

Bestimmung der Biokompatibilität und antioxidativen Wirkung einer Vitamin-E-haltigen Funktionstextilie für Atopiker mit Hilfe unterschiedlicher in vitro Testverfahren

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Enya Koch

Gutachter

- 1. PD Dr. Uta-Christina Hipler, Jena**
- 2. Prof. Dr. Wolfgang Pfister, Weimar**
- 3. Prof. Dr. Uwe Wollina, Dresden**

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.02.2023

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
μ	Mikro (10 ⁻⁶)
μL	Mikroliter
A	Wachstumsfläche
AD	Atopische Dermatitis
AMP	Adenosinmonophosphat
Aqua dest.	Aqua destillata, destilliertes Wasser
ATP	Adenosintriphosphat
BCA	Bicinchoninsäure
bExt	basischer Extrakt
BGS98	Bundesgesundheits-Survey 1998
BLK	Substanzkontrolle
BSA	Bovines Serum Albumin
bSL	basische Schweißlösung
Bw	Baumwollgarn gelb
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
DEGS1	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland - Welle 1
DIN, das	Deutsches Institut für Normung e. V.
DIN, die	Deutsche Industrie-Norm
DMEM	Dulbecco's modifiziertes Eagle Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
EASI	Eczema Area Severity Index
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELS	extra-long staple; extralange Fasern
EN	Europäische Norm
Fa.	Firma
FKS	Fetales Kälberserum
Fktsg	Funktionsfasergarn weiß
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung

gZZ	gezählte Zellzahl
h	Stunde
HaCaT	H uman a dult low C alcium high T empera- ture
IGA	Investigator's Global Assesment
IgE	Immunglobulin E
INT	Iodonitrotetrazolium violet
ISO	International Organization for Standar- dization; internationale Normierungsorga- nisation
IU	International unit
KiGGS	Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland
LA(-Standard)	L-Ascorbinsäure (-Standard)
LDH	Lactatdehydrogenase
Lot. Nr.	Chargennummer
LZP	Lebenszeitprävalenz
M*	Medium/Zellkulturmedium
M	Mol
m	Meter
mg	Milligramm
min	Minute
mL	Milliliter
mM	Millimolar
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mmol	Millimol
MTP	Mikrotiterplatte
NAD(P)H	Nicotinamidandenedinukleotide(phos- phat)
Nm	metrische Nummer bezeichnet die Garn- feinheit (1 Nm: 1 Meter pro 1 Gramm Garn)
nm	Nanometer

nM	nanomolar
Nr.	Nummer
O ₂ ^{•-}	Superoxidanionradikal
PBS	Phosphate Buffered Saline (phosphatgepufferte Salzlösung)
PK*	Positivkontrolle
PK	Pholasin®-Kontrolle
Ppi	Pyrophosphat
PSF	Pen/Strep/Fungizon
PUFA	polyunsaturated fatty acid, mehrfach ungesättigte Fettsäure
PUVA	Psoralen plus UVA (Photochemotherapie)
R&A-Puffer	Reconstitution & Assay-Puffer
R ^{1, 2, 3}	Rest ^{1, 2, 3}
R ^{2*}	Spearman's Rangkorrelationskoeffizient
Ref. Nr.	Referenznummer
RLU	relative Lumineszenzeinheit
RNS	reactive nitrogen species; reaktive Stickstoffspezies
RO [•]	Alkoxyradikal
ROH	Alkohol
ROO [•]	Peroxyradikal
ROOH	Lipidperoxid
ROS	reactive oxygen species ; reaktive Sauerstoffspezies
rpm	rounds per minute; Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
<i>S. aureus</i>	Staphylococcus aureus
SB	spezifische Blanks
SCORAD	Severity Scoring of Atopic Dermatitis
sExt	sauerer Extrakt

SIN-1	3-morpholino-syndnonimine HCl, C ₆ H ₁₀ N ₄ O ₂ *HCl
SL	Schweißlösung
sSL	saure Schweißlösung
STD	Standard
TH2-Zelle	T-Helfer-Zelle vom Typ 2
UVA 1	UVA 1 Phototherapie (mit UVA-Strahlung >340 nm)
UVA	Ultraviolettstrahlung mit 315-380 nm
UVB	Ultraviolettstrahlung mit 280-315 nm
V	Volumen
VEA	Vitamin E Analogon (6-Hydroxy-2,5,7,8- tetramethyl-chorman-2-carboxylsäure)
Z	Zellen hier HaCaT-Keratinocyten
ZZ	Zellzahl
α	alpha
αTTP	α-Tocopherol-Transport-Protein
β	beta
γ	gamma
δ	delta

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung.....	3
2.1	Die menschliche Haut	3
2.1.1	Die Epidermis	4
2.1.2	Die Hornschicht - Stratum corneum	4
2.2	Vitamin E.....	5
2.2.1	Vorkommen und Verwendung	6
2.2.2	Aufgaben und Funktionen.....	6
2.2.3	Das synergistische Antioxidationssystem der Haut	6
2.3	Atopische Dermatitis	8
2.3.1	Definition.....	8
2.3.2	Epidemiologie	8
2.3.3	Symptome.....	10
2.3.4	Diagnosekriterien	10
2.3.5	Ätiologie und Pathogenese	11
2.3.6	Therapie und Prävention.....	14
2.4	Textilien und die Bedeutung für die Haut	15
2.5	Biokompatibilität.....	17
2.6	HaCaT-Keratinocyten für die Biokompatibilitätsuntersuchungen	20
3	Ziele der Arbeit.....	21
4	Material und Methoden	23
4.1	Materialien	23
4.1.1	Geräte.....	23
4.1.2	Chemikalien für die Biokompatibilitätsuntersuchungen.....	23

4.1.3	Chemikalien für die Untersuchungen auf eine antioxidative Wirkung.....	24
4.1.4	Verbrauchsmaterialien	26
4.1.5	Biologisches Material.....	26
4.1.6	Textilien	27
4.2	Methoden für die Biokompatibilitätsuntersuchungen.....	30
4.2.1	Herstellung der Textilextrakte für die Biokompatibilitätsuntersuchungen	30
4.2.2	Herstellung des Zellkulturmediums.....	30
4.2.2.1	Zellzahlbestimmung.....	31
4.2.2.2	Einsaat der HaCaT-Keratinocyten in die Mikrotiterplatten	32
4.2.3	Testprinzip des ATPlite™-M Test Kits	33
4.2.4	Testprinzip des CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay zur Bestimmung der Lactatdehydrogenase.....	35
4.2.5	Proteinbestimmung mittels BC Assay Protein Quantitation Kit	37
4.3	Methoden für die Untersuchungen zur antioxidativen Wirksamkeit.....	39
4.3.1	Testprinzip ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit.....	39
4.3.2	Testprinzip ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale.....	42
4.3.3	Herstellung der Textilextrakte für die Untersuchungen zur antioxidativen Wirkung gegen RNS und ROS.....	44
4.3.4	Herstellung der Schweißlösungen	44
4.3.5	Antioxidative Wirkung gegen ROS in saurer und basischer Schweißlösung	46
4.3.6	Herstellung der Textilextrakte in saurer und basischer Schweißlösung	46
4.3.7	Antioxidative Wirkung gegen ROS mit Textilextrakten in saurer und basischer Schweißlösung	47
4.3.8	Antioxidative Wirkung bei Textilextrakten in Ethanol	48

4.4 Statistik	48
5 Ergebnisse.....	49
5.1 Untersuchungen zum Einfluss der Textilextrakte <i>in vitro</i> auf ihre Biokompatibilität	49
5.1.1 Untersuchungen zum Einfluss der 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinozyten unter sterilen Bedingungen.....	50
5.1.1.1 Bestimmung des ATP-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb.....	50
5.1.1.2 Bestimmung des LDH-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb.....	52
5.1.1.3 Bestimmung des Proteingehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb.....	54
5.1.2 Untersuchungen zum Einfluss der 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinozyten unter sterilen Bedingungen	56
5.1.2.1 Bestimmung des ATP-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß	56
5.1.2.2 Bestimmung des LDH-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß	58
5.1.2.3 Bestimmung des Proteingehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß	60
5.1.3 Zusammenfassung der Biokompatibilitätsergebnisse	61
5.2 Untersuchungen der Textilproben und Textilextrakte <i>in vitro</i> auf ihre antioxidative Wirkung gegen freie Radikale	63
5.2.1 Untersuchungen der Textilproben und Textilextrakte <i>in vitro</i> gegen die reaktiven Stickstoffspezies RNS	63
5.2.1.1 Antioxidative Wirkung der herausgestanzten Textilproben gegen RNS.....	63

5.2.1.2	Antioxidative Wirkung der herausgestanzten eingeweichten Textilproben gegen RNS	65
5.2.1.3	Antioxidative Wirkung des Vitamin E Analogon in unterschiedlichen Lösungsmitteln gegen RNS	66
5.2.1.4	Antioxidative Wirkung der Baumwollgarntextilextrakte gelb und Funktionsfasergarntextilextrakte weiß in saurer Schweißlösung gegen RNS.....	67
5.2.1.5	Antioxidative Wirkung des Baumwollgarntextilextrakts gelb und Funktionsfasergarntextilextrakts weiß in basischer Schweißlösung gegen RNS.....	69
5.2.1.6	Antioxidative Wirkung des nicht autoklavierten Baumwollgarntextilextrakts gelb und des nicht autoklavierten Funktionsfasergarntextilextrakts weiß gegen RNS.....	71
5.2.2	Untersuchungen der Textilproben und Textilextrakte <i>in vitro</i> gegen die reaktive Sauerstoffspezies ROS und andere freie Radikale.....	72
5.2.2.1	Antioxidative Wirkung der herausgestanzten Textilproben gegen ROS.....	72
5.2.2.2	Antioxidative Wirkung der Baumwollgarntextilextrakte gelb und Funktionsfasergarntextilextrakte weiß in saurer Schweißlösung gegen ROS	73
5.2.2.3	Antioxidative Wirkung der Baumwollgarntextilextrakte gelb und Funktionsfasergarntextilextrakte weiß in Ethanol gegen ROS.....	76
5.2.2.4	Antioxidative Wirkung des nicht autoklavierten Baumwollgarntextilextrakts gelb und des nicht autoklavierten Funktionsfasergarntextilextrakts weiß gegen ROS.....	78
5.2.3	Zusammenfassung der Ergebnisse zur antioxidativen Wirkung.....	79

6 Diskussion und Schlussfolgerung 81

6.1 Schlussfolgerung	94
7 Literaturverzeichnis	97
8 Anhang.....	109
8.1 Abbildungsverzeichnis	109
8.2 Tabellenverzeichnis	115
8.3 Danksagung.....	120
8.4 Ehrenwörtliche Erklärung	121

1 Zusammenfassung

Die Haut als bis zu 2 m² großes Grenzorgan übernimmt unterschiedliche lebensnotwendige Funktionen. Bei Atopikern ist die Haut aufgrund verschiedener Faktoren anfälliger für Reize unterschiedlichster Art. Bekleidungstextilien bilden dabei eine Art zweite Haut und können eine große Rolle bei pathologischen Hautveränderungen spielen. Bei der Prävention und Therapie der Atopischen Dermatitis spielen die konsequente Vermeidung jeglicher Provokationsfaktoren eine wichtige Rolle, wobei die Textilien ein wichtiger Teil der Provokationsfaktoren darstellen können. Deswegen hat die Industrie mittlerweile unterschiedliche Funktionstextilien hervorgebracht, die vor allem die empfindliche Haut von Atopikern weniger reizen beziehungsweise schützen soll (Gauger et al. 2003, Knittel et al. 2004).

Ziel der Arbeit war es die Funktionstextilien, welche unterschiedliche Anteile an Vitamin-E-haltigen Funktionsfasergarn aufwiesen, *in vitro* auf ihre Biokompatibilität gegenüber HaCaT-Keratinocyten und auf ihre antioxidative Wirkung gegenüber reaktive Stickstoff- und Sauerstoffspezies zu untersuchen.

Für die Biokompatibilitätsuntersuchungen wurden Textilextrakte gemäß der DIN-EN-ISO 10993-5 und -12 mit einer aufsteigenden Textilextraktkonzentration sowie einer steigenden Textilextraktionszeit von 24 h und 72 h im Schüttelwasserbad hergestellt. Die HaCaT-Keratinocyten wurden mit den unterschiedlichen Textilextrakten 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb und 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarn-textilextrakt weiß 1 h, 24 h und 48 h inkubiert. Anschließend erfolgten entsprechende Biokompatibilitätsuntersuchungen. Um eine mögliche zytotoxische Wirkung sicher erkennen zu können, wurden diese Untersuchungen der Textilextrakte in unabhängigen Ansätzen mit verschiedenen Methoden durchgeführt. Dabei wurden die HaCaT-Keratinocyten hinsichtlich des ATP-Gehaltes mit dem ATPlite™-M von Perkin Elmer, LDH-Gehalt mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay G1780 von Promega und auf den Proteingehalt mit dem BC Assay Protein Quantitation Kit von Uptima untersucht. Es konnte im Rahmen dieser Biokompatibilitätsuntersuchungen keine zytotoxische Wirkung des 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarn-textilextrakt weiß gegenüber den HaCaT-Keratinocyten festgestellt werden. Die angewendeten Biokompatibilitätsuntersuchungen sind etablierte und seit vielen Jahren bewährte Methoden, um eine mögliche zytotoxische Wirkung auf die Zellkultur zu detektieren.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden die Textilien bezüglich ihrer antioxidativen Wirkung gegen die reaktiven Stickstoff- und Sauerstoffspezies (RNS und ROS) untersucht. Diese Textilproben und Textilextrakte wurden anschließend mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit und dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited in mehreren unabhängigen Ansätzen untersucht.

Für die Biofunktionalitätsuntersuchungen wurden die Textilproben aus Baumwolle und Funktionsfasergarnen, die unterschiedliche Konzentrationen an Vitamin-E-haltigen Fasern enthielten, ausgestanzt. Die ausgestanzten Textilproben zeigten keine antioxidative Wirkung gegenüber RNS und ROS. Es erfolgte die sterile Herstellung von 24 h-Textilextrakten mit einer Konzentration von 0,02 g/mL aus Baumwollgarn gelb (Nullprobe ohne Vitamin E-Faser) und Funktionsfasergarn weiß (100 % Funktionsfasergarn mit 20 % Vitamin E-Faser). Die 24 h-Textilextrakte aus Baumwollgarn gelb und Funktionsfasergarn weiß wurden in saurer und basischer Schweißlösung sowie Ethanol hergestellt, wobei die 24 h-Textilextrakte aus Funktionsfasergarn weiß keine antioxidative Wirkung gegenüber RNS und ROS zeigten. Die 24 h-Textilextrakte aus Funktionsfasergarn weiß zeigten nach einer Konzentrationserhöhung auf 0,2 g/mL ohne vorheriges Autoklavieren in R&A-Puffer eine deutliche konzentrationsabhängige antioxidative Wirkung gegen RNS und ROS.

