

Prüfung von Sonnenbadepräparaten an haarlosen Mäusen

CHRISTIAN GLOXHUBER*

Synopsis — The UV-PRODUCED EDEMA in the HAIRLESS MOUSE is an EXPERIMENTAL MODEL which may be used for testing the SKIN TOLERANCE of cosmetic products. It is also suitable as a SUNBURN MODEL.

Haarlose Mäuse haben sich in unserem Laboratorium in tierexperimentellen Modellversuchen bei Prüfungen auf Hautverträglichkeit bewährt. Wir haben diese Tierart deshalb auch zu Prüfungen herangezogen, wie sie mit Sonnenbadepräparaten durchgeführt werden. Dabei haben wir uns besonders mit folgenden Fragestellungen befaßt:

1. dem Sonnenbrand
2. der Hautverträglichkeit von Sonnenbadepräparaten unter Berücksichtigung einer UV-Verschädigung der Haut
3. der Hautpigmentierung.

Versuchstiere reagieren unterschiedlich zum Menschen auf eine UV-Bestrahlung. Bei den meisten gängigen Laboratoriumstieren ist das UV-Erythem wenig ausgeprägt. Bei stärkeren Einwirkungen kommt es ohne eine Blasenbildung unmittelbar zu nekrotischen Veränderungen. Wilhelmi (1) und Winder et al. (2) haben sich mit dem UV-Erythem beim Meerschweinchen als Entzündungsmodell befaßt. Eine objektive Quantifizierung bereitet aber Schwierigkeiten. Bei haarlosen Mäusen zeigt sich als Entzündungsfolge einer UV-Bestrahlung in erster Linie ein Ödem, das leicht quantifizierbar ist. Dieses UV-Ödem stellt nach unseren Beobachtungen ein gutes Modell für den Sonnenbrand dar, läßt sich aber auch für verschiedenartige andere Fragestellungen heranziehen (3).

* Hauptabteilung Toxikologie der Firma Henkel & Cie GmbH, Düsseldorf.

Methodik

In den von uns durchgeführten Untersuchungen verwenden wir haarlose Mäuse eines selbstgezüchteten hr-hr-Stammes. Zur Erzeugung eines UV-Ödems werden die Tiere in speziellen Haltevorrichtungen fixiert und aus einer Entfernung von 50 cm mit einer Osram-Ultravitalux-Lampe bestrahlt*. Zur Ermittlung der Ödemstärke wird im Bestrahlungsbereich eine Hautfalte in ihrer Dicke gemessen, wobei wir in Anlehnung an Schütz (4) und Schmid (5) einen etwas modifizierten Schnelltester der Fa. Kröplin (649 Schlüchtern) verwenden. Die Details dieser Methode sind an anderer Stelle beschrieben [3].

1. Abhängigkeit der Ödemstärke von der Bestrahlungszeit

Durch Variation der Bestrahlungszeit läßt sich die Stärke der UV-Reaktion gut dosieren. In einer ersten Versuchsreihe wurde der Verlauf der Ödemreaktion in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdauer ermittelt. Gruppen von 10 bzw. 12 Tieren wurden 1, 2,5, 5 bzw. 10 Minuten in der angegebenen Weise bestrahlt und im Anschluß daran das Verhalten des Hautödems bis 96 Std. verfolgt.

2. Wirkung von Lichtschutzpräparaten

Die Wirkung der UV-Strahlung auf die Haut wird in den handelsüblichen Lichtschutzpräparaten durch Lichtfilterstoffe so weit reduziert, daß ein stärkerer Sonnenbrand vermieden wird. Das vorliegende Modell gibt die Möglichkeit, solche Filterstoffe oder Sonnenschutzcremes praktisch zu erproben, wenn sie vor der UV-Bestrahlung auf die Haut appliziert werden. Wir haben drei Produkte, die als Lichtschutzpräparate auf dem Markt angeboten werden, in unserem Modell auf ihre Schutzwirkung geprüft. Die Präparate waren mit den Lichtschutzfaktoren 2, 3 und 5 ausgewiesen. In diese Prüfung haben wir außerdem eine Creme einbezogen, der wir als Lichtfilterstoff 1,4 % 2-Äthylhexyl-p-methoxyzimtsäureester zugesetzt hatten. Die Präparate wurden 1 Stunde und unmittelbar vor der Bestrahlung in dünner Schicht mit dem Finger aufgetragen (Versuchsgruppen 5, 9 bzw. 10 Tiere). Die Bestrahlungsdauer war 10 Minuten. Im Anschluß daran wurde das Verhalten des Hautödems über 144 Std. beobachtet.

