen.<sup>[40]</sup>

Eine Interventionsstudie zeigte den positiven Effekt von Lycopin in einer verringerten Erythembildung nachdem die Probanden über einen Zeitraum von zehn Wochen täglich 40 g einer Tomatenpaste einnahmen, was einer täglichen Aufnahme von 16 mg Lycopin entsprach.<sup>[41]</sup> Eine weitere Studie untersuchte die Wirkung eines synthetischen Lycopins im Vergleich zu Lycopin, das aus Tomatenextrakt gewonnen wurde. Die tägliche Einnahme lag bei etwa 10 mg Lycopin täglich. Hier zeigte sich in den beiden Gruppen, die das natürliche Lycopin einnahmen, eine Verringerung der Erythembildung im Gegensatz zur Gruppe, die das synthetisch erzeugte Lycopin einnahm. Als Erklärung dafür wurde angenommen, dass im Nahrungsergänzungsmittel, das das natürliche Lycopin enthielt, ebenfalls die Vorstufen Phytoene und Phytofluene enthalten waren und durch diese der positive Effekt von Lycopin eventuell unterstützt bzw. potenziert wurde.<sup>[42]</sup>

Mit dem Vergleich von oral verabreichtem Lutein und Zeaxanthin zu topisch aufgetragenem Lutein und Zeaxanthin konnte in einer Studie der Anstieg der photoprotektiven Aktivität gezeigt werden. Diese setzte sich aus dem Verhältnis der MED der behandelten Haut zur MED der unbehandelten Haut zu Beginn der Studie zusammen. Ebenso zeigte sich in den Gruppen mit oraler bzw. topische Behandlung allein und der kombinierten Behandlung eine Zunahme der Hautelastizität und -feuchtigkeit im Verlauf der Studie. Die Probanden der Verum-Gruppen nahmen täglich 10 mg Lutein und 0,6 mg Zeaxanthin über einen Zeitraum von zwölf Wochen ein.<sup>[43]</sup>

## 1.3 Molekulare Marker für UV-induzierte Schäden

### 1.3.1 Matrixmetalloproteinase-1 (MMP-1)

Das Enzym MMP-1 gehört zur Familie der Matrixmetalloproteinasen. Diese Enzymfamilie aus Zink-haltigen Endoproteinasen ist im Grunde fähig, jede extrazelluläre Matrix abzubauen. Den größten Gehalt an MMPs findet sich *in vivo* in epidermalen Keratinozyten.<sup>[44]</sup> MMP-1 wird auch als Interstitielle Kollagenase bezeichnet. Sie spaltet vor allem die interstitiellen Kollagene I und III und ist als Schlüsselenzym am Um- und Abbau des Bindegewebes beteiligt.

In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die Expression des für MMP-1 codierenden Gens unter UV-Strahlung (unter anderem über den Transkriptionsfaktor AP-1) steigt.<sup>[45][46][47]</sup> Hierbei gilt MMP-1 als wichtiger Akteur im Rahmen der vorzeitigen

Dosis pro Tag [mg]	Dauer [Wochen]	Ergebnis	Zitat
$\beta$ -Carotin			
180	10	MED-Anstieg	[34]
30 bis 90	24	Erythemverminderung	[35]
30	12	Erythemverminderung	[36]
90	3	keine Photoprotektion	[37]
24	12	Erythemverminderung	[39]
$\beta$ -Carotin, Lycopin, Lutein			
je 8	12	Erythemverminderung	[39]
$\beta$ -Carotin, Lycopin, Tocopherol, Selen			
6 / 6 / 10 / 0,075	7	MED-Anstieg	[40]
Lycopin			
16	10	Erythemverminderung	[41]
Lutein, Zeaxanthin			
10 / 0,6	12	photoprotektive Wirkung erhöht <sup>a</sup>	[43]

**Tabelle 1.1:** Studien zur photoprotektiven Wirkung von Carotinoiden.

<sup>a</sup>Photoprotektive Wirkung = MED der behandelten Haut/MED der unbehandelten Haut.

Hautalterung, dem sog. Photoaging. Ebenfalls konnte bereits gezeigt werden, dass Lutein *in vitro* die Expression von MMP-1 supprimieren kann.<sup>[48]</sup>

### 1.3.2 ICAM-1

ICAM-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule 1) gehört zur Familie der Immunglobuline. Es wird von humanen Keratinozyten im Rahmen einer inflammatorischen Reaktion exprimiert. ICAM-1 wird durch Interleukin 1 und  $\text{TNF}\alpha$  induziert, beeinflusst die Interaktion zwischen Keratinozyten und Leukozyten und ist damit ein Teil des Immunsystems.<sup>[49]</sup>

*In vitro* konnte gezeigt werden, dass die Expression der mRNA für ICAM-1 unter UVA- und UVB-Strahlung ansteigt.<sup>[50] [51]</sup> Hierbei spielt die Entstehung von ROS eine wichtige Rolle. Die Zugabe von Antioxidantien bzw. Singulett-Sauerstoffängern konnte die Expression senken. Auch der Transkriptionsfaktor AP-2 ist an der Regulation der ICAM-1 Bildung beteiligt.<sup>[52]</sup>

### 1.3.3 Haemoxigenase-1 (HO-1)

HO-1 (Hämoxygenase 1) ist ein induzierbares Enzym, neben der konstitutiv exprimierten Isoform HO-2, das Häm zu Eisen, Biliverdin und Kohlenstoffmonoxid oxidiert und abbaut.<sup>[53]</sup> Die Expression dieses Proteins wird durch verschiedene Faktoren induziert, u.a. durch oxidativen Stress, der in der Haut zum Beispiel durch UV-Strahlung entsteht.

Bereits 1989 wurde HO-1 von Keyse und Tyrrell als Protein mit einer molekularen Masse von 32 kDa identifiziert, dessen mRNA durch Hydrogenperoxid, Natriumarsenit sowie auch durch UVA-Strahlung in menschlichen Fibroblasten induziert wird.<sup>[54]</sup> Die entstehenden Hydroxyl-Radikale sind, neben weiteren Faktoren des komplexen intrazellulären Signalweges<sup>[55]</sup>, an der Induktion beteiligt<sup>[56]</sup>. Diese Reaktion gilt als wichtiger induzierbarer antioxidativer Abwehrmechanismus.<sup>[57]</sup> Hierbei wirken Biliverdin und sein Abbauprodukt Bilirubin als physiologische Antioxidantien.<sup>[58]</sup> Daneben werden Häm und Häm-haltige Metabolite abgebaut und so die Bildung freier Radikale über durch Häm katalysierte Reaktionen verhindert.<sup>[59]</sup> Ebenso wird die Ferritin-Synthese gesteigert um den Eisenspiegel niedrig zu halten und damit die Fenton-Reaktion zu verhindern.<sup>[60]</sup>

### 1.3.4 Col-1A1 und Col-1A2

Das Gen Col-1A1 (collagen type I alpha 1) kodiert den Hauptanteil des Kollagens Typ I, welches in den meisten Geweben zu finden ist. Col-1A1 kodiert für die pro-alpha-1-Kette des Prokollagens Typ I. Diese Kette bindet an eine weitere pro-alpha-1-Kette und an eine pro-alpha-2-Kette, welche vom Gen Col-1A2 kodiert wird. Im Rahmen der natürlichen Hautalterung und auch durch UV-Strahlung wird die Expression der beiden Gene supprimiert und es entstehen Falten.<sup>[61] [62]</sup>

### 1.3.5 TIMP-1

Der Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (TIMP) ist der Gegenspieler zu MMP-1. In Studien, in denen der Effekt von chemisch hergestelltem Singulett-Sauerstoff und UVA-Strahlung auf die Expression des häufigsten Inhibitors der Matrixmetalloproteinasen TIMP-1 untersucht wurde, zeigten sich, im Gegensatz zu einer induzierten Expression der Kollagenase MMP-1, keine Änderungen in der Expression von TIMP-1.<sup>[63] [64]</sup> Dadurch entsteht ein Ungleichgewicht zwischen Abbau der extrazellulären Matrix durch MMP und Inhibition dieses Vorgangs durch TIMP zugunsten des Abbaus was u.a. zur vorzeitigen Hautalterung durch UV-Strahlung führt.

### 1.3.6 IL-1 und IL-6

Die Zytokine IL-1 und IL-6 (Interleukin 1 und Interleukin 6) sind Teile des Immunsystems. IL-1 ist ein proinflammatorischer Botenstoff, der konstitutiv von Keratinozyten sezerniert wird. Die Freisetzung von IL-1 durch verschiedene Stimuli, wie auch durch UV-Strahlung, trägt zur inflammatorischen Reaktion der Haut bei.<sup>[65]</sup>

Das pleiotrope IL-6 wird bei einer akuten Entzündung (z.B. bei einem Sonnenbrand) vermehrt von Makrophagen und auch Epithel- und Endothelzellen sezerniert. Es besitzt sowohl pro- als auch antiinflammatorische Eigenschaften. Es scheint nicht direkt an der durch UVB-Strahlung induzierten Immunsuppression beteiligt zu sein, vielmehr ist es bei der Aktivierung von u.a. HO-1 im Rahmen der durch UVA-Strahlung ausgelösten photoprotektiven Reaktion integriert.<sup>[66]</sup> Darüberhinaus induziert IL-6 autokrin und parakrin die Synthese von MMP-1 in Fibroblasten.<sup>[67]</sup>

Im Rahmen der Immunantwort werden die inflammatorischen Zytokine IL-1 und IL-6 am Ort der Schädigung, z.B. bei sonnenverbrannter Haut, freigesetzt und gelangen in

die Blutbahn. Sie führen, gemeinsam mit dem Zytokin TNF- $\alpha$ , zu einer Temperatur-Sollwertverstellung im Hypothalamus. Dies hat einen Anstieg der Körpertemperatur zur Folge, es entsteht Fieber. Daher werden diese Zytokine auch endogene Pyrogene genannt. Desweiteren induzieren sie in der Leber die Synthese von Akute-Phase-Proteinen wie Gerinnungsfaktoren, Komplementkomponenten und Protease-Inhibitoren.<sup>[7]</sup>

## 1.4 Ziele der Arbeit

Um weitergehende Informationen zur UV-protectiven Wirkung von Carotinoiden zu erlangen, wurde eine doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie mit initial 65 Probanden über eine Dauer von etwa 29 Wochen (200 Tage) durchgeführt. Hierfür wurden die beiden Carotinoide Lycopin und Lutein verwendet. Über die reine Bestimmung der Erythmentwicklung nach Bestrahlung mit UVA1 bzw. UVA/UVB hinaus, wurde tiefer gehend die Expression verschiedener molekularer Marker nach Bestrahlung im Vergleich zu unbestrahlter Haut ermittelt.

Des Weiteren wurde die Wirkung dieser Carotinoide auf die Hautbeschaffenheit und deren Veränderung im Verlauf der Studie untersucht.

Ziele der Arbeit waren demnach:

- Effekte der Carotinoide Lycopin und Lutein auf den Transepidermalen Wasserverlust und die Elastizität der Haut
- Wirkung der beiden Carotinoide auf das Maß der Erythembildung einerseits unter UVA1-, andererseits unter Solarsimulator-(UVA/UVB-)Bestrahlung
- Wirkung von Lycopin und Lutein auf die Expression bestimmter molekularer Marker, die in Beziehung mit (photo-)oxidativem Stress stehen
- Darstellung der Serum-Lycopin- und -Luteinspiegel im Verlauf der Studie und ihr Verhältnis zu den erhobenen molekularen Marker

Dadurch sollte eine Antwort auf die Frage, ob eine endogene systemische Photoprotektion möglich und für eine Anwendung zur Unterstützung gegen die UV-bedingten Schäden sinnvoll ist, mit zusätzlichen Aspekten, insbesondere molekularer Untersuchung, im Vergleich zu bisherigen Studien, gefunden werden.

## Kapitel 2

# Material und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die Studie wurde randomisiert, Placebo-kontrolliert und doppelblind durchgeführt. Sie beinhaltete ein Cross-Over nach der Hälfte (100 Tage) der Studienzeit. Dies bedeutet, dass nach einem bestimmten Zeitraum (hier nach der Hälfte der Studiendauer) ein Wechsel der Behandlungen, sprich Einnahme von Nahrungsergänzungsmittel bzw. Placebo, zwischen den Untergruppen erfolgte. In die Studie wurden 65 freiwillige Probanden eingeschlossen, die verschiedene Kriterien zu erfüllen hatten (siehe Kapitel 2.2).

Die Studienteilnehmer wurden randomisiert vier Gruppen, sog. Treatment Groups, zugeteilt. Die erste Gruppe (TG A) mit schlussendlich 15 Probanden nahm über 85 Tage zweimal täglich zwei Kapseln eines Tomatenextraktes ein (Lyc-o-Mato). Nach einer anschließenden Auswaschphase von zwei Wochen, in der keine Kapseln eingenommen wurden, bekam sie 85 Tage lang ein Placebo-Präparat, das hauptsächlich aus Sojaöl besteht. Die zweite Gruppe (TG B), welche 14 Probanden einschloss, bekam erst das Placebo und nach der Auswaschphase die Lyc-o-Mato-Kapseln. Im Kapitel 3.1 sind die Ergebnisse für diese beiden Gruppen beschrieben.

Die dritte Gruppe (TG C) mit 15 Probanden erhielt über 85 Tage zweimal pro Tag eine Kapsel mit einem Gemisch aus freiem Lutein und Rosmarinextrakt (Lyc-o-Lutein) und nach zwei Wochen ohne Einnahme 85 Tage lang das Placebo-Präparat. Die gleich große vierte Gruppe (TG D, 15 Probanden) nahm, analog zu TG B, 85 Tage Placebo und 85 Tage die Lyc-o-Lutein-Kapseln ein. Die Ergebnisse der TG C und TG D sind im Kapitel 3.2 aufgeführt.

Kapseleinnahme	TG A	TG B	TG C	TG D
Lycopin	Tag 15-100	Tag 115-200		
Lutein			Tag 15-100	Tag 115-200
Placebo	Tag 115-200	Tag 15-100	Tag 115-200	Tag 15-100

**Tabelle 2.1:** Einnahmezeiträume der Kapseln in TG A-D

Einen Überblick über die Einnahmezeiträume der vier Untergruppen gibt Tabelle 2.1.

Die Lyc-o-Mato-Kapseln enthalten folgende Stoffe (Herstellerangaben): 4,8 mg Lycopin, 1 mg Tocopherol, je 0,3 mg Phytoene und Phytofluene, 0,15 mg  $\beta$ -Carotin pro Kapsel. Der Hauptinhaltsstoff der Kapseln Lyc-o-Lutein ist, laut Herstellerangaben, 10 mg Lutein pro Kapsel (aufgelöst in Distelöl). Daneben befinden sich noch Carnosolsäure aus Rosmarinextrakt zur Stabilisierung und Zeaxanthin darin.

Die Studie wurde über einen Zeitraum von 200 Tagen durchgeführt.

Das Studiendesign wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt (Aktenzeichen: 2869 vom 08.03.2007, Prof. J. Krutmann).

## 2.2 Probandenkollektiv

An der Studie nahmen 65 gesunde, volljährige Probanden teil. Durch unterschiedliche Studien-unabhängige Gründe gab es sechs Drop Outs, wodurch die Auswertung mit Daten von 59 Probanden stattfand. Es wurden 13 Frauen (Studie beendet: 11 Frauen) und 52 Männer (Studie beendet: 48 Männer) eingeschlossen im Alter von 19 bis 64 Jahren mit einem Durchschnittsalter von  $42 \pm 12$  Jahren.

U.a. folgende Kriterien führten zum Ausschluss: Body Mass Index (BMI) über  $30 \text{ kg/m}^2$ ; Schwangerschaft und Stillzeit; Rauchen, Genuss von Alkohol; Vorliegen oder Historie von Photodermatosen; bekannte Hautkrebserkrankungen in der Eigen- oder Familienanamnese; Hochrisikogruppen für HIV-Infektionen oder dem Vorliegen anderer Infektionserkrankungen (Hepatitis A, B, C, Tuberkulose usw.); Vorliegen von metabolischen, endokrinen oder kardiovaskulären Erkrankungen; angeborene oder erworbene Blutgerinnungsstörung oder Einnahme von blutgerinnungshemmenden Mitteln; Vorlie-

gen eines Hauttyps I nach Fitzpatrick; Vorliegen von Allergien auf Betäubungsmittel; Vorliegen von Allergien auf Bestandteile des Nahrungsergänzungsmittels.

Die Probanden nahmen in der Studienzeit keine anderen Nahrungsergänzungsmittel ein, verzichteten auf den regelmäßigen Verzehr großer Mengen an Tomaten oder Tomatenprodukten und auf UV-Bestrahlung durch Solarien oder Urlaub während der Studienteilnahme. Die Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte durch eine Anamneseerhebung.

### **2.3 Studienablauf**

Die Studiendauer betrug insgesamt 200 Tage. Nach einer zweiwöchigen sog. Run-in-Phase, in der die Probanden auf karotinhaltige Lebensmittel verzichteten und ihre persönliche MED mithilfe einer Lichttreppe ermittelt wurde (siehe Kapitel 2.4), wurden bei allen Probanden die hautphysiologischen Parameter erhoben und eine Blutprobe entnommen. Daraufhin wurde bei jedem Studienteilnehmer sowohl eine Bestrahlung mit dem Sonnensimulator als auch eine UVA1-Bestrahlung durchgeführt (siehe Kapitel 2.4). 24 Stunden nach der Bestrahlung wurde in den bestrahlten Arealen mit einem Chromameter die Hautrötung gemessen (siehe Kapitel 2.7.3). Anschließend wurden aus den beiden bestrahlten wie auch aus einem unbestrahlten Referenzareal je eine im Durchmesser 6 mm große Hautstanze entnommen (siehe Kapitel 2.6). Im Anschluss wurden die Probanden einer der Gruppen A-D randomisiert zugeteilt (siehe Kapitel 2.1).

Nach zwölf Wochen der Kapseleinnahme wurden erneut die hautphysiologischen Parameter bestimmt und eine Blutprobe entnommen. Es erfolgte eine erneute Bestrahlung und nach 24 Stunden die colorimetrische Messung und die Gewebeprobenentnahme. In der anschließenden sog. Auswaschphase von zwei Wochen erhielten die Probanden keine Testprodukte.

Daraufhin wurde ein sog. Cross Over der Probandengruppen durchgeführt, d.h. die Probanden, die ein Placeboprodukt erhalten hatten, bekamen ein Nahrungsergänzungsmittel und umgekehrt. In den anschließenden zwölf Wochen wurde die Studie wie oben beschrieben fortgesetzt.

Zum Abschluss des zweiten Teils der Studie wurden nochmals die Hautparameter erhoben und Blut entnommen, die Bestrahlungen durchgeführt und nach 24 Stunden

die Areale colorimetrisch gemessen und erneut drei Gewebeproben gewonnen.

Der Ablauf der Studie ist in den Tabellen 2.2 und 2.3 zusammengefasst.

## 2.4 Induktion des Erythems

Die Probanden wurden zu drei Zeitpunkten im Verlauf der Studie an jeweils unterschiedlichen Arealen bestrahlt. Die beiden Bestrahlungsareale umfassten jeweils ein 4x4 cm großes Quadrat im oberen oder seitlichen Gesäßbereich. Die umliegende Haut wurde abgedeckt. Als Bestrahlungsgerät für die UVA1-Bestrahlung diente das Teilkörperbestrahlungsgerät Sellamed Typ 2000 der Firma Sellas Medizinische Geräte GmbH, Ennepetal. Das Bestrahlungsspektrum lag in einem Emissionsbereich von 340-400 nm (Schmalspektrum-UVA = UVA1) mit einer Spitze von 360-380 nm. Dieser Emissionsbereich enthält keine UVB-Strahlung. Als Sonnensimulator diente das Gerät Solarsimulator SPF 601-300W Multiport der Firma Dr. K. Hönle GmbH, München.

Eine UV-Bestrahlung der Haut führt ab einer Schwellendosis zu einem Erythem, die für jeden Menschen individuell verschieden ist und als minimale Erythemdosis (MED) bezeichnet wird. Daher wurde bei jedem Studienteilnehmer zu Beginn der Studie die persönliche MED mittels einer sog. Lichttreppe bestimmt. Hierbei werden sechs verschiedene Areale im Gesäßbereich mit unterschiedlichen Dosierungen von 17,6 bis 100 mJ/cm<sup>2</sup> bestrahlt. Die individuelle MED ergibt sich aus der geringsten Bestrahlungsdosis, die ein sichtbares Erythem auslöst. Während der Studie wurde das Erythem anschließend durch die 1,5-fache MED induziert. Die zur Erytheminduktion benötigten Dosen lagen zwischen 26,4 und 150 mJ/cm<sup>2</sup> mit einer gemittelten Dosis von etwa 65,4 mJ/cm<sup>2</sup>.

Für die UVA1-Bestrahlung wurden die Probanden in dem 4x4 cm großen Hautareal am Gesäß mit einer UVA1-Dosis von 100 J/cm<sup>2</sup> in einer Dauer von 45 Minuten bestrahlt. In dieser Zeit wurde mit einem UV-Meter regelmäßig überprüft, dass die Dosis nicht überschritten wird. Die Differenz des chromatometrisch festgestellten Rötungswertes vor und 24 Stunden nach der Bestrahlung ergab den  $\Delta a^*$ -Wert als Indikator für das Ausmaß des Erythems (siehe Kapitel 2.7.3).

Studientag	Ablauf
Tag 01	Einschluss in das Projekt Beginn der Run-in-Phase Einteilung in die Placebo-/Verumgruppen
Tag 14	MED-Ermittlung mittels Lichttreppe
Tag 15	Ende der Run-in-Phase Blutentnahme Ermittlung der hautphysiologischen Parameter MED-Ablesung Colorimetrie der Testfelder Bestrahlung mit Solarsimulator und UVA1 am Gesäß
Tag 16	Colometrische Messung der bestrahlten Hautareale Entnahme der Gewebeproben Beginn der Einnahme des Nahrungsergänzungsmittels/Placebopräparates
Tag 100	Blutentnahme Ermittlung der hautphysiologischen Parameter Colorimetrie Bestrahlung mit Solarsimulator und UVA1 am Gesäß
Tag 101	Colometrische Messung der bestrahlten Hautareale Entnahme der Gewebeproben Ende der Einnahme des Nahrungsergänzungsmittels/Placebopräparates Beginn der Auswaschphase
Tag 115	Ende der Auswaschphase Blutentnahme Ermittlung der hautphysiologischen Parameter Beginn der Einnahme des Nahrungsergänzungsmittels/Placebopräparates nach Cross-Over-Design
Tag 199	Blutentnahme Ermittlung der hautphysiologischen Parameter Colorimetrie Bestrahlung mit Solarsimulator und UVA1 am Gesäß
Tag 200	Colometrische Messung der bestrahlten Hautareale Entnahme der Gewebeproben Ende der Einnahme der Testpräparate Ende des klinischen Teils der Studie

Tabelle 2.2: Studienablauf A

## 2. MATERIAL UND METHODEN 2.5 Bestimmung der Blutparameter

Studientag	1	14	15	16	100	101	115	199	200
Aufklärung, Anamnese und Einschluss	X								
Beginn Einnahme Kapseln/Cross Over				X			X		
MED-Ermittlung		X	X						
Colormetrie			X	X	X	X		X	X
Bestrahlung UVA1 und Solarsimulator			X		X			X	
Probenentnahme PE				X		X			X
Hautphysiologie			X		X		X	X	
Blutentnahme			X		X		X	X	

**Tabelle 2.3:** Studienablauf B

### 2.5 Bestimmung der Blutparameter

Die Blutabnahme erfolgte aus einer Vene im Bereich der Armbeuge. Es wurden je Blutabnahmeterrmin zwei Serumröhrchen zu je 7,5 ml entnommen. Diese wurden anschließend ohne Zugabe von Antikoagulantien zentrifugiert und das Blutserum bis zur weiteren Analyse bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Die Blutabnahmeterrmine fanden zeitgleich mit den Terminen der hautphysiologischen Messungen statt. Den Probanden wurde demnach viermal Blut abgenommen. Die Analyse wurde im Institut für Biochemie und Molekularbiologie I der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt.

Die Konzentrationen folgender Parameter im Blut wurden bestimmt:

Lycopin, Lutein,  $\alpha$ -Carotin,  $\beta$ -Carotin, Zeaxanthin, Cryptoxanthin,  $\alpha$ -Tocopherol und Retinol.

Das Hauptaugenmerk lag bei der Auswertung in Teil 1 auf die Lycopinkonzentration und in Teil 2 auf die Luteinkonzentration im Laufe der Studie. Diese stellen die Hauptinhaltsstoffe der jeweiligen Nahrungsergänzungsmittel-Kapseln dar und sind die Parameter, deren Effekte in dieser Arbeit untersucht werden sollen.

Die Carotinoide wurden per HPLC (High Performance Liquid Chromatographie = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) bestimmt.<sup>[68]</sup> Alle Arbeiten erfolgten im abgedunkelten Raum.

Die Analyten wurden mit n-Hexan/Dichlormethan (5/1 v/v, 0,01 % Butylhydroxytoluen) als Lösemittel aus dem Serum extrahiert. Die organische Phase wurde unter Stickstoff ins Trockene eingedampft und anschließend in Dichlormethan/mobile Phase (1/10 v/v) resuspendiert.

Für das Trennverfahren diente der HPLC-System-Manager HSM D-7000 (Merck-Hitachi, Darmstadt) gekoppelt mit einer Merck-Hitachi L-7100 Pumpe und einem Merck-Hitachi UV/VIS-Detektor. Als mobile Phase wurde Methanol/Acetonitril/Propanol (54/44/2 v/v/v) eingesetzt und für die stationäre Phase die Trennsäule (pKb-100, 250 x 4,6 mm, Supelco Bellefonte, PA) gekoppelt mit einer Vorsäule (4,6 x 4,6 mm<sup>2</sup>) bestehend aus derselben Phase. Die Flussrate wurde auf 1 ml/min festgesetzt.

Die Carotinoide wurden bei 450 nm detektiert. Retinol und  $\alpha$ -Tocopherol wurden zeitgleich extrahiert und detektiert, wobei der UV/VIS-Detektor auf 292 nm gesetzt war.<sup>[69]</sup> Die Berechnung der Konzentrationen der Parameter erfolgte mit externen Kalibrierkurven definierter Standards, sowie einem internen Standard ( $\beta$ -apo-8-carotenal).

## 2.6 Gewebeproben

An drei Terminen wurden jedem Probanden je drei Gewebepoben aus dem Gesäßbereich entnommen. Alle hatten einen Durchmesser von 6 mm. Unter lokaler Betäubung mit Meavarin<sup>(R)</sup> 1% (Wirkstoff: Mepivacainhydrochlorid) wurde je eine Stanze aus einem unbestrahlten, eine aus dem mit dem Sonnensimulator und eine aus dem mit UVA1 bestrahlten Areal gewonnen. Die erhaltenen Gewebeproben wurden geteilt und bis zur weiteren Verarbeitung in flüssigem Stickstoff schockgefroren.

### 2.6.1 Bestimmung molekularer Marker

Die Analyse der Gewebeproben wurde im Labor I des Instituts für Umweltmedizinische Forschung (IUF) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Die in Kapitel 1.3 beschriebenen molekularen Marker wurden durch eine real time RT-PCR bestimmt.

Für die Isolation der RNA aus den gefrorenen Hautbiopsien werden diese in 600  $\mu$ l Lysepuffer des PeqGold Total RNA Kit (PeqLab, Erlangen) für drei Minuten bei 30 Hz in einer MixerMill MM300 (Retsch, Haan) aufgeschlossen. Die RNA-Konzentration wird photometrisch bei 260/280 nm (Biophotometer, Eppendorf AG, Hamburg) bestimmt. Für die cDNA-Synthese wird ein Aliquot von 50 ng RNA eingesetzt. Die Reverse Transkription erfolgt nach dem Protokoll für M-MLV RT (Invitrogen, Karlsruhe):

1. Denaturierung der RNA in Gegenwart von Primer und dNTP für fünf Minuten bei 65 °C.

Zeit	Temperatur
10 min.	25 °C
50 min.	37 °C
15 min.	70 °C
$\infty$	4 °C

Tabelle 2.4: cDNA-Synthese

## 2. cDNA-Synthese nach Protokoll in Tabelle 2.4.

Die PCR-Reaktionen werden in einem Opticon 1 (MJ Research, Waltham, MA, USA) unter Nutzung des Sybr QPCR Supermix w. Rox (Invitrogen, Karlsruhe) durchgeführt. Für jedes Gen wurde ein spezifisches Primerpaar mit der Software Primer Express TM 2.0 (Applied Biosystems, Darmstadt) erstellt, vgl. Tabelle 2.5.

In Doppelproben werden die Hautbiopsien über 45 bis 50 Zyklen mit dem entsprechenden Primer analysiert. Hierbei wird wie in Tabelle 2.6 vorgegangen. Als interner Standard wird das Haushaltsgen 18S rRNA zur Konzentrationskontrolle der erstellten Proben verwendet, dessen Expression idealerweise keine Veränderungen im Laufe der Studie zeigen sollte.

Die Schwankungsbreite (Standardabweichung) der Doppelbestimmungen lag bei 0,72 %, was dem Bereich anderer Studien mit Werten zwischen 0 % und 5 % entspricht.<sup>[79]</sup> Zum Vergleich der relativen Gen-Expression in den Kontroll- und behandelten Biopsien wird die Berechnung mit der  $2^{-\Delta\Delta C_T}$ -Methode verwendet.<sup>[80]</sup>

## 2.7 Messung der Hautparameter

Die Hautparameter TEWL, Elastizität und Hautfärbung wurden jeweils an der Unterarminnenseite links ermittelt.

### 2.7.1 Transepidermaler Wasserverlust (TEWL), Tewameter TM 300 (Courage&Khazaka, Köln)

Für die Messung der passiven Diffusion von Wasser durch die Haut wird die Bestimmung des TEWL verwendet. Hiermit kann die Funktion der Hautbarriere bestimmt werden.<sup>[81]</sup>

Gen	Primerpaar	Referenz
18S rRNA (Haushaltsgen)	5'-GCCGCTAGAGGTGAAATTCTTG-3' 5'-CATTCTTGGCAAATGCTTTCG-3'	[70]
HO-1	5'-CTGCGTTCCTGCTCAACATC-3' 5'-GCAGAATCTTGCACCTTGTGCT-3'	[71]
ICAM-1	5'-CCTGGCACCAGCACAAT-3' 5'-GCCGATCCACACGGAGTACT-3'	[72]
IL-1	5'-TGTATGTGACTGCCCAAGATGAA-3' 5'-ACTACCTGTGATGGTTTTGGTATC-3'	[73]
IL-6	5'-AGCCGCCCCACACAGA-3' 5'-CCGTGAGGATGTACCGAAT-3'	[74]
MMP-1	5'-GGGAGATCATCGGGACAACCTC-3' 5'-GGGCCTGGTTGAAAAGCAT-3'	[75]
TIMP-1	5'-TCGTGGCTCCCTGGAACA-3' 5'-CCAACAGTGTAGGTCTTGGTGAAG-3'	[76]
Col-1A1	5'-CCTGCGTGTACCCCACTGA-3' 5'-ACCAGACATGCCTGTTGTCCTT-3'	[77]
Col-1A2	5'-GATTGAGACCCTTCTTACTCCTGAA-3' 5'-GGGTGGCTGAGTCTCAAGTCA-3'	[78]

Tabelle 2.5: Gene und Primer der real time RT-PCR

Zeit	Temperatur	
15 min.	94 °C	Aktivierung der Tag-Polymerase
20 sek.	95 °C	Denaturierung
20 sek.	55 °C	Primerhybridisierung
30 sek.	72 °C	Elongation

Tabelle 2.6: PCR-Schema

Die Messung beruht auf dem Fick'schen Diffusionsgesetz. Hierbei gilt:

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dc}{dx}$$

A = Oberfläche [m<sup>2</sup>]

m = transportiertes Wasser [g]

t = Zeit [h]

D = Diffusionskonstante (= 0.0877 g/(m<sup>2</sup>h\*mmHg))

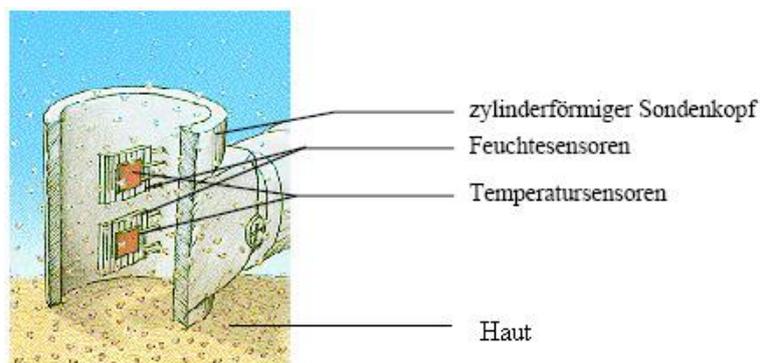
c = Wasserdampfdruck der Luft [mmHg]

x = Entfernung der Hautoberfläche zum Messpunkt [m]

Der Diffusionsstrom dm/dt gibt an, wie viel Wasser pro Zeiteinheit und Fläche transportiert wird. Er ist proportional zur Fläche A und dem Dichtegradienten dc/dx. D steht für den Diffusionskoeffizienten von Wasserdampf in Luft.