Zusammenfassend konnte die Arbeit zeigen, dass die untersuchte Vitamin-E-haltige Funktionstextilie *in vitro* nicht zytotoxisch wirkte und dass das in die Funktionstextilie eingearbeitete Vitamin E *in vitro* nachweisbar antioxidativ wirksam war.

2 Einleitung

2.1 Die menschliche Haut

Das größte Grenzorgan zwischen unserem Körper und der Umwelt bildet die menschliche Haut mit einer Fläche von ca. 2 m². Dabei übernimmt sie wichtige Funktionen, die von Schutz vor Außeneinwirkungen, wie z. B. Temperatur und Traumata über die erste Immunabwehr gegen Bakterien, Viren und Parasiten bis zu den Sinnesfunktionen wie Berührung und Schmerzempfinden reichen (Yamazaki et al. 2017, Deller 2018).

Die Haut ist wie ein mehrschichtiges Gerüst aufgebaut. Oben befindet sich die Epidermis, die auch Oberhaut genannt wird, danach folgt die Dermis, welche auch als Lederhaut bezeichnet wird. Nach der anatomischen Nomenklatur werden nur die Dermis sowie die Epidermis als Haut (=Kutis) bezeichnet. Unter der Kutis folgt die Subkutis, welche auch als Unterhaut bezeichnet wird. Je nach Lokalisation der Haut am Körper weist sie unterschiedliche Funktionsorgane wie Hormonrezeptoren und Tastkörperchen sowie Adnexorgane wie Schweiß- und Talgdrüsen, Haare und Nägel auf (Deller 2018).

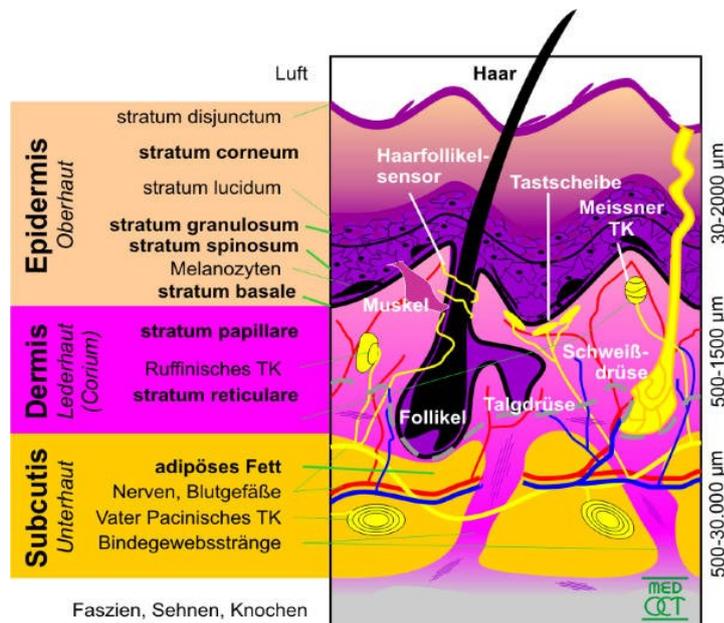


Abbildung 1 Aufbau der menschlichen Haut <https://www.doccheck.com/de/detail/photos/4558-aufbau-der-menschlichen-haut-schema> (abgerufen am 11.02.2022)

2.1.1 Die Epidermis

Sie besteht zu über 90 % aus Keratinozyten. Diese bilden das Gerüst für die restlichen 10 % der Zellen wie Langerhanszellen, Melanozyten und Merkelzellen, die in einer Symbiose in der Epidermis leben. Die Epidermis selbst weist unterschiedliche funktionelle und morphologische Charakteristika auf, die den unterschiedlichen Differenzierungsstadien der Keratinozyten entsprechen (Deller 2018, Goebeler und Hamm 2017).

Die Epidermis ist von oben beginnend in den folgenden Schichten aufgebaut: Stratum corneum, Stratum lucidum, welches sich nur in der Leistenhaut befindet, Stratum granulosum, Stratum spinosum und Stratum basale. Die Keratinozyten durchlaufen aktiv einen Differenzierungsvorgang. Sie werden durch die Mitose der Stammzellen im Stratum basale gebildet. Die Loslösung der Keratinozyten erfolgt einzeln, unabhängig und aktiv. Sie benötigen vom Stratum basale bis zum Stratum spinosum 14 Tage. Die Entdifferenzierung erfolgt synchron im Stratum granulosum. Von dort aus geht es im Zellverband bis nach oben ins Stratum corneum. Insgesamt benötigt ein Keratinozyt von der Bildung bis zum Ende als ausdifferenzierter „toter“ Korneozyt ca. einen Monat (Fritsch und Schwarz 2018).

2.1.2 Die Hornschicht - Stratum corneum

Die Hornschicht das sogenannte Stratum corneum bildet eine ca. 10 µm, an den Händen und Füßen ca. 100 µm, dünnes, durchscheinendes und für hydrophile Substanzen kaum durchlässiges Häutchen. Dieses Häutchen schützt die Epidermis wie eine Plastikfolie und ist gegen chemische und physikalische Noxen sehr widerstandsfähig. Organische Lösungsmittel und Detergenzien können einen Schaden an dieser Barriere verursachen. Im äußersten Stratum corneum kommt es durch Enzyme zu einem Abbau von Desmosomen und Zement. So lösen sich die Hornzellen ca. 10^8 Korneozyten/Tag einzeln und unmerklich ab. Die Korneozyten bestehen aus Keratinfilament, die sich in einer Proteinmatrix befinden (Fritsch und Schwarz 2018). Sie werden von einem starren Cornified Envelope (=Hornhülle) umhüllt (Simon und Green 1984). Die Keratinfilamente werden durch Filaggrinmoleküle zusammengehalten. Die Abbauprodukte der Filaggrinmoleküle sind wichtige natürliche Feuchthaltefaktoren, die auch den sauren pH-Wert der Haut regulieren (Tsakok et al. 2019). Das Stratum corneum ist für oxidativen Stress, der z. B. durch Ozon produziert wird, anfällig (Thiele et al. 1997). Deshalb weist es als äußerste Barriere zur Umwelt ein synergistisch wirkendes

antioxidatives System auf. Dieses antioxidative System enthält unter anderem α -Tocopherol, welches als das biologisch aktive Hauptvitamin und wichtigstes Antioxidans in der Haut angesehen wird (Thiele et al. 2001, Thiele 2001).

2.2 Vitamin E

Das fettlösliche Vitamin E wurde erstmals als Substanz X bei einer Fruchtbarkeitsuntersuchung von Ratten beschrieben (Evans und Bishop 1922). 1924 wurde die Substanz X zu dem bekannten Vitamin E umbenannt (Sure 1924). Später wurde es aus Weizenkeimöl extrahiert und als α -Tocopherol bezeichnet (Evans et al. 1936). 1938 wurde die Strukturformel (Fernholz 1938) sowie die Synthese (Karrer et al. 1938) von α -Tocopherol beschrieben. Neben der antioxidativen Wirkung und weiteren Funktionen inhibiert Vitamin E z. B. die Proteinkinase C (Mahoney und Azzi 1988).

Vitamin E ist ein Sammelbegriff für eine Familie von unterschiedlichen Strukturen: Tocopherole mit gesättigter Seitenkette, Tocomonoenole, marine Tocopherole sowie Tocotrienole.

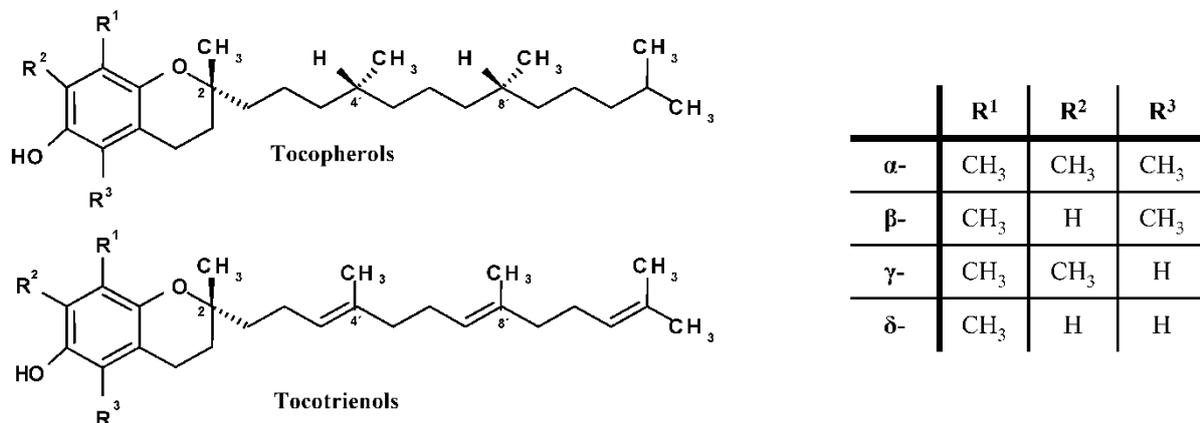


Abbildung 2 Strukturformeln für Tocopherole und Tocotrienole mit den Resten R^{1,2,3} (Rimbach et al. 2010)

Das von Pflanzen synthetisierte Vitamin E ist eine Mischung aus Tocopherolen und Tocotrienolen. Die Derivate weisen alle chemisch an Position 6 einen Chromanring sowie eine aliphatische Seitenkette auf. Die vier homologen Tocopherole α , β , γ und δ weisen eine gesättigte Seitenkette auf während die Tocotrienole eine ähnliche Seitenkette mit je 3 Doppelbindungen aufweisen. Die verschiedenen Tocopherole und -trienole werden nach der Position und der Nummer der CH₃-Reste am Phenolring bezeichnet: α , β , γ und δ . Dieser strukturelle Unterschied bestimmt die biologische Aktivität, welche bei α -Tocopherol am höchsten ist. Der menschliche Körper kann am besten

α -Tocopherol speichern, weil sich das α -Tocopherol-Transport-Protein α TTP in der Leber befindet (Rimbach et al. 2002).

2.2.1 Vorkommen und Verwendung

Vitamin E findet man in Ölen wie Weizenkeimöl und in anderen Lebensmitteln wie z. B. in Reiskleie, Gerste, Hafer und Kokosnuss. Es wird auch als Antioxidationsmittel in Lebensmitteln unter den E-Nummern E306-E309 verwendet (Abele et al. 2011). Des Weiteren ist Vitamin E in verschiedenen Kosmetika wie in Sonnenschutzmitteln und Hautpflegeprodukten enthalten (Fiume et al. 2018).

2.2.2 Aufgaben und Funktionen

Einer der wichtigsten Aufgaben von Vitamin E ist die als Antioxidans und die Rolle in einem synergistisch wirkenden Antioxidationssystem in der Haut (Thiele et al. 2001). Abgesehen davon spielt Vitamin E in der Steuerung der Gonaden eine Rolle, weshalb es auch als Antisterilitätsvitamin bezeichnet wird (Mohd Mutalip et al. 2018). Es wirkt präventiv bei neurodegenerativen Erkrankungen (Schuelke et al. 1999, Adalier und Parker 2016) und chronischen Erkrankungen mit Entzündungsprozessen (Hayashi et al. 2012), die aufgrund von Oxidation entstehen, wie Atherosklerose (Witztum und Steinberg 1991, Kushi et al. 1996, Niki 2010, Niki 2018) und Krebs (Malafa et al. 2002, Weinstein et al. 2007). In einer klinischen Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die orale Aufnahme von Vitamin E über einen Zeitraum von acht Monaten eine Verbesserung bis hin zur Remission der AD sowie eine Verbesserung des Serum-IgE-Levelns zur Folge hatte (Tsourelis-Nikita et al. 2002).

2.2.3 Das synergistische Antioxidationssystem der Haut

Die α -Tocopherol-Konzentration ist in der Epidermis wesentlich höher als in der Dermis (Shindo et al. 1994). Das Stratum corneum weist ein antioxidatives System bestehend aus Vitaminen, Proteinen und Enzymen auf, um oxidativ wirkende Noxen abzufangen (Stoyanovsky et al. 1995).

Die reaktiven Stickstoffspezies RNS schließen als Sammelbegriff unterschiedliche Radikale mit ein: Peroxynitritanion ONOO^- , Stickstoffdioxidradikal NO_2^\bullet , Stickstoffoxidradikal NO^\bullet , Peroxylradikale ROO^\bullet und Alkoxyradikale RO^\bullet . Die reaktiven Sauerstoffspezies ROS sind auch ein Sammelbegriff und schließen viele verschiedene Radikale mit ein: Superoxidanionradikal $\text{O}_2^{\bullet-}$, Hydroxylradikale OH^\bullet , Peroxylradikale ROO^\bullet , Alkoxyradikale RO^\bullet , Ozon O_3 , Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$, hypochlorige Säure

HOCl und Wasserstoffperoxid H₂O₂ (Wiseman und Halliwell 1996). Diese Moleküle können die Lipidmembranen, mitochondriale Funktionen, Kollagenstrukturen und DNA schädigen. Keratinozyten und praktisch alle anderen Hautzellen sind in der Lage RNS und ROS zu bilden als Reaktion auf die unterschiedlichen Signale durch Luftverschmutzung, UV-Strahlen, Nahrungszusatzstoffe und Konservierungsmitteln, Kosmetika, Zytokine und Wachstumsfaktoren (Baek und Lee 2016). UVA- und UVB-Strahlen können durch Photooxidation die Bildung von ROS verursachen, was *in vivo* bei Mäusen gezeigt wurde (Shindo et al. 1993). Dabei scheinen die UV-Strahlen die größten Produzenten von RNS/ROS in unserer Haut zu sein. In *in vitro* Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass Vitamin E die Zellen vor dieser Peroxidation schützen konnte (Thiele et al. 2002).