3. Hautverträglichkeitsprüfungen an UV-geschädigter Haut

Die Haut haarloser Mäuse ist in ihrer Reaktionsfähigkeit ein empfindliches Instrument gegenüber irritierenden Substanzen. Derartige Wirkungen

* Die erzielte Reaktionsstärke ist bei diesen Bestrahlungen stark von der dem Untersucher oft nicht bekannten vorangegangenen Brenndauer der Lampe abhängig. Der Ausfall der Reaktion muß deshalb häufig durch Kontrollversuche überprüft werden.

lassen sich ebenfalls in der angegebenen Weise messend verfolgen. Dieses Verfahren kann zur vergleichenden Prüfung von Stoffen auf Hautverträglichkeit Verwendung finden. Es hat sich gezeigt, daß die Vorschädigung der Haut, wie sie beim Sonnenbrand vorliegt, ebenfalls simuliert werden kann, d. h. man kann an diesem Modell auch leicht Sonnenschutzcremes etc. auf lokale Verträglichkeit untereinander unter den Bedingungen des Sonnenbrandes vergleichen. Zum Studium dieser Wirkungen wurden verschiedene Hautcremes auf die intakte Haut von haarlosen Mäusen aufgebracht und das Hautverhalten messend verfolgt. Die gleichen Hautcremes wurden im Anschluß daran Mäusen appliziert, die eine durch UV-Strahlung vorgeschädigte Haut aufwiesen.

In diesen Versuchen gelangten verschiedene Cremetypen zur Untersuchung. Sie sind mit I—VI bezeichnet. Die Applikation der Produkte erfolgte unmittelbar im Anschluß an die Bestrahlung (Bestrahlungsdauer 10 min.). Jede Versuchstiergruppe bestand aus 5 Mäusen. Gleiche Tiergruppen wurden auch ohne Bestrahlung analog als Vergleich behandelt. Bei allen Tieren wurde das Verhalten des Hautödems über 144 Std. verfolgt.

4. Untersuchungen über phototoxische Wirkungen

Produkte, die beim Sonnenbaden Verwendung finden, müssen frei sein von Bestandteilen mit phototoxischen Eigenschaften. Das UV-Ödem-Modell an haarlosen Mäusen läßt sich auch für derartige Untersuchungen heranziehen. Allerdings ist es dabei erforderlich, die Bestrahlungsstärke so schwach zu wählen (2,5 min.), daß nur ein geringes Ödem entsteht und eine Verstärkung durch den phototoxischen Stoff erkannt werden kann. In den Versuchen wurde Limetteöl und Bergamotteöl den Tieren 2 Std. und 30 min. vor der Bestrahlung konzentriert in dünner Schicht appliziert. Eine Kontrollgruppe wurde ohne Bestrahlung analog behandelt. Im Anschluß daran wurde das Ödem messend verfolgt.

5. Hautpigmentierung nach UV-Bestrahlung

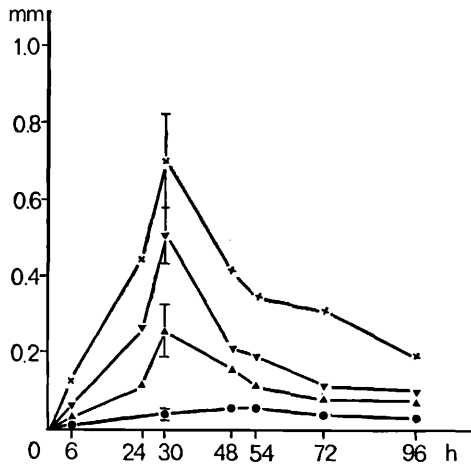
Das Sonnenbaden ist meist mit dem Wunsch verbunden, eine braune, „gesunde“ Hautfarbe zu bekommen. Zum Studium von Pigmentierungsvorgängen nach UV-Bestrahlung ist unseres Wissens bisher kein tierexperimentelles Modell beschrieben, das mit der Hautpigmentierung beim Menschen vergleichbar wäre und zu Pigmentierungsstudien herangezogen werden kann. Im Gegensatz dazu werden verschiedene Untersuchungen zur Frage der Depigmentierung beschrieben, z. B. Denton et al. (6), Bleehen et al. (7) und Gellin et al. (8). Der verwendete Stamm von hr-hr-