Bei der TEWL-Messung tritt das von der Hautoberfläche verdunstete Wasser durch eine auf die Haut gelegte Sonde aus. Der dabei zwischen Haut und umgebender Luft entstehende Dichtegradient wird durch zwei im Messzylinder befindliche Sensorenpaare gemessen, die sich in unterschiedlichem Abstand zur Haut befinden. Das Gefälle des Partialdrucks zwischen den beiden Sensoren ist direkt proportional zum Verdunstungsgrad, so dass der TEWL in g/hm<sup>2</sup> berechnet werden kann. Darüberhinaus kann über Temperatursonden die Hauttemperatur annähernd bestimmt werden.

Der Messkopf der Sonde befindet sich in einem Hohlzylinder. So können die Luftturbulenzen in der Sonde gering gehalten werden, vgl. Abbildung 2.1.



**Abbildung 2.1:** Schematische Darstellung einer TEWL-Sonde (Abbildung nach <sup>[82]</sup>)

Der TEWL ist stark von der Intaktheit des Stratum corneums abhängig. Der Grad der Hautbarriereschädigung lässt sich mit dem TEWL-Wert erfassen. Geschädigte Haut

ist durchlässiger für Wasser, der TEWL steigt an. Die Messung des TEWL stellt eine objektive Untersuchungsmethode für geschädigte Haut dar.<sup>[83]</sup> Ein Messwert von 0 bis 15 g/hm<sup>2</sup> wird als „sehr gesunder Hautzustand“ interpretiert, 10 bis 15 g/hm<sup>2</sup> als „gesunder Hautzustand“, 15 bis 25 g/hm<sup>2</sup> als „normaler Hautzustand“, 25 bis 30 g/hm<sup>2</sup> als „belastete Haut“ und Werte über 30 g/hm<sup>2</sup> als „kritischer Hautzustand“.<sup>[82]</sup>

### 2.7.2 Elastizität (Cutometrie), Cutometer MPA 580 (Courage&Kha-zaka, Köln)

Das Cutometer ist ein Gerät zur Messung der Elastizität der obersten Hautschicht. Hierbei wird unter Anwendung von Unterdruck die Fähigkeit der Haut bestimmt, sich diesem Druck zu widersetzen und ihre Fähigkeit nach Wegfall des Drucks wieder in den ursprünglichen Zustand überzugehen. Die Elastizität wird beeinflusst durch den Wassergehalt der Haut sowie dem Anteil an elastischen und Kollagen-Fasern.<sup>[4]</sup>

Zunächst wird in dem Gerät während der Ansaugphase ein Unterdruck erzeugt.<sup>[84]</sup> Durch den Unterdruck wird die zu messende Hautstelle in die 2 mm im Durchmesser große Öffnung der Sonde gezogen. Das optische Messsystem besteht aus einem Lichtsender und einem Lichtempfänger sowie zwei sich gegenüberliegenden Glasprismen, die das Licht vom Sender zum Empfänger leiten. Das optische System misst die Abnahme der Lichtintensität in Abhängigkeit von der Einsaughöhe der Haut. Die Einsaughöhe ist proportional zur Hautelastizität. Abhängig von der Elastizität der Haut kommt es bereits vor Beginn der Messung durch das Aufdrücken der Sonde zu einem minimalen Eindringen der Haut in die Öffnung. Diese individuell unterschiedliche Eindringtiefe der Haut in die Sondenöffnung wird durch ein optisches Messsystem erfasst und als korrigierter Nullpunkt bestimmt.

Bei vorliegender Studie wurde im Messmodus 1 gemessen. Bei diesem Messmodus wird die Haut während der Messzeit mit konstantem Unterdruck in die Messsonde gezogen. Anschließend wird der Unterdruck abgeschaltet und die Haut kann in die ursprüngliche Form zurückkehren. Die Abbildung 2.2 zeigt die viskoelastische Beschaffenheit der Haut. Hierbei gilt:

U<sub>f</sub> = max. Deformation der Haut

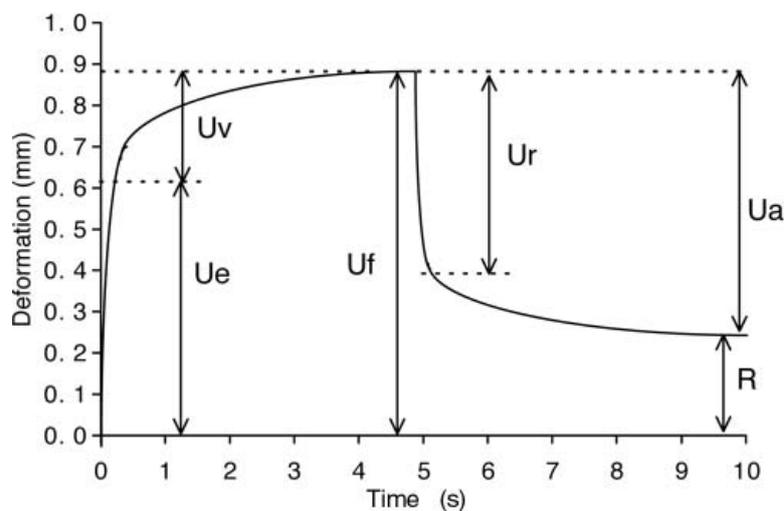
U<sub>e</sub> = elastische Komponente (steiler Anstieg) der Deformation

U<sub>v</sub> = plastische Komponente (flacher Anstieg) der Deformation

U<sub>a</sub> = max. Rückbildung der Haut

$U_r$  = elastische Komponente (steiler Abfall) der Rückbildung

$R$  = fehlende Rückbildung nach 10 Sekunden



**Abbildung 2.2:** Kurve eines viskoelastischen Materials während der Ansaugphase (bis Sekunde 5) und der Relaxationsphase (Sekunde 5 bis 10)

Im Gegensatz zu einer Kurve eines vollelastischen Materials ist festzustellen, dass die Kurve der Haut sowohl in der Ansaug- als auch in der Relaxationsphase aus zwei Teilen besteht. So lässt sich der erste Teil der Ansaugphase als fast senkrechter Anstieg der Kurve erkennen, im zweiten Teil flacht die Kurve immer mehr ab, bis sie zum Ende der Ansaugphase ihre maximale Auslenkung erreicht hat.

Der erste Teil der Kurve wird als elastischer Anteil  $U_e$  angesehen.  $U_e$  ergibt sich aus  $U_e = U_f - U_v$ .  $U_e$  wird ungefähr nach einer Ansaugzeit von 0,1 Sekunden erreicht. Der zweite, sich abflachende Teil der Kurve bezeichnet den plastischen Anteil  $U_v$  der Haut. Je älter die Haut, desto höher ist  $U_v$ , desto plastischer (weniger elastisch) ist die Haut. Die maximale Amplitude  $U_f$  der Kurve ergibt sich aus:  $U_f = U_e + U_v$ .

Die Kurve der Relaxationsphase gliedert sich ebenfalls in zwei Teile: der senkrecht abfallende elastische Anteil  $U_r$  und der sich gegen Null abflachende plastische Teil  $U_a - U_r$ . Bei einer sehr jungen elastischen Haut sind die Strecken  $U_r$  und  $U_f$  fast identisch, bei einer älteren Haut ist  $U_r$  deutlich kürzer.

Die Bruttoelastizität der Haut wird aus dem Verhältnis zwischen maximaler Amplitude  $U_f$  und der Fähigkeit zur Rückbildung  $U_a$  berechnet:

$$\text{Bruttoelastizität} = \frac{U_a}{U_f}$$

$U_f$  = Maximale Amplitude während der Ansaugphase

$U_a$  = Maximale Amplitude während der Relaxationsphase

Sind die maximalen Amplituden von Ansaug- und Relaxationsphase identisch, so beträgt die Bruttoelastizität 100 %. Der bei dieser Studie verwendete Cutometer-Wert R2 (durch den Hersteller u.a. empfohlen<sup>[85]</sup>) beträgt dabei 1. Je näher R2 an 1 ist, desto elastischer ist demnach die Haut.<sup>[82]</sup>

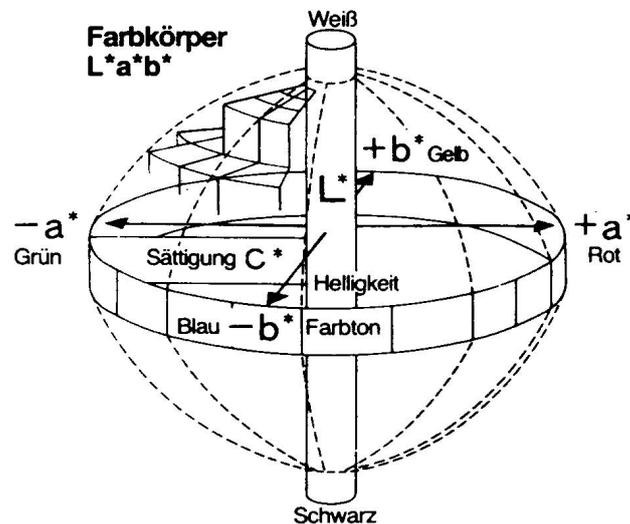
### 2.7.3 Hautfarbe (Colorimetrie), Chromameter CR 300 (Minolta, Osaka, Japan)

Zur Messung der Stärke der Erythembildung nach Bestrahlung wurde das Chromameter CR 300 verwendet.

Das Chromameter besteht aus einem Messgerät und einem Computer für die Datenerstellung. Es initiiert über die Erkennung der Farben rot, grün und blau das menschliche Auge.<sup>[86]</sup> Das Messgerät beinhaltet eine polychromatische Xenon-Lampe, die den zu untersuchenden Bereich in der Größe von 8 mm (Durchmesser) mit dem kompletten sichtbaren Spektrum beleuchtet.<sup>[87]</sup> Des Weiteren befinden sich sechs Silikon-Photozellen, drei zur Messung des Senders und drei zur Messung des reflektierten Lichts, in dem Messgerät. Die Photozellen wandeln das empfangene Licht mit Wellenlängen von 450, 560, und 600 nm in Strom um, dessen Stärke proportional zur Helligkeit ist. Der erzeugte Strom wird in ein digitales Signal konvertiert, welches der Computer in einen bestimmten Spektralwert umwandelt. Hierzu wird das sog. CIELAB System mit den Werten  $L^*$ ,  $a^*$  und  $b^*$  benutzt. Vor Nutzung des Gerätes wird dieses mit einer Referenzfarbe (weiß) kalibriert (wird von der Firma mitgeliefert).<sup>[88]</sup>

Nach dem CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage) -System beschreiben die drei Werte  $L^*$ ,  $a^*$  und  $b^*$  einen dreidimensionalen Raum, in dem jede Farbe eine eigene Position einnimmt, durch die Werte (hier  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) des kartesischen Koordinatensystems definiert. Zur Veranschaulichung dient Abbildung 2.3. Die vom Computer berechneten Spektralwerte können über bestimmte Formeln in das CIELAB-System umgerechnet werden.<sup>[88]</sup>

Der  $L^*$ -Wert (= luminance (Helligkeit)) beschreibt die Helligkeit der Oberfläche von totalem Schwarz (Wert = 0) zu reinem Weiß (Wert = 100). Die Rot-Grün-Achse wird durch den  $a^*$ -Wert ausgedrückt, der sich von +60, rote Oberfläche, zu -60, grüne



**Abbildung 2.3:** Darstellung des  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Farbsystems. Im Zentrum sind die Spektralfarben zu gleichen Anteilen gemischt, es entsteht ein grauer Farbton. (Bedienungsanleitung Minolta Chromameter CR-200)

Oberfläche, erstreckt. Der  $b^*$ -Wert für die Gelb-Blau-Achse reicht von +60, gelbe Oberfläche, bis zu -60, blaue Oberfläche.<sup>[89]</sup>

Der direkte Vergleich zweier Farben wird über folgende Formel berechnet:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Ein  $\Delta E^*$  von 1 ist im Mittel ein vom Auge gerade wahrnehmbarer Farbunterschied.  $\Delta E^*$  sollte demnach im Laufe der Studie bzw. unter Einnahme der Nahrungsergänzungsmittel geringer werden und so einen kleineren Farbunterschied der Hautfarbe vor und nach Bestrahlung darstellen.

Da der  $a^*$ -Wert die Rötung der Haut darstellt, wird dieser zur Messung der Erythembildung nach Bestrahlung benutzt. Zum Vergleich vor und nach Bestrahlung wird  $\Delta a^*$  herangezogen, was die Zunahme des Rotanteils, also die Erythembildung beschreibt.<sup>[86] [87]</sup> Um eine Verringerung der Stärke der Erythembildung, also im Grunde des Entstehens eines Sonnenbrandes, anzuzeigen, sollte  $\Delta a^*$ , d.h. die Differenz der Rötung der Haut vor, zur Rötung nach Bestrahlung unter der Einnahme des Nahrungsergänzungsmittels kleiner werden.

Als weiterer Vergleich wird der sog. ITA°-Wert berechnet. Er beinhaltet die Werte von L\* und b\* und setzt sich aus folgender Formel zusammen:

$$\text{ITA}^\circ = \arctan\left(\frac{L^*-50}{b^*}\right) \cdot \frac{180}{\pi}$$

Werte kleiner 10° charakterisieren eine stark pigmentierte Haut, Werte von 10°-28° eine pigmentierte (dunkle) Haut, 28°-41° eine Haut mittlerer Farbe, 41°-55° eine helle und Werte über 55° eine sehr helle Haut.

## 2.8 Statistik

Zur statistischen Auswertung der Studie wurde das Software-Programm Microsoft Office Excel 2003 (Excel 11.0) verwendet (Microsoft Corp., Unterschleißheim, Germany). Abhängige Proben wurden mit dem zweiseitigen, gepaarten Studentschen t-Test für abhängige Variablen getestet. Unterschiede wurden als signifikant bezeichnet, wenn das alpha-Niveau  $p < 0,05$  betrug. Alle Daten wurden als Mittelwerte  $\pm$ SD (Standardabweichung) bzw.  $\pm$ SE (Standard Error) angegeben. Die Auswertung der molekularen Marker erfolgte mit dem Wilcoxon Signed Rank Test mit einer Signifikanz von  $p < 0,05$  bzw.  $p < 0,01$ .

Die Grafiken wurden mit dem Programm SigmaPlot 10.0 (Systat Software, Inc. SigmaPlot for Windows) erstellt. Hierbei stellen die Fehlerbalken den jeweiligen SE-Wert dar.

Für die Berechnung der Korrelationen zwischen Lycopin bzw. Lutein und den molekularen Markern wurde das Programm PASW Statistics 18 (SPSS Inc.) verwendet.

# Kapitel 3

## Ergebnisse

### 3.1 Ergebnisse Teil 1 Lycopin

Die allgemeinen Charakteristika der beiden Treatment Groups A und B sind in Tabelle 3.1 gezeigt.

#### 3.1.1 Compliance

Die Studie war aufgeteilt in vier Phasen. Nach einer beginnenden Auswaschphase (Wash-out) von zwei Wochen nahmen die Probanden über zwölf Wochen als Nahrungsergänzungsmittel das Carotin Lycopin, sog. aktive Phase, bzw. das Placebopräparat ein. Daran schloss sich eine weitere Auswaschphase von zwei Wochen an. Die Studie endete nach einer zweiten zwölfwöchigen Lycopin- bzw. Placeboeinnahme-Phase (siehe auch Kapitel 2.3).

Die Zeiträume der einzelnen Phasen konnten trotz privater Ferien der Probanden und Schulferien mit einer medianen Länge der Auswaschphasen von 14 bis 16 Tagen und der Einnahmephasen von 84 bis 85 Tagen Dauer eingehalten werden, vgl. Tabellen 3.2 und 3.3.

	Hauttyp		Alter		Geschlecht	
	II	III	$\leq 40$	$> 40$	m	w
TG A	7	8	6	9	14	1
TG B	11	3	6	8	11	3

**Tabelle 3.1:** Charakteristika der TG A und B

	Wash-out I A [Tage]	Wash-out I B [Tage]	Wash-out II A [Tage]	Wash-out II B [Tage]
n	15	14	15	14
min	14	11	11	11
max	20	23	20	16
mean	16,00	16,79	14,80	13,79
median	15	16	14	14
SD	2,14	2,99	2,08	1,58

**Tabelle 3.2:** Länge der Auswaschphasen in TG A und B

	Phase I A [Tage]	Phase I B [Tage]	Phase II A [Tage]	Phase II B [Tage]
n	15	14	15	14
min	76	76	78	79
max	86	91	104	104
mean	83,47	84,36	85,33	85,07
median	84	84	85	84
SD	2,29	4,22	6,16	6,09

**Tabelle 3.3:** Länge der Einnahmephasen in TG A und B

	Compliance I A & B [%]	Compliance I A [%]	Compliance I B [%]	Compliance II A & B [%]	Compliance II A [%]	Compliance II B [%]
n	26	12	14	25	13	12
min	59	84	59	81	89	81
max	114	106	114	110	110	104
mean	96,39	96,39	96,40	98,05	98,98	97,04
median	97,06	97,06	98,38	98,58	99,13	97,79
SD	10,44	6,04	13,36	5,72	5,84	5,66

Tabelle 3.4: Compliance in TG A und B

### 3.1.1.1 Messung der Compliance anhand der Kapselmenge

Die drei Behälter, die die Probanden zu Beginn jeder Behandlungsphase erhielten, fassten je 130 Kapseln. Die Probanden nahmen zweimal täglich zwei Kapseln ein. Die Compliance konnte aus der berechneten Einnahmedauer und der zurückgegebenen Kapselmenge errechnet werden (siehe auch Kapitel 3.2.1.1). Für fünf Probanden konnte die Compliance so nicht bestimmt werden, da sie ihre restlichen Kapseln nicht zurückgaben.

Die durchschnittliche Compliance der Probanden lag hierbei bei 96-99 %, was in Tabelle 3.4 zusammengefasst dargestellt ist.

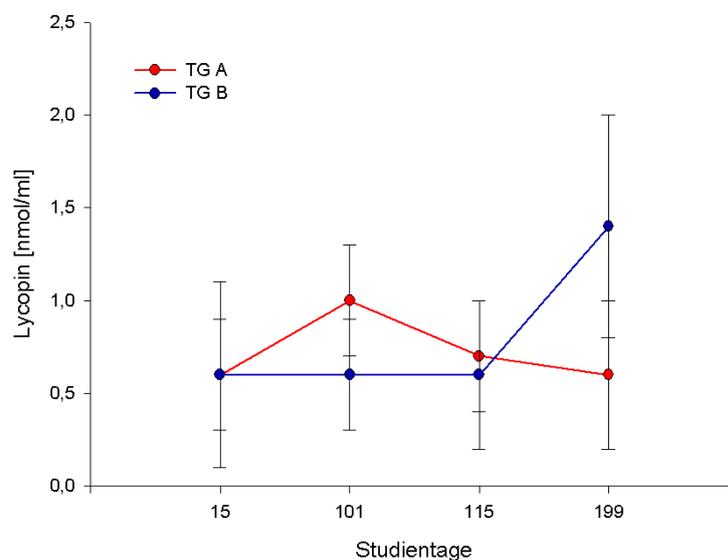
### 3.1.1.2 Compliance anhand der Blutwerte

Der Verlauf des Lycopin-Serumspiegels ist in Abbildung 3.1 zu sehen. Treatment Group A zeigt im Mittelwert unter Einnahme des Nahrungsergänzungsmittels, welches neben 1 mg Tocopherol und 0,15 mg  $\beta$ -Carotin vor allem Lycopin (4,8 mg) enthält, eine Zunahme von  $0,5 \pm 0,3$  nmol/ml an Tag 15 auf  $1 \pm 0,2$  nmol/ml an Tag 100, was mehr als eine Verdopplung (205 % des Ausgangswertes) darstellt. Nach Absetzen der Einnahme der Lycopin-Kapseln fällt der Spiegel rasch wieder über  $0,7 \pm 0,2$  nmol/ml an Tag 115 auf  $0,5 \pm 0,3$  nmol/ml an Tag 199 und erreicht so mit 109 % des Ausgangswertes knapp diesen.

Deutliche statistische Signifikanzen zeigen sich mit  $p < 7 \cdot 10^{-7}$  zwischen Tag 15 und Tag 100. Ebenso wird mit  $p < 2 \cdot 10^{-5}$  zwischen Tag 100 und Tag 199 die Abnahme des Lycopinspiegels im Serum deutlich. Wie erwartet ergibt sich keine statistisch signifikante Veränderung zwischen Tag 15 und Tag 199 ( $p = 0,5$ ). Jedoch zeigt sich im Bereich der Analyse des Lycopingehaltes unter Einnahme von Lycopin als Nah-

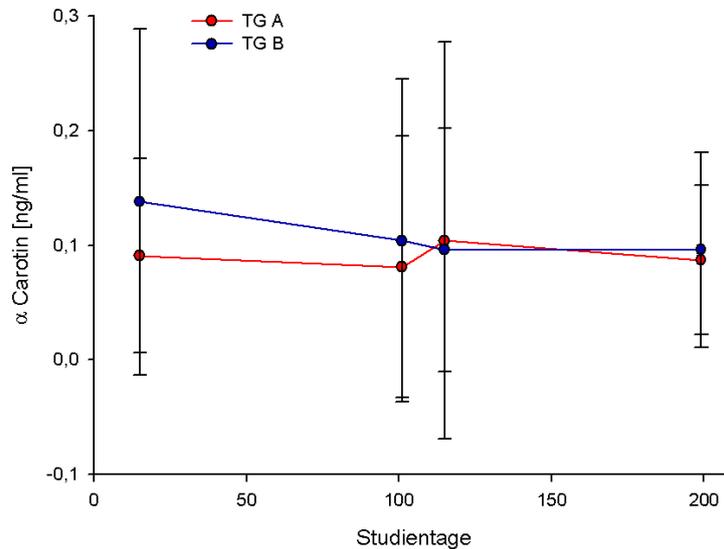
rungsergänzungsmittel, dass eine Auswaschphase von zwei Wochen (zwischen Tag 100 und Tag 115) nicht ausreicht, um den Lycopinspiegel wieder entsprechend zu senken ( $p=0,001$  zwischen Tag 15 und Tag 115, erwartet wäre eine größere Annäherung beider Werte). Erst die „erweiterte“ Auswaschphase während der Placeboeinnahme im zweiten Abschnitt der Studie mit einer Dauer von 99 Tagen lässt den Lycopingehalt im Serum wieder auf den Ausgangswert sinken.

TG B zeigt nach Austausch des Placebos zu den lycopinhaltigen Kapseln ebenfalls einen starken Anstieg des Lycopin-Serumspiegels, wobei der Spiegel unter Placeboeinnahme konstant bleibt. Die Probanden hielten sich demnach an die vorgeschriebene Kapseleinnahme und die empfohlenen Ernährungsgewohnheiten. Andere untersuchte Blutparameter wie alpha- und beta-Carotin, Retinol und Zeaxanthin zeigen keine Veränderungen im Laufe der Studie, vgl. als Beispiel Abbildung 3.2.



**Abbildung 3.1:** Entwicklung des Lycopin-Serumspiegels von TG A und B über die Studiendauer

Bei Betrachtung einzelner Probanden wurden sog. Non-Responder identifiziert, die unter Lycopineinnahme keinen oder einen nur sehr geringen Anstieg des Lycopin-Serumspiegels zeigten. Diese wurden bei der folgenden Auswertung probetalber ausgeschlossen, um eventuelle Verfälschungen aufzudecken. Dies betraf in den TG A drei, in TG B keinen Probanden.



**Abbildung 3.2:** Entwicklung des  $\alpha$ -Carotin-Serumspiegels von TG A und B über die Studiendauer

### 3.1.2 Expression molekularer Marker für UV-induzierte Schäden

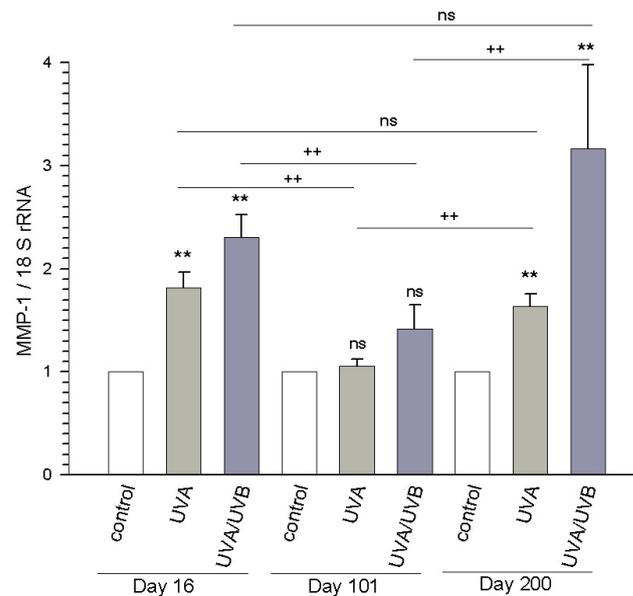
Mehrere molekulare Marker für unterschiedliche Parameter der Hautreaktion auf UV-Exposition wurden in Biopsien der Haut durch reverse RT-PCR bestimmt.

Eine unbestrahlte Kontrollbiopsie wurde zeitgleich zu den beiden bestrahlten Biopsien entnommen und analysiert. Die Expression der mRNA der Marker wird als x-fache Induktion im Verhältnis zur Kontrollbiopsie angegeben, deren Expressionslevel gleich 1 gesetzt wurde. Dadurch wird die Anschauung der Ergebnisse vereinfacht und gleichzeitig verdeutlicht, dass die Zellen tatsächlich auf die UV-Bestrahlung mit einer erhöhten Expression der untersuchten molekularen Marker reagieren.

Für die statistische Auswertung wurde der Wilcoxon Signed Rank Test verwendet. Die waagrechten Linien markieren die miteinander verglichenen Balken. Hierbei gilt (Abbildungen 3.3 bis 3.18): \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  gegenüber unbehandelter Kontrollbiopsie; +  $p < 0,05$ , ++  $p < 0,01$  gegenüber behandelter Biopsie; ns = nicht signifikant.

## 3.1.2.1 MMP-1

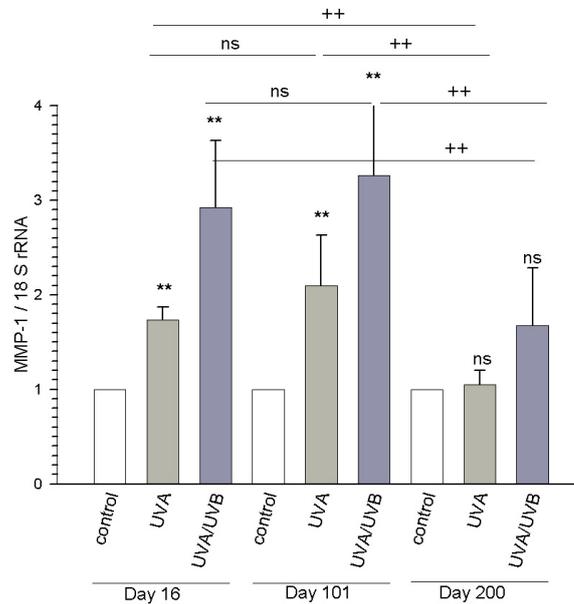
Die Abbildungen 3.3 und 3.4 zeigen die Expression der mRNA von MMP-1 im Laufe der Studie in TG A und B. Deutlich zu sehen ist die Abnahme der Expression unter Lycopineinnahme sowohl in TG A (Tag 101) als auch in TG B (Tag 200) auf zur Kontrollbiopsie nicht signifikant unterschiedliche Werte. In TG A nimmt anschließend die Expression wieder zu, in TG B ist in der ersten Studiehälfte unter Placeboeinnahme keine Änderung der Expression zu sehen. Auffällig ist ebenfalls, dass vor allem die Expression nach UVA/UVB-Bestrahlung steigt, weniger stark reagiert die Zelle auf reine UVA1-Bestrahlung.



**Abbildung 3.3:** Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A

## 3.1.2.2 ICAM-1

Wie auch die Expression der mRNA von MMP-1 verhält sich die Expression der ICAM-1 mRNA, wie in den Abbildungen 3.5 und 3.6 zu sehen ist. Zu Beginn steigt die Expression in TG A nach UVA/UVB-Bestrahlung auf ca. das dreifache und nach UVA1-Bestrahlung auf ca. das 1,5fache im Vergleich zur Kontrollbiopsie. Unter Lycopinein-



**Abbildung 3.4:** Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B

nahme sinkt die Expression in TG A, um während der anschließenden Placebophase wieder auf nahezu die Ausgangswerte anzusteigen. In TG B sind unter Placeboeinnahme keine Änderungen zu sehen. In der aktiven Phase sinkt die Expression auf Werte vergleichbar mit der unbestrahlten Kontrollbiopsie.

### 3.1.2.3 HO-1

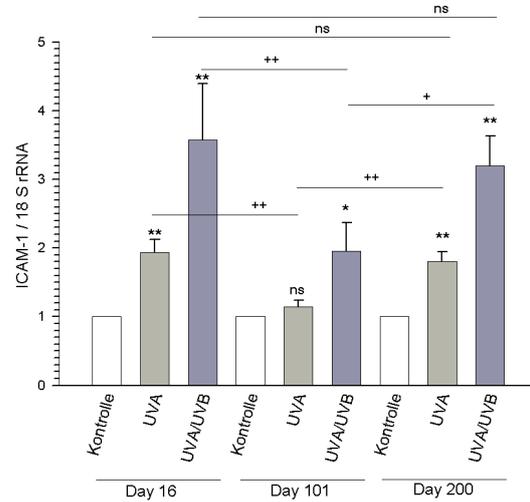
Die Expression der mRNA für das Enzym HO-1 verhält sich analog zu den beiden zuvor genannten Markern. Unter Lycopineinnahme fällt sie in beiden TGs auf Werte im Niveau der Kontrollbiopsie ab, was nicht unter Placeboeinnahme zu sehen ist, vgl. Abbildungen 3.7 und 3.8.