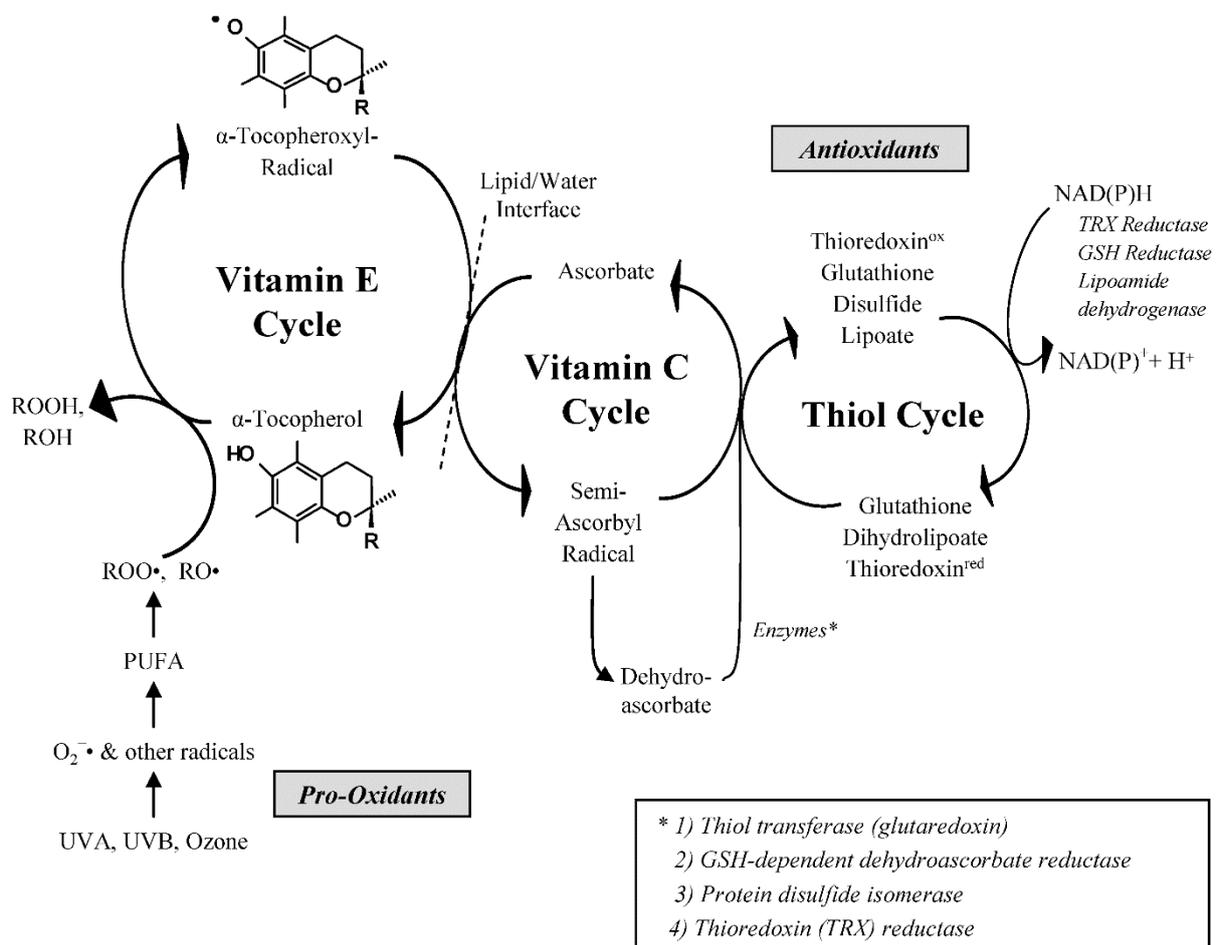


Abbildung 3 Synergistisches antioxidatives Netzwerk mit Vitamin E, Vitamin C und dem Thiol-Redox-Kreislauf. PUFA: polyunsaturated fatty acid/mehrfach ungesättigte Fettsäure; ROOH: Lipidperoxid; ROH: Alkohol; ROO[•]: Peroxylradikal; RO[•]:Alkoxyradikal; O₂^{-•}:Superoxidationradikal; NAD(P)H: Nicotinamideadeninedinucleotide(phosphat) (Rimbach et al. 2010)

Vitamin E reagiert sensibel auf Noxen wie UVA, UVB und Ozon. Man kann daher Vitamin E als sensiblen Biomarker verwenden, um die Belastung mit chemischen oder physikalischen Noxen anzuzeigen. So weist trockene Haut einen geringeren Gehalt an Vitamin E auf, wie sie beispielsweise bei AD zu finden ist (Thiele et al. 2001).

Bei einer gesunden Haut wird genügend Sebum produziert. Menschliches Sebum enthält viel Vitamin E, wodurch Vitamin E auf der Hautoberfläche verteilt wird, was wiederum eine wichtige Route für die Verteilung von Vitamin E ist (Ekanayake-Mudiyanselage et al. 2005). Die Natur fungiert hier als Vorbild und schützt die Haut selbst, indem sie topisch Vitamin E appliziert. Topisch appliziertes Vitamin E in Lotionen hilft die Integrität der Hautbarriere, vor oxidativem Stress z. B. als Lichtschutz vor UV-Strahlen von außen zu schützen (Lopez-Torres et al. 1998, Pelle et al. 1999). Auch Phagozyten, die in verletzte Haut z. B. bei AD leichter eindringen können, verursachen oxidativen Stress (Ginsburg 1998) sowie Bakterien wie *Streptokokken* und *Staphylokokken* (Miller und Britigan 1997) und der Pilz *Candida albicans* (Schröter et al. 2000) und sind damit mitverantwortlich für weitere Zellschäden und Entzündungen. Insgesamt unterstützen topisch applizierte Antioxidantien wie Vitamin E den Erhalt und die physiologischen Mechanismen einer gesunden Hautbarriere (Pelle et al. 1999, Thiele 2001).

2.3 Atopische Dermatitis

2.3.1 Definition

Nach der S2k-Leitlinie Neurodermitis ist die Neurodermitis – Synonyme sind Atopisches Ekzem oder Atopische Dermatitis - eine nicht kontagiöse Hauterkrankung, die chronisch-rezidivierend oder chronisch auftreten kann. Meistens geht diese Erkrankung mit einem starken Pruritus einher. Die Lokalisation und die Morphologie unterscheiden sich abhängig vom Alter des Patienten. Die Erkrankung zeigt sich in unterschiedlichen Schweregraden, wobei der Großteil der Patienten nur leichte Symptome hat (Werfel et al. 2016).

2.3.2 Epidemiologie

Die Angaben über die Prävalenz der Atopischen Dermatitis variieren weltweit stark. In Deutschland wurden Daten im Rahmen unterschiedlicher Gesundheitsstudien, **BGS98** und **DEGS1**, für 18- bis 79-Jährige und für 0- bis 17-Jährige Kinder in der **KiGGS** Welle 1 und 2 über die 12-Monats- und Lebenszeitprävalenz mit - „in den letzten 12

Monaten“ und „jemals“ von AD betroffen - erhoben (Thamm et al. 2018). Aus den Daten der KiGGS verbesserte sich die LZP gering von 13,2 % (Schlaud et al. 2007) zu 12,8 % (Thamm et al. 2018). Die 12-Monats-Prävalenz blieb annähernd gleich von 7,2 % (Schlaud et al. 2007) zu 7,0 % (Thamm et al. 2018). Die BGS98 und die DESG1 untersuchten Erwachsene im Alter von 18-79 Jahren. Dabei blieb die AD im Erwachsenenalter bei einer LZP von 3,1 % in der BGS98 und auf 3,5 % in der DEGS1 im Grunde gleich. Die LZP war in der Gruppe der 18- bis 29-Jährigen mit 6,5 % am höchsten und sank kontinuierlich bis auf 1,3 % in der Gruppe der 70- bis 79-Jährigen ab. Die AD ist häufiger im jungen Erwachsenenalter anzutreffen und bessert sich mit zunehmendem Alter (Langen et al. 2013). Weltweit zeigte sich eine regional stark unterschiedliche 12-Monats-Prävalenz von weniger als 2 % im Iran bis zu 16 % in Japan und 18,4 % in Schweden in der Gruppe der 6- bis 7-Jährigen. Bei den 13- bis 14-Jährigen erstreckte sich die Prävalenz von 1 % in Albanien bis 17 % in Nigeria. Die AD ist weltweit betrachtet ein Gesundheitsproblem, das sich mittlerweile auch auf die weniger entwickelten Länder erstreckt (Williams et al. 1999).

Die AD wird meistens erstmals in der Altersgruppe der 0- bis 2-Jährigen diagnostiziert. Dabei wird bei 60 % der Kinder die AD vor dem ersten Lebensjahr und bei 80 % vor dem sechsten Lebensjahr diagnostiziert (Fritsch und Schwarz 2018). Die Erkrankung AD stabilisierte sich auf diesem hohen Niveau von 7,0 % (Thamm et al. 2018). Der Verlauf kann schubförmig oder stationär verlaufen. Die meisten Kinder weisen eine milde Ausprägung der AD auf und meistens klingt diese bis zur Pubertät ab. Im Erwachsenenalter ist ein Beginn ebenso wie eine Wiederaufflammen möglich. Eine Analyse zur epidemiologischen Versorgung ergab, dass die AD in der Altersgruppe 0- bis 17-Jährigen mit 15,6 % die häufigste chronisch-entzündliche Erkrankung überhaupt war. Bei Erwachsenen war die AD die vierthäufigste Diagnose mit 14,5 %. Aufgrund der Häufigkeit der AD bei Kindern ergibt sich, dass AD eine große Bedeutung für die gesamte ambulante medizinische Versorgung hat und dass die AD keine reine Kinderkrankheit ist, da schließlich 60 % der Patienten Erwachsene sind. (Schmitt et al. 2009). Die Kosten für das Gesundheitssystem zur Behandlung von AD sind beträchtlich. So gaben die USA 2004 1628 Millionen Dollar für die Behandlung der AD aus (Bickers et al. 2006).

2.3.3 Symptome

Die AD zeigt sich abhängig vom Lebensalter und Stadium - akut/chronisch - unterschiedlich ausgeprägt. Sie kann von Ekzemen im Gesicht, des Kapillitiums, Streck- und Beugeekzeme, Handekzeme, Prurigoform oder in Minimalvarianten mit Ohrläppchenrhagaden, Perlèche, Cheilitis und Mamillenekzem reichen. Die Patienten weisen oft ein oder mehrere weitere Begleitsymptome wie eine verstärkte Fuß- und Handliniensezeichnung, periorale Blässe, Herthoghe-Zeichen, Dennie-Morgan-Falte und weißer Dermografismus auf (Goebeler und Hamm 2017, Fritsch und Schwarz 2018).

2.3.4 Diagnosekriterien

Nach der S2k-Leitlinie Neurodermitis (Werfel et al. 2016) haben sich die Diagnosekriterien von Hanifin und Rajka mit den vier Haupt- und 23 Nebenkriterien international durchgesetzt (Hanifin und Rajka 1980). Aufgrund der langen Liste der Nebenkriterien und der geringen Spezifität von 78 % werden die daraus entwickelten Diagnosekriterien der englischen Arbeitsgruppe von 1994 mit einem Haupt- und fünf Nebenkriterien mit einer Spezifität von 93 %, die auch für unterschiedliche Patientengruppen validiert wurden (Williams et al. 1994), empfohlen (Werfel et al. 2016). Nach Fritsch haben sich die Kriterien der Konsenskonferenz 2003 der American Academy of Dermatology (Eichenfield et al. 2003) im klinischen Alltag zur Diagnose einer AD bewährt (Fritsch und Schwarz 2018). Es erfolgte dabei eine Einteilung in drei Gruppen:

Tabelle 1 Diagnosekriterien der AD nach der Konsensuskonferenz der American Academy of Dermatology

Gruppe	Diagnosekriterien nach der Konsensuskonferenz der American Academy of Dermatology (Eichenfield et al. 2003)
Die erste Gruppe enthält die wesentlichen Merkmale, die vorhanden sein müssen.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pruritus 2. Ekzem (chronisch, subakut oder akut) <ol style="list-style-type: none"> a) Typ der Morphologie und altersspezifische Muster b) chronisch /rezidivierende Geschichte
Die zweite Gruppe enthält wichtige Merkmale, die meistens gesehen werden und die Diagnose stützen.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Frühes Alter bei Beginn der Erkrankung 2. Atopie <ol style="list-style-type: none"> a) mit persönlicher und/oder Familiengeschichte b) IgE-Aktivität 3. Xerose
Die dritte Gruppe enthält die zugehörigen Merkmale, die vorhanden sein können. Diese klinischen Assoziationen stützen die Diagnose einer AD, sind jedoch zu unspezifisch, um zur Definition oder Erkennung einer AD für Forschungszwecke oder epidemiologische Studien verwendet zu werden.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Atypische Gefäßreaktionen (Blässe im Gesicht, weißer Dermografismus, verzögerte Blanchreaktion) 2. Keratosis pilaris, hyperlineare Handflächen, Ichthyose, 3. Augen- / Periorbitalveränderungen 4. andere regionale Befunde (z. B. periorale Veränderungen / periaurikuläre Läsionen) 5. Perifollikuläre Akzentuierung, Lichenifikation, Prurigo-Läsionen

Die Schwere der Erkrankung wird mit unterschiedlichen Scores wie dem Investigator's Global Assessment (IGA), Eczema Area Severity Index (EASI) und dem Severity Scoring of Atopic Dermatitis (SCORAD) angegeben (Fritsch und Schwarz 2018).

2.3.5 Ätiologie und Pathogenese

Die gesamte Ätiologie der AD ist bislang nicht vollständig geklärt. Fest steht, dass die AD eine multifaktorielle Erkrankung ist, deren Ursache und Pathogenese durch verschiedene Umweltfaktoren, genetisch sowie immunologisch bedingt sein kann. Umweltfaktoren wie die individuelle Benutzung von Pflegeprodukten, Antibiotika (Dom et al. 2010), klimatische Bedingungen (Vocks et al. 2001, Sargen et al. 2014), UV-Licht (Garritsen et al. 2014), Luftverschmutzung (Ahn 2014, Kathuria und Silverberg 2016), Stadtleben (Schram et al. 2010) und westliche Ernährung (Ellwood et al. 2013, Zhang und Silverberg 2015) beeinflussen die Entstehung und Entwicklung der AD. Der

stärkste Prädispositionsfaktor ist eine positive Familienanamnese für AD (Nutten 2015, Davies et al. 2018). Diese positive Familienanamnese besteht bei ca. 67 % (Fritsch und Schwarz 2018) bis 75 % (Elmose und Thomsen 2015) der Patienten mit AD. Das Risiko eines Kindes eine AD zu entwickeln, vervielfacht sich, wenn beide Elternteile eine AD haben oder hatten. Des Weiteren sind Barrierestörungen, Dysregulation des Immunsystems, vermehrter oxidativer Stress sowie ein in seiner Diversität verändertes Hautmikrobiom Faktoren, die zu einer AD führen können. IgE spielt bei der Pathogenese der AD keine zwingende Rolle mehr, auch wenn Patienten einen erhöhten Gesamt-IgE-Serumspiegel aufweisen können. Die IgE-Serumspiegel sind bei fast 50 % der Patienten mit einer AD im Normalbereich. Mittlerweile wird angenommen, dass die AD wahrscheinlich ein Sekundärphänomen sein könnte und dass Autoantigene, nutritive und mikrobielle Antigene eine zellvermittelte Immunreaktion auslösen könnten, was zum Ausbruch einer AD führen könnte (Fritsch und Schwarz 2018).

Die Störung der Hautbarriere kann genetisch bedingt sein. Ein wichtiger Risikofaktor sind Genmutationen, die zu einem Defekt der epidermalen Barriere führen, wobei am wichtigsten die Nullmutationen des Filaggringens sind, wobei die zwei unabhängigen Nullmutationen R510X und 2282del4 am häufigsten vorkommen (Palmer et al. 2006), welche entweder zu einer fehlenden oder verminderten Synthese von biologisch aktivem Filaggrin führen, das für die Vernetzung, Flexibilität, Wasserbindung und einem niedrigem pH-Wert im Stratum corneum notwendig ist. Weniger Filaggrin bedeutet unter anderem einen Wasserverlust und Defekt in der epidermalen Barriere, der sich klinisch oft als Hauttrockenheit und Schuppung zeigt (Fritsch und Schwarz 2018). Eine durch einen neutralen bis alkalischen pH-Wert der Haut induzierte Aktivierung der Serinproteasen im Stratum corneum führt zur frühzeitigen Auflösung der Korneodesmosomen (Hachem et al. 2005). Des Weiteren werden Enzyme, die an der Ceramidsynthese beteiligt sind, durch Serinproteasen abgebaut, wodurch ein Ceramidmangel entsteht. Diese von Anfang an gestörte Hautbarriere erleichtert Irritanzien und Allergenen das Eindringen in den Körper (van Smeden et al. 2014, Boothe et al. 2017).