Mäusen zeigt die Eigenschaft der Pigmentierung nach UV-Bestrahlung und eignet sich zu Pigmentierungsstudien. Auf den Effekt der Pigmentierung haben erstmalig wohl Forbes und Urbach (9) hingewiesen. Die Pigmentierung ist bei diesen Tieren dann gut auslösbar, wenn man sie mit einer schwachen Ödemdosis täglich ca. 14 Tage lang bestrahlt. In den Versuchen wurden die Tiere täglich 10 Minuten in der beschriebenen Weise mit einer Lampe bestrahlt, die schon eine etwas längere Brenndauer aufwies.

Ergebnisse

1. Abhängigkeit der Ödemstärke von der Bestrahlungszeit

Die Resultate der Ödemstärke unter verschiedenen Bestrahlungszeiten sind in der graphischen Abb. 1 wiedergegeben. Es zeigt sich, daß das Ödem ein Maximum bei 30 Stunden aufweist und im Anschluß daran eine Normalisierung des Hautzustandes sich wieder einstellt. Bei noch stärkeren Bestrahlungen kommt es zur Ausbildung einer Hyperkeratose, in Extremfällen zu Nekrosen, die hier aber außerhalb der Betrachtung bleiben sollen.



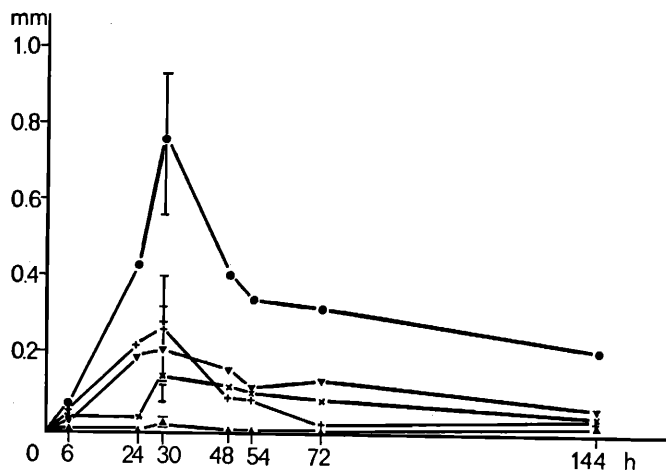
Graph. Abbildung 1

Abhängigkeit der Hautödemstärke von der Bestrahlungsdauer

- — ● 1 Minute
 - ▲ — ▲ 2,5 Minuten
 - ▼ — ▼ 5 Minuten
 - × — × 10 Minuten
- Bestrahlungszeit

2. Wirkung von Lichtschutzpräparaten

In der graphischen Abb. 2 sind die Ergebnisse einer Kontrollbestrahlung im Vergleich zu Ergebnissen beim vorherigen Auftragen von Lichtschutzpräparaten wiedergegeben. Die Lichtschutzwirkung ist deutlich aus der Graphik abzulesen.



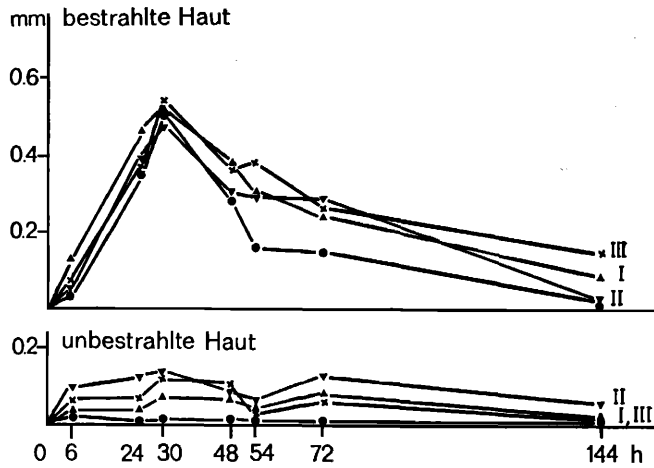
Graph. Abbildung 2

Verhinderung des UV-Ödems durch Applikation von Lichtschutzmitteln

- ▲ —▲ Präparat mit angegebenem Lichtschutzfaktor 5
- ▼ —▼ Präparat mit angegebenem Lichtschutzfaktor 2
- × —× Präparat mit angegebenem Lichtschutzfaktor 3
- + —+ Creme mit 1,4 % 2-Äthylhexyl-p-methoxy-zimtsäureester
- —● Kontrolle unbehandelt (18 Tiere)