### 3.1.2.4 Col1A1-1 und Col1A2-1

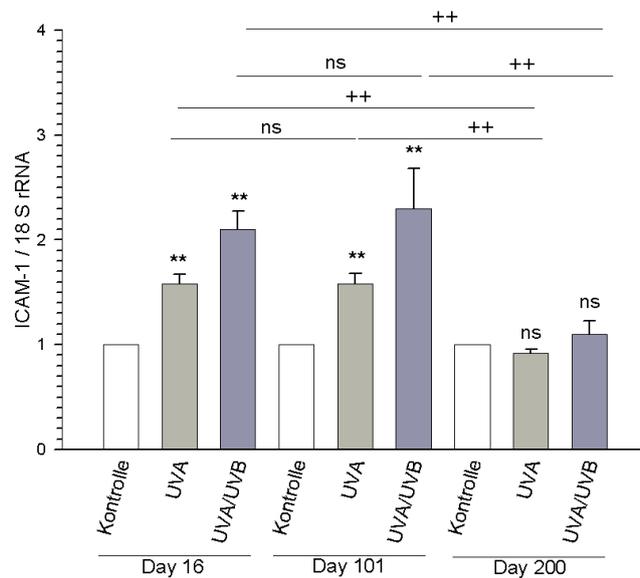
Die Abbildungen 3.9, 3.10, 3.11 und 3.12 zeigen die Expression der beiden Gene Col-1A1 und Col-1A2. Erwartet wird eine Unterdrückung der Expression durch UV-Strahlung. Dies ist hier nicht der Fall, sodass auch kein Effekt von Lycopin bestimmt werden kann.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Ergebnisse Teil 1 Lycopin



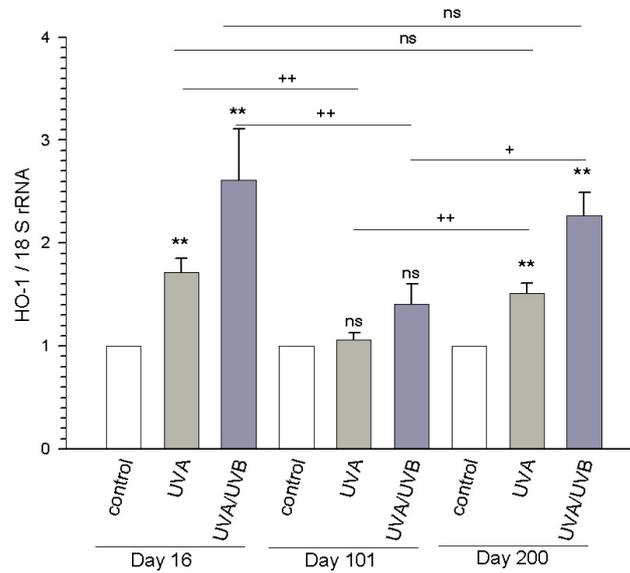
**Abbildung 3.5:** Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A



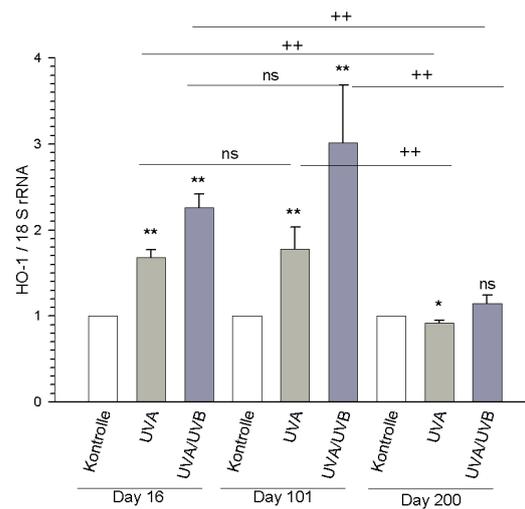
**Abbildung 3.6:** Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Ergebnisse Teil 1 Lycopin



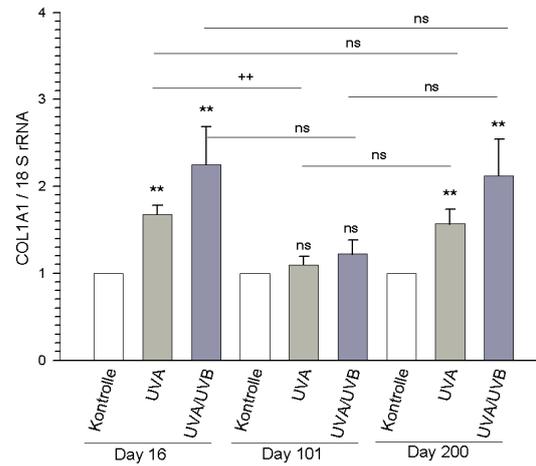
**Abbildung 3.7:** Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A



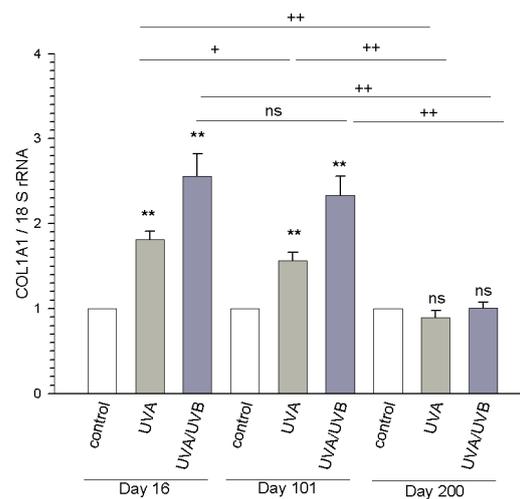
**Abbildung 3.8:** Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Ergebnisse Teil 1 Lycopin



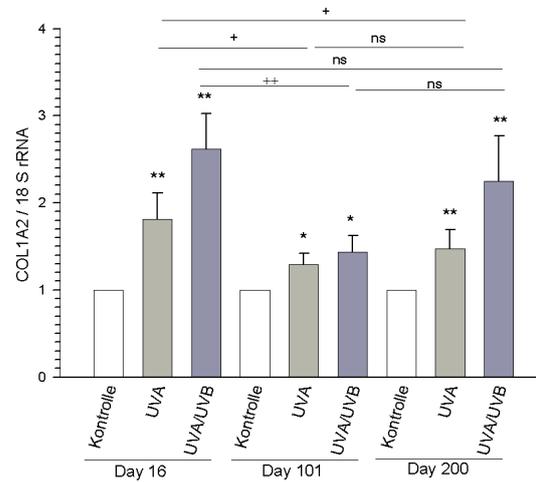
**Abbildung 3.9:** Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A



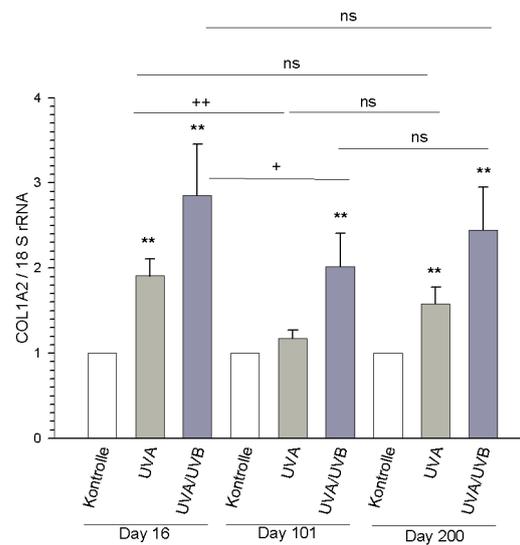
**Abbildung 3.10:** Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Ergebnisse Teil 1 Lycopin



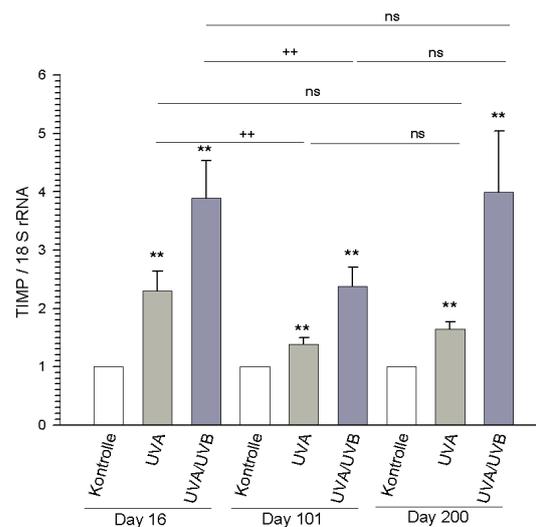
**Abbildung 3.11:** Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A



**Abbildung 3.12:** Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B

## 3.1.2.5 TIMP-1

Die Expression der TIMP-1 mRNA steigt unter UVA1- und noch mehr unter UVA/UVB-Bestrahlung an, zeigt jedoch keine signifikanten Änderungen weder unter Lycopin- noch unter Placeboeinnahme, vgl. Abbildungen 3.13 und 3.14.



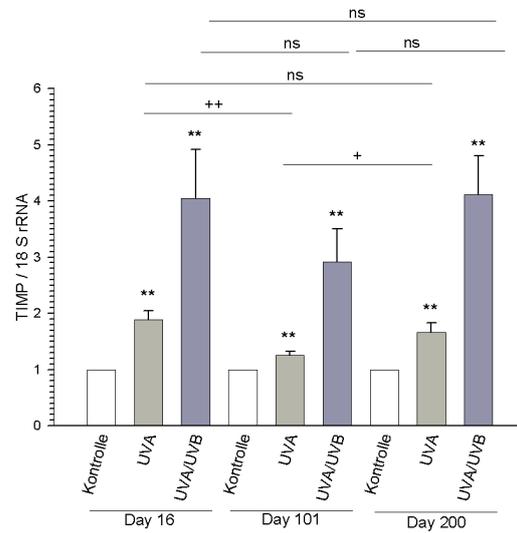
**Abbildung 3.13:** Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A

## 3.1.2.6 IL-1 und IL-6

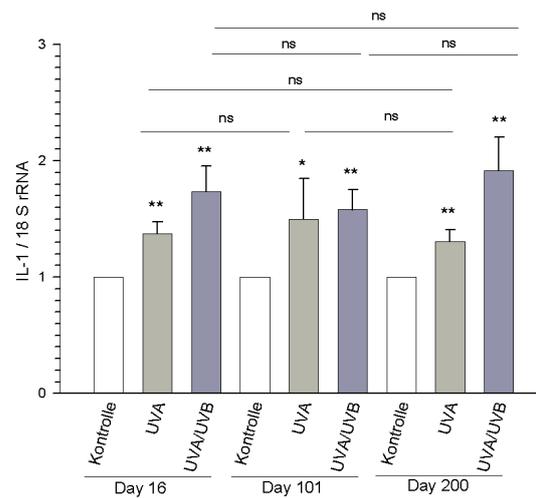
Weder für IL-1 noch für IL-6 können Effekte der Lycopineinnahme beobachtet werden, wie die Abbildungen 3.15, 3.16, 3.17 und 3.18 verdeutlichen.

## 3.1.2.7 Korrelation der Blutwerte mit der Expression der molekularen Marker

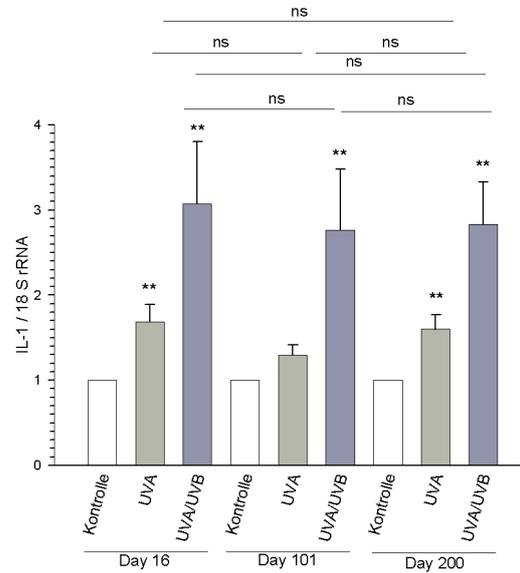
Um die Beziehung zwischen der Lycopineinnahme und der Expression der molekularen Marker deutlicher zu zeigen, sind in den Tabellen 3.5 und 3.6 die Korrelationen zwischen dem Lycopin-Serumspiegel und der Expressionsstärke einiger molekularer Marker zu sehen.



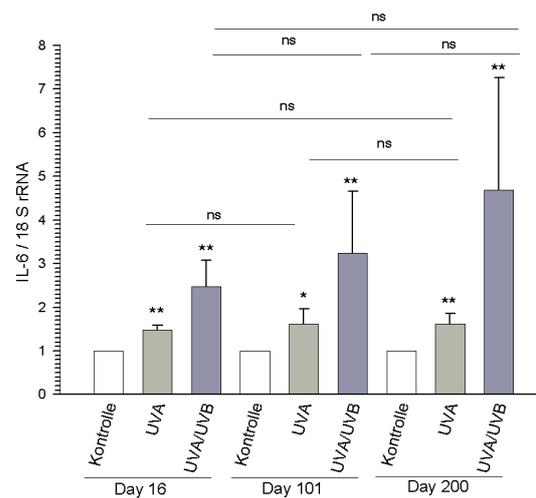
**Abbildung 3.14:** Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B



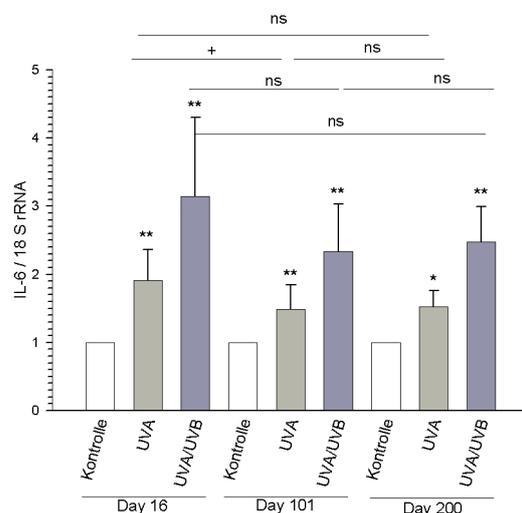
**Abbildung 3.15:** Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A



**Abbildung 3.16:** Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B



**Abbildung 3.17:** Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A



**Abbildung 3.18:** Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B

Der Pearson-Korrelationskoeffizient nähert sich dem Wert 1, je stärker zwei Werte miteinander korrelieren. Dies ist bei UVA1-Bestrahlung vor allem bei MMP-1, ICAM-1, HO-1 und Col1A1-1 der Fall. Unter UVA/UVB-Bestrahlung korrelieren besonders MMP-1, HO-1 und Col1A1-1 positiv mit dem Lycopin-Serumspiegel. Die Korrelationen sind auf dem Niveau von 0,05 (\*) signifikant, die Korrelationen vom Lycopin-Serumspiegel mit Col1A1-1 sogar auf einem Niveau von 0,01 (\*\*).

### 3.1.3 Veränderungen der Hautparameter

Eingeschlossen wurden nur Probanden mit den Hauttypen nach Fitzpatrick Typ II und III (siehe Tabelle 3.7). Kein Proband berichtete über Hautkrebserkrankungen und andere Dermatologien aktuell und in der Vergangenheit.

#### 3.1.3.1 Transepidermaler Wasserverlust (TEWL)

In der Gruppe A kann ein allgemeiner Trend erkannt werden, wie in Abbildung 3.19 zu sehen ist. Der Durchschnittswert des TEWL nimmt im Laufe der Studiendauer erst ab (aktive Phase) und steigt in der zweiten Studienhälfte nach dem Cross-Over (Einnahme des Placebopräparates) wieder an.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Ergebnisse Teil 1 Lycopin

		MMP-1 UVA1	MMP-1 UVA/UVB	ICAM-1 UVA1	ICAM-1 UVA/UVB
Blut- Lycopin	n	6	6	6	6
	Korrelation nach Pearson	0,876*	0,822*	0,892*	0,737
	Signifikanz (2-seitig)	0,022	0,044	0,017	0,094

**Tabelle 3.5:** Korrelationen vom Lycopin-Serumspiegel mit MMP-1 und ICAM-1 in TG A und B. \*\*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, \*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

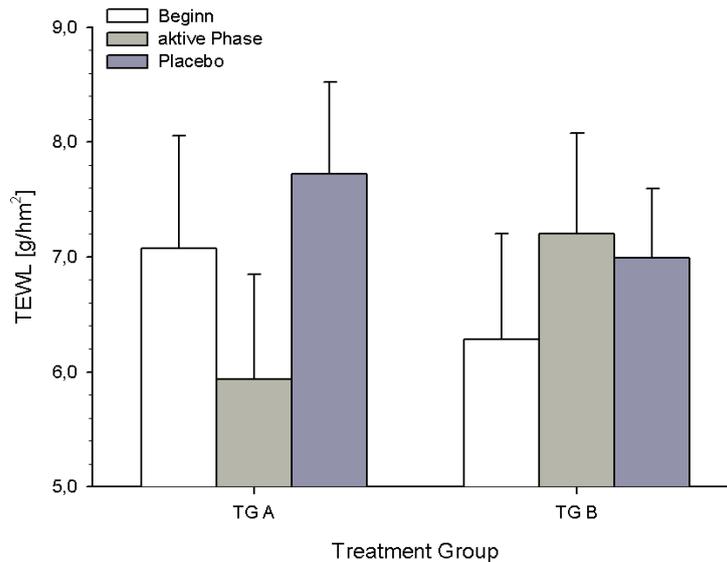
		HO-1 UVA1	HO-1 UVA/UVB	Col1A1-1 UVA1	Col1A1-1 UVA/UVB
Blut- Lycopin	n	6	6	6	6
	Korrelation nach Pearson	0,945**	0,895*	0,958**	0,956**
	Signifikanz (2-seitig)	0,004	0,016	0,003	0,003

**Tabelle 3.6:** Korrelationen vom Lycopin-Serumspiegel mit HO-1 und Col1A1-1 in TG A und B. \*\*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, \*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

Hauttyp	Hautfarbe	Entwicklung von Sonnenbrand/Sonnenbräune
I	sehr helle Haut, Sommersprossen, rote Haare, helle Augen (keltischer Typ)	verbrennt praktisch immer/ bräunt praktisch nie
II	helle Haut, blonde Haare, helle Augen (skandinavischer Typ, Kaukasier)	verbrennt leicht/ bräunt minimal
III	hellbraune Haut, hellbraune bis dunkelbraune Haare, helle oder braune Augen	verbrennt gelegentlich/ bräunt gut
IV	mittelbraune Haut, dunkle Haare, dunkle Augen (mediterraner Typ)	verbrennt selten/ bräunt sehr gut
V	dunkelbraune Haut (asiatischer Typ, Orientalen, Lateinamerikaner)	verbrennt sehr selten/ bräunt sehr gut
VI	schwarze Haut (Afrikaner, Afroamerikaner)	verbrennt extrem selten bis gar nicht/ sehr dunkle Pigmentierung

**Tabelle 3.7:** Hauttypen I bis VI nach Fitzpatrick,<sup>[4]</sup> S. 534

In TG B kann diese Entwicklung des TEWL-Wertes unter Lycopin- bzw. Placeboeinnahme nicht beobachtet werden. Es zeigen sich zu keinem Zeitpunkt der Studie statistisch signifikante Unterschiede der Werte im Vergleich zum Anfangswert.



**Abbildung 3.19:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme

Abbildung 3.20 zeigt den TEWL-Wert zu Beginn der Studie, differenziert nach Geschlecht. Die männlichen Probanden starten mit einem leicht höheren Wert in die Studie. Im weiteren Verlauf nimmt sowohl bei den weiblichen als auch bei den männlichen Probanden der TG A der TEWL-Wert unter Lycopineinnahme ab, um dann während der Placebophase wieder anzusteigen. Jedoch sind diese Veränderungen nicht signifikant. In der TG B wird keine Veränderung weder in der aktiven noch in der Placebophase deutlich, vgl. Abbildung 3.21.

Werden die Ergebnisse nach Alter aufgeteilt, so beginnen die Probanden über 45 Jahren die Studie mit einem deutlich niedrigeren TEWL-Wert, wie Abbildung 3.22 darstellt. Unter Lycopineinnahme sinkt der TEWL-Wert sowohl bei den jungen (unter 25 Jahren) als auch bei den Probanden mittleren Alters (26 bis 45 Jahre) im Gegensatz zu den älteren Probanden, bei denen der Wert unter Lycopin steigt, vgl. Abbildung 3.23.

Abbildung 3.24 verdeutlicht die Differenzierung nach initialem TEWL-Wert in drei

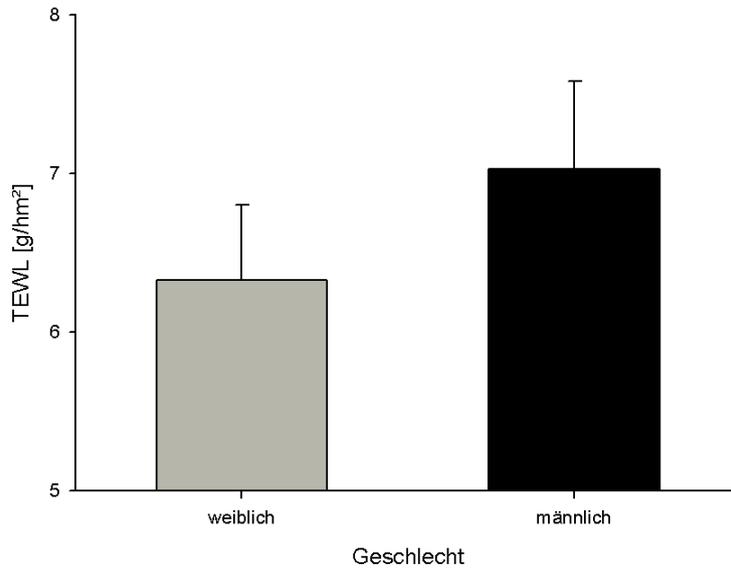


Abbildung 3.20: TEWL-Wert von TG A und B zu Studienbeginn aufgeteilt nach Geschlecht

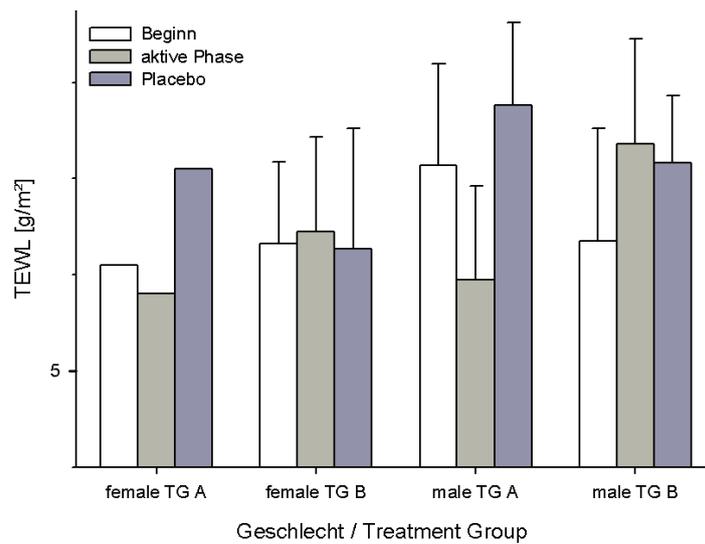


Abbildung 3.21: Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Treatment Group

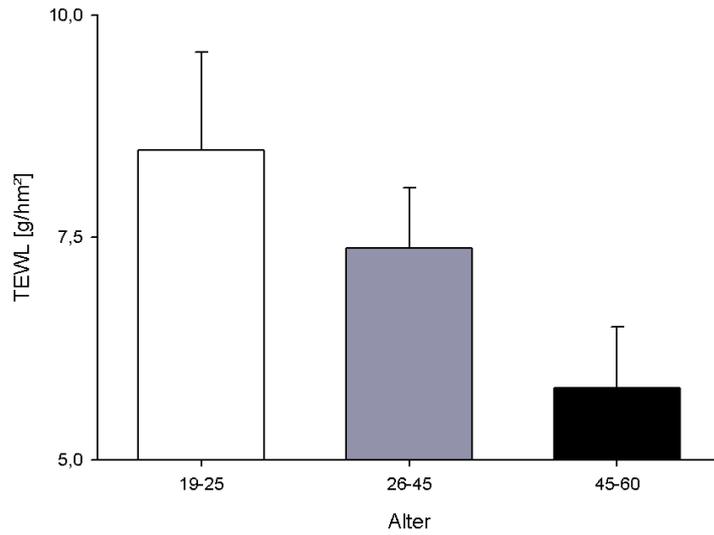


Abbildung 3.22: TEWL-Wert von TG A und B zu Studienbeginn aufgeteilt nach Alter

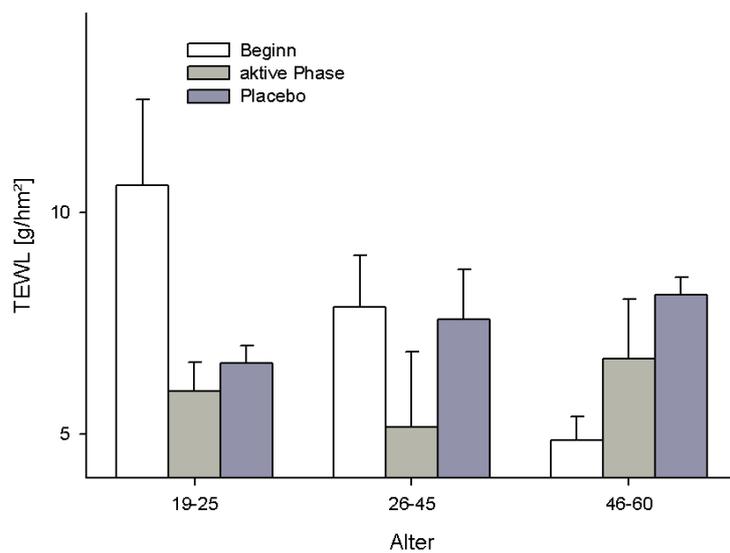
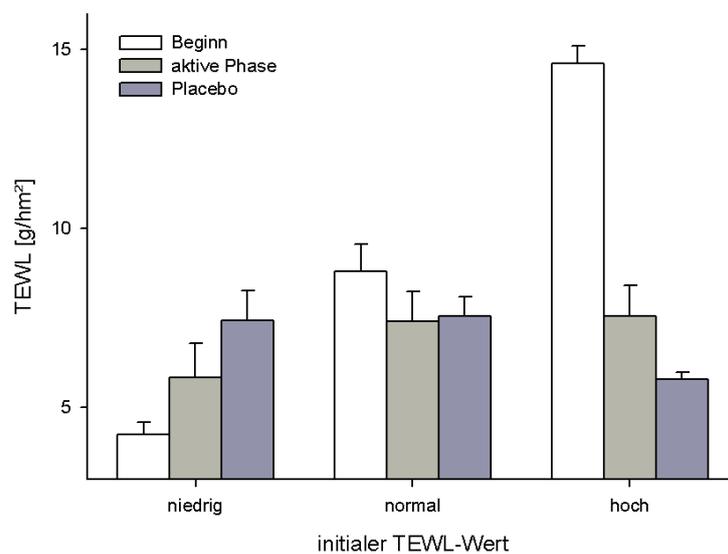


Abbildung 3.23: Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter

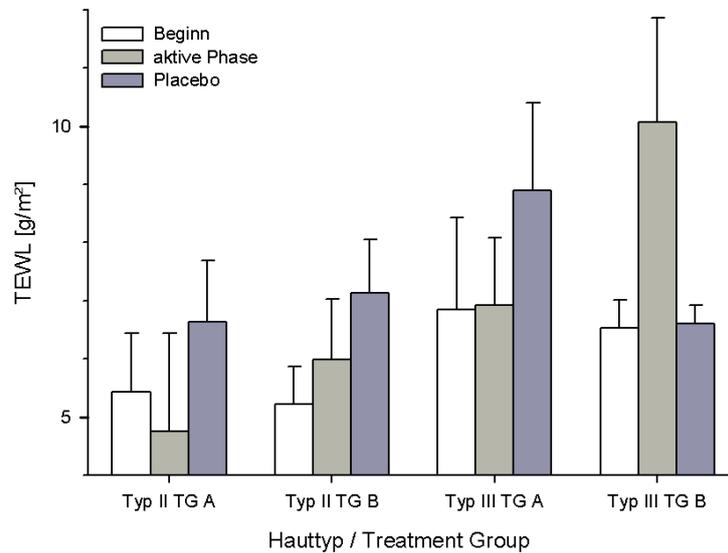
Gruppen. Probanden mit einem hohen TEWL-Wert ( $>10 \text{ g/hm}^2$ ) zu Beginn der Studie zeigen im Weiteren eine Abnahme, die sowohl unter Placebo- als auch unter Lycopineinnahme zu sehen ist. Die Werte nähern sich Bereichen, die einem „sehr gutem Hautzustand“ zugeteilt sind. Probanden mit einem niedrigen TEWL-Wert ( $<5 \text{ g/hm}^2$ ) weisen eine leichte Zunahme des TEWL-Wertes im Laufe der Studie auf.



**Abbildung 3.24:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialem TEWL-Wert

Wie in Abbildung 3.25 erkennbar wird, ist nach Aufteilung in Hauttyp und Treatment Group keine einheitliche Entwicklung des TEWL-Wertes im Laufe der Studie erkennbar. Auch der initiale Lycopin-Serumspiegel (niedrig:  $<0,8 \text{ nmol/ml}$ , mittel:  $0,8-1,0 \text{ nmol/ml}$ , hoch:  $>1,0 \text{ nmol/ml}$ ), die Stärke des Lycopin-Anstiegs und der erreichte Lycopinspiegel nach der aktiven Phase zeigen keinen signifikanten Einfluss auf den TEWL-Wert (nicht abgebildet).

Der Ausschluss der Probanden mit nur niedrigem Anstieg des Lycopin-Serumspiegels in der aktiven Phase bringt keine signifikanten Veränderungen. Zu erwähnen ist, dass sich alle Probanden zu jedem Messzeitpunkt im Laufe der Studie in einem Bereich zwischen Werten von  $0,60 \text{ g/hm}^2$  und  $15,50 \text{ g/hm}^2$  befanden und so auch die Probanden mit den höchsten Werten immer noch einen „sehr gesunden Hautzustand“ bis „gesunden Hautzustand“ aufwiesen, vgl. Kapitel 2.7.1.



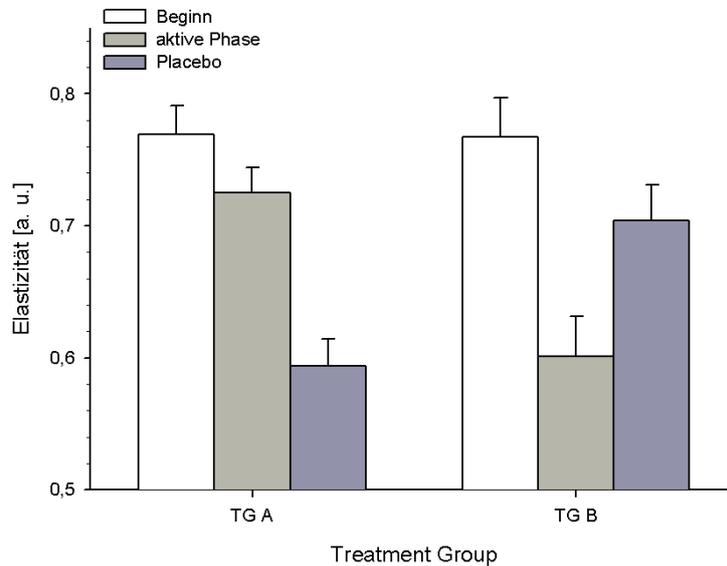
**Abbildung 3.25:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp und Treatment Group

### 3.1.3.2 Cutometrie

Mit dem in der Studie bestimmten Cutometer-Wert R2 wird die biologische Elastizität der Haut gemessen. Je mehr sich dieser Wert der 1 nähert, desto elastischer ist die Haut der gemessenen Stelle, vgl. Kapitel 2.7.2.

TG A zeigt im Verlauf der Studie im Mittelwert eine leichte Abnahme der Hautelastizität von  $0,75 \pm 0,8$  an Tag 14 auf  $0,61 \pm 0,8$  an Tag 199. Auch in TG B kann diese Entwicklung beobachtet werden. Die Elastizität nimmt also unabhängig von der Einnahmereihenfolge von Lycopin und Placebo ab. Die Entwicklungen sind in Abbildung 3.26 zu sehen.