Eine Dysfunktion der Hautbarriere kann eine Entzündung weiter befeuern, indem z. B. das Thymus-Stroma-Lymphopoinetin und andere Zytokine durch Keratinozyten sezerniert werden. Damit erfolgt unter anderem eine Hochregulation von dendritischen Zellen und eine verstärkte Aktivierung von TH2-Zellen, die eine komplexe

immunologische Entzündungsreaktion auslösen (Oyoshi et al. 2010, Leung 2013). Bei Patienten mit AD wurde festgestellt, dass die betroffene Haut mit einem Ekzem unter vermehrtem oxidativem Stress aufgrund der Entzündung leidet (Kubo et al. 2005, Korkina und Pastore 2009, Sapuntsova et al. 2011). Bei diesen Entzündungen spielen freie Radikale wie z. B. das Stickstoffoxidradikal eine wichtige Rolle, welche auch Auswirkungen auf die Wundheilung (Schwentker et al. 2002) und bei der Immunantwort auf Infektionen haben (Cals-Grierson und Ormerod 2004).

Des Weiteren spielt das Mikrobiom der Haut eine wichtige Rolle. Aufgrund der gestörten Hautbarriere, des erhöhten pH-Werts der Haut sowie einer verminderten Sekretion antimikrobieller Peptide ist die Diversität des Hautmikrobioms eingeschränkt, was zu einer dauerhaften Besiedlung z. B. mit *Staphylococcus aureus* (Leyden et al. 1974), *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococci*, und *Bacilli* (Murzina et al. 2019) führen kann. *S. aureus* ist in der Lage Enterotoxine produzieren, die zu einer Superinfektion mit starkem Pruritus und IgE-Bildung führen können. Einige sezernierten Toxine sind sogenannte Superantigene, die in der Lage sind, die B- und T-Zell-Proliferation direkt zu stimulieren, was wiederum den Pruritus verstärkt. Insgesamt führen endogene und exogene Faktoren zu einem komplexen Teufelskreis (Fritsch und Schwarz 2018).

2.3.6 Therapie und Prävention

Nach der Diagnostik erfolgt die Therapie der AD, welche an den individuellen Schweregrad der AD angepasst wird.

Tabelle 2 Behandlungsempfehlungen für die Atopische Dermatitis bei Erwachsenen und Kindern nach den konsensusbasierten europäischen Richtlinien; mögliche Superinfektionen sind mit Antibiotika/Antiseptika zu behandeln. Informationen zu Kontraindikationen in der Packungsbeilage¹, zugelassene Indikationen², Off-Label-Medikamente³ (Wollenberg et al. 2018)

Schweregrad der AD	Empfohlene Behandlung	
	Erwachsene	Kinder
Basistherapie	Bildungsprogramme, Lotionen, Ölbäder, Vermeidung von klinisch relevanten Allergenen einschließlich Allergene, die getestet wurden	Bildungsprogramme, Lotionen, Ölbäder, Vermeidung von klinisch relevanten Allergenen einschließlich Allergene, die getestet wurden
Mild: SCORAD <25 oder bei einem temporären Ekzem	Reaktive Therapie mit topischen Glucocorticosteroiden Klasse II ² oder abhängig von lokalen Kofaktoren: topische Calcineurininhibitoren ² , Antiseptika einschließlich Silber ² , silberbeschichtete Textilien ¹	Reaktive Therapie mit topischen Glucocorticosteroiden Klasse II ² oder abhängig von lokalen Kofaktoren: topische Calcineurininhibitoren ² , Antiseptika einschließlich Silber ² , silberbeschichtete Textilien ¹
Moderat: SCORAD 25-50 oder Wiederkehrendes Ekzem	Proaktive Therapie mit topischem Tacrolimus ² oder mit topischen Klasse II oder III Glucocorticosteroiden ³ , Nasswickeltherapie, UV-Therapie (UVB 311 nm, mittlere Dosis UVA1), psychosomatische Beratung, Klimatherapie	Proaktive Therapie mit topischem Tacrolimus ² oder mit topischen Klasse II oder III Glucocorticosteroiden ³ , Nasswickeltherapie, UV-Therapie (UVB 311 nm), psychosomatische Beratung, Klimatherapie
Schwer: SCORAD >50 oder Dauerhaftes Ekzem	Krankenhausaufenthalt, systemische Immunsuppression: Cyclosporin A ² , kurze orale Einnahme von Glucocorticosteroiden. Dupilumab ^{1,2} , Methotrexat ³ , Azathioprin ³ , Mycophenolat-Mofetil ³ , PUVA ¹ , A-litretonoin ^{1,3}	Krankenhausaufenthalt, systemische Immunsuppression: Cyclosporin A ³ , Methotrexat ³ , Azathioprin ³ , Mycophenolat-Mofetil ^{1, 3}

Um einen Ausbruch der AD zu vermeiden oder um das Risiko zu verringern, gibt es unterschiedliche Ansätze. Bei der primären Prävention wird empfohlen risikogefährdeten Babys möglichst früh, ab dem vierten Lebensmonat (Fritsch und Schwarz 2018), potenziell allergieauslösenden Nahrungsmitteln auszusetzen wie z. B. Erdnüssen (Feeney et al. 2016). Dadurch kann das Risiko einer Sensibilisierung minimiert werden (Torres et al. 2019). Probiotika (Zuccotti et al. 2015) sowie das Eincremen der Babys von Geburt an mit speziellen Lotionen minimieren das Risiko eine AD zu entwickeln (Horimukai et al. 2014, Simpson et al. 2014). Die Sekundärprävention bezieht sich vor allem auf die Vermeidung von individuellen Provokationsfaktoren wie Nahrungsmittelallergene, Umweltallergene und psychische Faktoren (Werfel et al. 2016).

Zu den klassischen Komorbiditäten der AD zählen die allergische Rhinokonjunktivitis und Asthma bronchiale. Des Weiteren können Nahrungsmittelallergien, Ichthyosis vulgaris sowie Schlafstörungen aufgrund des Pruritus hinzukommen (Werfel et al. 2016).

2.4 Textilien und die Bedeutung für die Haut

Bei der AD steht der Schutz und Erhalt einer möglichst intakten Hautbarriere im Vordergrund, da in eine vorgeschädigte Hautbarriere unterschiedliche Irritanzen leichter eindringen und Ekzeme provozieren können. Der Hautzustand hängt von vielen Faktoren wie Ethnie (Diridollou et al. 2007), Geschlecht (Giacomoni et al. 2009, Man et al. 2009), Alter (Inoue et al. 1998, Boyer et al. 2009), Hauttyp (Dąbrowska et al. 2018), Lebensstil (Asakura et al. 2009) und vom Body-Mass-Index ab (Löffler et al. 2002, Yosipovitch et al. 2007).

Einer der wichtigsten Provokationsfaktoren für die AD ist Kleidung (Abeck und Strom 2000). Die Textilien, die aus unterschiedlichen Materialien wie Wolle, Seide, synthetische Fasern und Cellulose bestehen, sind aufgrund ihrer Besonderheiten teilweise sehr gut für die Haut eines Atopikers geeignet. Wolle ist aufgrund der Beschaffenheit für Menschen mit AD ungeeignet. Denn je gröber die Wollfaser ist, desto stärker reizt diese die Haut. Die gleichen Wollfasern haben durch feuchte Haut z. B. beim Schwitzen einen noch stärkeren irritativen Effekt (Garnsworthy et al. 1988). Die Seide der Seidenraupe hingegen ist eine perfekte glatte Faser, die die Haut nicht mechanisch reizt. Die Seide kann die Körpertemperatur regulieren, indem sie starkes Schwitzen und den damit verbundenen Flüssigkeitsverlust reduziert. DermaSilk® ist eine speziell gewobene Seide, die von den allergieauslösenden Hüllproteinen Sericin gereinigt ist.

Die Veredlung mit Aegis® AEM5772/5 sorgt für eine antimikrobielle Wirkung (Schaunig und Kopera 2017). Der Nutzen von Seide bei AD wurde in unterschiedlichen Untersuchungen als positiv beschrieben. Darunter befanden sich Untersuchungen zu unterschiedlichen Wundauflagenmaterialien (Sugihara et al. 2000) und eine Studie bei Kindern, deren AD sich durch das Tragen der MICROAIR DermaSilk® verbesserte (Ricci et al. 2004). Podycare® ist eine synthetische Spezialtextilie, die aus 82 % Polyamid und 18 % Lycra besteht und eingewebte Silberfilamente mit einem Gesamtsilberinhalt von 20 % enthält (Gauger 2006). Untersuchungen zeigten, dass Podycare® die bakterielle Besiedlung mit *S. aureus* stark minimierte und zur Verbesserung der AD am Patienten führte (Gauger et al. 2003, Gauger et al. 2006, Srour et al. 2019).

Aus Cellulose wird mit dem Herstellungsverfahren der Zimmer AG die Cellulosefaser Lyocell hergestellt. Bei dem umweltfreundlichen und wirtschaftlichen Produktionsprozess kann man spezielle Stoffe miteinarbeiten wie z. B. fein gemahlenes Pulver aus Algen wie *Ascophyllum nodosum* oder *Lithothamnium calcareum*. Daraus entstehen die sogenannten SeaCell® Fasern, welche durch Metallsorption bakterizide Metalle wie Zink und Silber mittels eines Aktivierungsschritts permanent in die Faserkerne aufnehmen können. Die Metallionen können danach nicht mehr z. B. durch Waschmittel gelöst werden (Zikeli 2006). Die mit Silber beladenen Fasern SeaCell®-Active Textilien zeigten in einer *in vitro* Untersuchung antibakterielle und antimykotische Eigenschaften (Hipler und Zikeli 2006). Die antimikrobiellen Eigenschaften von Silber wurden schon in der Antike genutzt, um z. B. Wasser in silberhaltigen Gefäßen trinkbar zu halten. Heutzutage findet Silber in anderen Bereichen wie der Medizin z. B. in der Orthopädie Verwendung (Bosetti et al. 2002). Die Lyocellfaser können auch mit Zink beladen werden wie z. B. die smartcel™ sensitiv-Fasern. Diese zeigten in einer *in vivo* und *in vitro* Untersuchung am Beispiel der Spezialtextilie Benevit Zink+ deutlich eine RNS- und ROS-Inhibition. Diese Textile wirkte zusätzlich antibakteriell gegen *S. aureus* und *Klebsiellen*. In der *in vivo* Untersuchung verbesserte sich durch die Textile der Pruritus sowie das Hautbild der an AD erkrankten Patienten (Wiegand et al. 2013). Zink wurde schon länger erfolgreich bei der Behandlung von Wunden verwendet (Strömberg und Ågren 1984). Bislang wurden die Textilien DermaSilk®, Podycare® und SeaCell®-Active vor allem zur Reduktion der Bakterienlast der Haut entwickelt und zeigten gute Ergebnisse. Die smartcel™ sensitiv-Textilien unterstützten neben der Reduktion der Bakterienlast der Haut auch das antioxidative System im Stratum corneum,

um eine Heilung der Ekzeme bei Patienten mit AD zu erreichen (Wiegand et al. 2013). Die hier untersuchte Funktionstextilie aus Lyocell wurde mit Vitamin E beladen und sie weist keine zusätzliche Bearbeitung zur Reduktion der Bakterienlast der Haut auf. Hier wird der Fokus auf die Unterstützung des antioxidativen Systems der Haut gelegt, wobei Vitamin E eine wichtige Rolle beim Abfangen freier Radikale einnimmt (Rimbach et al. 2010).

2.5 Biokompatibilität

Die verwendeten Textilien wurden mit einer zusätzlichen Funktion, hier der Freisetzung von Vitamin E, ausgestattet. Um auszuschließen, dass die Textilien schädigende Einflüsse auf den späteren Verbraucher haben können, ist es wichtig vorher zu untersuchen, ob diese Textilien biokompatibel sind.

Der Begriff Biokompatibilität setzt sich aus griechisch *bios: Leben*; lateinisch *cum: mit* sowie *patibilis: erträglich* zusammen, wobei hier die Gewebeverträglichkeit gemeint ist (Reiche 2003).

Biokompatibilität ist definiert als die Fähigkeit eines Materials, seine gewünschten Funktionen in Bezug auf eine medizinische Therapie auszuführen, eine angemessene Wirtsreaktion bei einer spezifischen Anwendung auszulösen und mit lebenden Systemen ohne das Risiko von Verletzungen, Toxizität oder Abstoßung durch das Immunsystem zu interagieren, ohne dabei unerwünschte oder unangemessene lokale oder systemische Effekte auszulösen (Ghasemi-Mobarakeh et al. 2019).

Des Weiteren ist der Begriff der Biofunktionalität wichtig: „Unter Biofunktionalität wird die Substitution einer oder mehrerer Funktionen im biologischen System durch ein technisches System verstanden.“ (Ha und Wintermantel 2009). Hier haben die Textilien Funktionsfasern, welche mit Vitamin E beladen sind. Diese Textilien übernehmen z. B. die Aufgabe der topischen Vitamin E Applikation, um das antioxidative System der Haut zu unterstützen.

Ein Material, das als biokompatibel klassifiziert ist, muss daher nicht inert sein. Die Angemessenheit der Reaktion an sich auf das Material ist ausschlaggebend. Ob die Reaktion angemessen ist, wird nach spezifischen Richtlinien bewertet (Schmalz und Arenholt-Bindslev 2005).

In Deutschland regeln das Medizinproduktegesetz und das Chemikaliengesetz den Umgang mit Biomaterialien vor allem im Hinblick auf deren Biokompatibilität. Diesen Gesetzen sind eine Reihe von Richtlinien nachgeschaltet. Im Rahmen der Europäischen Gemeinschaft wurde durch diesen Rat im *Amtsblatt der Europäischen Union* die Richtlinie 93/42/EWG vom 14. Juni 1993 über Medizinprodukte verabschiedet. Normen haben in der europäischen Gesetzgebung eine große Bedeutung erlangt, welche im Gesetzestext als Möglichkeit genannt werden, um die Anforderungen, die an ein Medizinprodukt gestellt werden, zu konkretisieren (Rat 2007). Die International Organization for Standardization ISO entwickelt internationale Standards, wobei das Deutsche Institut für Normung e. V. (DIN) die deutschen Interessen vertritt.

Eine relevante Norm ist hier die DIN EN ISO-10993: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten.