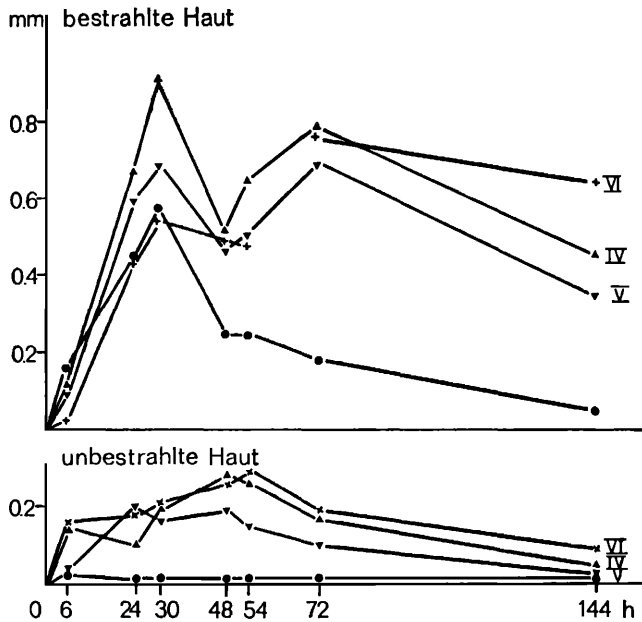
3. Hautverträglichkeitsprüfungen an UV-geschädigter Haut

Das Verhalten von 3 Hautcremetypen (I—III) an intakter Mäusehaut und nach UV-Vorbestrahlung ist in der graphischen Abb. 3 wiedergegeben. Es zeigt sich, daß diese Präparate weder an unbestrahlter noch UV-bestrahlter Haut eine Wirkung erkennen ließen. Die Meßwerte streuen innerhalb der Werte der Kontrollgruppen. In der graphischen Abb. 4 sind weniger ideal verträgliche Cremetypen (IV—VI) in ihrer Wirkung dargestellt. Solche Produkte zeigen bei der Ödemmessung schon an unbestrahlter Haut einen geringen Effekt. Ganz besonders ausgeprägt ist der Effekt bei UV-vorgeschädigter Haut.



Graph. Abbildung 3

Prüfung von Cremetypen an unbestrahlter und bestrahlter Mäusehaut
Teil I Standardabweichungen der 30-Std.-Werte vgl. Tabelle 1



Graph. Abbildung 4

Prüfung von Cremetypen an unbestrahlter und bestrahlter Mäusehaut
Teil II Standardabweichungen der 30-Std.-Werte vgl. Tabelle 1