Sowohl die weiblichen als auch die männlichen Probanden weisen unter Lycopineinnahme eine Abnahme der Elastizität auf, welche bei den männlichen Probanden im Gegensatz zu den Probandinnen auch unter Placeboeinnahme zu beobachten ist, vgl. Abbildung 3.27. Die weitere Aufteilung nach Treatment Group in Abbildung 3.28 deckt auf, dass die männlichen Probanden der TG B eine stärkere Abnahme des Cutometer-Wertes unter Lycopin- als unter Placeboeinnahme zeigen. Einzig bei der Probandin der TG A steigt der Cutometer-Wert sowohl in der aktiven als auch weiterhin in der



**Abbildung 3.26:** Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme

Placebophase, was auf eine eventuell länger andauernde Wirkung der Lycopineinnahme hindeutet. Da der weibliche Anteil der TG A aber nur aus dieser einen Probandin besteht, kann dies nicht weiter beachtet werden.

Werden die Probanden nach ihrem Alter unterschieden, so haben die älteren Probanden im Vergleich zu den jungen Probanden und denen mittleren Alters eine reduzierte Hautelastizität. Im Laufe der Studie nimmt der Wert in jeder Altersgruppe und in jeder Studienphase ab, vgl. Abbildung 3.29.

Die Hauttypen II und III beginnen mit nahezu identischen Hautelastizitätswerten die Studie und weisen ebenfalls eine Abnahme der Werte während der Studie auf, wie in Abbildung 3.30 zu sehen ist.

Die Abbildungen 3.31, 3.32 und 3.33 zeigen die Aufteilung der Probanden nach initialem Lycopin-Serumspiegel, Anstiegsstärke und Spiegel nach der aktiven Phase. Auch hier ist eine Abnahme des R<sup>2</sup>-Wertes im Laufe der Studie zu beobachten.

Bereits wenig elastische Haut reagiert auf die Lycopineinnahme mit einer geringeren Abnahme der Elastizität als Haut mit einem höheren Cutometer-Wert zu Beginn der Studie, vgl. Abbildung 3.34.

Auch hier bringt der Ausschluss der Non-Responder keine statistisch signifikanten

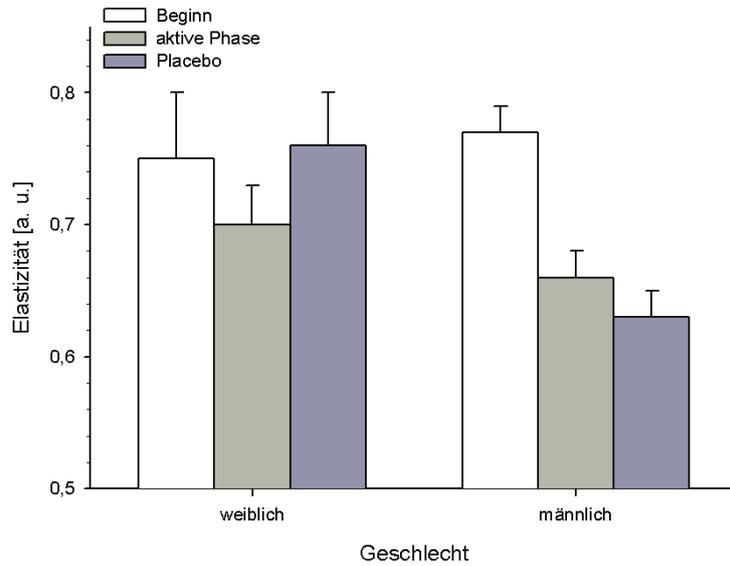


Abbildung 3.27: Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht

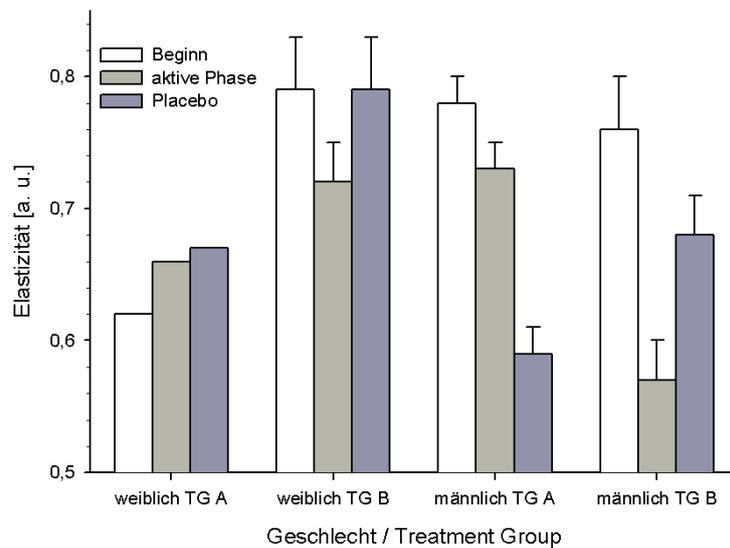


Abbildung 3.28: Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Treatment Group

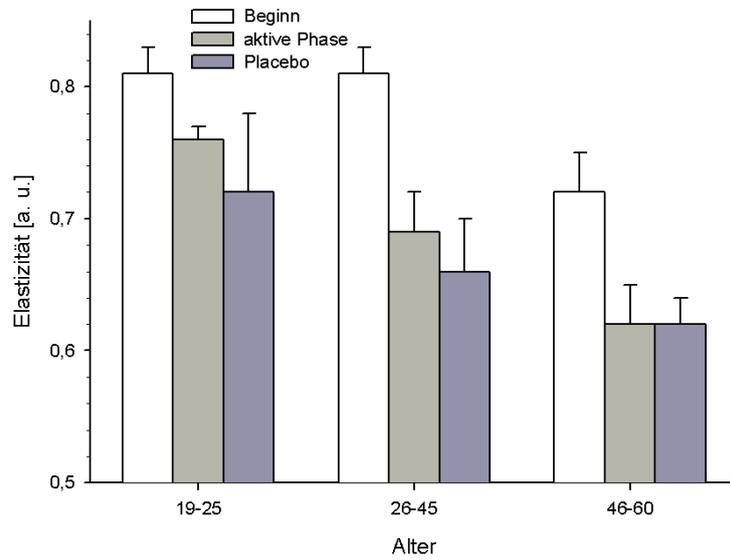


Abbildung 3.29: Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter

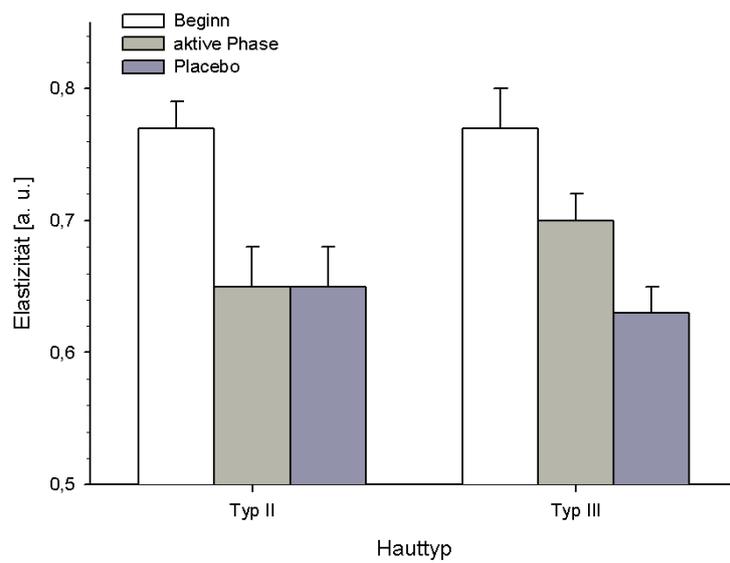
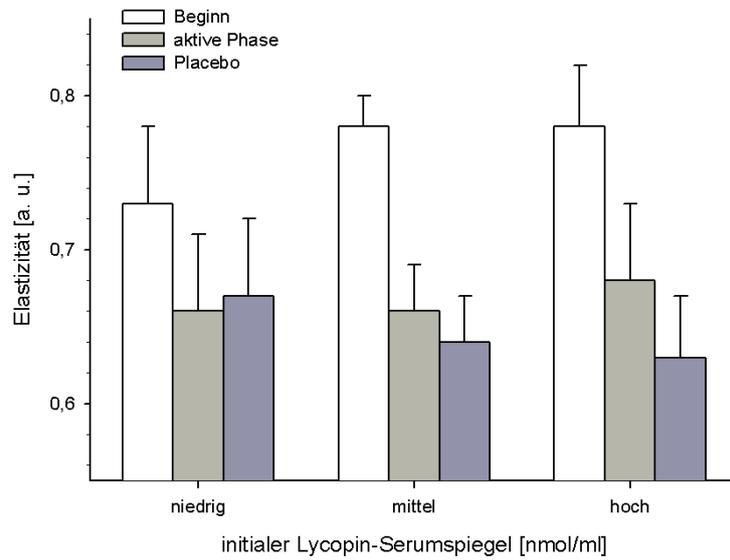
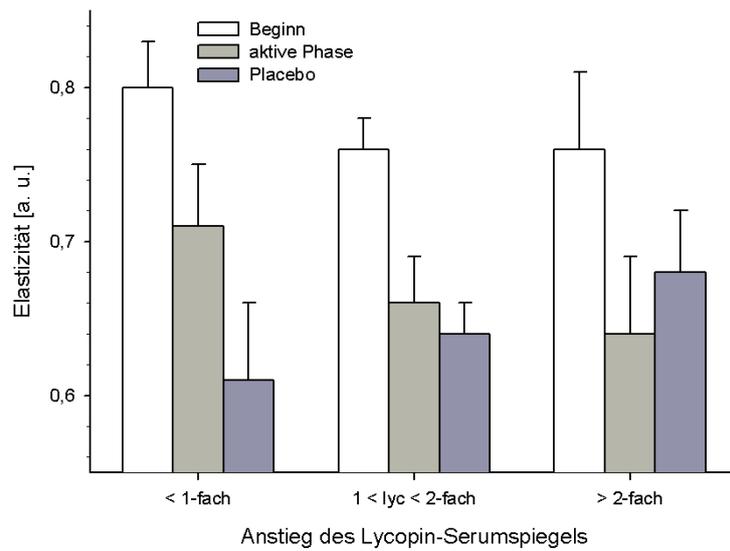


Abbildung 3.30: Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp



**Abbildung 3.31:** Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lycopin-Serumspiegels



**Abbildung 3.32:** Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Anstiegsstärke des Lycopin-Serumspiegels

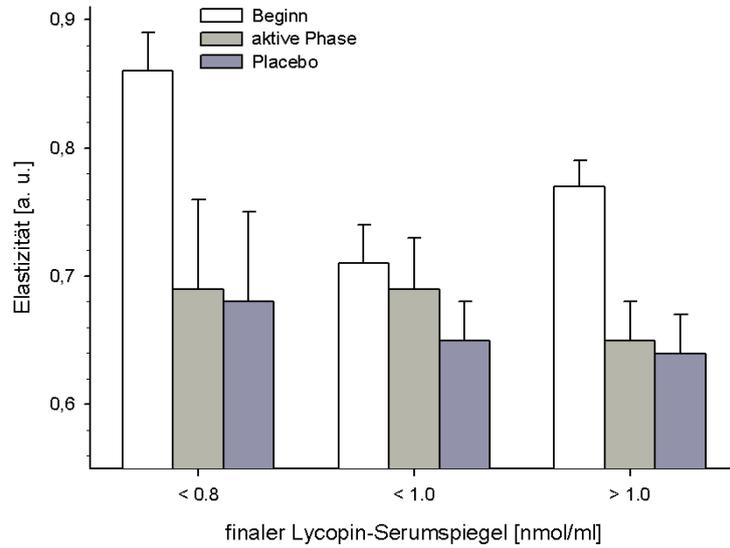


Abbildung 3.33: Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des finalen Lycopin-Serumspiegels nach der aktiven Phase

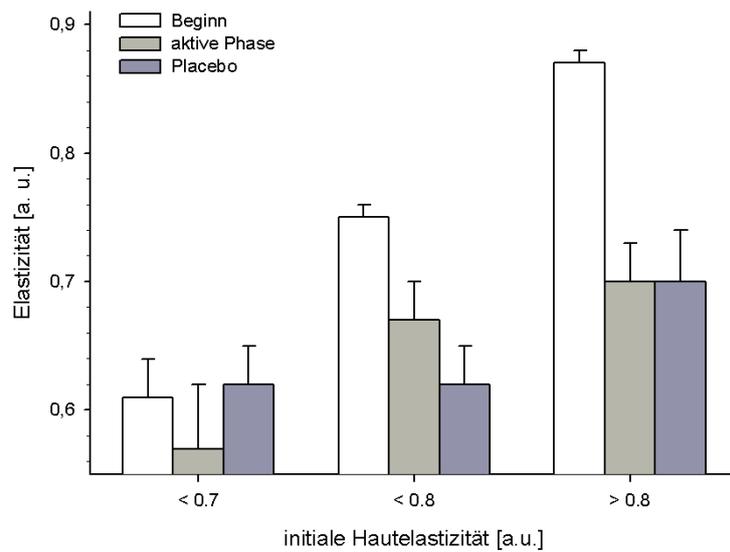


Abbildung 3.34: Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialer Hautelastizität

Veränderungen hervor.

### 3.1.3.3 Colorimetrie

Mit dem Colorimeter wird die Hautfarbe bestimmt. Hierbei wird der Wert vor der Bestrahlung mit UVA1-Strahlung bzw. dem Solarsimulator mit dem Wert nach der Bestrahlung verglichen und die Differenz  $\Delta$  gebildet.

Der L\*-Wert (Luminosity) beschreibt die Hautfarbe auf der Hell-Dunkel-Achse. Je höher der Wert, desto heller, weniger pigmentiert, ist die Haut. Weder in TG A noch in TG B werden im Laufe der Studie Veränderungen des  $\Delta L^*$ -Wertes erkennbar, unabhängig ob mit UVA1 oder Solarsimulator bestrahlt wurde. Auch kann kein Effekt der Lycopineinnahme auf die Hautpigmentierung beobachtet werden (nicht abgebildet).

Der Wert b\* beschreibt die Hautfarbe auf der Blau-Gelb-Achse.  $\Delta b^*$  weist ebenfalls keine Änderung in den beiden Treatment Groups auf (nicht abgebildet). Bei den Werten L\* und b\* zeigt der vergleichende t-Test keine Signifikanz (mit  $p < 0,05$ ).

Die Rot-Grün-Achse wird durch den a\*-Wert ausgedrückt. Er beschreibt die Rotfärbung der Haut, die nach UVA1- bzw. Solarsimulator-Bestrahlung bei Erzeugung eines Erythems erreicht wird. Hierbei wird ebenfalls die Differenz des Wertes vor und nach Bestrahlung errechnet ( $\Delta a^*$ ) und die Differenzen unter Lycopin- mit denen unter Placeboeinnahme verglichen.

Abbildung 3.35 stellt den Lycopin-Serumspiegel im Laufe der Studie in TG A dar. Im Vergleich dazu ist in Abbildung 3.36  $\Delta a^*$  der TG A an den verschiedenen Messzeitpunkten zu sehen. Hierbei wird die Korrelation zwischen Lycopinspiegel und Erythementwicklung deutlich. Mit steigendem Lycopinlevel im Blut sinkt die Entwicklung des Erythems nach UVA1-Bestrahlung (kleineres  $\Delta a^*$ ), unter Placeboeinnahme steigt der Wert von  $\Delta a^*$  wieder. Wie in den Abbildungen 3.37 und 3.38 zu sehen ist, entwickelt sich dieser Effekt von Lycopin auf die Erythemstehung bei TG B nicht.

Unter Lycopineinnahme sinkt also in TG A nach Bestrahlung mit UVA1 die Stärke der Erythembildung leicht ab, dies ist bei TG B nicht zu beobachten, vgl. Abbildung 3.39.

Abbildung 3.40 zeigt die Stärke der Erythembildung im Laufe der Studie nach Geschlecht getrennt. Deutlich wird hier, dass die weiblichen Probanden auf die Lycopineinnahme mit einer signifikanten Abnahme (Beginn zu aktiver Phase  $p=0,03$ ) von  $\Delta a^*$  reagieren. Unter Placeboeinnahme steigt der Wert der Erythemstärke wieder an.

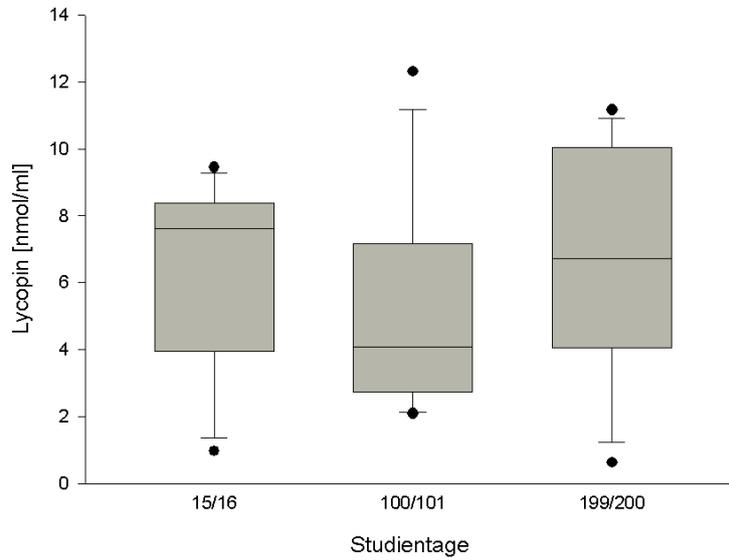


Abbildung 3.35: Boxplot des Verlaufes des Lycopin-Serumspiegels von TG A über die Studiendauer

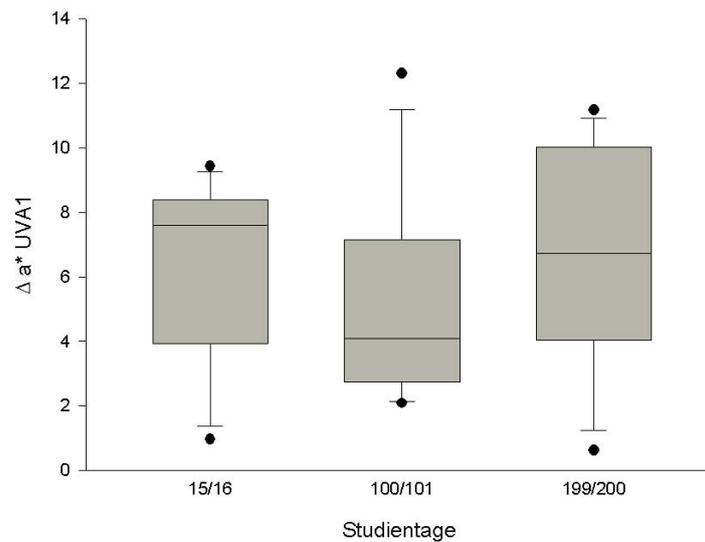


Abbildung 3.36: Boxplot des Verlaufes von  $\Delta a^*$  der TG A über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung

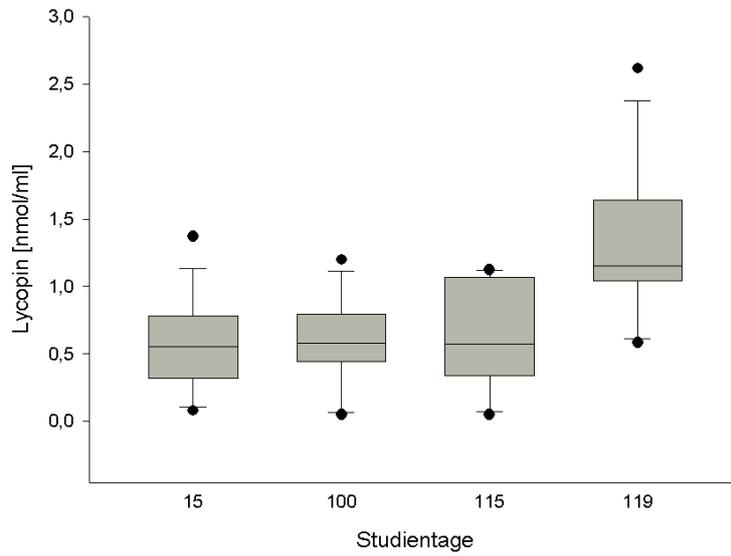


Abbildung 3.37: Boxplot des Verlaufes des Lycopin-Serumspiegels von TG B über die Studiendauer

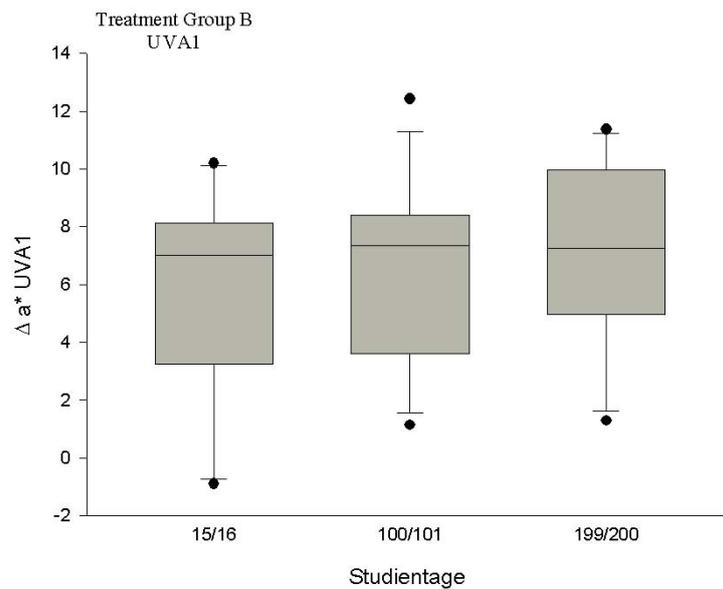
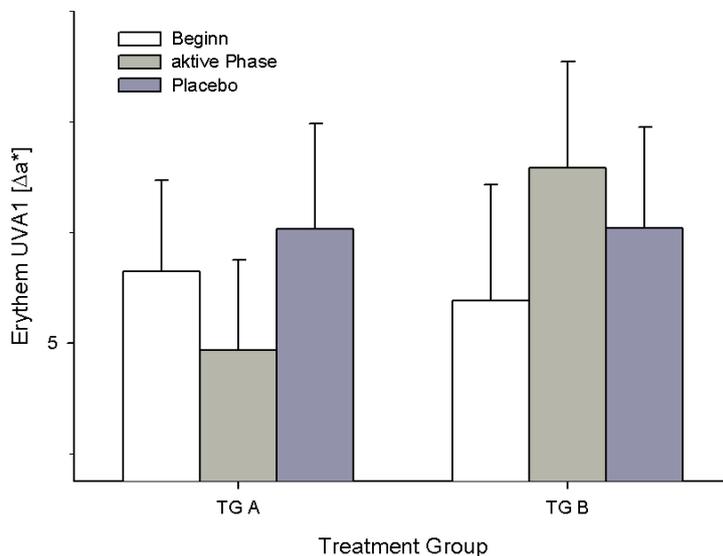


Abbildung 3.38: Boxplot des Verlaufes von  $\Delta a^*$  der TG B über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung



**Abbildung 3.39:** Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA1-Bestrahlung

Jedoch besteht diese Gruppe aus nur drei Probandinnen. Im Gegensatz dazu reagieren die 25 männlichen Probanden mit einer leichten Zunahme von  $\Delta a^*$  in der aktiven Phase.

Werden die Ergebnisse nach dem Alter der Probanden differenziert, reduziert sich nur bei den jungen Probanden unter 25 Jahren die Erythembildung in der aktiven Phase, jedoch ohne Signifikanz. Sowohl die Probanden mittleren als auch höheren Alters reagieren mit einer geringen Zunahme von  $\Delta a^*$ . Diese Ergebnisse zeigt Abbildung 3.41.

In Abbildung 3.42 wird deutlich, dass die Probanden mit Hauttyp III, also per se dunklerer Haut, mit einem geringeren  $\Delta a^*$  in die Studie starten und unter Lycopineinnahme mit einer Abnahme der Erythembildung reagieren. Probanden mit Hauttyp II weisen diesen Effekt nicht auf.

Die weiteren Aufteilungen nach initialem Lycopin-Serumspiegel, Stärke des Lycopinanstiegs und der erreichte Lycopinspiegel nach der aktiven Phase bringen keine signifikanten Veränderung von  $\Delta a^*$  im Laufe der Studie hervor (nicht abgebildet).

Bei Solarsimulator-Bestrahlung zeigen sich die Effekte, die bei UVA1-Bestrahlung beschrieben sind, in nur geringem Ausmaß, beispielhaft in Abbildung 3.43 (Gesamtgruppe) und in Abbildung 3.44 (Differenzierung nach Alter) zu sehen.

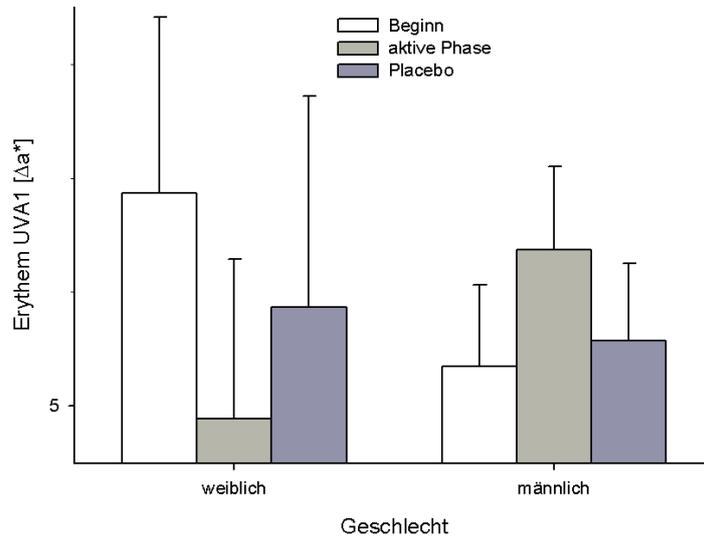


Abbildung 3.40: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht bei UVA1-Bestrahlung

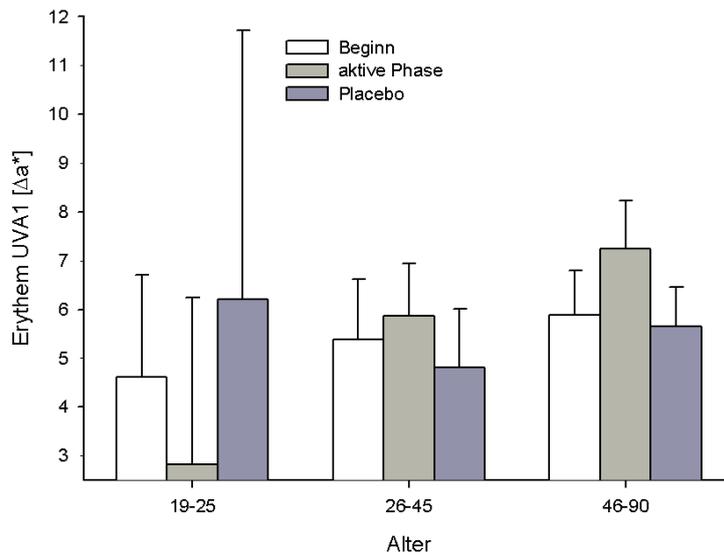


Abbildung 3.41: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA1-Bestrahlung

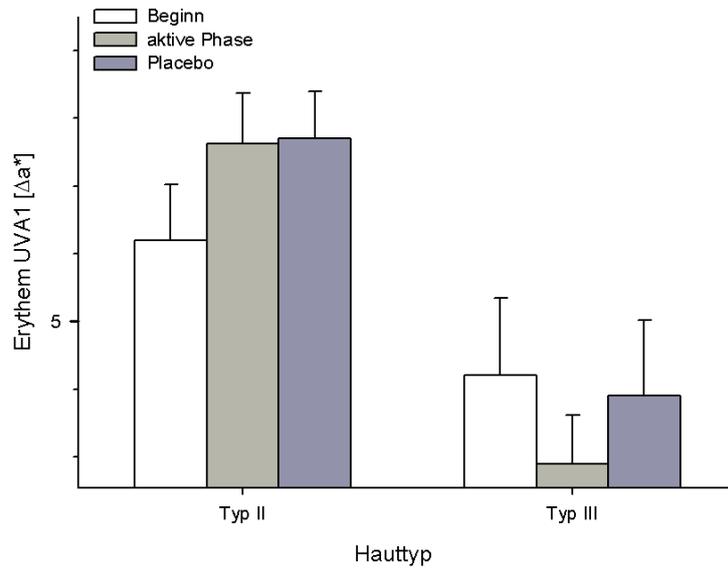


Abbildung 3.42: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp bei UVA1-Bestrahlung

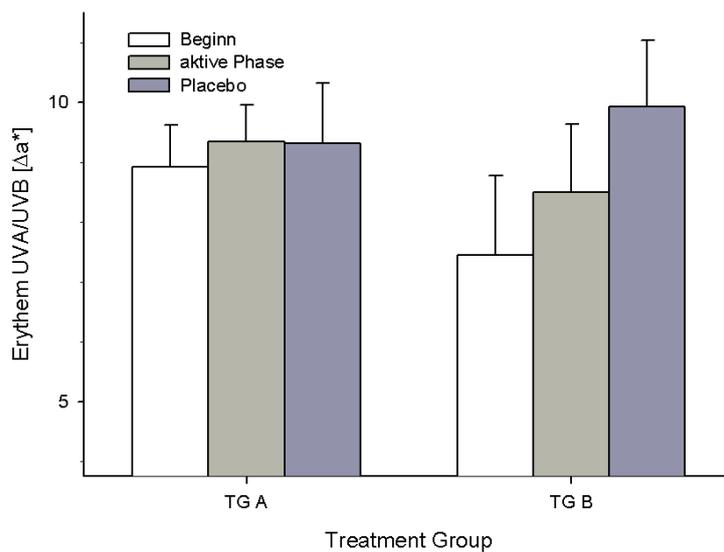
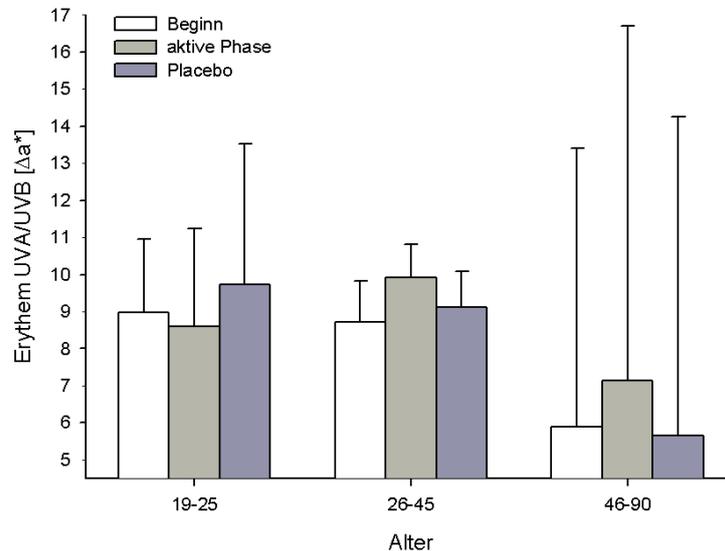


Abbildung 3.43: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA/UVB-Bestrahlung



**Abbildung 3.44:** Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA/UVB-Bestrahlung

Der Ausschluss der drei Non-Responder ergibt keine neuen Ergebnisse mit signifikanten Änderungen.

Zu beachten bei der Interpretation ist, dass es eine große interpersonelle Varianz der Reaktionen auf die Bestrahlungen und die Lycopinaufnahme gibt. Auch lässt die geringe Anzahl der Probanden keinen wirklichen Beweis des Zusammenhangs zwischen Nahrungsergänzungsmittelaufnahme und Erythembildung auf UV-Bestrahlung zu.