Tabelle 3 Übersicht über die verschiedenen Teile der DIN EN ISO-10993

Teile der DIN EN ISO-10993	Titel
DIN EN ISO 10993-1	Beurteilung und Prüfung im Rahmen eines Risikomanagementverfahrens
DIN EN ISO 10993-2	Tierschutzbestimmungen
DIN EN ISO 10993-3	Prüfungen auf Gentoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität
DIN EN ISO 10993-4	Auswahl von Prüfungen zur Wechselwirkung mit Blut
DIN EN ISO 10993-5	Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität
DIN EN ISO 10993-6	Prüfungen auf lokale Effekte nach Implantationen
DIN EN ISO 10993-7	Ethylenoxid-Sterilisationsrückstände
DIN EN ISO 10993-8	Auswahl und Eignung von Referenzmaterialien für biologische Prüfungen
DIN EN ISO 10993-9	Rahmen zur Identifizierung und Quantifizierung von möglichen Abbauprodukten
DIN EN ISO 10993-10	Prüfungen auf Irritation und Hautsensibilisierung
DIN EN ISO 10993-11	Prüfungen auf systemische Toxizität
DIN EN ISO 10993-12	Probenvorbereitung und Referenzmaterialien
DIN EN ISO 10993-13	Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten in Medizinprodukten aus Polymeren
DIN EN ISO 10993-14	Qualitativer und quantitativer Nachweis von keramischen Abbauprodukten
DIN EN ISO 10993-15	Qualitativer und quantitativer Nachweis von Abbauprodukten aus Metallen und Legierungen

DIN EN ISO 10993-16	Entwurf und Auslegung toxikokinetischer Untersuchungen hinsichtlich Abbauprodukten und herauslösbaren Bestandteilen
DIN EN ISO 10993-17	Nachweis zulässiger Grenzwerte für herauslösbare Bestandteile
DIN EN ISO 10993-18	Chemische Charakterisierung von Werkstoffen
DIN EN ISO 10993-19	Physikalische/chemische, mechanische und morphologische Charakterisierung
DIN EN ISO 10993-20	Prinzipien und Verfahren für die Immuntoxikologische Prüfung von Medizinprodukten

In dieser Arbeit wurden die Textilien mit Hilfe der DIN EN ISO-10993 -1 *Beurteilung und Prüfung im Rahmen eines Risikomanagementverfahrens*, -5 *Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität* und -12 *Probenvorbereitung und Referenzmaterialien* entsprechend vorbereitet und untersucht, um die Biokompatibilität der Textilien zu bestimmen.

Anhand der DIN EN ISO 10993-1: *Beurteilung und Prüfung im Rahmen eines Risikomanagementverfahrens* werden die Medizinprodukte abhängig vom Kontakt, der Dauer und Art mit dem Körper eingeteilt. Es erfolgt aus allen vorhandenen Quellen eine Auswertung der Daten, eine Risikoanalyse und eine Beurteilung der biologischen Sicherheit (DIN-EN-ISO 2009)

Durch die DIN EN ISO 10993-5: *Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität* wird ein Prüfschema festgelegt, wodurch man ein geeignetes Prüfverfahren erhält. Hierbei werden verschiedene Kategorien unterschieden: 1. Extraktprüfung, 2. Prüfung des direkten Kontakts des Medizinprodukts mit den Zellen sowie 3. Prüfung des indirekten Kontakts des Medizinprodukts mit den Zellen. Nach Auswahl eines Prüfverfahrens wird dann durch die Norm die Einzelheiten wie die Art der Zellen, Vorbereitung der Kulturzellen und Proben sowie die Art, wie die Zellen den Proben ausgesetzt werden, bestimmt. Zur abschließenden Beurteilung wird die Zytotoxizität entweder auf quantitative oder qualitative Weise bestimmt. Die quantitative Bewertung der Zytotoxizität schließt Messungen zur Hemmung des Zellwachstums, Zellproliferation und Zelltod mit ein. Hier wird ein zytotoxischer Effekt der Proben auf die untersuchten Zellen bei einer Reduktion der vitalen Zellen ab 30 % definiert. Die quantitative Bewertung der Zytotoxizität ist dabei der qualitativen Bewertung vorzuziehen (DIN-EN-ISO 2007a).

Anhand der DIN EN ISO 10993-12: *Probenvorbereitung und Referenzmaterialien* werden die Anforderungen für die Auswahl der Referenzmaterialien und für die Vorbereitung der Proben festgelegt. Dabei liegt das Augenmerk auf der Probenvorbereitung, Prüfmusterauswahl, Kontrolle der Prüfmethoden, Herstellung der Extrakte und Anforderungen an die Referenzmaterialien, welche als Kontrollmaterialien eine Verwendung finden (DIN-EN-ISO 2007b).

2.6 HaCaT-Keratinocyten für die Biokompatibilitätsuntersuchungen

In vitro durchgeführte Biokompatibilitätsuntersuchungen sollten im Zusammenhang mit dem Gewebe stehen, an dem die spätere Anwendung des Produkts stattfindet (Yesilsoy und Feigal 1985, van Wyk et al. 2001). Hier handelt es sich um eine Funktionstextilie, die durch das Tragen mit der Haut in Berührung kommt. Daher wurden hier humane epidermale Keratinocyten verwendet.

Der Begriff **HaCaT** steht für **H**uman **a**dult **l**ow **C**alcium **h**igh **T**emperature keratinocytes. Der Name beschreibt die Herkunft der Keratinocyten sowie die initial notwendigen Wachstumsbedingungen, die zur Etablierung der Zelllinie geführt hatten.

Am deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg konnten 1988 Boukamp et al. diese neue humane Zelllinie etablieren. Die Keratinocyten stammten aus der Peripherie eines malignen Melanoms, das sich in der oberen Rückenhaut eines 62-jährigen Patienten befand. Die Zelllinie ist phänotypisch spontan transformiert und mit einer vollen epidermalen Differenzierungskapazität, welche an Markern wie Filaggrin und Involucrin sowie an differenzierungsspezifischen Zytokeratinen 1 und 10 nachweisbar ist. Die Zelllinie wurde als nicht tumorigen eingestuft. Aufgrund der hohen Immortalität von mehr als 140 Passagen eignet sich die Zelllinie gut für *in vitro* Untersuchungen (Boukamp et al. 1988). Die Zelllinie ist so beständig, weil sie einen Gendefekt in beiden Allelen des p53-Gens aufweist, der typischerweise durch UV-Strahlen verursacht wird (Lehman et al. 1993, Harms 2012).

3 Ziele der Arbeit

Die Basis der Behandlung der AD besteht unter anderem aus der effizienten Reduktion von Provokationsfaktoren, zu denen die Vermeidung jeglicher Hautirritationen gehört. Textilien werden nahezu 24 Stunden am Tag getragen und können aufgrund ihres Materials und ihrer Verarbeitung unterschiedlich gut eine intakte Hautbarriere aufrechterhalten. In der aktuellen S2k-Leitlinie Neurodermitis werden Funktionstextilien nicht explizit zur Behandlung einer AD aufgeführt. Es wird eine individuell angepasste Therapie der AD empfohlen, wobei die Behandlung des quälenden Juckreizes aufgrund einer gestörten Hautbarriere eine große Herausforderung darstellt (Werfel et al. 2016). Die europäische Richtlinie hingegen empfiehlt für AD bei Erwachsenen und Kindern bei einem milden Schweregrad zumindest silberbeschichtete Textilien (Wollenberg et al. 2018).

Ziel ist, es zu zeigen, dass eine Funktionstextilie das antioxidative System der Haut *in vitro* unterstützen kann und so die Integrität der Hautbarriere und eine bessere Abheilung bereits geschädigter Haut bewirken kann. Bislang wurden Funktionstextilien vor allem auf die antimikrobielle Wirkung und Unterstützung eines gesunden Hautmikrobioms hergestellt und untersucht. Die Arbeit möchte die Möglichkeit beleuchten, zusätzlich zu den bislang hergestellten antimikrobiellen Funktionstextilien das antioxidative System der Haut zu unterstützen, welches eine wichtige Komponente zur Heilung und zum Schutz der Haut darstellt.

Dabei sind folgende Fragestellungen von besonderer Bedeutung:

- Wird das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten durch die Textilextrakte beeinflusst?
- Ist das Autoklavieren der Textilproben Baumwollgarn sowie Funktionsfasergarn notwendig und welchen Einfluss könnte es auf die Ergebnisse haben?
- Ist ein Herauslösen des fettlöslichen Vitamin E in verschiedene Lösungsmittel notwendig, um es auf seine antioxidative Wirkung zu untersuchen?
- Ist das in die Funktionstextilien eingearbeitete Vitamin E antioxidativ wirksam?

Um die Biokompatibilität zu untersuchen, werden nach der DIN EN ISO-10933-5 und -12 Textilextrakte aus Baumwoll- und Funktionsfasergarn hergestellt. Für die Biokompatibilitätsuntersuchungen werden HaCaT-Keratinocyten als Zellmodell

verwendet, die anschließend mit unterschiedlichen Methoden, wie dem ATPLite™-M, CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay und dem BC Assay Protein Quantitation Kit untersucht werden.

Die antioxidative Wirkung wird mit dem RNS Test ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit und dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale auf RNS und ROS für Stoffproben definierter Größe und für Textilextrakte mit entsprechenden Konzentrationen sowie in unterschiedlichen Lösungsmitteln untersucht.

4 Material und Methoden

4.1 Materialien

4.1.1 Geräte

- Brutschrank: Water Jacketed Incubator Typ 3548; Scientific, Ohio
- Dampfsterilisator: Typ 400, Fa. Varioklav
- Gerät für ATP-Bestimmung: LUMIstar Galaxy, BMG Labtech
- Gerät für LDH- und Proteinbestimmung: FLUOstar Galaxy; BMG Labtech
- Gerät RNS-/ROS-Bestimmung: NOVOstar Galaxy, BMG Labtech
- Microsoft Excel, 2009
- Mikroskop: Olympus CK2; Olympus Optical Co.
- Präzisionswaage: Sartorius AG Mechatronik, Göttingen Typ RC 210 D
- Programm für ATP-Bestimmung: CYTO-PACKARD
- Programm LDH-Bestimmung: LDH
- Programm Proteinbestimmung: BCA (580 nm)
- Programm zur Bestimmung der RNS: Abel-Peroxyinitrit
- Programm zur Bestimmung der ROS: Abel-Superoxid
- Schüttelinkubatoren: Titramax 1000; Fa. Heidolph
- Schüttelwasserbad: GFL 1083 GmbH, Burgwedel
- Sterilbox: HERA Safe, Typ K912; Thermo electron Corporation
- Tischzentrifuge: Rotana/RP; Fa. Hettich
- Wärmeschrank: Typ B 15; Heraeus Instruments
- Zellzahlbestimmung: Neubauer-Zählkammer
- Zentrifuge: Eppendorf Zentrifuge 5702 RH; Eppendorf AG, Hamburg

4.1.2 Chemikalien für die Biokompatibilitätsuntersuchungen

- Antibiotika PSF: Penicillin 10.000 IU/mL, Streptomycin 10.000 IU/mL und Fungizon 25 µg/mL, Lagerung bei: -20 °C; bei RT auftauen; PromoCell
- DMEM: High Glucose 4,5 g/L mit stabilem Glutamin, Lagerung bei 2-4 °C; PromoCell
- Dulbecco's PBS: Lagerung bei 2-4 °C; PromoCell
- Fetales Kälberserum: FKS, Lagerung bei -20 °C; PromoCell, Lot. Nr.: P140705
- Trypsin/EDTA: 0,25 % Trypsin und 1 mM EDTA, Lagerung bei -20 °C; GibcoBRL

- **Bestimmung des ATP-Gehalts**
 - 10 Flaschen mit lyophilisiertem Substrat (Luciferase/Luciferin)
 - 2 Flaschen mit lyophilisiertem ATP-Standard
 - 270 mL Mammalian Zellysepuffer
 - 270 mL Substratpuffer
 - ATPLite™-M Kit 5000 Assay Kit von Perkin Elmer
 - Lagerung der Kits bei 2-8 °C
- **Bestimmung der Lactatdehydrogenase**
 - Assay Puffer
 - BSA (PAA Laboratories GmbH, Austria)
 - CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay Cat# G1780 von Promega
 - LDH-Positiv-Kontrolle
 - lyophilisiertes Substrat
 - Lyselösung
 - Stopplösung
- **Proteinbestimmung**
 - 0,1 % Triton®X-100
 - BC Assay Protein Quantitation Kit; Uptima:
 - BC Assay Reagent A (UP 954 24 A)
 - BC Assay Reagent B (UP 954 25 A)
 - BSA Standard (UP 368 59 A)
 - Dulbecco's PBS
 - Zelllysate

4.1.3 Chemikalien für die Untersuchungen auf eine antioxidative Wirkung

- **RNS-Test**
 - ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin für Peroxynitrit; Knight Scientific Limited:
 - Pholasin®
 - R&A-Puffer
 - Aqua dest. aus dem Test Kit
 - 12 mg SIN-1
 - VEA-Standard

- **ROS-Test**

- ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin für Superoxid und andere freie Radikale; Knight Scientific Limited:
- Pholasin®
- R&A-Puffer
- Lösung A
- Lösung B
- L-Ascorbinsäure-Standard

- **Saure Schweißlösung**

- Natriumchlorid (NaCl), Ref.Nr.: 3957.2; Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
- Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
Ref. Nr.: 71505 250 g; Sigma-Aldrich, Deutschland
- L-Histidinmonohydrochlorid Monohydrat ($\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_2\text{N}_3 \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$)
Ref. Nr.: H5659 25 g; Sigma-Aldrich, Deutschland
- Natriumhydroxid (NaOH)
- Aqua dest.

- **Basische Schweißlösung**

- Natriumchlorid (NaCl): Ref.Nr.: 3957.2, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
- di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{HNa}_2\text{O}_4\text{P}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$):
Lot. Nr.: 2N008932, 500 g; Appli-Chem, Darmstadt
- L-Histidinmonohydrochlorid Monohydrat ($\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_2\text{N}_3\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$):
Ref. Nr.: H5659 25 g; Sigma-Aldrich, Deutschland
- Natriumhydroxid (NaOH)
- Aqua dest.

4.1.4 Verbrauchsmaterialien

- 96-Well-Mikrotiterplatten: Fa. Greiner, Deutschland
- Alufolie
- Blutagarplatten
- Ethanol: Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
- Filter: Minisart, Porengröße 0,20 μM ; Fa. Sartorius
- Gläser: Fa. Scott
- Mullkompressen (steril): Fa. Hartmann, Deutschland
- Pipettenspitzen: Fa. Greiner, Deutschland
- Röhren-Tubes: 3,4 mL 55 x 12 mm Durchmesser; SARSTEDT AG
- Stanzen: Stiefel[®] Biopsy Punch, Durchmesser 5 und 8 mm; Stiefel Laboratorium, Teil der GlaxoSmithKline Group of Companies
- Triton[™]X-100: Sigma-Aldrich, Deutschland
- Zellkulturflaschen: Cell Star[®] 250 mL, 75 cm², steril; Fa. Greiner, Deutschland
- Zentrifugen-Spitzröhrchen: Bio-one CELLSTAR[®] PP-Testtubes 50 mL und 15 mL, steril; Fa. Greiner, Deutschland

4.1.5 Biologisches Material

- HaCaT-Keratinocyten

4.1.6 Textilien

Vom Hersteller wurden insgesamt zehn Strickschläuche als Untersuchungsmaterial mit unterschiedlichem Funktionsfasergarnanteilen bereitgestellt. Die genaue Bearbeitung der Fasern mit Vitamin E sowie das genau verwendete Vitamin E wurde als Betriebsgeheimnis eingestuft. Der Hersteller der Strickschläuche liegt der Laborleitung vor.