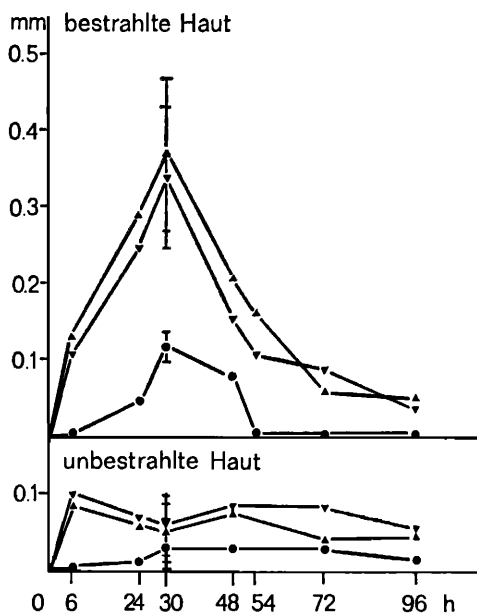
Tabelle 1

Standardabweichungen der 30-Stunden-Werte der Zunahme der Hautfaltendicke

Graph. Abbildung 3	unbestrahlte Haut	bestrahlte Haut
Kontrolle	± 0 mm	$\pm 0,05$ mm
Creme Typ I	$\pm 0,1$ mm	$\pm 0,06$ mm
Creme Typ II	$\pm 0,01$ mm	$\pm 0,02$ mm
Creme Typ III	$\pm 0,02$ mm	$\pm 0,02$ mm
Graph. Abbildung 4		
Kontrolle	± 0 mm	$\pm 0,22$ mm
Creme Typ IV	$\pm 0,03$ mm	$\pm 0,034$ mm
Creme Typ V	$\pm 0,03$ mm	$\pm 0,17$ mm
Creme Typ VI	0,002 mm	$\pm 0,14$ mm

4. Untersuchungen über phototoxische Wirkungen

Der phototoxische Effekt von Substanzen lässt sich, wie die graphische Abb. 5 zeigt, mit der Versuchsanordnung erkennen. Bergamotteöl und



Graph. Abbildung 5

Untersuchung von Bergamotteöl und Limetteöl auf phototoxische Wirkungen an der Haut haarloser Mäuse

- Kontrolle
- ▲—▲ Bergamotteöl
- ▼—▼ Limetteöl

Limetteöl zeigen als unverdünnte Substanzen eine so gute Hautverträglichkeit bei haarlosen Mäusen und lösen unter den Versuchsbedingungen nur so geringe Veränderungen aus, daß sie noch innerhalb der Streuung der unbehandelten Leerkontrolle liegen. Die Bestrahlungsstärke war unter den gewählten Versuchsbedingungen ebenfalls so gering, daß sie ein eben erkennbares Hautödem auslöste. In Gegenwart der beiden Substanzen trat jedoch bei Zusammenwirken von Bestrahlung und Substanzeinwirkung eine deutliche Ödemwirkung auf, die als phototoxischer Effekt gedeutet werden darf, zumal die phototoxischen Eigenschaften beider Substanzen bekannt sind.

5. Hautpigmentierung nach UV-Bestrahlung

Das Ergebnis des beschriebenen Bestrahlungsversuches zeigt die Abb. 1. Das bestrahlte Tier zeigt auf seiner Rückenhaut im Gegensatz zum un-



Abbildung 1

Pigmentierung nach UV-Bestrahlung, Vergleich mit einem Kontrolltier

bestrahlten Kontrolltier eine deutliche Pigmentierung. Diese Pigmentierung blaßt im Laufe der Zeit, wie das auch beim Menschen bekannt ist, wieder ab.

Diskussion der Versuchsergebnisse

Die Haut haarloser Mäuse zeigt bei UV-Bestrahlung in mancher Hinsicht ein qualitativ ähnliches Verhalten wie die menschliche Haut, so daß haarlose hr-hr-Mäuse als Versuchsmodelle für verschiedene Experimente mit Sonnenbadepräparaten herangezogen werden können. Dies gilt vor allem dann, wenn man als Folge der UV-Einstrahlung kein Erythem als Schädigungsfolge erwartet und als solche das Hautödem heranzieht. Ein Hautödem gehört auch zum Bild des Sonnenbrandes beim Menschen.

Die Versuche haben ergeben, daß sich das UV-Ödem der haarlosen Maus nach UV-Bestrahlung gut dosieren läßt. Es ist deshalb möglich, Reaktionen verschiedener Stärke zu messen, wie das für die Ermittlung von Lichtschutzfaktoren nötig ist. Andererseits ist eine geeignete Vordosierung des Schadens nötig, je nachdem, ob man phototoxische bzw. sonnenbrandmildernde Wirkungen untersucht.