Der Wert  $\Delta E^*$  (Kapitel 2.7.3) fasst die Parameter des Colorimeters zusammen und beschreibt die Hautfarbe auf allen drei Achsen. Mit ihm können zwei Farbtöne mathematisch verglichen werden. Auch dieser Wert zeigt im Laufe der Studie keine signifikanten Änderungen (nicht abgebildet).

Der aus  $L^*$  und  $b^*$  berechnete  $ITA^\circ$ -Wert ändert sich zu keinem Zeitpunkt (nicht abgebildet).

## 3.2 Ergebnisse Teil 2 Lutein

Tabelle 3.8 zeigt die allgemeinen Charakteristika der beiden Treatment Groups C und D.

	Hauttyp		Alter		Geschlecht	
	II	III	≤40	>40	m	w
TG C	7	8	5	10	10	5
TG D	10	5	9	6	13	2

Tabelle 3.8: Charakteristika der TG C und D

	Wash-out I C [Tage]	Wash-out I D [Tage]	Wash-out II C [Tage]	Wash-out II D [Tage]
n	15	15	15	15
min	13	14	10	11
max	26	25	20	18
mean	16,13	16,27	14,00	14,07
median	16	15	14	14
SD	3,14	3,10	2,48	1,83

Tabelle 3.9: Länge der Auswaschphasen in TG C und D

### 3.2.1 Compliance

Der Studienablauf glich dem Ablauf wie in Teil 1 beschrieben (siehe Kapitel 3.1.1). Die Probanden nahmen in der sog. aktiven Phase als Nahrungsergänzungsmittel das Xanthophyll Lutein über zwölf Wochen ein. Die mediane Länge der Auswaschphasen betrug 14 bis 16 Tage, die der Einnahmephase 83 bis 87 Tage, vgl. Tabellen 3.9 und 3.10.

#### 3.2.1.1 Messung der Compliance anhand der Kapselmenge

Zu Beginn jeder Behandlungsphase erhielten die Probanden drei Behälter mit je 65 Kapseln. Die Probanden nahmen einmal täglich zwei dieser Kapseln ein. Sie wurden angehalten, zum Ende der jeweiligen Einnahmephase die restlichen Kapseln zurückzugeben. So konnte die genommene Kapselmenge errechnet werden. Sieben Probanden gaben ihre Kapseln nicht zurück. Für diese konnte also keine Compliance anhand der Kapselmenge bestimmt werden.

Die genaue Kapselanzahl, die jeder Proband einzunehmen hatte, hing von der jeweiligen Dauer der Einnahmephase ab. Daraus konnte die Compliance berechnet werden.

	Phase I C [Tage]	Phase I D [Tage]	Phase II C [Tage]	Phase II D [Tage]
n	15	15	15	15
min	78	82	76	78
max	96	96	91	89
mean	86,60	85,13	82,87	83,53
median	87	84	83	84
SD	4,50	3,56	3,76	2,85

Tabelle 3.10: Länge der Einnahmephasen in TG C und D

	Compliance I C & D [%]	Compliance I C [%]	Compliance I D [%]	Compliance II C & D [%]	Compliance II C [%]	Compliance II D [%]
n	25	13	12	26	13	13
min	88	88	88	86	92	86
max	121	121	106	112	107	112
mean	98,12	98,24	97,99	100,74	100,66	100,83
median	97,67	97,67	97,99	100,60	100,60	100,60
SD	7,44	9,09	5,52	6,02	4,21	7,60

Tabelle 3.11: Compliance in TG C und D

Die durchschnittliche Compliance der Probanden lag hier bei 98-101 %, vgl. Tabelle 3.11.

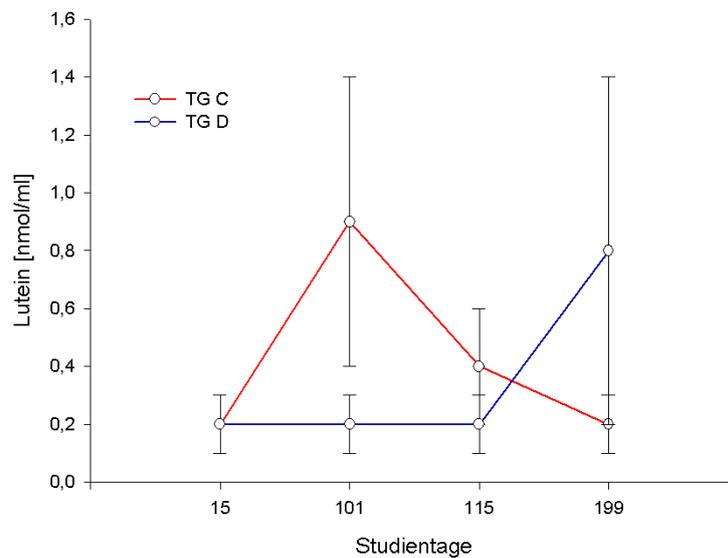
### 3.2.1.2 Compliance anhand der Blutwerte

In Abbildung 3.45 ist der Verlauf des Lutein-Serumspiegels im Laufe der Studie zu sehen. Unter der Einnahme der luteinhaltigen Kapseln steigt der Luteingehalt im Serum deutlich, an während er unter Placebo-Einnahme wieder rasch abfällt (TG C) bzw. kein Anstieg zu verzeichnen ist (TG D). Ebenso verhält sich der Blutspiegel des Xanthophylls Zeaxanthin, wie in Abbildung 3.46 zu sehen ist.

Die übrigen untersuchten Blutparameter wie alpha-Carotin (beispielhaft in Abbildung 3.47) und andere zeigen keinen Anstieg. Hierbei bringt die nähere Betrachtung des Inhaltes der Lyc-O-Lutein Kapseln eine Erklärung. Laut Herstellerangaben beinhaltet eine Kapsel mit 50 mg ca. 10 mg Lutein, 0,2 mg Zeaxanthin und weniger als 0,4 mg andere Carotinoide. Dadurch tragen Lutein und Zeaxanthin den Hauptanteil, was sich in

den Blutspiegeln widerspiegelt.

Durch diese Beobachtungen lässt sich ebenso auf eine gute Compliance der Probanden, wie auch auf eine sichtbar ausreichende Anreicherung von Lutein im Blut schließen.



**Abbildung 3.45:** Entwicklung des Lutein-Serumspiegels von TG C und D über die Studiendauer

In TG C wurde ein Proband als sog. Non-Responder definiert, in TG D vier Probanden. Sie zeigten unter Luteineinnahme keinen oder einen sehr geringen Anstieg von Lutein im Serum. Eine Auswertung der untersuchten Parameter wurde probenhalber auch unter Ausschluss dieser durchgeführt, um eventuelle Verfälschungen aufzudecken.

### 3.2.2 Expression molekularer Marker für UV-induzierte Schäden

Zur Vorgehensweise siehe Kapitel 3.1.2.

„\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  gegenüber unbehandelter Kontrollbiopsie; +  $p < 0.05$ , ++  $p < 0.01$  gegenüber behandelter Biopsie; ns = nicht signifikant“ gilt für die Abbildungen 3.48 bis 3.63.

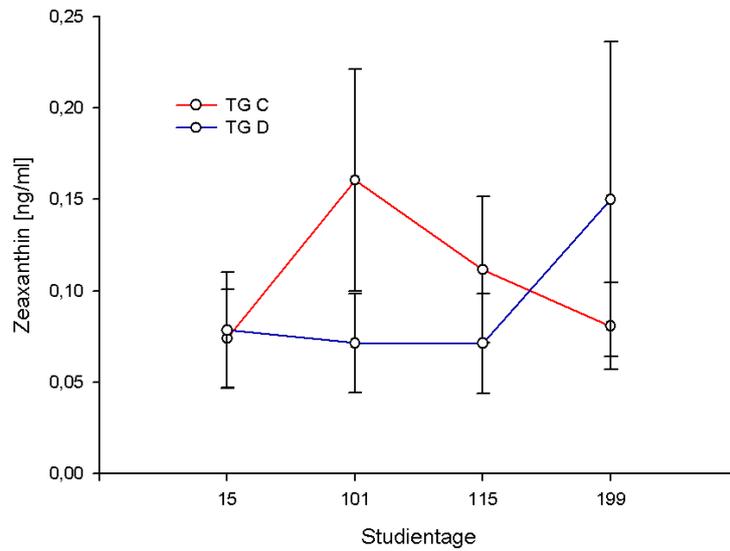


Abbildung 3.46: Entwicklung des Zeaxanthin-Serumspiegels von TG C und D über die Studiendauer

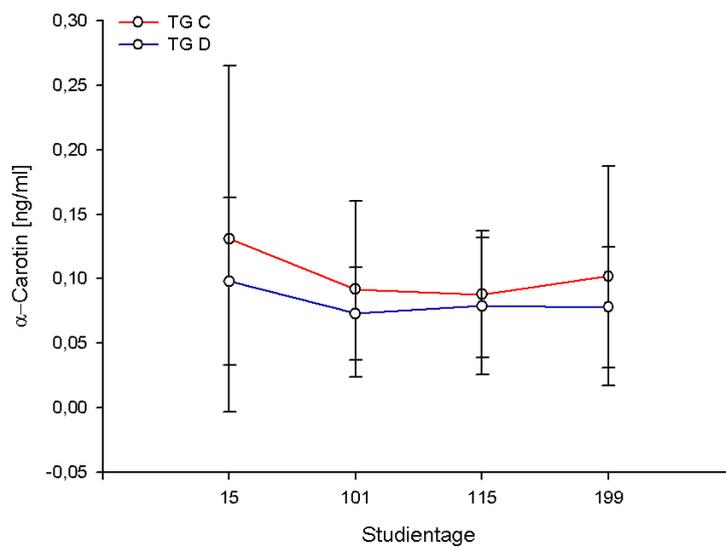
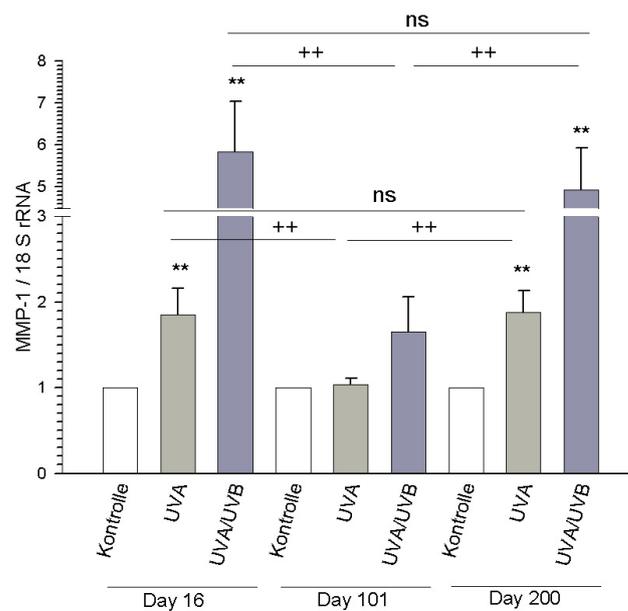


Abbildung 3.47: Entwicklung des  $\alpha$ -Carotin-Serumspiegels von TG C und D über die Studiendauer

## 3.2.2.1 MMP-1

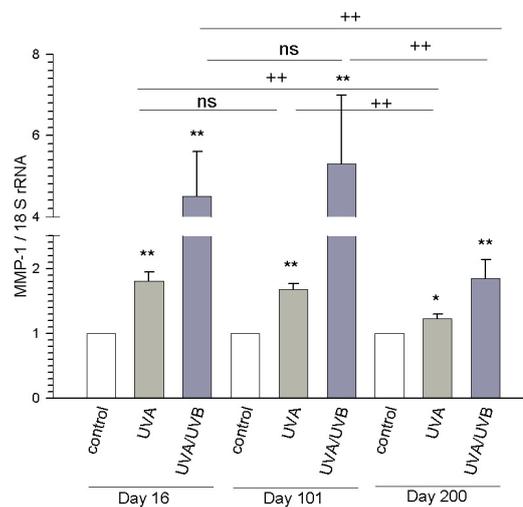
Die Abbildungen 3.48 und 3.49 verdeutlichen den starken Anstieg der mRNA des Markerenzyms MMP-1 unter UVA1- und UVA/UVB- (Solarsimulator-) Bestrahlung, was zu einem höheren Abbau von Kollagen führt. Die Expression ist unter UVA/UVB-Bestrahlung deutlich höher als unter UVA1-Bestrahlung alleine. Sowohl in der TG C als auch in der TG D fällt unter Luteineinnahme die MMP-1-Expression stark ab, was nicht unter Placeboeinnahme zu sehen ist (TG D) bzw. steigt bei TG C der MMP-1-Gehalt nach Absetzen von Lutein und Einnahme von Placebo wieder bis auf das Niveau zu Beginn der Studie an.



**Abbildung 3.48:** Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C

## 3.2.2.2 ICAM-1

Die Expression der mRNA von ICAM-1 nach UV-Exposition verhält sich analog zur Expression von MMP-1 im Laufe der Studie. Die durch UV-Strahlung ausgelöste ICAM-1 mRNA Induktion wird ebenfalls durch die Luteineinnahme unterdrückt, vgl. Abbil-



**Abbildung 3.49:** Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D

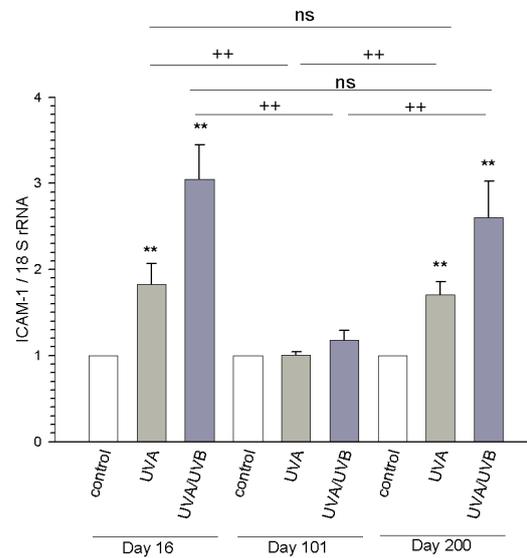
dungen 3.50 und 3.51. Unter Placeboeinnahme steigt der Wert der ICAM-1-Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung wieder auf das initiale Niveau an.

### 3.2.2.3 HO-1

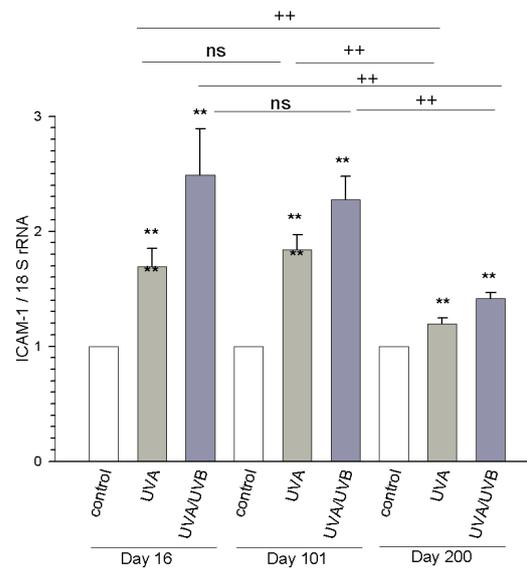
Auch bei diesem Enzym wird die Expression in Antwort auf UV-Strahlung (auf UVA/-UVB-Bestrahlung deutlicher als auf UVA-Bestrahlung alleine) während der Luteineinnahmephase unterdrückt. In TG C steigt die Induktion der Expression unter Placeboeinnahme wieder auf das Ausgangsniveau zu Beginn der Studie an. In TG D ändert sich in der anfänglichen Placebophase die Induktion der Expression nicht (Abbildungen 3.52 und 3.53).

### 3.2.2.4 Col1A1-1 und Col1A2-1

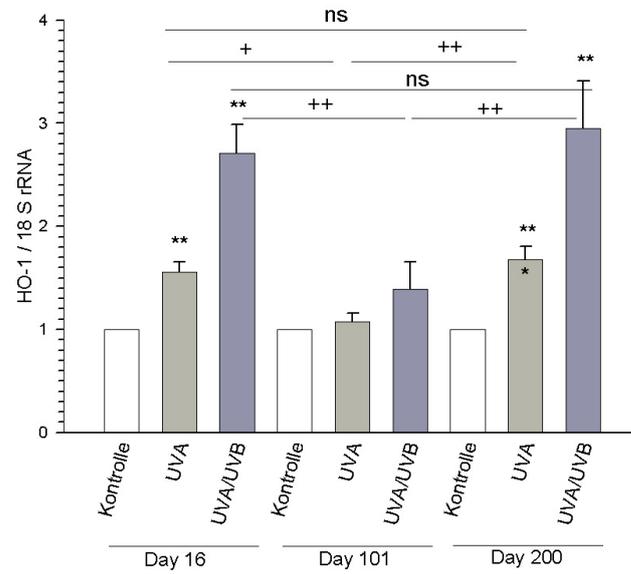
Die Änderungen der Expression der Gene Col1A1-1 und Col1A2-1 unter UVA1- bzw. UVA/UVB-Bestrahlung werden nicht mehr so deutlich wie in den drei oben genannten Markern. Vor allem in TG D (bei Col-1A1) und in beiden Gruppen bei Col-1A2 zeigen sich kaum signifikante Änderungen weder unter Lutein- noch unter Placeboeinnahme, wie in den Abbildungen 3.54, 3.55, 3.56 und 3.57 zu sehen ist.



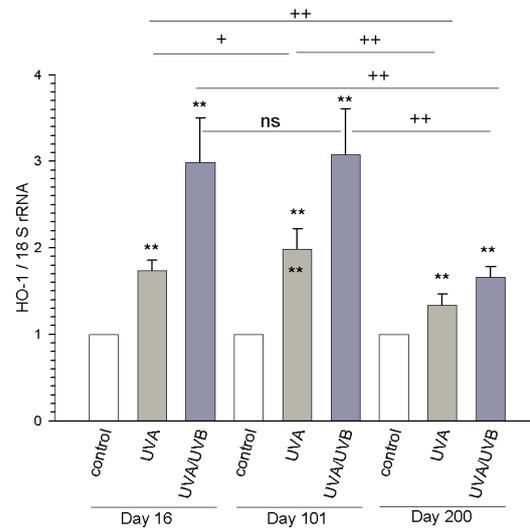
**Abbildung 3.50:** Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C



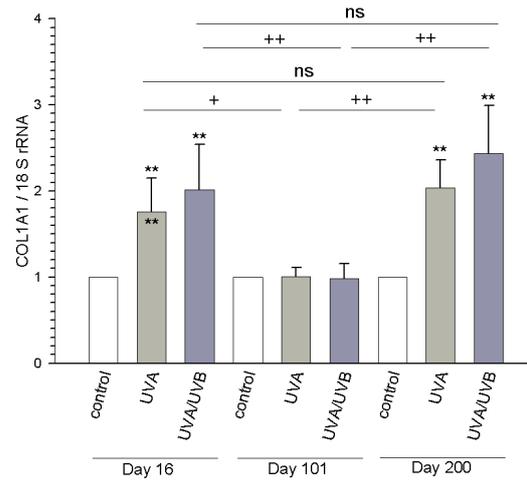
**Abbildung 3.51:** Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D



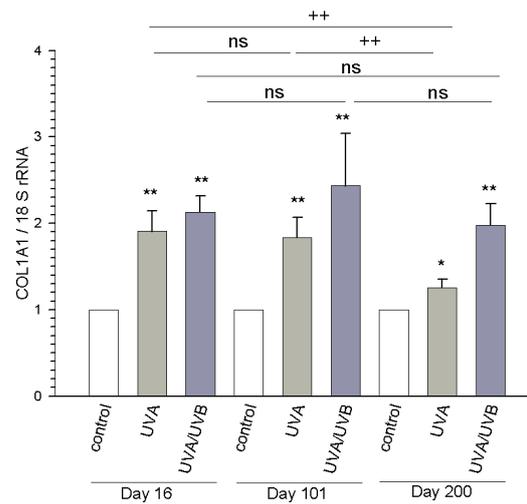
**Abbildung 3.52:** Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C



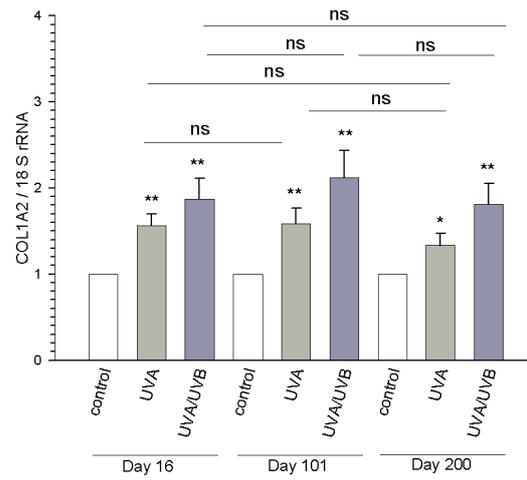
**Abbildung 3.53:** Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D



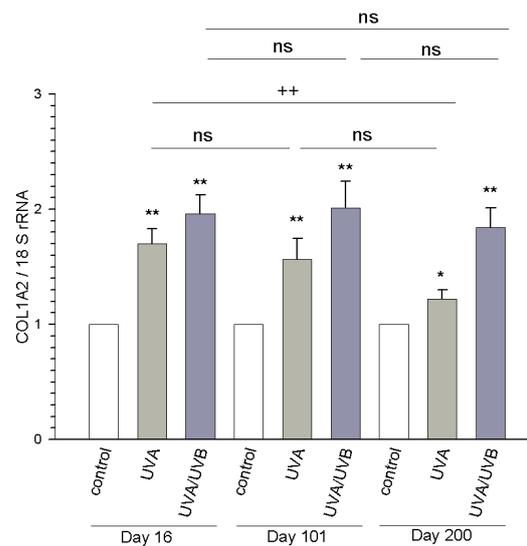
**Abbildung 3.54:** Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C



**Abbildung 3.55:** Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D



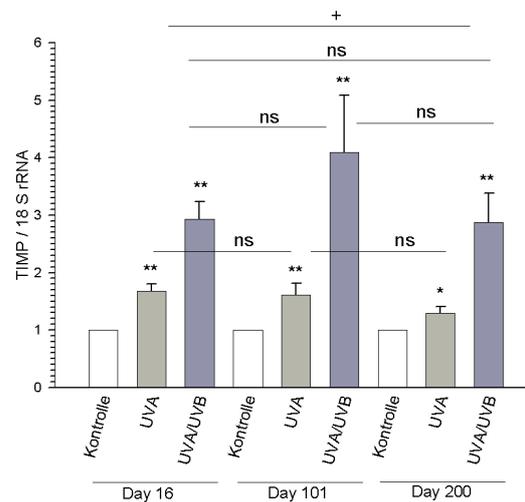
**Abbildung 3.56:** Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C



**Abbildung 3.57:** Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D

## 3.2.2.5 TIMP-1

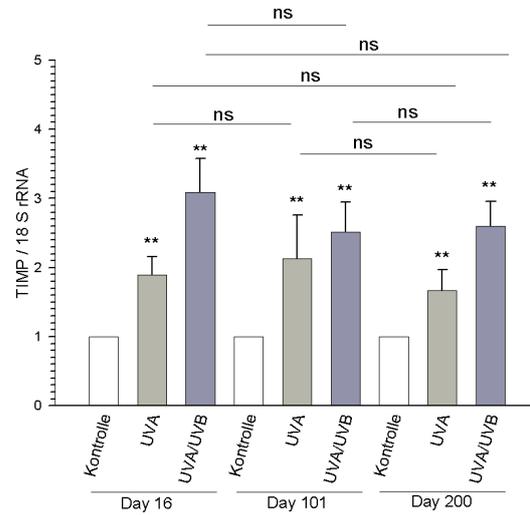
Der tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) ist der Gegenspieler zu MMP-1. Wie auch schon *in vitro* gezeigt<sup>[48]</sup>, wird die Expression von TIMP durch Lutein nicht beeinflusst. In TG C wird bei UVA/UVB-Bestrahlung ein leichter Anstieg der TIMP-Expression unter Luteineinnahme sichtbar, dies jedoch ohne Signifikanz (Abbildungen 3.58 und 3.59).



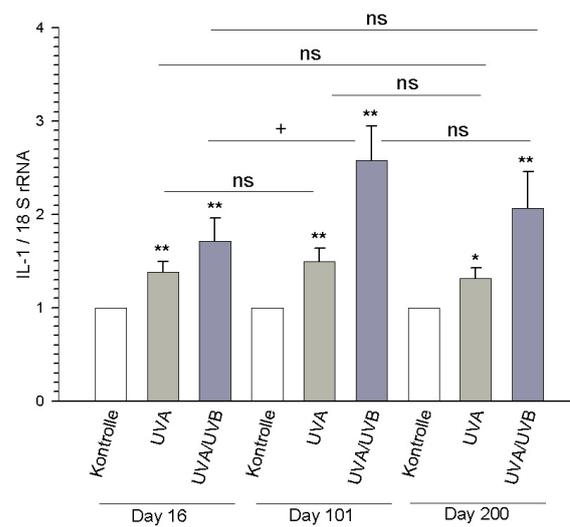
**Abbildung 3.58:** Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C

## 3.2.2.6 IL-1 und IL-6

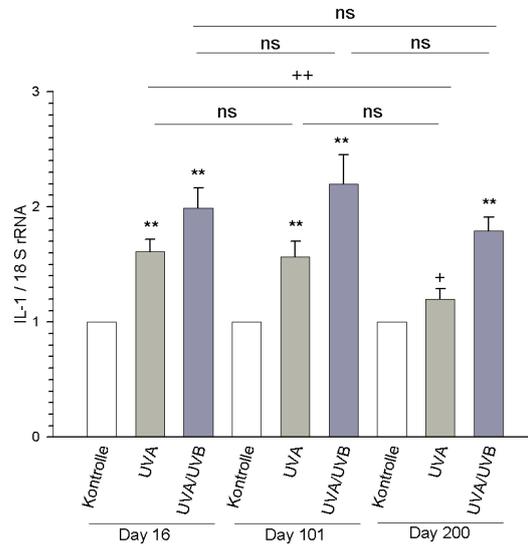
Die Expression der beiden Zytokine steigt v.a. nach UVA/UVB-Bestrahlung deutlich an. Lutein hat hier jedoch keinen positiven (abschwächenden) Effekt auf die Expression, wie die Abbildungen 3.60, 3.61, 3.62 und 3.63 verdeutlichen. Eine Erklärung kann darin gesehen werden, dass die Immunantwort hierbei nicht nur durch den durch UV-Strahlung hervorgerufenen oxidativen Stress und den dadurch entstehenden indirekten DNA-Schäden ausgelöst wird, sondern auch durch die direkte Zerstörung der DNA und die Hitzeeinwirkung. Hierbei ist der Schutz vor oxidativem Stress durch Lutein nichtig.



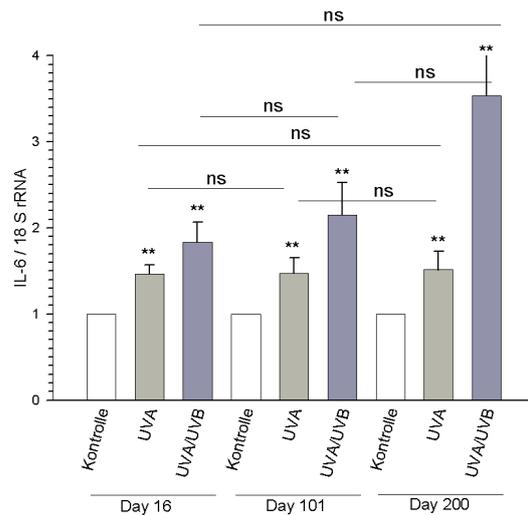
**Abbildung 3.59:** Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D



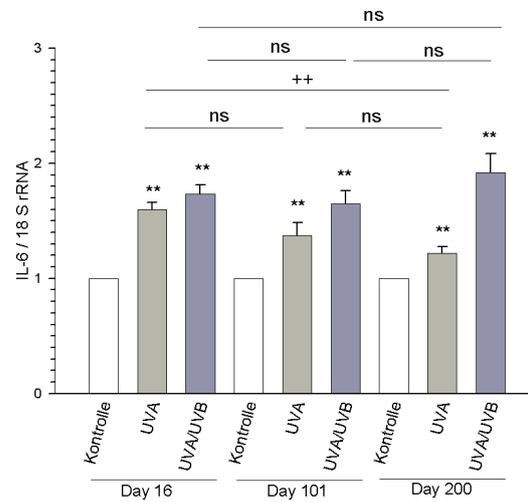
**Abbildung 3.60:** Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C



**Abbildung 3.61:** Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D



**Abbildung 3.62:** Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C



**Abbildung 3.63:** Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D

### 3.2.2.7 Korrelation der Blutwerte mit der Expression der molekularen Marker

Eine (positive) Korrelation mit dem Lutein-Serumspiegel, also eine Annäherung des Pearson-Korrelationskoeffizienten an den Wert 1, weisen, ähnlich zum Lycopin-Arm der Studie, die Werte MMP-1, ICAM-1 und HO-1 sowohl bei UVA1- als auch bei UVA/UVB-Bestrahlung auf. Der Marker Col1A1-1 zeigt eine Korrelation nur bei UVA/-UVB-Bestrahlung.

Tabellen 3.12 und 3.13 verdeutlichen außerdem, dass alle Korrelationen, bis auf HO-1 bei UVA-Bestrahlung (Signifikanzniveau von 0,05, \*), auf einem Niveau von 0,01 (\*\*), signifikant sind.

### 3.2.3 Veränderungen der Hautparameter

Eingeschlossen wurden nur Probanden mit den Hauttypen nach Fitzpatrick Typ II und III (siehe Tabelle 3.7).

		MMP-1 UVA1	MMP-1 UVA/UVB	ICAM-1 UVA1	ICAM-1 UVA/UVB
Blut- Lycopin	n	6	6	6	6
	Korrelation nach Pearson	0,943**	0,965**	0,957**	0,923**
	Signifikanz (2-seitig)	0,005	0,002	0,003	0,009

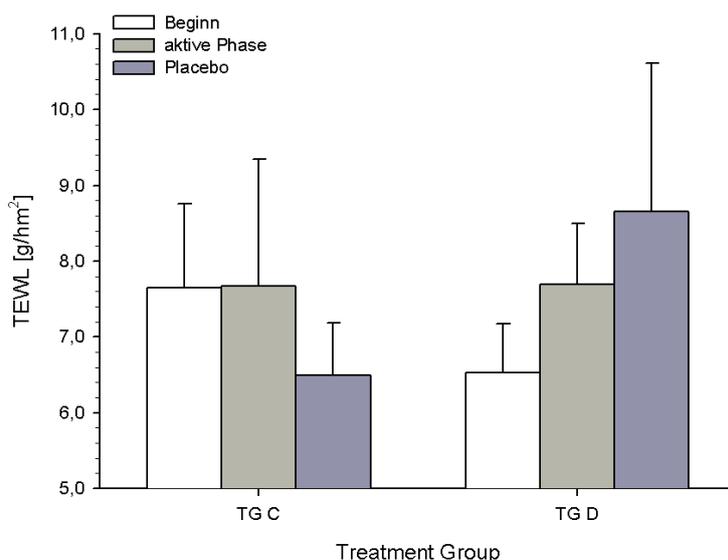
**Tabelle 3.12:** Korrelationen vom Lutein-Serumspiegel mit MMP-1 und ICAM-1 in TG C und D. \*\*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, \*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

		HO-1 UVA1	HO-1 UVA/UVB	Col1A1-1 UVA1	Col1A1-1 UVA/UVB
Blut- Lycopin	n	6	6	6	6
	Korrelation nach Pearson	0,841*	0,967**	0,934**	0,693
	Signifikanz (2-seitig)	0,036	0,002	0,006	0,127

**Tabelle 3.13:** Korrelationen vom Lutein-Serumspiegel mit HO-1 und Col1A1-1 in TG C und D. \*\*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, \*: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant

### 3.2.3.1 Transepidermaler Wasserverlust (TEWL)

Der Transepidermale Wasserverlust (TEWL) ändert sich, die Gesamtgruppen C und D betrachtet, nur gering im Laufe der Studie, vgl. Abbildung 3.64.