Abbildung 4 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn weiß 0100; Material: 4xNm 55/1 Lyocell/ELS; Beschreibung: 100 % Funktionsfasergarn und davon 20 % Vitamin E-Faser V2637



Abbildung 5 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn rot 0173; Material: 3xNm 55/1 Lyocell/ELS 1xNm 60/1 Bw; Beschreibung: ca. 75 % Funktionsfasergarn und davon 15 % Vitamin E-Faser V2637



Abbildung 6 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn grün 0168; Material: 2xNm 55/1 Lyocell/ELS 2xNm 60/1 Bw; Beschreibung: ca. 50 % Funktionsfasergarn und davon 10 % Vitamin E-Faser V2637



Abbildung 7 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn blau 0145; Material: 1xNm 55/1 Lyocell/ELS 3xNm 60/1 Bw; Beschreibung: ca. 30 % Funktionsfasergarn und davon 6 % Vitamin E-Faser V2637

Lyocellprobe ohne Vitamin-E-haltige Fasern (keine Abbildung) kam intern aus dem Labor und nicht vom Hersteller der Strickschläuche.



Abbildung 8 Strickschlauch aus Baumwollgarn gelb 0181; Material: 4xNm 60/1 Bw; Beschreibung: 100 % Baumwollgarn als Nullprobe

Tabelle 4 Übersicht über die für die Untersuchungen zur Verfügung gestellten Strickschläuche

Artikel Nr.	Material	Bemerkung/Beschreibung
Weiß 0100	4xNm 55/1 Lyocell/ELS	100 % Funktionsfasergarn (20 % Vitamin E-Faser V2637)
Rot 0173	3xNm 55/1 Lyocell/ELS 1xNm 60/1 Bw	Ca. 75 % Funktionsfasergarn (15 % Vitamin E-Faser V2637)
Grün 0168	2xNm 55/1 Lyocell/ELS 2xNm 60/1 Bw	Ca. 50 % Funktionsfasergarn (10 % Vitamin E-Faser V2637)
Blau 0145	1xNm 55/1 Lyocell/ELS 3xNm 60/1 Bw	Ca. 30 % Funktionsfasergarn (6 % Vitamin E-Faser V2637)
Gelb 0181	4xNm 60/1 Bw	100 % Baumwollgarn als Nullprobe

4.2 Methoden für die Biokompatibilitätsuntersuchungen

4.2.1 Herstellung der Textilextrakte für die Biokompatibilitätsuntersuchungen

Je 1 g jeder Textilprobe wurden mit einer Präzisionswaage abgewogen, zerschnitten und in je zwei Erlenmeyerkolben pro Textilprobe für 20 min bei 121 °C im Dampfsterilisator autoklaviert. Danach wurden zu jeder Textilprobe je 50 mL steriles DMEM ohne FKS pipettiert. Das ergab ein Extraktionsverhältnis von 0,02 g/mL. Die Textilproben Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß wurden für 24 h bzw. 72 h bei 37 °C im Schüttelwasserbad extrahiert. Jede Textilprobe wurde anschließend 5 min lang bei 1000 rpm über einer sterilen Gaze zentrifugiert. Die gewonnenen Überstände wurden mit dem Minisartfilter sterilfiltriert. Die Extrakte wurden anschließend im Kühlschrank gelagert. Pro 10 mL Extrakt wurden je 1 mL FKS direkt vor Versuchsbeginn supplementiert. Die ganze Zeit wurde darauf geachtet, dass keine Kontamination der Textilproben bzw. der Textilextrakte stattfinden konnte.

Tabelle 5 verwendete Textilextraktkonzentrationen von Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß für die Biokompatibilitätsuntersuchungen; Einheit: g/mL; Pipettierlayout siehe Tabelle 6.

	Testkonzentration [%]	Stammlösung [mL]	Medium [mL]	Extraktionsverhältnis [g: mL]
A	100	4	-	0,02
B	75	3	1	0,015
C	50	2	2	0,01
D	25	1	3	0,005
E	10	0,5	4,5	0,002
F	1	0,5 (E)	4,5	0,0002
G	0,1	0,5 (F)	4,5	0,00002

4.2.2 Herstellung des Zellkulturmediums

Alle Arbeiten wurden steril unter der Werkbank durchgeführt. DMEM wurde als Zellkulturmedium verwendet. DMEM und PBS wurden im Brutschrank auf 37 °C und Trypsin/EDTA auf Raumtemperatur erwärmt. Das FKS wurde bei 56 °C für 30 min erhitzt, um Komplement und Viren zu inaktivieren. Danach wurde es bei -20 °C gelagert und vor der Verwendung bei 37 °C im Brutschrank erwärmt. Das Zellkulturmedium setzte sich aus 500 mL DMEM, 50 mL FKS und 5 mL PSF zusammen. In den Zellkulturflaschen CellStar wurden die HaCaT-Keratinocyten steril unter der Werkbank eingesät. Die Kultivierung erfolgte im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO₂-Begasung.

Die Ablösung der sieben Tage alten HaCaT-Keratinocyten von der Zellkulturflasche erfolgte durch die Trypsinierung. Dafür wurde das Zellmedium mit einer sterilen Pipette aus der Zellkulturflasche abgesaugt. Danach wurde die Zellkulturflasche zweimal mit je 10 mL PBS gewaschen. Es folgte die Zugabe von 4 mL Trypsin/EDTA. Die HaCaT-Keratinocyten in der Zellkulturflasche wurden für 7 min bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Die Serinprotease Trypsin löste dabei Zell-Zell- sowie Zell-Plastik-Kontakte. Die gleiche Menge fertiges Medium stoppte den Trypsinierungsvorgang, indem die Zellsuspension mehrfach mit einer Pipette aufgezogen wurde. Diese Zellsuspension wurde in ein Zentrifugen-Spitzröhrchen (50 mL) pipettiert und anschließend bei 1000 rpm für 5 min zentrifugiert. Der daraus entstehende Überstand wurde dekantiert, das Zellpellet aufgeschüttelt und mit 24 mL Medium für drei Zellkulturflaschen gut durchgemischt.

4.2.2.1 Zellzahlbestimmung

Die Zellzahl wurde anschließend in der Neubauer-Zählkammer bestimmt. Die Neubauer Zählkammern befindet sich auf einem Objektträger. Eine Zählkammer besteht aus neun Großquadraten, welche aus je 16 Gruppenquadraten bestehen. Die Fläche jedes Großquadrates beträgt 1 mm² und die Kammertiefe 0,1 mm. Das Volumen über einem Großquadrat beträgt 10⁻⁴ mL.

Die Vitalität der Zellen wurde mit einer 0,4 % Trypanblaulösung überprüft. Dabei wurde die Trypanblaulösung mit der Zellsuspension vermengt und 2 min bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Die Zählkammer und das Deckgläschen wurden mit 70 % Ethanol gereinigt. Die Zählkammer wurde mit 100 µL der gefärbten Zelllösung befüllt, worauf das Deckgläschen platziert und bis zum Erscheinen der Newtonringe angedrückt wurde. Unter dem Mikroskop mit einem Objektiv mit 40-facher Vergrößerung erfolgte das Auszählen der vier Eckgruppenquadrate in einer L-Form mäanderbandförmig. Es wurden die Gesamtzahl der Zellen sowie die Anzahl der blau gefärbten toten Zellen gezählt. Dies wurde in einer zweiten Kammer wiederholt. Die Anzahl der Zellen aus beiden Zählungen durfte maximal 15 % voneinander abweichen. Danach erfolgte die Berechnung des arithmetischen Mittels aus beiden Zählungen. Die Berechnung der lebenden Zellen erfolgte mit folgender Formel:

$$\% \text{ lebende (ungefärbte) Zellen} = \frac{\text{ungefärbte Zellen}}{(\text{gefärbte} + \text{ungefärbte Zellen})} * 100$$

Danach erfolgte die Berechnung der Zellzahl anhand der Formel:

$$ZZ = \frac{\text{gezählte Zellen (4 Gruppenquadrate)} \cdot 10000}{4 \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}$$

Einheit: $\frac{\text{Zellzahl}}{\text{mL}}$

Die Zellzahl wurde vor jeder Einsaat in ein Zellkulturgefäß bestimmt.

Die Zellzahl wurde auf $5 \times 10^4 \frac{\text{Zellen}}{\text{mL}}$ eingestellt.

4.2.2.2 Einsaat der HaCaT-Keratinocyten in die Mikrotiterplatten

Nach Bestimmung der Zellzahl konnte die Einsaat der Zellen in mehrere weiße und klare 96-Well-MTPs mit je 200 µL Zellsuspension pro Well für die verschiedenen Biokompatibilitätsuntersuchungen auf ATP, LDH und Proteine erfolgen. Des Weiteren erfolgte zur Stammhaltung die Einsaat in neue Zellkulturflaschen, die eine Größe von 75 cm² aufwiesen. Die in die MTPs eingesäten Zellen wurden für weitere 48 h im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO₂-Begasung inkubiert. Nach 48 h Inkubation der MTPs im Brutschrank wurden je 100 µL Medium durch je 100 µL der entsprechenden Textilextrakte in unterschiedlichen Konzentrationen (Tabelle 6) sowie durch 100 µL frisches Medium für die unbehandelten Kontrollen ersetzt. Die MTPs wurden erneut im Brutschrank bei 37 °C und 5 % CO₂-Begasung inkubiert und die entsprechenden Untersuchungen (ATP, LDH und Protein) wurden nach 1 h, 24 h und 48 h durchgeführt.

Tabelle 6 Layout des verwendeten Pipettierschemas für die Biokompatibilitätsuntersuchungen mit HaCaT-Keratinocyten; rot = 24 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; blau = 72 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; M* = Low-Kontrolle besteht aus unbehandelten Keratinocyten + Medium DMEM; lila M* (Spalte 12, Zeile G und H) = Backgroundkontrolle besteht aus reinem DMEM; PK* in Spalte 3 = Positivkontrolle besteht aus 0,1 % Triton® X-100 Lösung + Keratinocyten + Medium; grüne PK* (Spalte 11, Zeile F, G und H) = Positivkontrolle/High Kontrolle besteht aus 10 % Triton® X-100 Lösung + Keratinocyten + Zellmedium; BLK % = Substanzkontrolle I besteht aus entsprechendem reinem 24 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; BLK % = Substanzkontrolle I besteht aus entsprechendem reinem 72 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; Spalte 1 und 2 wurden für die jeweiligen mitgeführten Standardkurven verwendet. Die jeweiligen Standardkurven wurden in Doppelbestimmung mit aufsteigenden Konzentrationen von A nach H pipettiert.

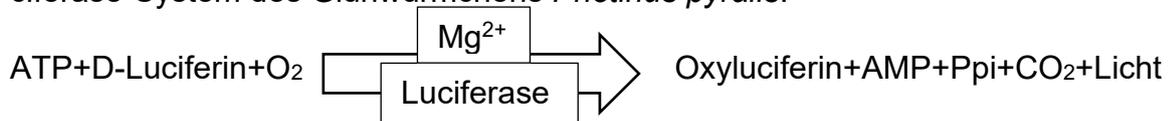
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A			M	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	M*	BLK 50%
B			M	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	M*	BLK 75%
C			M	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	M*	BLK 100%
D			M	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	M*	BLK 50%
E			M	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	M*	BLK 75%
F			PK*	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	PK*	BLK 100%
G			PK*	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	PK*	M*
H			PK*	0,1%	1%	10%	25%	50%	75%	100%	PK*	M*

Als Positivkontrolle wurde Triton® X-100 verwendet, das ein p-tert-Octylphenol-Derivat ist, welches eine Polyethylenglykoseitenkette aufweist. Das nicht ionische Tensid gehört zur Gruppe der Octylphenoethoxylaten und wird zur Permeabilisierung der Zellmembran vitaler Zellen verwendet. Triton® X-100 denaturiert keine Proteine (Johnson 2013). Im Versuch wurden zu den HaCaT-Keratinocyten Triton® X-100 in 6 Wells hinzugefügt. Die Positivkontrollen wiesen dabei eine signifikante Abnahme der Zellaktivität auf.

4.2.3 Testprinzip des ATPlite™-M Test Kits

Die Biokompatibilitätsuntersuchung auf den ATP-Gehalt wurde mit dem ATPlite™-M Test Kit von Perkin Elmer nach deren Anleitung durchgeführt.

ATP ist bei allen metabolisch aktiven Zellen gegenwärtig. Bei der Zellnekrose oder -apoptose fällt die ATP-Konzentration rasch ab. Daher wird ATP als Marker für die Zellvitalität verwendet. Der ATPlite™ Assay detektiert zelluläres ATP, indem es die Emission von Lichtquanten misst, die durch die Reaktion von ATP und hinzugefügter Luciferase und D-Luciferin entstehen. Diese Reaktion basiert auf dem D-Luciferin/Luciferase-System des Glühwürmchens *Photinus pyralis*.



Die ATP-Konzentration ist proportional zum emittierten Licht und die Anzahl der Zellen verhält sich proportional zum vorhandenen ATP (Crouch et al. 1993). Das Lumineszenzsignal wurde mit dem LUMIstar Galaxy gemessen.

Präanalytisch wurden die HaCaT-Keratinocyten nach der Zellzahlbestimmung in die MTPs eingesät. Dabei wurden in jede MTP ca. 10.000 Zellen pro Well eingesät. Es folgte nach dem Einsäen das Vorgehen wie unter 4.2.2.2. Danach wurden jeweils der 24 h- sowie der 72 h-Textilextrakt von Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß nach 1 h, 24 h und 48 h gemessen. Um die ATP-Konzentration zu berechnen, wurde jeweils eine Standardreihe mitgeführt. Daraus resultiert eine lineare Funktion $y = mx + b$ mit einem Rangkorrelationskoeffizienten R^{2*} . Die erhaltenen Messwerte wurden im Verhältnis prozentual zur Kontrolle dargestellt, die nur Medium und HaCaT-Keratinocyten enthielten.