Es ist seit langem bekannt, daß die Resorptionsfähigkeit der Haut unterschiedlich ist, je nachdem, ob sie sich im Normalzustand oder in einem Zustand der Entzündung befindet. Man hat diesem Umstand bislang bei der Verträglichkeitsprüfung dergestalt Rechnung getragen, daß man die Produkte nicht nur an intakter, sondern auch skarifizierter Haut prüfte. Eine solche Prüfung von Produkten ist aber im Falle von kosmetischen Präparaten, die allenfalls auf die UV-geschädigte Haut aufgetragen werden, unbefriedigend, und wir glauben, daß das beschriebene Modell sehr viel zuverlässigere Aussagen machen wird, zumal im Modell die gleiche Schädigung wie in der Praxis vorliegt. Produkte, die in dieser Versuchsanordnung insbesondere an UV-vorgeschädigter Haut nicht völlig reaktionslos vertragen werden, können in der Praxis bei Personen mit normaler Hautbeschaffenheit durchaus zufriedenstellend vertragen werden.

Die Möglichkeit, Pigmentierungsstudien an einem tierexperimentellen Modell durchführen zu können, eröffnet der Kosmetikwirkstoffforschung eine Reihe interessanter Möglichkeiten, auf die zunächst nicht näher eingegangen werden soll.

Frl. Rosi Südkamp danke ich für die gewissenhafte Durchführung der experimentellen Untersuchungen.

Zusammenfassung

Das UV-Ödem bei der haarlosen Maus ist ein Prüfmodell, das bei der Hautverträglichkeitsprüfung kosmetischer Produkte verwendet werden kann. Es ist auch als Sonnenschutzmodell geeignet.

Literatur

- (1) Wilhelmi, G., Über die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreihe, *Schweiz. Med. Wschr.*, **79**, 577—582 (1949).
- (2) Winder, C. V., Wax, J., Burr, V., Been, M., and Rossiere, C. E., A study of pharmacological influences on ultraviolet erythema in guinea-pigs, *Arch. int. pharmacodyn.*, **116**, 261—292 (1958).
- (3) Gloxhuber, Ch., A new inflammation model, *Arzneimittel-Forsch. (Drug Research)*, **26**, 43—45 (1976).
- (4) Schütz, E., Über tierexperimentelle Hautverträglichkeitsprüfungen, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Berlin*, **266**, 448—449 (1970).
- (5) Schmid, O., Tierexperimentelle Untersuchungen zur Hautverträglichkeit, *J. Soc. Cosmetic Chemists*, **21**, 835—843 (1970).
- (6) Denton, C. R., Lerner, A. B., and Fitzpatrick, T. B., Inhibition of melanin formation by chemical agents, *J. Invest. Derm.*, **18**, 119—135 (1952).
- (7) Bleehen, S. S., Pathak, M. A., Hori, Y., and Fitzpatrick, T. B., Depigmentation of skin with 4-isopropylcatechol, mercaptoamines, and other compounds, *J. Invest. Derm.*, **50**, 103—117 (1968).
- (8) Gellin, G. A., Possick, P. A., and Perone, V. B., Depigmentation from 4-tertiary butyl catechol — an experimental study, *J. Invest. Derm.*, **55**, 190—197 (1970).
- (9) Forbes, P. D., and Urbach, F., Vascular and Neoplastic Changes in Mice Following Ultraviolet Radiation, in Urbach, F., *The Biologic Effects of Ultraviolet Radiation*, Pergamon Press, Oxford, 279—289 (1969).

Im April 1975 wurde in Oberursel das Deutsch-Schwedische Symposium „Photochemotherapie - Grundlage, Technik und Nebenwirkungen“ „Photochemotherapy - Basis Technique and Side Effects“ abgehalten, auf dem über Probleme der Photomedizin gesprochen wurde. Insbesondere wurden Vorzüge und Nachteile der *Photochemotherapie der Psoriasis* eingehend diskutiert (UV-Strahlung und UV-Sensibilisatoren). Im Anschluß an diese Tagung wurde auf dem Kongreß der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft in Nürnberg mit besonderer Blickrichtung auf das o. g. Thema eine Erklärung verabschiedet, die von Prof. Dr. E. Fahr, Mainz, verlesen wurde. Sie hat folgenden Wortlaut:

Erklärung auf dem Dermatologen-Kongreß in Nürnberg 1975

Es muß nachdrücklich betont werden, daß die Psoralen/Licht-Therapie von größter Bedeutung für die Dermatologie, aber auch für andere Zweige der Medizin und Biologie werden kann. Bevor diese Methode jedoch in die allgemeine dermatologische Praxis übernommen werden sollte, bedarf es noch sehr detaillierter dermatologischer, chemischer und molekularbiologischer Untersuchungen.