

Zusammenfassung

Zur Behandlung von Darm- und Hauterkrankungen sind neben der klinischen Evaluation technische Hilfsmittel notwendig, die genaue Diagnosen ermöglichen. Dazu wiederum bedarf es einer Kombination aus dem Grundverständnis der biologischen Materie und der verwendeten Messtechnik.

In dieser Arbeit wurde als klinisch relevantes Modellsystem die rekonstruierte humane Epidermis untersucht. Insbesondere der Beitrag von Tight Junctions (TJ) – Zell-Zell-Verbindungen, die Molekültransport regulieren und vor Wasserverlust schützen - zur epidermalen Barriere sollte hierbei analysiert werden. Dazu wurde elektrochemische Impedanzspektroskopie verwendet, welche sowohl in der Dermatologie als auch bei Untersuchung von Darmepithelien Anwendung findet.

Vor allem bei der Untersuchung der Hautbarriere mittels Impedanzspektroskopie mangelt es an einem einheitlichen elektronischen Modell der Haut, welches die Morphologie der Haut mit ihren Transporteigenschaften in Einklang bringt. Deswegen wurde einerseits die bereits etablierte Ussing-Kammer basierte Impedanzspektroskopie auf Untersuchungen von RHE angepasst und auf Grundlage dieser Ergebnisse das elektronische Modell der Epidermis entworfen. Dabei wurde offengelegt, dass das Stratum Corneum (die verhornte Zellschicht) und die darunter liegende vitale Epidermis als separate Barriere-Komponenten fungieren. Im Impedanz-Spektrum sind sie durch zwei klar voneinander getrennte Relaxationsfrequenzen bei ca. 100 Hz und 1000 Hz zu erkennen.

Die Simulation ermöglichte zudem die bereits gut beschriebene Morphologie der Epidermis mit ihren elektrischen Eigenschaften zu korrelieren. Dabei wurde bestätigt, dass die Gap Junctions, Zell-Zell-Verbindungen für den interzellulären Transport, in der Epidermis nicht nur exprimiert werden, sondern auch aktiv an den Transportprozessen sind.

Weiterhin wurden Faktoren identifiziert, welche die Messung unter *in vivo* Bedingungen beeinträchtigen können, um so eine Grundlage zur Optimierung von Messsystemen für Haut zu liefern. So konnte gezeigt werden, dass im Falle von *in vivo* Epidermis-Messungen, Haarfollikeln und Poren die genaue Vermessung der Epidermis erschweren, indem sie einen alternativen Stromweg darstellen und damit den Widerstand der Epidermis kurzschließen können.

Um dies zu umgehen, wurde die Möglichkeit einer orts aufgelösten Leitfähigkeitsmessung, die auf Oberflächen-Plasmonen-Resonanz basiert, an Epithelien geprüft. Hierbei wurde eine einschichtige Epithelien-Zelllinie verwendet. Damit konnte die Möglichkeit der getrennten Messung von trans- und parazellulärem Stromweg gezeigt werden.

Die Erkenntnisse dieser Arbeit und die vorgestellten Methoden liefern neue Möglichkeiten zur Untersuchung der Hautbarriere. Mithilfe des vorgestellten Modells der Epidermis und der innovativen Leitfähigkeitsmessung ließen sich zukünftig leistungsfähigere Messsysteme bauen.

Zudem kann man mit dem hier verwendeten Impedanz-Messsystem untersuchen ob und wie tief Substanzen in die Haut eindringen können, die topischⁱ appliziert wurden. Dies wurde hier anhand von topischer Applikation von Aceton und hyperosmolarem Elektrolytⁱⁱ gezeigt. Damit kann die Messmethode sowohl für die Behandlung diverser dermatologischer Krankheitsbilder als auch in der ästhetischen Medizin von Bedeutung sein.

ⁱ topisch: örtlich (begrenzt), äußerlich, bezogen auf die Anwendung von Arzneimitteln, die nicht geschluckt oder injiziert, sondern lokal verabreicht werden

ⁱⁱ hypersomolar in Bezug auf den physiologischen Elektrolythaushalt in der Haut

Abstract

For the treatment of intestinal and skin diseases, in addition to the clinical evaluation, technical aids are necessary to enable an accurate diagnosis. This in turn requires a combination of a basic understanding of biological matter and the measurement technology used.

In this work, the reconstructed human epidermis was examined as a clinically relevant model system. In particular, the contribution of tight junctions (TJ) - cell-cell connections that regulate molecule transport and protect against water loss - to the epidermal barrier was analysed. For this purpose, electrochemical impedance spectroscopy was performed, which is commonly used both in dermatology and in the barrier assessment of intestinal epithelia.

Especially when examining the skin barrier by means of impedance spectroscopy, there is a lack of a uniform electronic skin model that reconciles the morphology of the skin with its transport properties. Therefore, the already established Ussing chamber-based impedance spectroscopy was adapted to RHE measurements and the electronic model of the epidermis was designed based on these results. It was revealed that the stratum corneum and the underlying epidermis act as separate barrier components. In the impedance spectrum they can be recognized by two clearly separated relaxation frequencies at around 100 Hz and 1000 Hz.

The simulation also made it possible to correlate the established morphology of the epidermis with its electrical properties. It was confirmed that the gap junctions, cell-cell connections for intercellular transport, in the epidermis are not only expressed, but are also actively involved in the transport processes.

Furthermore, to provide a basis for optimizing measurement systems for skin barrier assessment, factors were identified that could impair the measurement under *in vivo* conditions. It could be shown that in the case of *in vivo* epidermis measurements, hair follicles and skin pores are making the measurement of the epidermis less precise by offering an alternative current path as a potential short circuit in the epidermis.

To avoid this, the possibility of a spatially resolved conductivity measurement based on surface plasmon resonance was tested on epithelia. For this a single-layer epithelial cell line was used. The possibility of separate measurement of the trans- and paracellular current path could be shown.

The findings of this work and the methods presented provide many new possibilities for investigating the skin barrier. With the help of the proposed epidermal model and the innovative conductivity measurement, improved measurement systems could be built in the future. In addition, the impedance measuring system used here can be used to examine whether and how deep substances that have been applied topicallyⁱ can penetrate the skin. This was demonstrated here using topical application of acetone and hyperosmolarⁱⁱ electrolyte. This measurement method could therefore be of relevance for the development of treatment for various dermatological diseases as well as in aesthetic medicine.

ⁱ topical: local, external, referring to the use of drugs that are not swallowed or injected but applied locally

ⁱⁱ Hyperosmolar with respect to the physiological concentration of electrolyte in skin