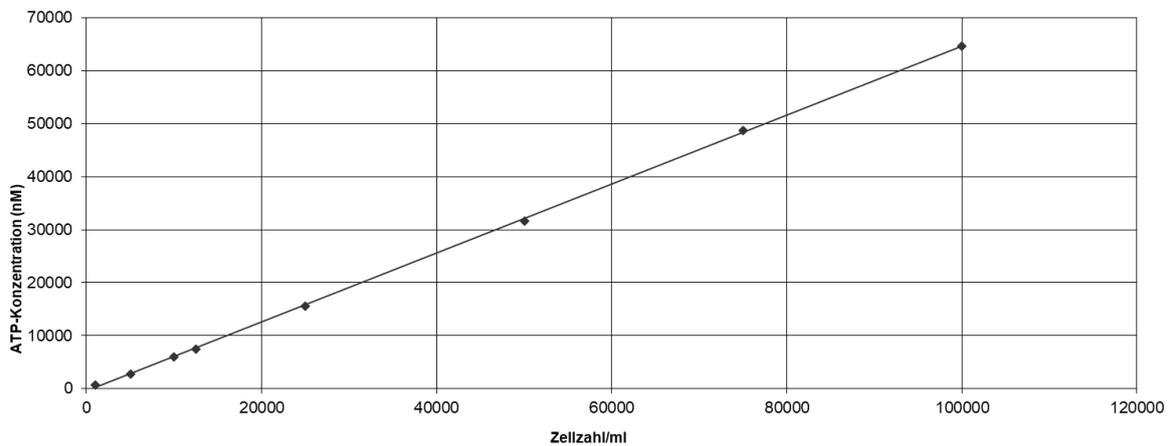


Abbildung 9 Beispiel für eine ATP-Zellstandardkurve von einer Biokompatibilitätsuntersuchung des Funktionsfaser-garntextilextrakts weiß mit $R^{2*} = 0,999$, $y = 0,6511x - 465,6$

Die Arbeiten für die Messungen des ATP durften nur mit Handschuhen und autoklavierten Pipettenspitzen durchgeführt, da ATP omnipräsent war. Zunächst erfolgte die Herstellung der Reagenzien. Das Luciferase/Luciferin-Lyophilisat wurde in 25 mL Substratpuffer gelöst und vorsichtig geschüttelt. Für die Erstellung einer ATP-Standardkurve wurde eine Flasche mit lyophilisiertem Standard mit der Konzentration $11,2 \times 10^{-6}$ mol mit 1120 μ L Aqua dest. gelöst, um daraus eine 10 mM ($= 10^{-2}$ M) Stammlösung zu erhalten. Diese 1×10^{-2} M-Standardlösung wurde nun im Verhältnis 1:100 verdünnt, um die benötigte Ausgangskonzentration von 1×10^{-4} zu erhalten, das hieß hier: 20 μ L der 1×10^{-2} M-Standardlösung + 1980 μ L Aqua dest. Anschließend erfolgte eine Verdünnungsreihe für die ATP-Standardkurve wie in Tabelle 7.

Tabelle 7 Herstellung der Standardkurve für die Messung des ATP-Gehalts

	μ L 10^{-4} Standardlö- sung	Aqua dest.	M	nM	Gesamt- menge
1	100 μ L	0 μ L	1×10^{-4}	100 000	100 μ L
2	750 μ L	250 μ L	$0,75 \times 10^{-4}$	75 000	1000 μ L
3	500 μ L	500 μ L	$0,5 \times 10^{-4}$	50 000	1000 μ L
4	250 μ L	750 μ L	$0,25 \times 10^{-4}$	25 000	1000 μ L
5	125 μ L	875 μ L	$0,125 \times 10^{-4}$	12 500	1000 μ L
6	100 μ L	900 μ L	1×10^{-5}	10 000	1000 μ L
7	50 μ L	950 μ L	$0,5 \times 10^{-5}$	5 000	1000 μ L
8	10 μ L	990 μ L	1×10^{-6}	1 000	1000 μ L

Die Vorbereitung der MTPs mit den HaCaT-Keratinocyten sowie mit den jeweiligen 24 h und 72 h-Textilextrakten erfolgte, wie unter 4.2.2.2 beschrieben, in weißen 96-Well-MTPs mit durchsichtigen Böden. Der Standard wurde in Doppelbestimmung

mit je 10 µL Standard von der niedrigen Konzentration zur hohen Konzentration in die ersten zwei freien Reihen pipettiert. Je 100 µL Zellmedium wurden in die Wells des Standards sowie in die Blanks pipettiert. Je 100 µL des entsprechenden Textilextrakts wurde in die Substanzblanks pipettiert. In alle Wells wurde 50 µL Mammalian Zell-Lysispuffer pipettiert. Es erfolgte eine 5-minütige Inkubation auf dem Probenschüttler bei 700 rpm, um die Zellen zu lysieren und das ATP zu stabilisieren. Danach wurden je 50 µL Luciferase/Luciferin-Substratlösung in alle Wells pipettiert. Die MTPs wurden erneut für 5 min bei 700 rpm auf dem Probenschüttler inkubiert. Im Anschluss wurden die MTPs für 10 min im Dunkeln inkubiert. Die Messung erfolgte im LUMIstar Galaxy. Die Messwerte wurden bei einer einwandfreien Standardkurve analysiert.

4.2.4 Testprinzip des CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay zur Bestimmung der Lactatdehydrogenase

Die Bestimmung des LDH-Gehaltes wurde mit dem CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay Cat# G1780 von Promega nach deren Anleitung durchgeführt.

Der hier verwendete CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay ist eine Alternative zum ⁵¹Cr-Freisetzungszytotoxizitäts-Assay (Korzeniewski und Callewaert 1983, Decker und Lohmann-Matthes 1988). Der CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay beruht auf dem Prinzip der Kolorimetrie. Das bei einer Zelllyse freigesetzte, stabile zytosolische Enzym Lactatdehydrogenase (LDH) wird quantitativ durch den CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay gemessen. Die in die Zellkulturüberstände freigesetzte LDH wird in einem 30-minütigem enzymgekoppelten Ansatz gemessen. Diese LDH bewirkt die Umwandlung eines violetten Tetrazoliumsalzes (INT) in ein rotes Formazanprodukt. Die Menge des gebildeten Farbstoffs ist proportional zur Anzahl der lysierten Zellen (Nachlas et al. 1960). Die von den lysierten Zellen freigesetzte LDH wandeln NAD⁺ zu NADH + H⁺ durch die Oxidation von Lactat zu Pyruvat. 2 H-Atome werden in der zweiten enzymatischen Reaktion auf das INT übertragen. Dadurch wird das rote Formazansalz gebildet. Je mehr Zellen lysiert sind, desto höher ist die LDH-Aktivität im Zellkulturüberstand und desto mehr Formazansalz wird gebildet. Der Formazanfarbstoff ist wasserlöslich und weist ein breites Absorptionsmaximum bei ca. 500 nm auf. Das INT zeigt demgegenüber keine signifikante Absorption. Als Untersuchungsmaterial dienten die zellfreien Zellkulturüberstände der

vorbereiteten MTPs. Die Untersuchungen wurden nach der Anleitung des Cytotox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega durchgeführt.

Präanalytisch wurden die HaCaT-Keratinocyten in die entsprechenden MTPs eingesät wie unter 4.2.2.2 beschrieben. Die 24 h- und 72 h-Textilextrakte von Baumwolle und dem Funktionsfasergarn wurden, wie unter 4.2.1 beschrieben, vorbereitet. Danach wurden die MTPs mit den eingesäten HaCaT-Keratinocyten für die Messung vorbereitet. Dazu wurde das Assaymedium nach 48 h aus den Wells der MTPs entfernt und 100 µL der entsprechenden Textilextrakte in die entsprechenden Wells in Vierfachbestimmung pipettiert. In die Backgroundkontrollen und Low-Kontrollen wurden je 100 µL Assaymedium pipettiert. In die Triton X-Kontrollen wurden 100 µL Assaymedium sowie 0,1 % bzw. 10 % Triton X-100 pipettiert. Die Substanzkontrolle I erhielt jeweils 100 µL des jeweiligen Textilextrakts pro Well. Jede MTP enthielt entweder die Textilextrakte der Baumwolle gelb oder die Textilextrakte des Funktionsfasergarns weiß. Danach erfolgte die erneute Inkubation der HaCaT-Keratinocyten in den MTPs im Brutschrank für 1 h, 24 h und 48 h.

Für die Herstellung des Reaktionsgemisches wurden 12 mL Assay Puffer in eine Flasche lyophilisiertes Substrat pipettiert und gemischt. Der Puffer musste danach wieder bei -20 °C eingefroren werden. Das rekonstituierte Substrat konnte bei -20 °C für 6-8 Wochen ohne Aktivitätsverlust gelagert werden. Für die Positivkontrolle wurden 2 µL der LDH-Positivkontrolle in 1 % BSA + 10 mL 1x PBS gemischt, entspricht hier 10 mL 1x PBS + 0,01 g BSA. Diese Positivkontrolle musste für jeden Gebrauch neu angesetzt werden, da sie nicht lagerfähig war.

45 Minuten vor der Durchführung der Messung musste 10 µL der 10x Lyselösung auf die High Kontrolle gegeben werden. Nach 1 h, 24 h und 48 h wurde 50 µL pro Well Überstand entnommen. Diese Überstände wurden in eine durchsichtige und flache 96-Well-MTP in die entsprechenden Wells pipettiert. 50 µL der Positivkontrolle wurden in Dreifachbestimmung in die entsprechenden Wells gelegt. In jedes Well wurden 50 µL Reaktionsgemisch pipettiert. Die MTP wurde anschließend kurz auf dem Probenschüttler geschüttelt und inkubierte für 30 min lichtgeschützt bei Raumtemperatur. Danach erfolgte die Zugabe von 50 µL Stopplösung in jedes Well. Die MTPs wurden auf Luftblasen untersucht, welche mit einer Kanüle entfernt wurden, da diese Luftblasen die optische Dichte beeinflussen konnten. Die Messungen der Absorption bei

490 nm erfolgten innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung für jeden Textilextrakt im FLUOstar Galaxy. Die Anzahl der Zellen ist proportional zu den Absorptionswerten, die die LDH-Aktivität repräsentieren (Promega 2016).

Die Berechnung der % Zytotoxizität erfolgte zunächst durch Berechnen der Mittelwerte der Replikate. Von allen Mittelwerten wurde im Anschluss die Backgroundkontrolle subtrahiert. Danach wurde folgende Formel verwendet:

$$\% \text{ Zytotoxizität} = \frac{\text{exp.Wert} - \text{LowKontrolle}}{\text{HighKontrolle} - \text{LowKontrolle}} * 100$$

Der CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay wird verwendet, wenn man die gesamte Zellzahl nach der Zellyse oder eine mögliche Zytotoxizität von Chemikalien und anderen Bestandteilen auf die Zellmembran bestimmen möchte.

4.2.5 Proteinbestimmung mittels BC Assay Protein Quantitation Kit

Die Proteinbestimmung im BC Assay beruht auf einer photometrisch bestimmbaren Farbreaktion. Die Peptidbindungen von Proteinen bilden in alkalischer Lösung mit Cu²⁺-Ionen einen Komplex, dabei werden die Cu²⁺-Ionen zu Cu⁺-Ionen reduziert. Diese Cu⁺-Ionen bilden mit Bicinchoninsäure einen violetten wasserlöslichen Farbkomplex. Diese Reaktion ist als sogenannte Biuret-Reaktion bekannt. Damit können Zellysate und Seren auf Proteine untersucht werden. Die Proteinkonzentration wird anhand einer mitgeführten Standardproteinkurve berechnet (Smith et al. 1985). Die Keratinozyten wurden, wie unter 4.2.2.2 beschrieben, in die MTPs mit dem Layout wie in Tabelle 6 eingesät.

Vor der Messung wurden die Zellysate hergestellt. Die MTPs wurden zweimal mit 300 µL PBS gewaschen. Danach erfolgte die Zugabe von 75 µL Lysepuffer (PBS + 0,1 % Triton[®]-X 100) in jedes Well der MTPs. Die MTPs wurden für 15 min auf dem Probenschüttler geschüttelt. Mit einer Klebefolie auf den MTPs wurden die Zellysate im Wasserbad bei 90 °C für 15 min inkubiert. Danach wurden die MTPs bei -20 °C tiefgefroren. Alle Arbeiten wurden mit Handschuhen durchgeführt, um Kontaminationen mit Proteinen zu vermeiden. Zunächst erfolgte die Herstellung der BCA-Lösung. Dabei wurden 50 Teile Reagenz A und ein Teil Reagenz B in sterilen 50 mL Tubes hergestellt und bis zum Gebrauch lichtgeschützt gelagert. Danach erfolgte die Herstellung der zur Berechnung des Proteingehalts notwendige Standardkurve nach dem Enhanced Protokoll für den Proteingehalt in Zellysaten. Nach Berechnung des

Verdünnungsfaktors von hier 6,6 und einer Zielkonzentration von 300 µg/mL BSA in STD H mussten 425 µL Lysepuffer (PBS + 0,1 % Triton) zu 75 µL BSA-Stocklösung pipettiert werden, um das Endvolumen von 500 µL STD H zu erhalten. Danach wurde eine Verdünnungsreihe von 1:2 hergestellt siehe Tabelle 8.

Tabelle 8 Herstellung der Standardproteinkurve abgeleitet vom Enhanced Protokoll für die Proteinbestimmung mit dem BC Assay von Uptima

Standard	STD H mit BSA-Konzentration 300 µg/mL	Lysepuffer	Proteinkonzentration
STD G	250 µL	750 µL	250 µg/mL
STD F	125 µL	875 µL	125 µg/mL
STD E	62,5 µL	937,5 µL	62,5 µg/mL
STD D	31,3 µL	968,7 µL	31,3 µg/mL
STD C	15,6 µL	984,4 µL	15,6 µg/mL
STD B	7,8 µL	992,2 µL	7,8 µg/mL
STD A (Blank)	0 µL	1000 µL	0 µg/mL

Für die Versuchsdurchführung wurden die MTPs mit den Proben aufgetaut. Danach wurden je 25 µL Probe bzw. Standard in Doppelbestimmung in eine durchsichtige MTP gegeben. Es wurden 200 µL des angesetzten BCA-Reagenzes in jedes Well gegeben. Das Layout für das Pipettierschema entsprach Tabelle 6. Die jeweiligen MTPs wurde 30 min lang bei 60 °C inkubiert. Nach der Abkühlung wurde am FLUOstar mit dem Programm BCA bei 580 nm gemessen. Es erfolgten je Textilextrakt zwei unabhängige Messungen nach 1 h, 24 h und 48 h.

Die Absorptionswerte wurden korrigiert, indem der Blank subtrahiert wurde. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Standardkurve als lineare Regression. Die Messungen wurden nach der Anleitung des Herstellers durchgeführt.