**Abbildung 3.64:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme

Zu Beginn werden wenige Unterschiede zwischen den sieben weiblichen und den 23 männlichen Probanden erkennbar (Abbildung 3.65). In Bezug auf die Altersklassen haben die älteren Probanden (>45 Jahre) einen leicht erhöhten Wert, der jedoch keine Signifikanz hat (Abbildung 3.66).

Unter Luteineinnahme verbessert sich bei einzelnen Probandinnen der TG D der Wasserverlust, vgl. Abbildung 3.67. Aufgrund der geringen Anzahl (2 Probandinnen) kann hier aber im Weiteren nicht die zugrunde liegende Ursache diskutiert werden.

Auch Alter, Hauttyp und initialer Lutein-Serumspiegel (niedrig: <0.21 nmol/ml, mittel: 0,21-0.3 nmol/ml, hoch: >0.3 nmol/ml) zeigen keinen signifikanten Einfluss der Wirkung der Luteingabe auf eine Verbesserung des TEWL-Wertes, wie in den Abbildungen 3.68, 3.69 und 3.70 und 3.69 (zusätzlich sortiert nach Treatment Group) zu sehen ist.

Bei Betrachtung nach Stärke des Anstiegs des Lutein-Serumspiegels unter Luteineinnahme (weniger als 1-facher, sprich Rückgang, 1-4-facher und größer als 4-facher

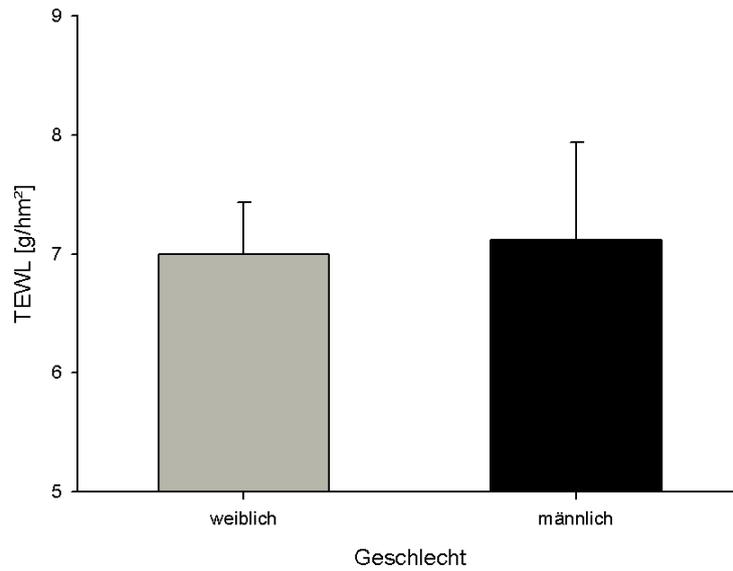


Abbildung 3.65: TEWL-Wert von TG C und D zu Studienbeginn aufgeteilt nach Geschlecht

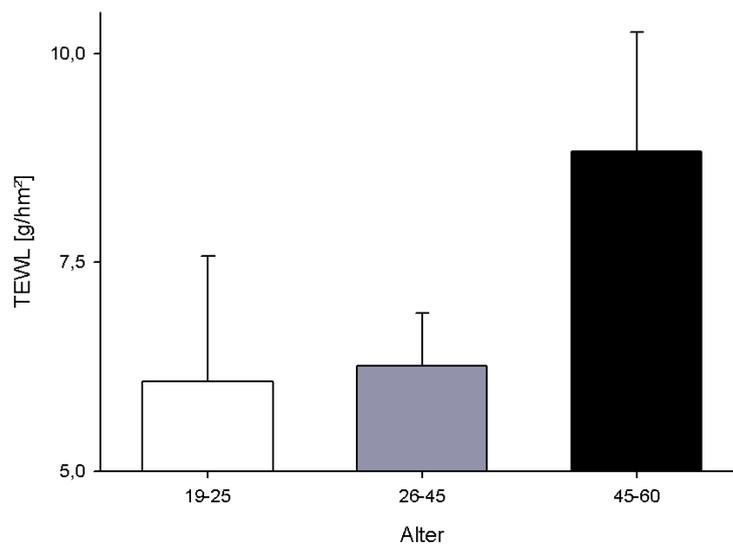


Abbildung 3.66: TEWL-Wert von TG C und D zu Studienbeginn aufgeteilt nach Alter

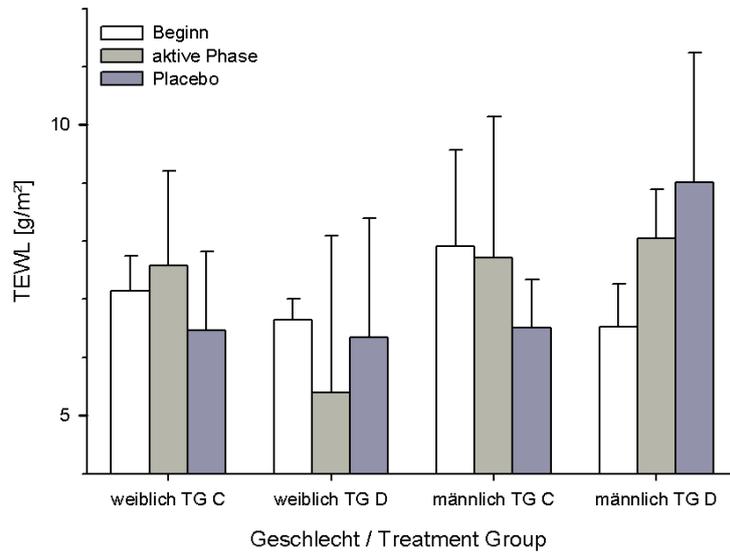


Abbildung 3.67: Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Treatment Group

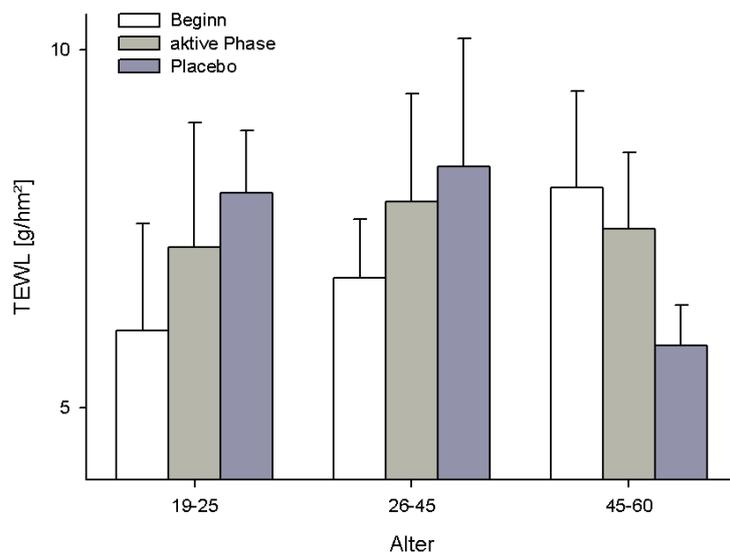
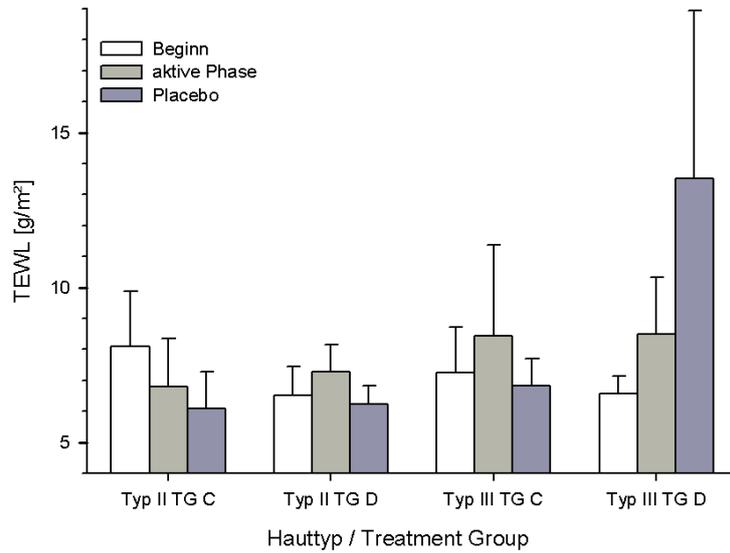
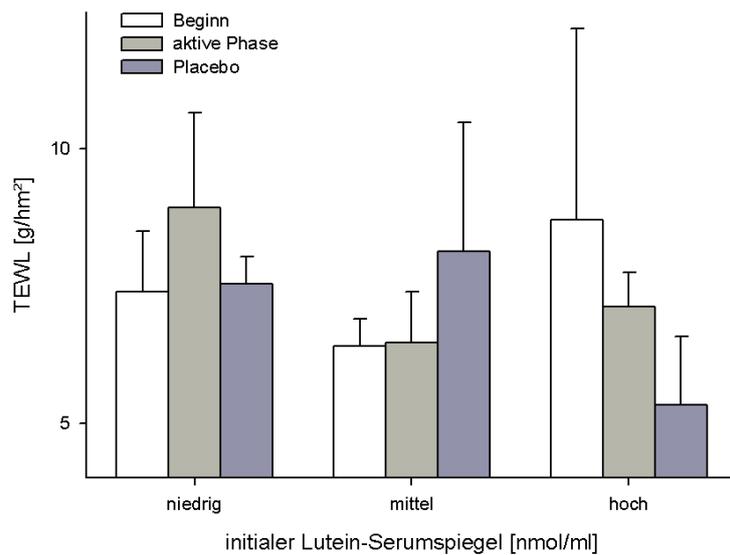


Abbildung 3.68: Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter

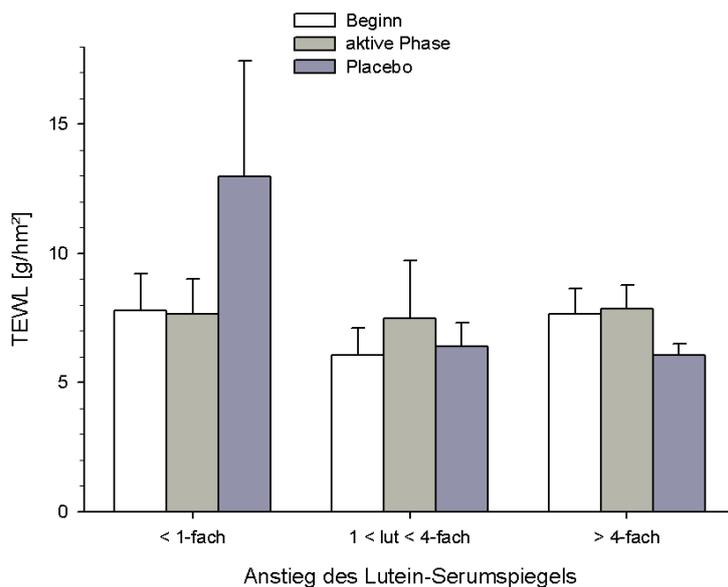


**Abbildung 3.69:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp und Treatment Group



**Abbildung 3.70:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lutein-Serumspiegels

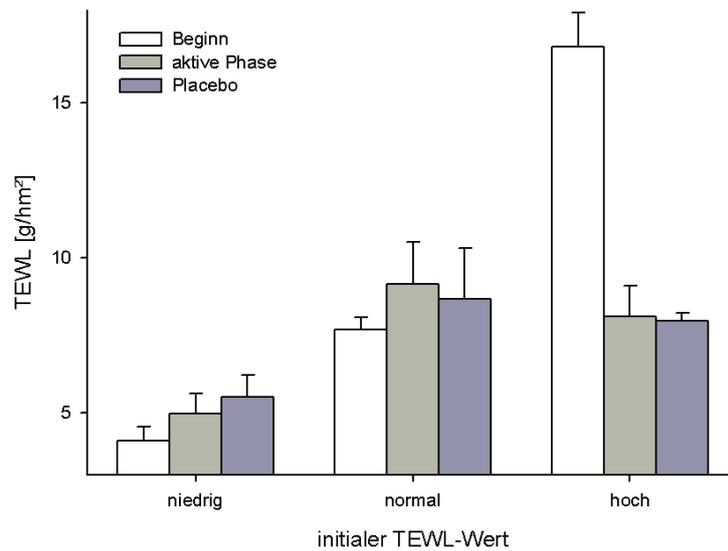
Anstieg) kann in der sog. Gruppe der Non-Responder (weniger als 1-facher Anstieg) eine Erhöhung des TEWL-Wertes unter Placeboeinnahme beobachtet werden, siehe Abbildung 3.71. Gruppiert man die Probanden nach ihrem initialen TEWL-Wert in drei Gruppen, so wiesen Probanden mit einem hohen Wert ( $>15 \text{ g/hm}^2$ ) zu Beginn der Studie eine Abnahme des TEWL-Wertes, sowohl unter Lutein- als auch Placeboeinnahme, auf. Probanden mit einem schon zu Beginn niedrigen Wert ( $<6 \text{ g/hm}^2$ ) zeigen keine Veränderung des TEWL-Wertes unter Lutein- oder Placeboeinnahme, wie Abbildung 3.72 verdeutlicht.



**Abbildung 3.71:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Anstiegsstärke des Lutein-Serumspiegels

Auch wenn die Non-Responder aus der Auswertung ausgeschlossen werden, ergeben sich keine signifikanten Änderungen unter Luteineinnahme.

Wichtig hierbei ist, analog zu Kapitel 3.1.3.1, dass sich die gemessenen TEWL-Werte in einem Bereich zwischen Werten von  $2,20 \text{ g/hm}^2$  und  $17,90 \text{ g/hm}^2$  bewegten. Die Probanden mit den höchsten Werten wiesen also immer noch mindestens einen „gesunden Hautzustand“ auf.



**Abbildung 3.72:** Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialem TEWL-Wert

### 3.2.3.2 Cutometrie

Je näher der Cutometer-Wert R2 am Wert 1 liegt, desto elastischer ist die Haut an der gemessenen Stelle. Unter Luteineinnahme zeigt sich in keinem Fall eine Näherung der 1. Es wird eher eine Abnahme des Wertes, der Elastizität, beobachtet, vgl. Abbildung 3.73.

In Abbildung 3.74 sind die Probanden nach Geschlecht aufgeteilt. Hierbei wird keine Differenz der Werte zwischen den männlichen und weiblichen Probanden deutlich.

Eine Gruppierung der Probanden in die drei Altersklassen weisen die älteren Probanden eine reduzierte Hautelastizität zu Beginn der Studie auf. Jedoch fallen bei allen drei Altersgruppen unter Luteineinnahme die R2-Werte ab, siehe Abbildung 3.75, die weitere Aufteilung nach Treatment Group verhält sich hier wie oben beschrieben (keine Abbildung).

Werden die Ergebnisse nach dem Hauttyp sortiert, ist beim Hauttyp III eine leicht sensiblere Reaktion auf die Luteineinnahme mit einem geringen Abfall des R2-Wertes zu sehen, jedoch ist keine Signifikanz vorhanden, siehe Abbildung 3.76.

Probanden mit einem initial niedrigen Luteinlevel ( $<0.21\text{nmol/ml}$ ) reagieren auf

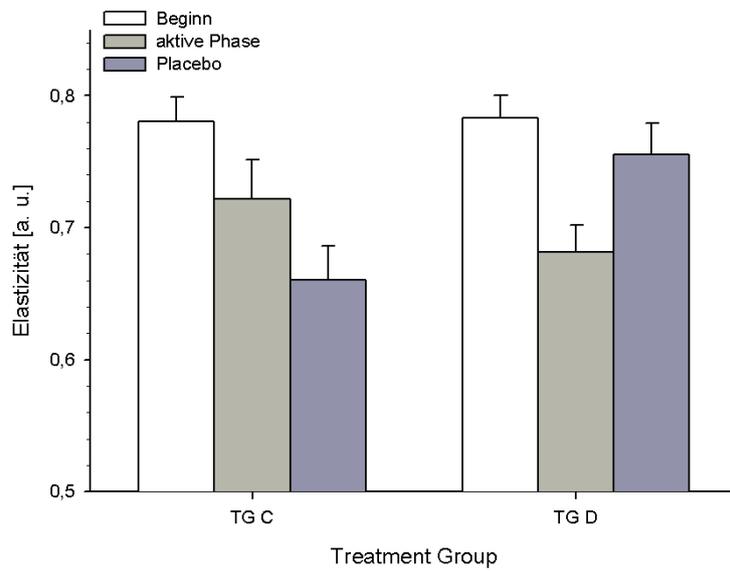


Abbildung 3.73: Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme

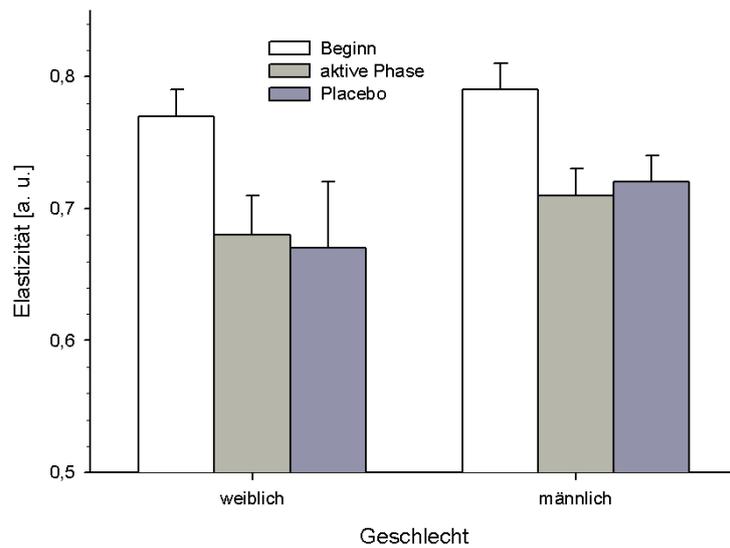


Abbildung 3.74: Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht

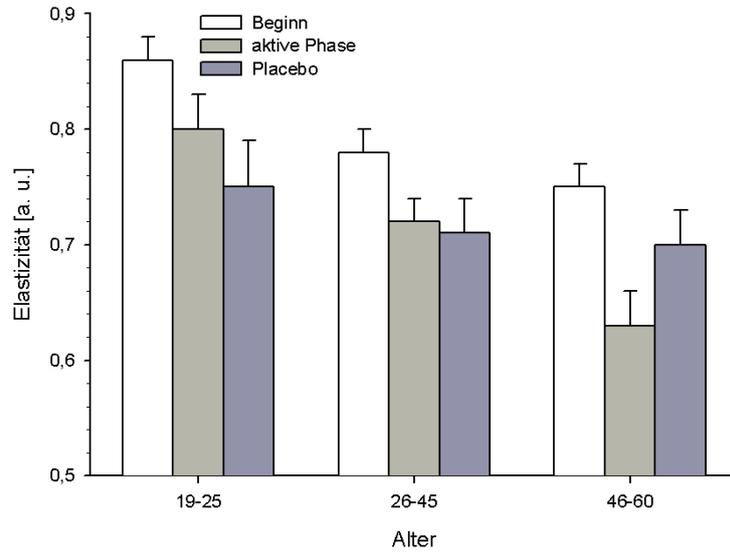


Abbildung 3.75: Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter

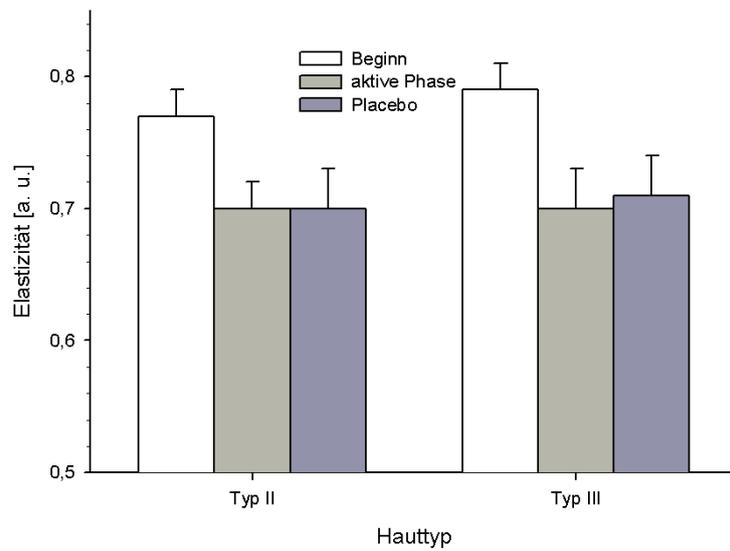
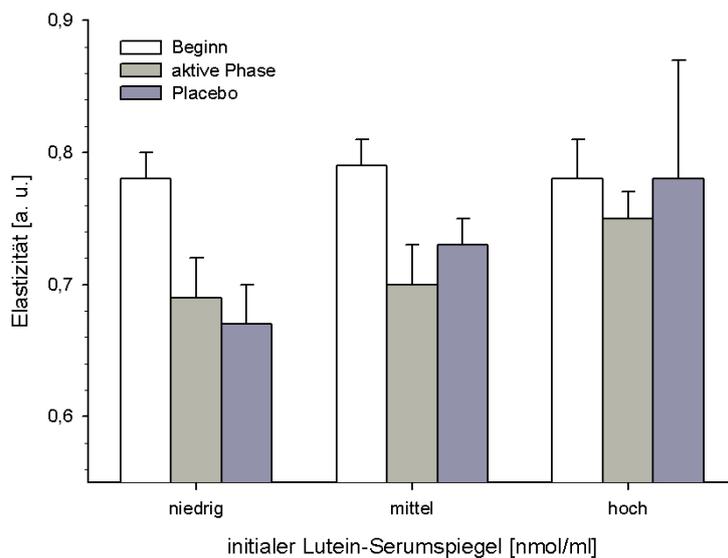


Abbildung 3.76: Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp

die Luteineinnahme mit dem stärksten Abfall des R2-Wertes, wie in Abbildung 3.77 zu sehen ist.



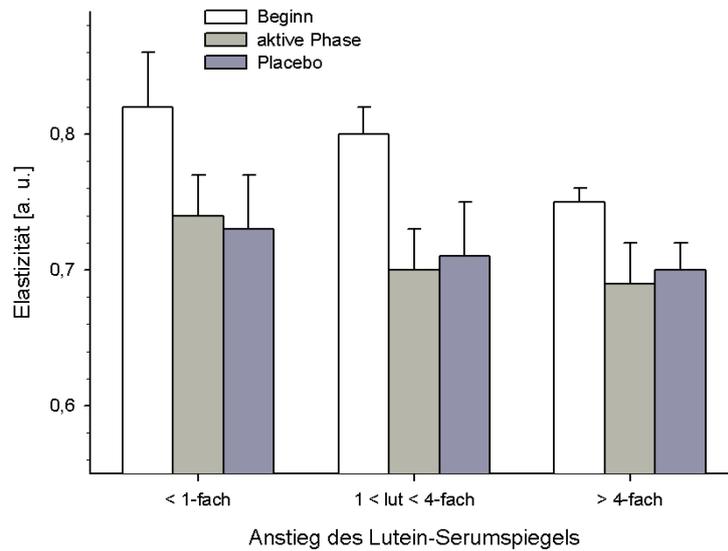
**Abbildung 3.77:** Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lutein-Serumspiegels

Die Abbildung 3.78 stellt die Veränderungen der Elastizität unter Betrachtung des Anstiegs des Lutein-Serumspiegels dar. Die Probanden, die einen starken Anstieg (>4fach) aufzeigen, haben zu Beginn den niedrigsten Cutometer-Wert. Sie reagieren weniger stark auf die Luteineinnahme. Den stärksten Abfall weist die Gruppe mit dem niedrigsten Anstieg des Lutein-Serumspiegels auf.

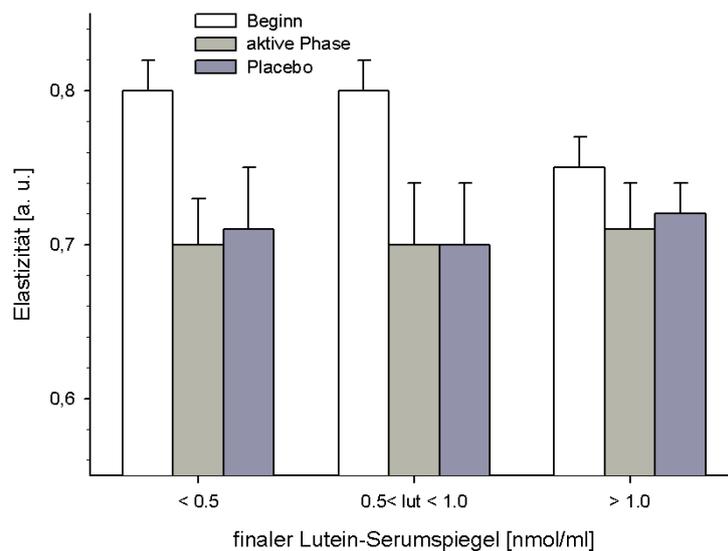
Betrachtet man den finalen Luteinspiegel im Blut in Abbildung 3.79, so beobachtet man den stärksten Abfall des Cutometer-Wertes, wie aus den oben beschriebenen Beobachtungen erwartet, bei den Probanden mit den niedrigsten Serumwerten.

Abbildung 3.80 verdeutlicht die Änderungen der Hautelastizität gruppiert nach dem initialen Elastizitätsstatus der Probanden. Alle drei Gruppen weisen einen Abfall der Elastizität unter Luteineinnahme auf.

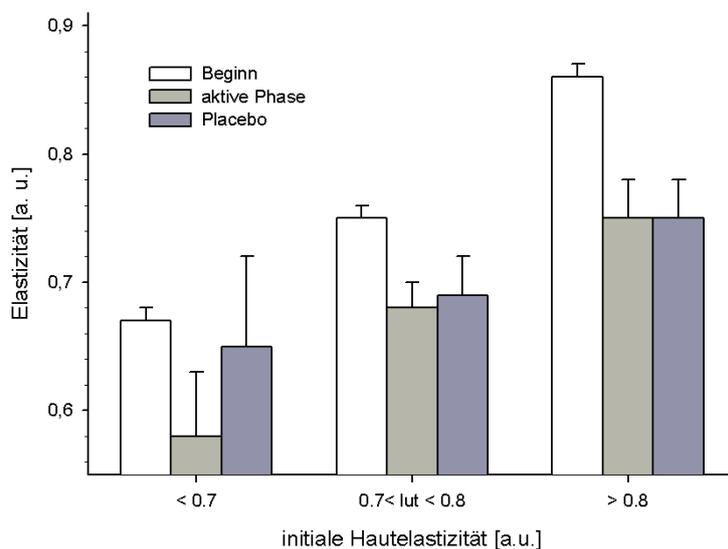
Nach Ausschluss der Non-Responder ändern sich die Ergebnisse nicht.



**Abbildung 3.78:** Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Anstiegsstärke des Lutein-Serumspiegels



**Abbildung 3.79:** Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des finalen Lutein-Serumspiegels nach der aktiven Phase



**Abbildung 3.80:** Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialer Hautelastizität

### 3.2.3.3 Colorimetrie

Die Bestimmung der Colorimeter-Werte  $L^*$ ,  $b^*$  und  $a^*$  verläuft analog zum Lycopin-Arm der Studie, vgl. Kapitel 3.1.3.3. Vor Bestrahlung liegt der  $L^*$ -Wert sowohl bei TG C als auch bei TG D bei ca. 67. Er fällt nach Bestrahlung auf ca. 58 ab, die Haut wird demnach stärker pigmentiert, unabhängig von der Bestrahlungsart (UVA1 oder Solarsimulator). Auch ändert sich im Laufe der Studie weder unter Placebo- noch unter Luteineinnahme die Differenz der Werte vor und nach Bestrahlung. Lutein hat also keinen Einfluss auf die Pigmentierung der Haut nach UVA1-/Solarsimulator-Bestrahlung (nicht abgebildet).

Beim Wert  $b^*$  weist analog zum  $L^*$ -Wert keine Änderung der Differenz der Werte vor und nach Bestrahlung im Laufe der Studie auf (nicht abgebildet). Der vergleichende t-test wird weder bei  $L^*$  noch bei  $b^*$  signifikant mit  $p < 0,05$ .

Die beiden Abbildungen 3.81 und 3.82 verdeutlichen die Lutein-Serumspiegel im Laufe der Studie. Deutlich ist hier der Anstieg in der aktiven Phase zu sehen. Im Vergleich dazu zeigen die Abbildung 3.83 und 3.84 den Verlauf von  $\Delta a^*$  im Studienverlauf nach UVA1-Bestrahlung in TG C bzw. TG D.

In TG C wird keine Änderung der Stärke der Erythembildung deutlich. Auch in

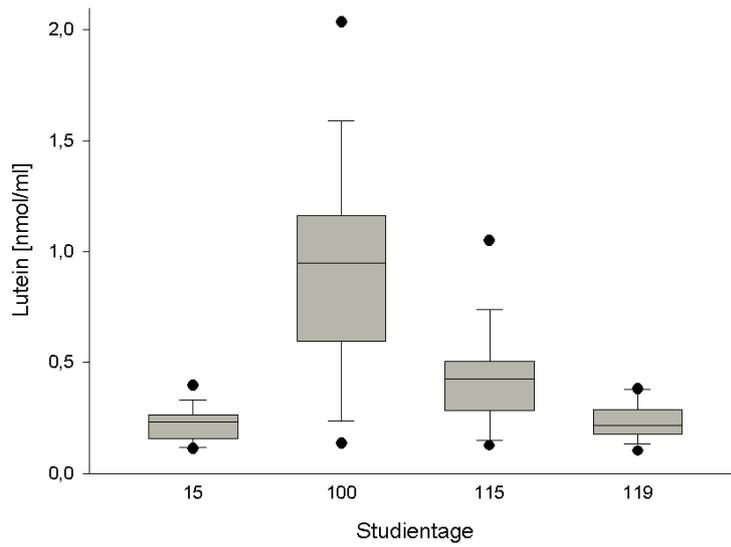


Abbildung 3.81: Boxplot des Verlaufes des Lutein-Serumspiegels von TG C über die Studiendauer

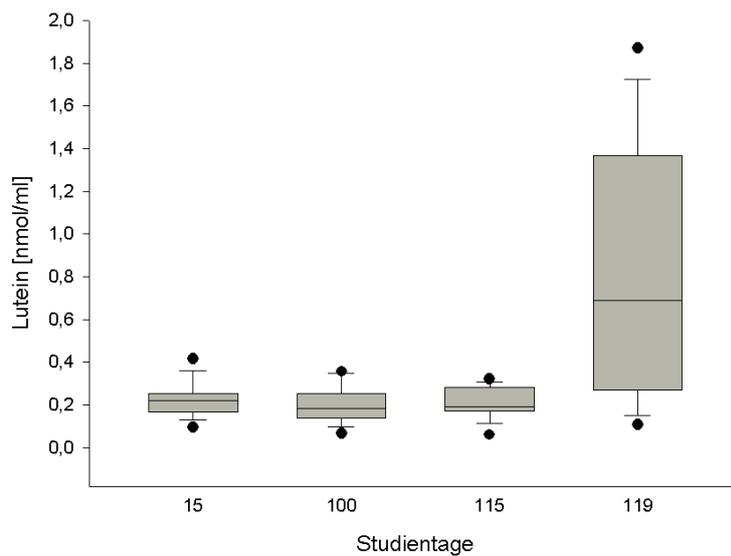


Abbildung 3.82: Boxplot des Verlaufes des Lutein-Serumspiegels von TG D über die Studiendauer

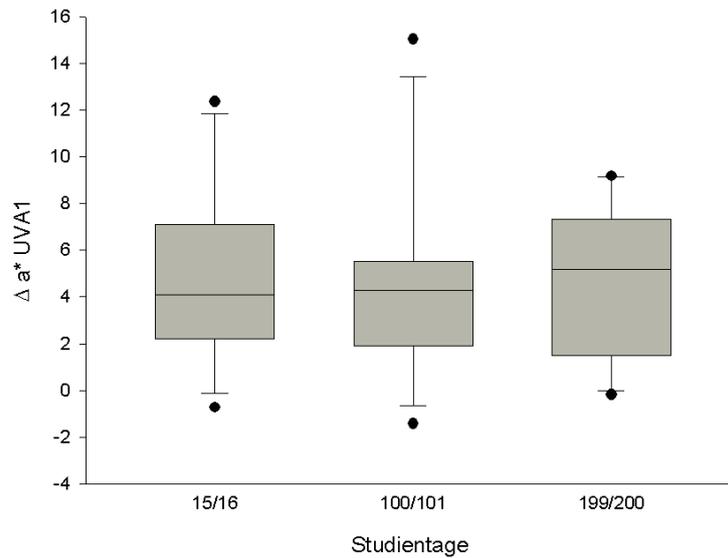


Abbildung 3.83: Boxplot des Verlaufes von  $\Delta a^*$  der TG C über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung

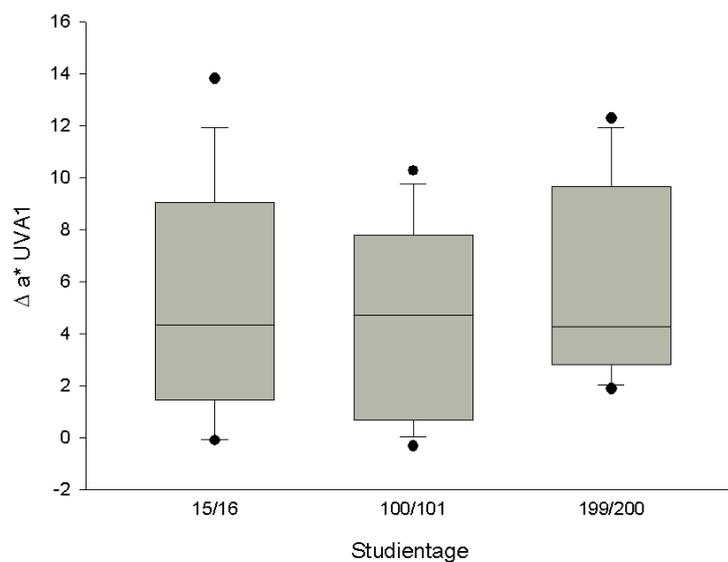
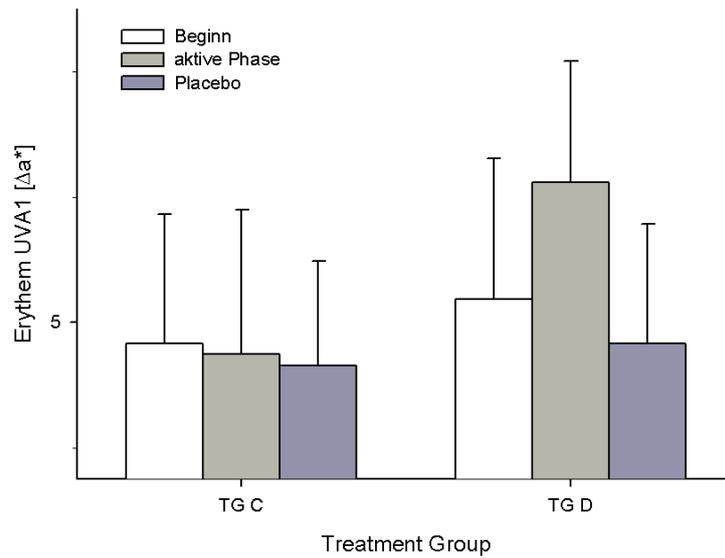


Abbildung 3.84: Boxplot des Verlaufes von  $\Delta a^*$  der TG D über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung

TG D kann kein Einfluss der Luteineinnahme auf das Absinken der Erythembildung beobachtet werden, sie steigt in der aktiven Phase sogar leicht an, vgl. Abbildung 3.85.



**Abbildung 3.85:** Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA1-Bestrahlung

Werden die Werte von Werte von  $a^*$  vor und nach Bestrahlung mit UVA1 geschlechterspezifisch betrachtet, wie in Abbildung 3.86 zu sehen ist, so zeigt sich kein Unterschied zwischen den männlichen und weiblichen Probanden in der Reaktion auf die Luteineinnahme. Die Männer starten mit einem größeren  $\Delta a^*$ , jedoch wird bei beiden Gruppen einen Anstieg von  $\Delta a^*$  unter Luteineinnahme deutlich.

Auch die älteren Probanden haben zu Beginn ein größeres  $\Delta a^*$  als die mittelalten und jungen Probanden. Im Lauf der Studie entwickeln sich aber keine signifikanten Differenzen zwischen ihnen, vgl. Abbildung 3.87.

Bei Probanden, die mit einem hohen initialen Luteinlevel ( $>0.3$  nmol/ml) in die Studie starten, sinkt unter Luteineinnahme  $\Delta a^*$  ab. Diese Gruppe startet mit einem hohen  $\Delta a^*$  im Vergleich zu den Probanden mit niedrigerem Level, siehe Abbildung 3.88.

Eine Aufteilung in den finalen Lutein-Serumspiegel und in die Stärke des Luteinanstiegs nach Luteineinnahme bringt keine Veränderungen der Erythembildung (nicht abgebildet).

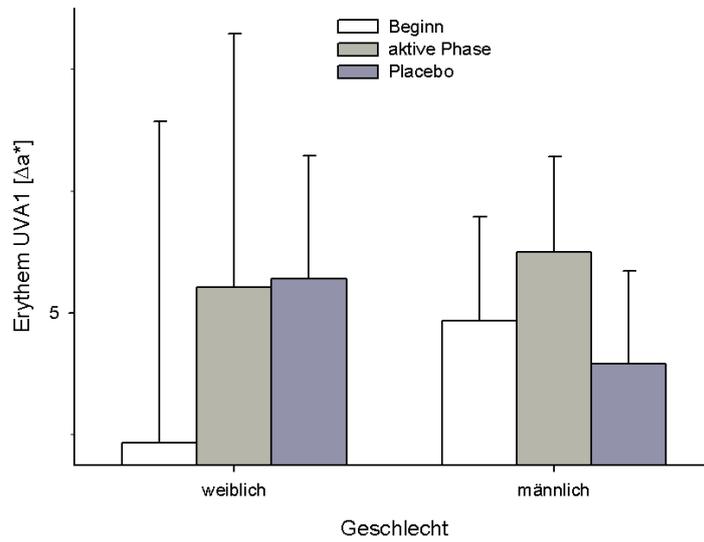


Abbildung 3.86: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht bei UVA1-Bestrahlung

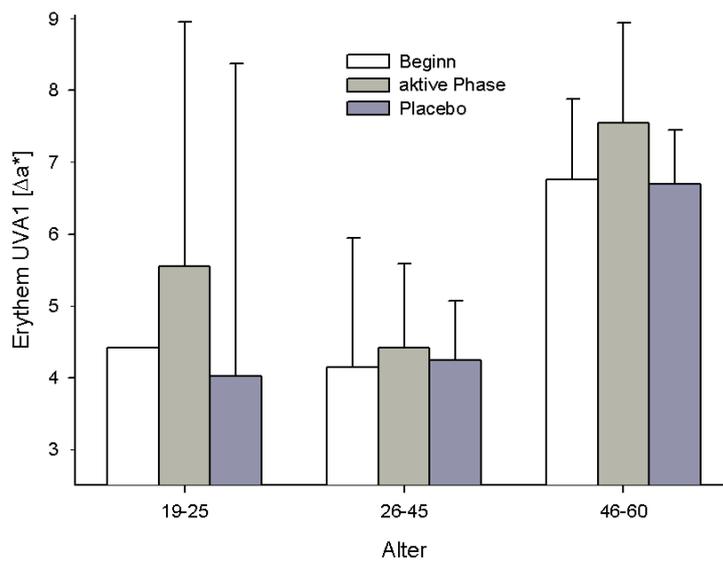
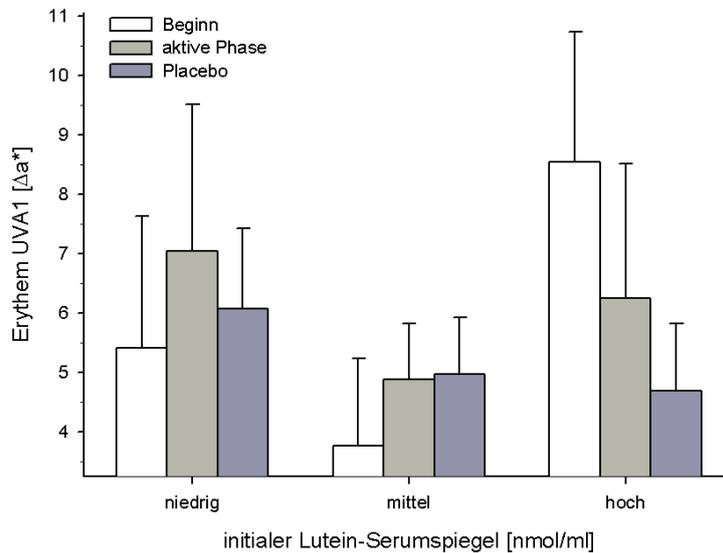


Abbildung 3.87: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA1-Bestrahlung



**Abbildung 3.88:** Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lutein-Serumspiegels bei UVA1-Bestrahlung

Vergleicht man die beiden Hauttypen II und III miteinander, so haben die Probanden mit Hauttyp II ein größeres  $\Delta a^*$  zu Beginn. Sie zeigen jedoch ebenso wie die Probanden mit Hauttyp III keine Änderung im Laufe der Studie, vgl. Abbildung 3.89.

Eine weitere Differenzierung nach bspw. initialem Lutein-Serumspiegel bringt keine Veränderung der Werte unter Luteineinnahme hervor (nicht abgebildet).

Bei Betrachtung von  $\Delta a^*$  bei Solarsimulator-Bestrahlung werden keine weiteren signifikanten Unterschiede deutlich, wie Abbildung 3.90, aufgeteilt nach der Treatment Group, darstellt. Die Werte aufgeteilt nach weiteren Parametern verhalten sich wie bei UVA1-Bestrahlung. Beispielfhaft zeigen die Abbildungen 3.91 und 3.92 die Gruppierungen nach Alter und Hauttyp.

Auch die Werte  $\Delta E^*$  und  $ITA^\circ$  zeigen im Laufe der Studie keine signifikanten Änderungen (nicht abgebildet).

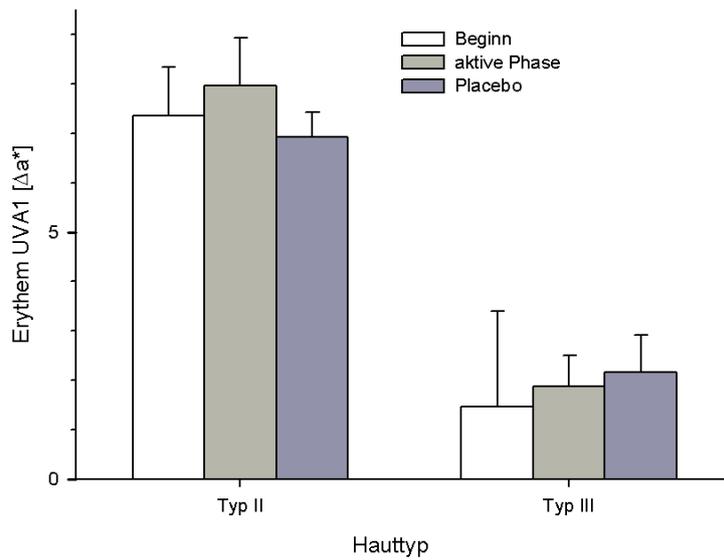


Abbildung 3.89: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp bei UVA1-Bestrahlung

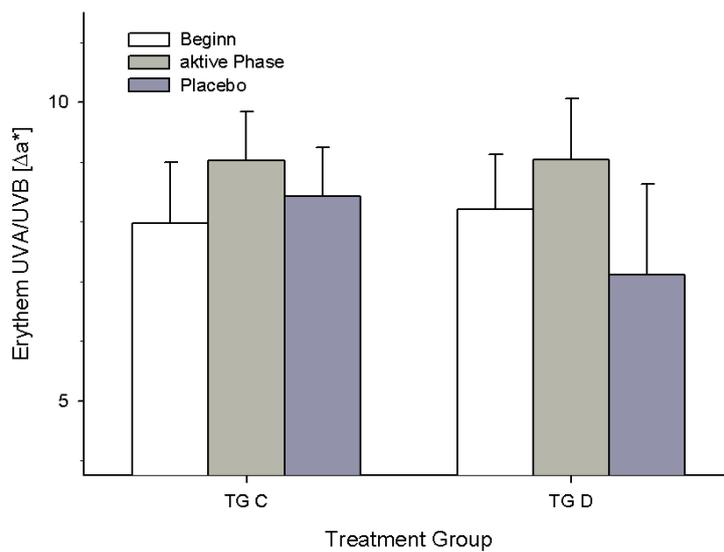


Abbildung 3.90: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA/UVB-Bestrahlung

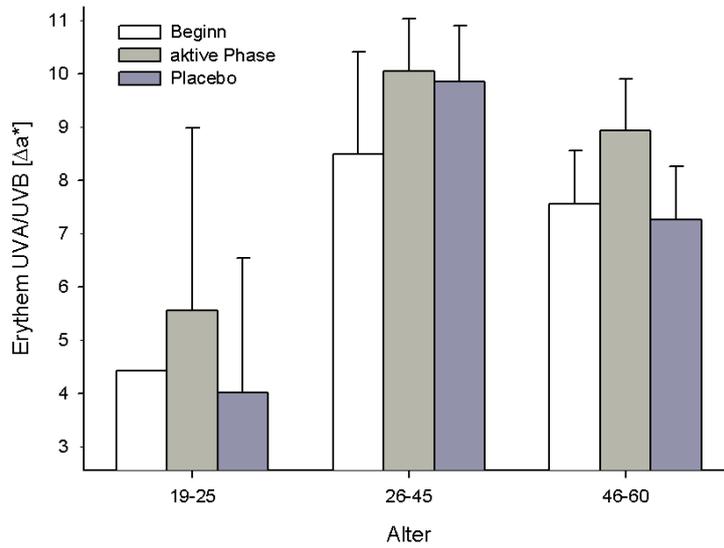


Abbildung 3.91: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA/UVB-Bestrahlung

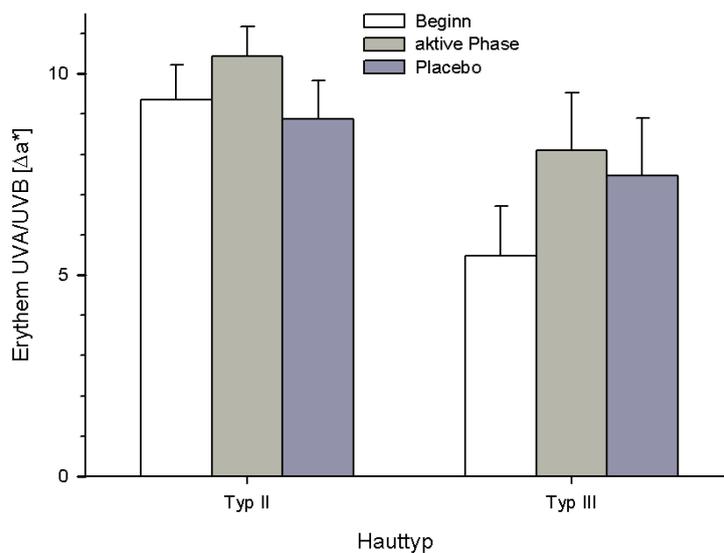


Abbildung 3.92: Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp bei UVA/UVB-Bestrahlung

# Kapitel 4

## Diskussion

### 4.1 Teil 1 Lycopin

Die in der Arbeit erhobene Auswertung der Kapselmenge und Blutparameter deutete auf eine gute Compliance der Probanden hin. Es konnte auf eine ausreichende Anreicherung von Lycopin im Serum geschlossen werden. Dies führte mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls zu einer Anreicherung des Carotins in der Haut.<sup>[90]</sup>

#### 4.1.1 Einfluss auf die Expression molekularer Marker

Es konnten verschiedene Studien, die eine verstärkte Expression der mRNA vom Enzym MMP-1 unter UV-Strahlung beobachteten, bestätigt werden.<sup>[45] [46] [47]</sup> Dieser Expressionsanstieg wurde vor allem unter UVA/UVB-Bestrahlung deutlich.

Die Lycopineinnahme unterdrückte den Effekt der UV-Strahlung und kann so vermutlich vor erhöhtem Kollagenabbau durch vermehrte MMP-1-Expression schützen.

Einen ähnliche Wirkung zeigte Lycopin auf die Expression der ICAM-1 mRNA. Auch hier wird das photoprotektive, vermutlich antioxidative Potential des Carotins deutlich.

Ein weiterer wichtiger Aspekt kommt bei Betrachtung des Enzyms HO-1 hervor. Hierbei verhielt sich der Effekt der Lycopineinnahme auf die Expression wie bei MMP-1 und ICAM-1. Die Bestimmung der Expression von HO-1 wurde gewählt, da es nachweislich eines der deutlichsten Gene ist, das durch oxidativen Stress induziert wird. Es bestätigt sich also auch gerade hier, dass Lycopin die Induktion von bestimmten Genen, die durch vermehrte ROS (z.B. durch UV-Strahlung erzeugt) induziert werden,

verhindern kann. Es wirkt höchstwahrscheinlich als Antioxidanz, indem es die reaktiven Sauerstoffspezies abfängt.

Durch UV-Strahlung (und auch im Rahmen der natürlichen Hautalterung) wird die Expression der beiden Gene Col-1A1 und Col-1A2 supprimiert. Interessant ist hier, dass in der vorliegenden Arbeit die Expression der beiden Gene durch die UV-Bestrahlung nicht supprimiert, sondern sogar leicht induziert wird. Eine mögliche Erklärung liegt in der Gegenregulation, sprich Hochregulation der Gene, die Kollagen aufbauen, zu den durch UV-Strahlung entstehenden Kollagenbrüchen (z.B. durch o.g. induzierte MMP-1). Die Differenz zwischen UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung ist hier nicht mehr so stark ausgeprägt wie in den bereits genannten Markern. Dies liegt am wahrscheinlichsten daran, dass vor allem die langwellige UVA-Strahlung bis in die Dermis eindringt und hier das Kollagen schädigt. Bei Col-1A1 konnte eine Unterdrückung der Expression während der Lycopineinnahme beobachtet werden. Hier kann Lycopin also diese Gegenregulation zum Großteil verhindern und den Spiegel des Gens auf physiologischem Niveau halten.

#### 4.1.2 Einfluss auf die Hautparameter

Zur Interpretation der unterschiedlichen Hautparameter wurden die erhobenen Daten nacheinander in verschiedenen Aufteilungen betrachtet. So konnte eine Beeinflussung zum Beispiel durch das Geschlecht, das Alter oder den Hauttyp erkannt werden. Auch der Lycopingehalt im Serum zu Beginn, im Laufe und zum Ende der Studie und der initiale Wert des jeweiligen Parameters wurden als mögliche Einflussparameter angedacht und einzeln ausgewertet.

Bei Betrachtung des TEWL-Wertes und der unterschiedlichen Aufteilungen wird deutlich, dass die Lycopineinnahme vor allem in denjenigen Untergruppen einen positiven Einfluss hatte, die einen höheren TEWL-Wert zu Beginn aufwiesen. Dies war zum Beispiel bei der gesamten TG A der Fall und ebenso bei den jungen Probanden zwischen 19 und 25 Jahren und denen mittleren Alters (26 bis 45 Jahre). Ganz deutlich wurde dieser Trend bei der Aufteilung nach dem initialen TEWL-Wert. Hier zeigte sich bei den Probanden mit einem hohen Transepidermalen Wasserverlust zu Beginn der Studie eine Verbesserung des Wertes nach Lycopineinnahme. Bei Betrachtung der reinen Aufteilung nach der Treatment Group zeigte sich bei TG A nach Absinken des

TEWL-Wertes unter Lycopineinnahme von  $7 \text{ g/hm}^2$  auf  $6 \text{ g/hm}^2$  ein erneuter Anstieg während der Placebophase auf ca.  $7,8 \text{ g/hm}^2$ .

Demnach zeigt sich ein leichter positiver Einfluss der Lycopineinnahme auf den Transepidermalen Wasserverlust - mit der Einschränkung, dass der Effekt nur bei zu Beginn hohen TEWL-Werten zu sehen ist. Darüber hinaus muss hierbei beachtet werden, dass alle Probanden, also auch die mit „hohen“ Werten, immer noch einen „guten Hautzustand“ aufwiesen (höchster Wert  $15,50 \text{ g/hm}^2$ ). Daher sind weitere Untersuchungen an Probanden mit höheren, pathologischen Werten, sprich mit Werten ab  $25 \text{ g/hm}^2$ , anzuschließen.

Es konnte keine positive Beeinflussung der Hautelastizität, gemessen am Cutometer-Wert R2, durch eine Lycopineinnahme erkannt werden. In allen Gruppen sank der Cutometer-Wert im Laufe der Studie ab, unabhängig der Einnahme von Lycopin oder des Placebopräparates. Am ehesten sind hier jahreszeitliche Unterschiede der Hautbeschaffenheit verantwortlich, da die Haut der Probanden zu ähnlichen Zeitpunkten (Tag 1 zwischen November und März) gemessen wurde und lokale klimatische Unterschiede durch eine Standardisierung des Klimas im Labor ausgeschlossen werden konnten. Lycopin verbesserte die allgemeine Hautelastizität nicht. Die positive Wirkung auf eine verringerte Faltenbildung kann Lycopin nur durch eine Verhinderung der Entstehung von ROS im Rahmen des oxidativen Stresses durch UV-Strahlung erzielen, was an der gemessenen, unbestrahlten Haut am Unterarm der Probanden nicht der Fall war.

Als ein Punkt der photoprotektiven Wirkung von Lycopin wurden mithilfe des Colorimeters verschiedene Werte bestimmt. Hierbei zeigten sich auf der Schwarz-Weiß- und der Gelb-Blau-Achse keine Veränderungen. Lycopin hat hier, wie erwartet, keinen Einfluss auf die Hautfärbung. Jedoch wurde ein Einfluss der Lycopineinnahme auf den  $\Delta a^*$ -Wert, der die Rot-Grün-Achse (also die Erythemstehung) beschreibt, deutlich. Näheres hierzu ist im Kapitel 4.1.3 beschrieben.

#### 4.1.3 Photoprotektive Wirkung von Lycopin

Eine Untersuchung zur photoprotektiven Wirkung von Lycopin schloss die Betrachtung der Entwicklung des  $\Delta a^*$ -Wertes der Colorimetrie ein. Hierbei wurde ein positiver Einfluss der Lycopineinnahme auf die Erythemstehung deutlich. Nach verschiedenen Aufteilungen konnten in einigen Gruppen, wie zum Beispiel in der gesamten TG A, bei den weiblichen Probanden, bei den Probanden im Alter von 19 bis 25 Jahren und bei

denen mit Hauttyp III, eine Verringerung von  $\Delta a^*$ , also eine weniger starke Erythemstehung unter Lycopineinnahme beobachtet werden. Es zeigten sich jedoch starke interpersonelle Schwankungen. Die tägliche Menge an Lycopin betrug ca. 9,6 mg, was im Vergleich zu vorherigen Studien (siehe Kapitel 1.2.4) eher an der unteren Grenze lag. Dies ist eine mögliche Erklärung der nur in einigen Untergruppen beobachteten Beeinflussung von Lycopin auf die Erythementwicklung.

Daneben wird das antioxidative Potential von Lycopin bei Betrachtung der molekularen Marker ganz deutlich (Kapitel 4.1.1). Hier kann Lycopin die Expression einiger Marker unterdrücken, welche durch UV-Strahlung bzw. durch die dabei entstehenden ROS induziert wird. Die Arbeit bestätigt durch die durchgeführte Studie die Fähigkeit von Lycopin, als effektiver Fänger von Singulett-Sauerstoff zu wirken. So wird die übermäßige Entstehung der ROS verhindert und demnach können verschiedene negative Effekte von UV-Strahlung, wie die vorzeitige Hautalterung, durch eine Lycopineinnahme verringert werden.

## 4.2 Teil 2 Lutein

Auch im Lutein-Arm der Studie konnte durch die Auswertung der Kapselmenge und der Blutparameter auf eine gute Compliance der Probanden geschlossen werden.

### 4.2.1 Einfluss auf die Expression molekularer Marker

Unter UVA1- und UVA/B- (Solarsimulator-) Bestrahlung zeigte sich ein starker Anstieg der mRNA des Enzyms MMP-1. Vor allem unter UVA/UVB-Bestrahlung (Solarsimulator) war die Expression deutlich erhöht. Dies unterstreicht den starken Einfluss der Sonnenstrahlung (v.a. UVB-Strahlung wirkt Erythem-auslösend) auf die Gesundheit der Haut.

In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass die Expression von MMP-1 unter UV-Strahlung steigt.<sup>[45]</sup> Die Studie von Philips et al. konnte bereits nachweisen, dass Lutein *in vitro* die Expression von MMP-1 supprimieren kann.<sup>[48]</sup> Auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich unter Luteineinnahme ein starker Abfall der MMP-1-Expression. Hier wird ganz deutlich, dass Lutein die Expression von MMP-1 unter UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung auch *in vivo* unterdrückt und so zum Schutz der Haut vor Kollagenabbau durch UV-Strahlung beiträgt.

Die Expression der ICAM-1 mRNA, welche nach UV-Exposition ebenfalls stark anstieg, wurde durch die Luteineinnahme unterdrückt. So zeigt sich, dass Lutein auch direkt an der Reaktion auf die akute Entzündung in der Haut durch UV-Strahlung positiv, schützend, beteiligt ist. Es wirkt als Antioxidanz gegen die durch UV-Strahlung erzeugten ROS, welche die ICAM-1 mRNA induzieren können.

Auch bei Betrachtung des Enzyms HO-1 wurde die Expression seiner mRNA in Antwort auf UV-Strahlung während der Luteineinnahmephase unterdrückt. Diese Ergebnisse zeigen also, dass die Aktivierung der Expression von HO-1 durch oxidativen Stress, wie er unter UV-Strahlung auftritt, durch Lutein unterdrückt wird.

Analog zum Lycopin-Arm der Studie (Kapitel 4.1.1) zeigte sich durch UV-Strahlung eine leichte Induktion der beiden Gene Col-1A1 und Col-1A2. Diese (geringe) Induktion zeigt sich jedoch unabhängig der Luteineinnahme. Lutein hat hier offensichtlich keinen positiven Effekt auf die Expression der Gene Col-1A1 und -1A2.

#### 4.2.2 Einfluss auf die Hautparameter

Die Auswertung der erhobenen Werte des Transepidermalen Wasserverlusts zeigte einen nur geringen Einfluss der Luteineinnahme. Zu Beginn wiesen die älteren Probanden (>45 Jahre) einen leicht erhöhten Wert auf. Dies ist erklärlich, da mit der natürlichen Hautalterung der Barrierschutz zurückgeht und so auch der Wasserverlust über die Haut ansteigt.

Jede weitere Aufteilung ergab keinen signifikanten Einfluss der Luteingabe auf eine Verbesserung des TEWL-Wertes. Eine Betrachtung nach Stärke des Anstiegs des Lutein-Serumspiegels unter Luteineinnahme zeigte in der Gruppe der Non-Responder (weniger als 1facher Anstieg) eine Erhöhung des TEWL-Wertes unter Placeboeinnahme. Dies könnte verschiedene Ursachen haben: Zum einen ist bei den Probanden dieser Gruppe mit einer geringeren Compliance zu rechnen, da sich kaum ein Anstieg oder sogar ein Rückgang der Lutein-Serumwerte unter Luteineinnahme zeigte, was auf eine fehlende oder unregelmäßige Einnahme der Kapseln deuten könnte (unabhängig von der zurückgegebenen Kapselmenge zum Ende der Studie). Der fehlende Luteinanstieg im Blut könnte aber auch mit mangelnder Absorption oder bereits hohem Speichervermögen für Lutein im Gewebe bei diesen Probanden erklärt werden. Zum anderen kann der Anstieg des TEWL-Wertes unabhängig von Kapsel- und sonstiger Nahrungsmittelaufnahme auf jahreszeitliche Unterschiede der Hautbeschaffenheit zurückgeführt

werden. Da die Messungen in klimatisierter Umgebung durchgeführt und die Probanden vor den Messungen akklimatisiert wurden, kann der gemessene erhöhte TEWL kaum mit lokalen klimatischen Schwankungen erklärt werden. Unterschiedliche körperliche Aktivitäten der Probanden können aber nicht völlig ausgeschlossen werden.

Wurden die Probanden nach ihrer initialen Hautbarrierefähigkeit in drei Gruppen gruppiert, so zeigten nur Probanden mit einem hohen TEWL-Wert eine Abnahme des Wertes im Laufe der Studie. Betrachtet man die individuellen Werte jedoch genauer, so hat der Proband mit dem initial höchsten TEWL-Wert von  $17,90 \text{ g/hm}^2$  einen immer noch normalen Hautzustand. Erst Werte ab  $25 \text{ g/hm}^2$  deuten auf eine belastete Haut hin, Werte ab  $30 \text{ g/hm}^2$  auf einen kritischen Hautzustand. Es darf also angenommen werden, dass ein an sich normaler Wert auch unter Luteineinnahme keine so wesentliche Verbesserung zeigen kann, als dass diese sich in einem signifikant geänderten TEWL bemerkbar machen könnte. Die Zufuhr von Lutein hat aber auf die gesunde Hautbarriere auch keinen negativen Einfluss. Da die Probanden alle mit einem normalen Hautzustand starten, kann nur vermutet werden, ob sich bei Patienten mit deutlich belasteter Hautbarriere eventuell eine Verbesserung zeigen würde. Dies sollte in weitergehenden Studien untersucht werden.

Die Luteineinnahme zeigte keinen eindeutigen positiven Einfluss auf die Hautelastizität (Cutometer-Wert R2) der Probanden. Dem entgegengesetzt wurde eine Abnahme der Hautelastizität unter Luteineinnahme beobachtet. Jedoch brachte die Korrektur nach Ausschluss der Non-Responder keine Änderungen der Ergebnisse hervor. Die Luteineinnahme ist also für die Elastizitätsabnahme nicht verantwortlich. Daher muss wieder, analog zu Kapitel 4.1.2, auf jahreszeitliche Einflüsse auf die Beschaffenheit der Haut geschlossen werden. Ein interessanter Aspekt kam bei Betrachtung des Cutometerwertes im Verhältnis zum Anstieg des Lutein-Serumspiegels hervor. Die Probanden, die einen starken Anstieg ( $>4$ facher Anstieg) aufzeigten, hatten zu Beginn den niedrigsten Cutometer-Wert. Probanden mit nur einem geringen Anstieg des Luteingehaltes des Blutes starteten mit einem bereits hohen Wert der Hautelastizität in die Studie. Hierbei kann ein Zusammenhang zwischen der Hautelastizität und der Höhe der Luteinaufnahme angenommen werden. Zur näheren Betrachtung und dem Hinweis des Schutzes vor Elastizitätsverlust zum Beispiel im Rahmen der Hautalterung sollten spezifische Studien angeschlossen werden.

Der Einfluss der Luteineinnahme auf den  $\Delta a^*$ -Wert, auf die Erythemstehung, ist in Kapitel 4.2.3 beschrieben.

### 4.2.3 Photoprotektive Wirkung von Lutein

Bei Betrachtung des  $\Delta a^*$ -Wertes, der für die Erythemstehung nach UVA1- bzw. UVA/UVB-Bestrahlung steht, wurde deutlich, dass die Probanden, die mit einem hohen initialen Luteinlevel in die Studie starteten, unter Luteineinnahme ein Absinken von  $\Delta a^*$  aufwiesen. Diese Gruppe startete mit einem hohen  $\Delta a^*$ -Wert im Vergleich zu den Probanden mit niedrigerem Level. Diese Probanden sind möglicherweise schon an einen hohen Spiegel von Lutein adaptiert, haben dementsprechend eine hohe Rezeptordichte und einen höheren Umsatz, sodass sie sensibler auf einen Luteinanstieg reagierten, was in einem Abfall von  $\Delta a^*$ -Wert, also einer Abnahme der Rötungsreaktion nach UVA1-Bestrahlung deutlich wurde. Die Anzahl dieser Probanden ist aber zu gering, als dass auf einen direkten Zusammenhang geschlossen werden kann.

In verschiedenen Studien wurde bereits der positive Effekt von Carotinoiden auf die Reduktion der Erythembildung beschrieben.<sup>[35]</sup> Auch der Vergleich zwischen topisch aufgetragenem und oral verabreichtem Lutein zeigte eine Reduktion der Erythembildung.<sup>[43]</sup> Hierbei nahmen die Probanden ebenfalls zwölf Wochen ein Luteinpräparat ein. Die Zusammensetzung der Kapseln, das Lösungsmittel und auch die Menge an Lutein und Zeaxanthin unterscheiden sich zwischen den genannten Studien und dieser Arbeit nur geringem Ausmaß. Im Gegensatz dazu variieren die Bestrahlungsart und -dauer zwischen den Studien erheblich. Dies erklärt möglicherweise den unterschiedlichen Effekt der Luteingabe auf die Erythembildung nach Bestrahlung.

Wie in Kapitel 4.2.1 beschrieben, kann Lutein als Antioxidanz wirken, was sich in einer verminderten Expression bestimmter, durch UV-Strahlung induzierbarer, molekularer Marker äußert. Hierbei wird die Fähigkeit von Lutein deutlich, die Haut vor UV-Strahlung und deren negativen Wirkungen zu schützen, wie zum Beispiel vor Kollagenabbau im Rahmen der vorzeitigen Hautalterung, indem es sein antioxidatives Potential ausschöpft.

### 4.3 Wirkung der Einnahme von Lycopin und Lutein

Es konnte gezeigt werden, dass die Einnahme von Lycopin bzw. Lutein als Nahrungsergänzungsmittel durchaus positive Effekte vor allem beim Schutz vor UV-Strahlung, genauer gesagt vor dem durch UV-Strahlung entstehenden oxidativen Stress aufweist.

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen darauf hin, dass die orale Einnahme von Lycopin und Lutein *in vivo* UV-induzierte biologische Reaktionen in der menschlichen Haut verhindert. Im Gegensatz zu den bereits publizierten Studien wird hier erstmals der photoprotektive Effekt der beiden Carotinoide auf molekularer Ebene gezeigt.

Werden die Carotinoide Lycopin und Lutein direkt miteinander verglichen, so zeigen sie beide eine ähnlich gute Schutzwirkung in Bezug auf die Photoprotektion. Die Probanden nahmen nahezu die gleichen Gesamtkonzentrationen pro Tag ein (19,2 mg Lycopin bzw. 20 mg Lutein). Jedoch genügte beim Lutein-Arm der Studie eine einmalige Einnahme von zwei Kapseln täglich um dieselben Effekte zu erzielen wie eine zweimal tägliche Einnahme von je zwei Lycopinhaltigen Kapseln beim Lycopin-Arm. Dies liegt höchstwahrscheinlich an der längeren Halbwertszeit von Lutein mit 33-61 Tagen im Vergleich zu Lycopin mit 12-33 Tagen im Plasma.<sup>[91]</sup> Durch die nur einmal tägliche Einnahme des Nahrungsergänzungsmittels zeigt Lutein einen Vorteil gegenüber Lycopin.

UV-unabhängige Parameter der Hautgesundheit und -barriere werden durch Lycopin und Lutein nicht wesentlich positiv beeinflusst. Die Vorgänge der physiologischen Faltenbildung und des zunehmenden Transepidermalen Wasserverlustes im Alter gehen ROS-unabhängig vonstatten. So können Lycopin und Lutein ihr antioxidatives Potenzial in dieser Hinsicht nicht entfalten und schützend wirken.

Eine Einnahme der beiden Carotinoide zeigt sich demnach vor allem als sinnvolle Ergänzung zu einem topischen Sonnenschutzmittel und als Schutz vor unbewusster UV-Exposition im Alltag.

## Kapitel 5

# Zusammenfassung

Eine übermäßige Sonnenlichtexposition bedeutet für die menschliche Haut die Entstehung von Sonnenbrand, eine vorzeitige Hautalterung, sowie ein erhöhtes Risiko für Hauttumoren. Hierbei spielt die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) im Rahmen des photooxidativen Stresses, ausgelöst durch vermehrte UV-Strahlenbelastung, eine wichtige Rolle. Diese ROS sind in der Lage, die Expression verschiedener Enzyme zu induzieren, was u.a. zu Kollagenabbau, verminderter Kollagensynthese und Inflammation der Haut führt.

Die Fähigkeit von Carotinoiden als Antioxidantien zu wirken, wurde bereits in verschiedenen Studien untersucht und bestätigt. Hierbei gehören das Carotin Lycopin und das Xanthophyll Lutein, neben  $\beta$ -Carotin, zu den Hauptakteuren. Lycopin wurde bereits als der effektivste Fänger von Singulett-Sauerstoff, eines der meist vorkommenden ROS, identifiziert.

Lycopin und Lutein sind Hauptbestandteile der Carotinoide im menschlichen Blut. Daher lag es nahe, das Verhalten dieser auf die allgemeine Hautstruktur und im Besonderen auf die photoprotektive Wirkung zu untersuchen.

65 Probanden nahmen in einer randomisierten, doppelblinden Studie über ca. zwölf Wochen ein Nahrungsergänzungsmittel mit Lycopin bzw. Lutein oder ein Placebopräparat ein. Nach einer Auswaschphase fand das sog. Cross-Over statt. Zu mehreren Zeitpunkten wurden, neben Blutentnahmen für die Bestimmung der Carotinoid-Serumspiegel, als hautphysiologische, nicht-invasiv bestimmbare Hautparameter der TEWL-Wert (Transepidermaler Wasserverlust) und die Hautelastizität am Unterarm gemessen.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

---

Darüber hinaus wurde die Hautfarbe zweier Stellen am Gesäß vor und nach einer Bestrahlung mit UVA1- und UVA/UVB-Strahlung bestimmt. Hierbei zeigten die Nahrungsergänzungsmittel nur einen geringen Einfluss im Laufe der Studie.

Desweiteren wurden den Probanden an den bestrahlten Arealen Hautstanzen entnommen und die Expression der mRNA verschiedener molekularer Marker, im Vergleich zu einer unbehandelten Biopsie, bestimmt. Sowohl Lycopin als auch Lutein bestätigten ihr photoprotektives Potential, indem sie die Expression u.a. der Enzyme MMP-1, ICAM-1 und HO-1, welche unter UV-Strahlung deutlich anstieg, unterdrücken konnten. Diese Effekte waren unter Placeboeinnahme nicht zu beobachten.

Somit konnten, nun auch erstmalig auf molekularer Ebene, die bisherigen Beobachtungen zur photoprotektiven Wirkung der systemischen Einnahme von Carotinoiden, in dieser Arbeit speziell von Lycopin und Lutein, bewiesen und bestätigt werden.

# Abbildungsverzeichnis

1.1	Aufbau der menschlichen Haut mit Epidermis, Lederhaut (Dermis) und subkutanem Fettgewebe, aus <sup>[6]</sup> . . . . .	3
1.2	Spektrum des Sonnenlichts, Eindringtiefe von UV-Strahlung und Aktivierung verschiedener Gene durch UVA-, UVB- und UVC-Strahlen <sup>[25]</sup> . . . . .	6
1.3	Zentrale Kette des Carotinoidmoleküls . . . . .	7
1.4	Beispiele für Carotine . . . . .	8
1.5	Beispiele für Xanthophylle . . . . .	9
1.6	Desaktivierung von Singulett-Sauerstoff . . . . .	9
2.1	Schematische Darstellung einer TEWL-Sonde (Abbildung nach <sup>[82]</sup> ) . . . . .	26
2.2	Kurve eines viskoelastischen Materials während der Ansaugphase (bis Sekunde 5) und der Relaxationsphase (Sekunde 5 bis 10) . . . . .	28
2.3	Darstellung des L*, a*, b*, Farbsystems. Im Zentrum sind die Spektralfarben zu gleichen Anteilen gemischt, es entsteht ein grauer Farbton. (Bedienungsanleitung Minolta Chromameter CR-200) . . . . .	30
3.1	Entwicklung des Lycopin-Serumspiegels von TG A und B über die Studiendauer . . . . .	35
3.2	Entwicklung des $\alpha$ -Carotin-Serumspiegels von TG A und B über die Studiendauer . . . . .	36
3.3	Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	37

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.4	Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	38
3.5	Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	39
3.6	Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	39
3.7	Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	40
3.8	Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	40
3.9	Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	41
3.10	Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	41
3.11	Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	42
3.12	Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	42
3.13	Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	43
3.14	Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	44

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.15	Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	44
3.16	Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	45
3.17	Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Lycopineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG A . . . . .	45
3.18	Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Lycopineinnahme (Day 200) in TG B . . . . .	46
3.19	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme . . . . .	49
3.20	TEWL-Wert von TG A und B zu Studienbeginn aufgeteilt nach Geschlecht	50
3.21	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Treatment Group .	50
3.22	TEWL-Wert von TG A und B zu Studienbeginn aufgeteilt nach Alter .	51
3.23	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter . . . . .	51
3.24	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialem TEWL-Wert . . . . .	52
3.25	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp und Treatment Group . .	53
3.26	Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme . . . . .	54
3.27	Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht . . . . .	55
3.28	Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Treatment Group .	55
3.29	Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter . . . . .	56

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.30 Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp . . . . .	56
3.31 Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lycopin-Serumspiegels . . . . .	57
3.32 Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Anstiegsstärke des Lycopin-Serumspiegels . . . . .	57
3.33 Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des finalen Lycopin-Serumspiegels nach der aktiven Phase . . . . .	58
3.34 Entwicklung der Hautelastizität von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialer Hautelastizität . . . . .	58
3.35 Boxplot des Verlaufes des Lycopin-Serumspiegels von TG A über die Studiendauer . . . . .	60
3.36 Boxplot des Verlaufes von $\Delta a^*$ der TG A über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	60
3.37 Boxplot des Verlaufes des Lycopin-Serumspiegels von TG B über die Studiendauer . . . . .	61
3.38 Boxplot des Verlaufes von $\Delta a^*$ der TG B über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	61
3.39 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	62
3.40 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	63
3.41 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA1-Bestrahlung	63
3.42 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	64
3.43 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA/UVB-Bestrahlung . . . . .	64

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.44	Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG A und B in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA/UVB-Bestrahlung . . . . .	65
3.45	Entwicklung des Lutein-Serumspiegels von TG C und D über die Studiendauer . . . . .	68
3.46	Entwicklung des Zeaxanthin-Serumspiegels von TG C und D über die Studiendauer . . . . .	69
3.47	Entwicklung des $\alpha$ -Carotin-Serumspiegels von TG C und D über die Studiendauer . . . . .	69
3.48	Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	70
3.49	Entwicklung der MMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	71
3.50	Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	72
3.51	Entwicklung der ICAM-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	72
3.52	Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	73
3.53	Entwicklung der HO-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	73
3.54	Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	74
3.55	Entwicklung der Col-1A1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB-Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	74

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.56	Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	75
3.57	Entwicklung der Col-1A2 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	75
3.58	Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	76
3.59	Entwicklung der TIMP-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	77
3.60	Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	77
3.61	Entwicklung der IL-1 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	78
3.62	Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Luteineinnahme (Day 101) und nach Placeboeinnahme (Day 200) in TG C . . . . .	78
3.63	Entwicklung der IL-6 mRNA Expression nach UVA1- und UVA/UVB- Bestrahlung zu Beginn (Day 16), nach Placeboeinnahme (Day 101) und nach Luteineinnahme (Day 200) in TG D . . . . .	79
3.64	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme . . . . .	81
3.65	TEWL-Wert von TG C und D zu Studienbeginn aufgeteilt nach Geschlecht	82
3.66	TEWL-Wert von TG C und D zu Studienbeginn aufgeteilt nach Alter .	82
3.67	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Treatment Group .	83
3.68	Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter . . . . .	83

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.69 Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp und Treatment Group . . .	84
3.70 Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lutein-Serumspiegels . . . . .	84
3.71 Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Anstiegsstärke des Lutein-Serumspiegels . . . . .	85
3.72 Entwicklung des TEWL-Wertes von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialem TEWL-Wert . . . . .	86
3.73 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme . . . . .	87
3.74 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht . . . . .	87
3.75 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter . . . . .	88
3.76 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp . . . . .	88
3.77 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lutein-Serumspiegels . . . . .	89
3.78 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Anstiegsstärke des Lutein-Serumspiegels . . . . .	90
3.79 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des finalen Lutein-Serumspiegels nach der aktiven Phase . . . . .	90
3.80 Entwicklung der Hautelastizität von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach initialer Hautelastizität . . . . .	91
3.81 Boxplot des Verlaufes des Lutein-Serumspiegels von TG C über die Studiendauer . . . . .	92
3.82 Boxplot des Verlaufes des Lutein-Serumspiegels von TG D über die Studiendauer . . . . .	92

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

3.83 Boxplot des Verlaufes von $\Delta a^*$ der TG C über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	93
3.84 Boxplot des Verlaufes von $\Delta a^*$ der TG D über die Studiendauer bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	93
3.85 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	94
3.86 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Geschlecht bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	95
3.87 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	95
3.88 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Höhe des initialen Lutein-Serumspiegels bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	96
3.89 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp bei UVA1-Bestrahlung . . . . .	97
3.90 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme bei UVA/UVB-Bestrahlung . . . . .	97
3.91 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Alter bei UVA/UVB-Bestrahlung . . . . .	98
3.92 Entwicklung der Erythembildung ( $\Delta a^*$ ) von TG C und D in aktiver Phase und bei Placeboeinnahme aufgeteilt nach Hauttyp bei UVA/UVB-Bestrahlung . . . . .	98

# Tabellenverzeichnis

1.1	Studien zur photoprotektiven Wirkung von Carotinoiden. <sup>a</sup> Photoprotektive Wirkung = MED der behandelten Haut/MED der unbehandelten Haut.	13
2.1	Einnahmezeiträume der Kapseln in TG A-D . . . . .	18
2.2	Studienablauf A . . . . .	21
2.3	Studienablauf B . . . . .	22
2.4	cDNA-Synthese . . . . .	24
2.5	Gene und Primer der real time RT-PCR . . . . .	25
2.6	PCR-Schema . . . . .	25
3.1	Charakteristika der TG A und B . . . . .	32
3.2	Länge der Auswaschphasen in TG A und B . . . . .	33
3.3	Länge der Einnahmephasen in TG A und B . . . . .	33
3.4	Compliance in TG A und B . . . . .	34
3.5	Korrelationen vom Lycopin-Serumspiegel mit MMP-1 und ICAM-1 in TG A und B. **: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, *: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant . . . . .	47
3.6	Korrelationen vom Lycopin-Serumspiegel mit HO-1 und Col1A1-1 in TG A und B. **: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, *: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant . . . . .	47
3.7	Hauttypen I bis VI nach Fitzpatrick, <sup>[4]</sup> S. 534 . . . . .	48
3.8	Charakteristika der TG C und D . . . . .	66
3.9	Länge der Auswaschphasen in TG C und D . . . . .	66

## TABELLENVERZEICHNIS

---

3.10	Länge der Einnahmephasen in TG C und D . . . . .	67
3.11	Compliance in TG C und D . . . . .	67
3.12	Korrelationen vom Lutein-Serumspiegel mit MMP-1 und ICAM-1 in TG C und D. **: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, *: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant . . . . .	80
3.13	Korrelationen vom Lutein-Serumspiegel mit HO-1 und Col1A1-1 in TG C und D. **: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant, *: Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant . . . . .	80

# Literaturverzeichnis

- [1] Norval M, Lucas RM, Cullen AP et al. The human health effects of ozone depletion and interactions with climate change. *Photochem Photobiol Sci*, 10:199–225, 2011.
- [2] Krutmann J, Stahl W. Systemische Photoprotektion durch Karotinoide. *Hautarzt*, 57:281–285, 2006.
- [3] Silbernagl S, Despopoulos A. *Taschenatlas der Physiologie-6., korrigierte Auflage*. Thieme, 2003.
- [4] Moll I. *Duale Reihe Dermatologie-6. Auflage*. Thieme, 2005.
- [5] Schiebler T. *Anatomie-9. Auflage*. Springer, 2005.
- [6] Aust O. Untersuchungen zu UV-protectiven Effekten von Nahrungs-carotinoiden in vivo und in vitro. *Doktorarbeit*, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, 2003.
- [7] Horn F, Moc I, Schneider N et al. *Biochemie des Menschen-3. Auflage*. Thieme, 2005.
- [8] Zastrow L, Groth N, Klein F et al. The Missing Link-Light-Induced (280 - 1600nm) Free Radical Formation in Human Skin. *Skin Pharmacol Physiol*, 22:31–44, 2009.
- [9] Black HS. The defensive role of antioxidants in skin cancerogenesis. *Oxidative stress in dermatology*, Fuchs J, Packer L , eds., pages 243–269, NewYork 1993.
- [10] Berneburg M, Krutmann J. Photoimmunology, DNA repair and photocarcinogenesis. *J Photochem Photobiol B*, 54:87–93, 2000.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [11] Chang NB, Feng R, Gao Z, Gao W. Skin cancer incidence is highly associated with ultraviolet-B radiation history. *Int J Hyg Environ Health*, 213:359–368, 2010.
- [12] Auletta M, Gange RW, Tan OT, Matzinger E. Effect of cutaneous hypoxia upon erythema and pigment responses to UVA, UVB, and PUVA (8-MOP + UVA) in human skin. *J Invest Dermatol*, 86:649–652, 1986.
- [13] Santocono M, Zurria M, Berrettini M et al. Influence of astaxanthin, zeaxanthin and lutein on DNA damage and repair in UVA-irradiated cells. *J Photochem Photobiol B*, 85:205–215, 2006.
- [14] Gilchrest BA, Krutmann J (Hg.). *Skin Aging*. Springer Berlin, 2006.
- [15] Vielhaber G, Grether-Beck S, Koch O, Johncock W, Krutmann J. Sunscreens with an absorption maximum of  $\geq 360$  nm provide optimal protection against UVA1-induced expression of matrix metalloproteinase-1, interleukin-1, and interleukin-6 in human dermal fibroblasts. *Photochem Photobiol Sci*, 5:275–282, 2006.
- [16] Thiele J. Hautalterung, ein multifaktorielles Problem - Antioxidantien. *Akt Dermatol*, 28:S3–S6, 2002.
- [17] Berneburg M, Plettenberg H, Krutmann J. Photoaging of human skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 16:239–244, 2000.
- [18] Grether-Beck S, Wlaschek M, Krutmann J, Scharffetter-Kochanek K. Photoschädigung und Photalterung - Prävention und Behandlung. *JDDG Supplement* 2, 3:S19–S25, 2005.
- [19] Sies H, Jones DP, Fink G (Hg.). Oxidative stress. *Encyclopedia of stress*, Elsevier: 45–48, 2007.
- [20] Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1740:101–107, 2005.
- [21] Zastrow L, Groth N, Klein F et al. UV, visible and infrared light. Which wavelengths produce oxidative stress in human skin? *Hautarzt*, 60:310–317, 2009.
- [22] Sies H, Stahl W. Nutritional Protection Against Skin Damage from Sunlight. *Annu Rev Nutr*, 24:173–200, 2004.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [23] Reichrath J, Nürnberg B. Cutaneous vitamin D synthesis versus skin cancer development. *Dermato-Endocrinology*, 1:253–261, 2009.
- [24] Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection. *J Am Acad Dermatol*, 48:1–19, 2003.
- [25] Tyrrell RM. Activation of mammalian gene expression by the UV component of sunlight - from models to reality. *BioEssays*, 18:139–148, 1995.
- [26] Gilchrest BA, Eller MS. DNA Photodamage Stimulates Melanogenesis and Other Photoprotective Responses. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 4:35–40, 1999.
- [27] Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24:345–351, 2003.
- [28] Shao A, John NH. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. *Regul Toxicol Pharmacol*, 45:289–298, 2006.
- [29] Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the Most Efficient Biological Carotenoid Singlet Oxygen Quencher. *Arch Biochem Biophys*, 274:532–538, 1989.
- [30] Rice-Evans CA, Sampson J, Bramley PM, Holloway DE. Why Do We Expect Carotenoids to be Antioxidants in vivo? *Free Radic Res*, 26:381–398, 1997.
- [31] Olson JA. Absorption, transport, and metabolism of carotenoids in humans. *Pure and Appl Chem*, 66:1011–1016, 1994.
- [32] Landrum JT, Bone RA. Lutein, Zeaxanthin, and the Macular Pigment. *Arch Biochem Biophys*, 385:28–40, 2001.
- [33] Alves-Rodrigues A, Shao A. The science behind lutein. *Toxicology letters*, 150:57–83, 2004.
- [34] Mathews-Roth MM, Pathak MA, Parrish JA et al. A clinical trial of the effects of oral beta-carotene on the responses of human skin to solar radiation. *J Invest Dermatol*, 59:349–353, 1972.
- [35] Lee J, Jiang S, Levine N, Watson RR. Carotenoid supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure. *Proc Soc Exp Biol Med*, 223:170–174, 2000.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [36] Gollnick HPM, Hopfenmüller W, Hemmes C et al. Systemic beta carotene plus topical UV-sunscreen are an optimal protection against harmful effects of natural UV-sunlight: results of the Berlin-Eilath study. *Eur J Dermatol*, 6:200–205, 1996.
- [37] Garmyn M, Ribaya-Mercado JD, Russell RM et al. Effect of beta-carotene supplementation on the human sunburn reaction. *Exp Dermatol*, 4:104–111, 1995.
- [38] Köpcke W, Krutmann J. Protection from Sunburn with b-CaroteneA Meta-analysis. *Photochem Photobiol*, 84:284288, 2008.
- [39] Heinrich U, Gartner C, Wiebusch M et al. Supplementation with beta-carotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema. *J Nutr*, 133:98–101, 2003.
- [40] Césarini JP, Michel L, Maurette JM et al. Immediate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 19:182–189, 2003.
- [41] Stahl W, Heinrich U, Wiseman S et al. Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. *J Nutr*, 131:1449–1451, 2001.
- [42] Aust O, Stahl W, Sies H et al. Supplementation with Tomato-Based Products Increases Lycopene, Phytofluene, and Phytoene Levels in Human Serum and Protects Against UV-light-induced Erythema. *Int J Vitam Nutr Res*, 75:54–60, 2005.
- [43] Palombo P, Fabrizi G, Ruocco V et al. Beneficial Long-Term Effects of Combined Oral/Topical Antioxidant Treatment with the Carotenoids Lutein and Zeaxanthin on Human Skin: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Skin Pharmacol Physiol*, 20:199–210, 2007.
- [44] Quan T, Qin Z, Xia W et al. Matrix-Degrading Metalloproteinases in Photoaging. *J Invest Dermatol Symposium Proceedings*, 14:20–24, 2009.
- [45] Dong KK, Damaghi N, Picart SD et al. UV-induced DNA damage initiates release of MMP-1 in human skin. *Exp Dermatol*, 17:1037–1044, 2008.
- [46] Brenneisen P, Sies H, Scharffetter-Kochanek K. Ultraviolet-B Irradiation and Matrix Metalloproteinases. *Ann NY Acad Sci*, 973:31–43, 2002.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [47] Brennan M, Bhatti H, Nerusu KC et al. Matrix Metalloproteinase-1 is the Major Collagenolytic Enzyme Responsible for Collagen Damage in UV-irradiated Human Skin. *Photochem Photobiol*, 78:43–48, 2003.
- [48] Philips N, Keller T, Hendrix C et al. Regulation of the extracellular matrix remodeling by lutein in dermal fibroblasts, melanoma cells, and ultraviolet radiation exposed fibroblasts. *Arch Dermatol Res*, 299:373–379, 2007.
- [49] Krutmann J, Czech W, Parlow F et al. Ultraviolet radiation effects on human keratinocyte ICAM-1 expression: UV-induced inhibition of cytokine-induced ICAM-1 mRNA expression is transient, differentially restored for IFN gamma versus TNF alpha, and followed by ICAM-1 induction via a TNF alpha-like pathway. *J Invest Dermatol*, 98:923–928, 1992.
- [50] Grether-Beck S, Olaizola-Horn S, Schmitt H et al. Activation of transcription factor AP-2 mediates UVA radiation and singlet oxygen-induced expression of the human intercellular adhesion molecule 1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:14586–14591, 1996.
- [51] Ahrens C, Grewe M, Berneburg M et al. Photocarcinogenesis and inhibition of intercellular adhesion molecule 1 expression in cells of DNA-repair-defective individuals. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:6837–6841, 1997.
- [52] Krutmann J. Ultraviolet A radiation-induced biological effects in human skin: relevance for photoaging and photodermatosis. *J Dermatol Sci*, 23:S22–S26, 2000.
- [53] Abraham NG, Lin JHC, Schwartzman ML et al. The physiological significance of Heme Oxygenase. *Int J Biochem*, 6:543–558, 1988.
- [54] Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UVA radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:99–103, 1989.
- [55] Ferrándiz ML, Devesa I. Inducers of Heme Oxygenase-1. *Current Pharmaceutical Design*, 14:473–486, 2008.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [56] Keyse SM, Tyrrell RM. Induction of the heme oxygenase gene in human skin fibroblasts by hydrogen peroxide and UVA (365 nm) radiation: evidence for the involvement of the hydroxyl radical. *Carcinogenesis*, 11:787–791, 1989.
- [57] Applegate LA, Luscher P, Tyrrell RM. Induction of Heme Oxygenase: A General Response to Oxidant Stress in Cultured Mammalian Cells. *Cancer Research*, 51: 974–978, 1991.
- [58] Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF et al. Bilirubin is an anti-oxidant of possible physiological importance. *Science*, 235:1043–1046, 1987.
- [59] Keyse SM, Applegate LA, Tromvoukis Y, Tyrrell RM. Oxidant Stress Leads to Transcriptional Activation of the Human Heme Oxygenase Gene in Cultured Skin Fibroblasts. *Mol Cell Biol*, 10:4967–4969, 1990.
- [60] Tyrrell R. Redox Regulation and Oxidant Activation of Heme Oxygenase-1. *Free Rad Res*, 31:335–340, 1999.
- [61] Buechner N, Schroeder P, Jakob S et al. Changes of MMP-1 and collagen type IA1 by UVA, UVB and IRA are differentially regulated by Trx-1. *Exp Gerontol*, 43:633–637, 2008.
- [62] Oba A, Edwards C. Relationships between changes in mechanical properties of the skin, wrinkling, and destruction of dermal collagen fiber bundles caused by photoaging. *Skin Research and Technology*, 12:283–288, 2006.
- [63] Scharffetter-Kochanek K, Wlaschek M, Briviba K, Sies H. Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts. *FEBS LETTERS*, 331:304–306, 1993.
- [64] Wlaschek M, Briviba K, Stricklin GP et al. Singlet Oxygen May Mediate the Ultraviolet A-Induced Synthesis of Interstitial Collagenase. *J Invest Dermatol*, 104:194–198, 1995.
- [65] Hirao T, Aoki H, Yoshida T et al. Elevation of Interleukin 1 Receptor Antagonist in Stratum Corneum of Sun-exposed and Ultraviolet B-irradiated Human Skin. *J Invest Dermatol*, 106:1102–1107, 1996.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [66] Reeve VE, Tyrrell RM, Allanson M et al. The Role of Interleukin-6 in UVA Protection against UVB-Induced Immunosuppression. *J Invest Dermatol*, 129: 1539–1546, 2009.
- [67] Brenneisen P, Wlaschek K, Wenk J et al. Ultraviolet-B induction of interstitial collagenase and stromelysin-1 occurs in human dermal fibroblasts via an autocrine interleukin-6 dependent loop. *FEBS Lett*, 449:36–40, 1999.
- [68] Stahl W, Sundquist AR, Hanusch M et al. Separation of beta-carotene and lycopene geometrical isomers in biological samples. *Clin Chem*, 39:810–814, 1993.
- [69] Polidori MC, Stahl W, Eichler O et al. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med*, 30:456–462, 2001.
- [70] McCallum FS, Maden BE. . *Biochem J*, 232:725–733, 1985.
- [71] Yoshida T, Biro P, Cohen T et al. . *Eur J Biochem*, 171:457–461, 1988.
- [72] Staunton DE, Marlin SD, Stratowa SD et al. . *Cell*, 52:925–933, 1988.
- [73] Nishida T, Nishino N, Takano M et al. . *Biochem Biophys Res Commun*, 143: 345–352, 1987.
- [74] May LT, Helfgott DC, Sehgal PB. . *Proc Natl Acad Sci USA*, 83:8957–8961, 1986.
- [75] Goldberg GI, Wilhelm SM, Kornberger A et al. . *J Biol Chem*, 261:6600–6605, 1986.
- [76] Carmichael DF, Sommer A, Thompson RC et al. . *Proc Natl Acad Sci USA*, 83: 2407–2411, 1986.
- [77] Tromp G, Kuivaniemi H, Stacey A et al. . *Biochem J*, 253:919–922, 1988.
- [78] Kuivaniemi H, Tromp G, Chu ML, Prockop DJ. . *Biochem J*, 252:633–640, 1988.
- [79] Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol*, 25:169193, 2000.
- [80] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  Method. *Methods*, 25:402–408, 2001.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- [81] Fluhr JW, Feingold KR, Elias PM. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. *Exp Dermatol*, 15:483–492, 2006.
- [82] Firmeninformation der Firma Courage und Khazaka Electronic GmbH.
- [83] Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*, 22:164–178, 1990.
- [84] Viatour M, Henry F, Pierard GE. A computerized analysis of intrinsic forces in the skin. *Clinical and Experimental Dermatolog*, 20:308–312, 1995.
- [85] Sungyeon A, Seunghun K, Haekwang L et al. Correlation between a Cutometer and quantitative evaluation using Moire topography in age-related skin elasticity. *Skin Research and Technology*, 13:280–284, 2007.
- [86] Taylor S, Westerhof W, Im S, Lim J. Noninvasive techniques for the evaluation of skin color. *J Am Acad Dermatol*, 54:S282–S290, 2006.
- [87] Fullerton A, Fischer T, Lahti A et al. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. *Contact Dermatitis*, 35:1–10, 1996.
- [88] Andreassi L, Flori L. Practical Applications of Cutaneous Colorimetry. *Clinics in Dermatology*, 13:396–373),, 1995.
- [89] Clarys P, Alewaeters K, Lambrecht R, Barel AO. Skin color measurements: comparison between three instruments: the Chromameter, the DermaSpectrometerA and the Mexameter. *Skin Research and Technology*, 6:230–238, 2000.
- [90] Meinke MC, Darvin ME, Vollert H, Lademann J. Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood. *Eur J Pharm Biopharm*, 76:269–274, 2010.
- [91] Rock CL, Swendseid ME, Jacob RA, McKee RW. Plasma carotenoid levels in human subjects fed a low carotenoid diet. *J Nutr*, 122:96–100, 1992.