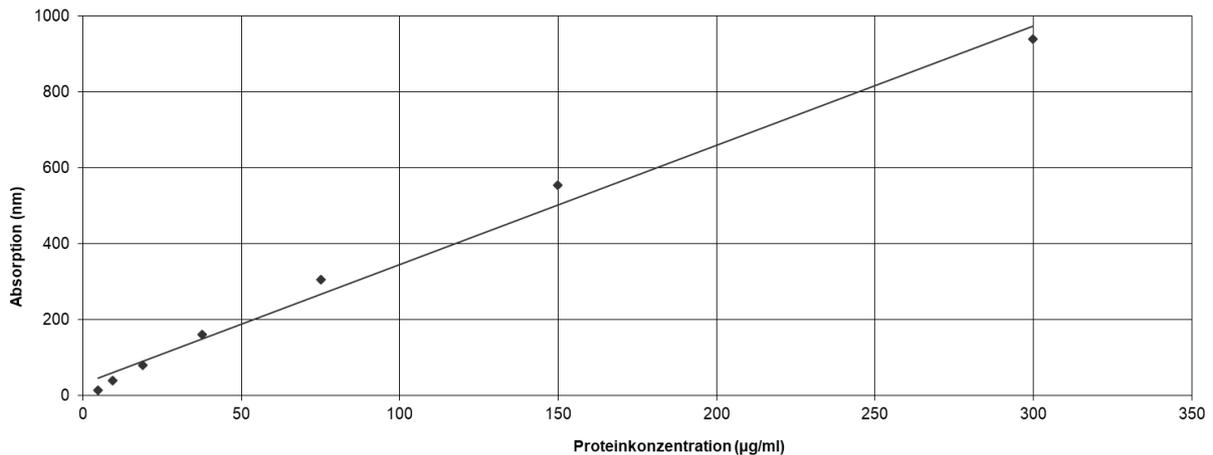


Abbildung 10 Standardkurve mit BSA (Konzentration 300 µg/mL) aus BC Assay zur Berechnung der Proteinkonzentration. Eine Standardkurve der Biokompatibilitätsuntersuchung des Funktionsfasergarnextrakts weiß mit $R^2 = 0,996$, $y = 2,97x + 28,93$ wurde hier dargestellt.

4.3 Methoden für die Untersuchungen zur antioxidativen Wirksamkeit

4.3.1 Testprinzip ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit

Der Test ist ein Chemilumineszenzassay und beruht auf dem Prinzip, dass das Protein Pholasin® Licht produziert, sobald freie Radikale oder Oxidationsmittel anwesend sind. Pholasin® ist ein Protein, das vom Meeresweichtier *Pholas dactylus* isoliert wurde. In diesem Test sind die freien Radikale Peroxynitrit die Auslöser für die Lichtfreisetzung durch Pholasin®. Peroxynitrit entsteht während der Reaktion von Stickstoffoxid mit Superoxid:



Aus der 2,5 mM SIN-1-Lösung (3-Morpholino-syndnonimine HCl, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\cdot\text{HCl}$) werden kontinuierlich die beiden Reaktanden Superoxid und Stickstoffoxid freigesetzt. Die ausgesendete Lichtintensität steigt im Verlauf des Versuchs an, wodurch ein Maximum nach wenigen Minuten erreicht wird. Sofern andere Substanzen, die antioxidativ wirksam sind, anwesend sind, konkurrieren diese mit dem Pholasin® um das freigesetzte Peroxynitrit. Dadurch tritt das Maximum der Lichtintensität zeitlich verzögert auf und es ist geringer ausgeprägt. Die VEA (Vitamin E Analogon) äquivalente Einheiten geben die antioxidative Wirkung einer Substanz an. Diese Einheiten geben die Zeit von der Zugabe der SIN-1-Lösung bis zum Erreichen des Lumineszenzmaximums an. Als Teil des Versuchs läuft stets ein VEA-Standard (6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl-chroman-2-carboxylsäure) mit. Damit werden die VEA-Einheiten berechnet.

Mittels Stanzen wurden aus den Stoffen Baumwollgarn gelb 0181, Funktionsfasergarn blau 0145 und Lyocell jeweils für eine Dreifachbestimmung Proben in den Größen mit 5 mm Durchmesser (0,25 cm²) und mit 8 mm Durchmesser (0,5 cm²) herausgestanzt. Alle herausgestanzten Textilproben wurden auf einer Präzisionswaage gewogen und in eine 96-Well-MTP nach dem Layout wie in Tabelle 9 eingelegt.

Tabelle 9 Layout für Untersuchung auf RNS-Inhibition mit herausgestanzten Textilproben P1: Lyocell, P2: Baumwolle gelb 0181, P3: Funktionsfasergarn blau 0145; Durchmesser der jeweiligen ausgestanzten Textilprobe: 5 mm bzw. 8 mm S1-4: jeweiliger Standard (Tabelle 10); Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: Substanzblank der jeweiligen Textilprobe. Diese Untersuchung wurde in einer weiteren MTP mit den Textilproben P1: Funktionsfasergarn grün 0168, P2: Funktionsfasergarn rot 0173 und P3: Funktionsfasergarn weiß 0100 untersucht. Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Blank	S1	S3	P1/5mm	P2/5mm	P3/5mm			SB P1/5mm		
C		Blank	S1	S3	P1/5mm	P2/5mm	P3/5mm			SB P1/8mm		
D		Blank	S1	S3	P1/5mm	P2/5mm	P3/5mm			SB P2/5mm		
E		PK	S2	S4	P1/8mm	P2/8mm	P3/8mm			SB P2/8mm		
F		PK	S2	S4	P1/8mm	P2/8mm	P3/8mm			SB P3/5mm		
G		PK	S2	S4	P1/8mm	P2/8mm	P3/8mm			SB P3/8mm		
H												

Die Reagenzien wurden aus dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit verwendet. Das Pholasin® wurde in 10 mL R&A-Puffer gelöst. Dazu wurden 10 mL R&A-Puffer in eine Injektionsspritze aufgezogen, welche vorsichtig durch den Stopfen der Pholasin®-Flasche gestochen wurde. Anschließend wurde die Pufferlösung injiziert. Es erfolgte die Herstellung der SIN-1-Lösung mit einer Konzentration von 2 mg/mL mit 6 mL Wasser aus dem Test-Kit. Die Herstellung der SIN-1-Lösung musste jedes Mal neu erfolgen, da eine Lagerung der Lösung nicht möglich war. Zur Herstellung der VEA-Standard-Lösung wurden 2 mL R&A-Puffer mittels Injektionsspritze in den VEA-Standard injiziert. Die VEA-Standard-Lösung hatte eine Konzentration von 0,5 mmol/L und musste vor Licht geschützt werden. Für die Herstellung der Standardkurve wurden zwei zusätzliche Verdünnungen benötigt. Für die Konzentration von 50 µM wurde eine 1:10 Verdünnung der VEA-Standard-Lösung mit R&A-Puffer hergestellt. Von dieser 50 µM VEA-Lösung wurde eine weitere 1:10 Verdünnung mit R&A-Puffer hergestellt mit einer Konzentration von 5 µM. Die VEA-Standardkurve erfolgte in Doppelbestimmung und nahm in der Konzentration zu. Die VEA-Lösungen wurden mit den jeweils entsprechenden Volumina R&A-Puffer pipettiert.

Tabelle 10 Übersicht über entsprechenden Volumina R&A-Puffer und VEA für die VEA-Standardkurve zur Bestimmung der RNS aus dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited.

	VEA [μ L]	R&A-Puffer [μ L]	VEA units im Ansatz [μ M]
S1	40 (5 μ M)	60	1
S2	10 (50 μ M)	90	2,5
S3	4 (0,5 mM)	96	10
S4	12 (0,5 mM)	88	30

In die ersten drei Wells der MTPs kamen je 150 μ L R&A-Puffer als Blank. In diese Wells wurde kein Pholasin® hinzugegeben. In die folgenden drei Wells wurden je 100 μ L und je 50 μ L Pholasin® als PK pipettiert. Es wurden zu den Stoffproben jeweils 100 μ L R&A-Puffer pipettiert. Es erfolgte das Pipettieren der VEA-Standardkurve. In die Wells der VEA-Standardkurve sowie in die Wells mit den Textilproben wurden jeweils 50 μ L Pholasin®-Lösung pipettiert. Für jede Textilprobe wurden spezifische Blanks (SB) mitgeführt. Hinzu wurden jeweils 150 μ L R&A-Puffer pipettiert. Zu den SB wurde kein Pholasin® hinzugegeben. Die MTPs wurden im NOVOstar Galaxy platziert und eine Injektion von 50 μ L SIN-1-Lösung erfolgte mit einer automatischen Injektion durch das Gerät im Programm ABEL-Peroxynitrit. Die Zyklusanzahl wurde auf 50 Zyklen festgelegt, um eine Messzeit von mindestens 90 min zu erreichen. Die Messungen der ersten und zweiten MTP erfolgten jeweils in zwei unabhängigen Versuchen an verschiedenen Tagen. Die Messungen wurden nach der Anleitung des Herstellers durchgeführt.

In einem weiteren Ansatz wurden erneut die entsprechenden Proben ausgestanzt, gewogen und in weiße MTPs eingelegt. Die ausgestanzten Textilproben wurden für eine Stunde in 200 μ L R&A-Puffer eingelegt. Danach wurden die ausgestanzten Textilproben in eine neue MTP überführt. Die anschließende Messung erfolgte, wie bereits beschrieben. Bei der Verwendung von Textilextrakten wurde der Versuchsablauf geringfügig abgeändert. Es wurden nur 90 μ L R&A-Puffer und 10 μ L des entsprechenden Textilextrakts in entsprechender Verdünnung in die jeweiligen Wells pipettiert. Der restliche Ablauf erfolgte wie bereits beschrieben.

Tabelle 11 Layout für die Untersuchung auf RNS-Inhibition in % mit P1: 24 h-Baumwollgarmentextrakt gelb; P2: 24 h-Funktionsfasergarmentextrakt weiß; S1-4: jeweiliger Standard (Tabelle 10); Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Textilprobe; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Blank	S1	S3	P1/ 1:100	P1/ 1:2	P2/ 1:100	P2/ 1:2				
C		Blank	S1	S3	P1/ 1:100	P1/ 1:2	P2/ 1:100	P2/ 1:2		SB P1/ 1:100	SB P2/ 1:100	
D		Blank	S1	S3	P1/ 1:100	P1/ 1:2	P2/ 1:100	P2/ 1:2		SB P1/ 1:10	SB P2/ 1:10	
E		PK	S2	S4	P1/ 1:10	P1/ 1:1	P2/ 1:10	P2/ 1:1		SB P1/ 1:2	SB P2/ 1:2	
F		PK	S2	S4	P1/ 1:10	P1/ 1:1	P2/ 1:10	P2/ 1:1		SB P1/ 1:1	SB P2/ 1:1	
G		PK	S2	S4	P1/ 1:10	P1/ 1:1	P2/ 1:10	P2/ 1:1				
H												

4.3.2 Testprinzip ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale

Das Protein Pholasin® ist in der Lage in Anwesenheit von Oxidationsmitteln und freien Radikalen Licht zu produzieren. Das Superoxidanionradikal ($O_2^{\bullet-}$) wird direkt nach der Zugabe der Lösung B zur Lösung A in einem Well einer MTP gebildet. Durch das Pholasin® wird bei Bildung von Superoxid Licht produziert. Sofern in der Testsubstanz Antioxidantien vorhanden sind, konkurrieren diese mit dem Pholasin® um das Superoxidanion. Nach ca. 5 s wird ein Maximum der Lichtintensität erreicht. In Gegenwart von wirksamen Antioxidantien, die die gebildeten Superoxidanionen abfangen können, wird weniger Licht emittiert und das Maximum erreicht eine geringere Intensität.

Die prozentuale Reduktion der Peakintensität im Vergleich zu den mitlaufenden Kontrollen ohne Probe bezeichnet die antioxidative Wirkung der untersuchten Substanz.

$$\% \text{ Inhibierung} = \frac{[(\text{peak-Kontrolle}) - (\text{peak-Probe})] * 100}{(\text{peak-Kontrolle})}$$

Des Weiteren ist eine Angabe in äquivalenten L-Ascorbinsäureeinheiten möglich, sofern man im Test eine L-Ascorbinsäure-Standardkurve mitführt. Die Einheit wird als RLU (relative Lumineszenzeinheiten) oder als *ascorbate units* bezeichnet.

Die Textilproben P1-P6 wurden mittels Stanzen aus den Textilien herausgestanzt, mit einer Präzisionswaage gewogen und anschließend wie in Tabelle 12 in eine 96-Well-MTP platziert.

Tabelle 12 Layout für Untersuchungen auf ROS-Inhibition mit Stoffproben P1: Lyocell, P2: Baumwolle gelb 0181, P3: Funktionsfasergarn blau 0145, P4: Funktionsfasergarn grün 0168, P5: Funktionsfasergarn rot 0173, P6: Funktionsfasergarn weiß 0100; Durchmesser der jeweiligen ausgestanzten Textilprobe: 5 mm bzw. 8 mm; Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Textilprobe; S1-S4: Standardkurve in Dreifachbestimmung (Tabelle 13); Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A				SB P1/5mm	SB P2/5mm	SB P3/5mm	SB P4/5mm	SB P5/5mm	SB P6/5mm			
B	Blank	S1	S3	P1/5mm	P2/5mm	P3/5mm	P4/5mm	P5/5mm	P6/5mm			
C	Blank	S1	S3	P1/5mm	P2/5mm	P3/5mm	P4/5mm	P5/5mm	P6/5mm			
D	Blank	S1	S3	P1/5mm	P2/5mm	P3/5mm	P4/5mm	P5/5mm	P6/5mm			
E	PK	S2	S4	P1/8mm	P2/8mm	P3/8mm	P4/8mm	P5/8mm	P6/8mm			
F	PK	S2	S4	P1/8mm	P2/8mm	P3/8mm	P4/8mm	P5/8mm	P6/8mm			
G	PK	S2	S4	P1/8mm	P2/8mm	P3/8mm	P4/8mm	P5/8mm	P6/8mm			
H				SB P1/8mm	SB P2/8mm	SB P3/8mm	SB P4/8mm	SB P5/8mm	SB P6/8mm			

Zur Herstellung der Reagenzien wurde in eine Injektionsspritze 5 mL R&A-Puffer gefüllt, um das Pholasin® zu lösen. Für die Herstellung der L-Ascorbinsäure-Standardlösung von 1 mmol/L wurde der lyophilisierte Standard in 5 mL R&A-Puffer gelöst. Danach wurde die Standardkurve in aufsteigender Konzentration mit folgenden Volumina in Dreifachbestimmung pipettiert (Tabelle 13).

Tabelle 13 Übersicht über die entsprechenden Volumina R&A-Puffer und L-Ascorbinsäure-Standardlösung (LA) zur Bestimmung der ROS aus dem dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited.

	1 mM LA-Standard [µL]	R&A-Puffer [µL]	LA units im Ansatz [µM]
S1	2	23	10
S2	4	21	20
S3	12	13	60
S4	20	5	100

Als Blank wurden in zwei Wells der MTPs je 75 µL R&A-Puffer pipettiert. Als Kontrolle wurden in zwei weitere Wells je 25 µL R&A-Puffer und 50 µL Pholasin® pipettiert. Zu den entsprechenden Textilproben wurden je 25 µL R&A-Puffer sowie 50 µL Pholasin® pipettiert. Für jede Textilprobe wurden spezifische Blanks mitgeführt. Dabei wurde zur entsprechenden Textilprobe nur 75 µL R&A-Puffer gegeben. Die Wells der Standardkurve erhielten je 50 µL Pholasin®. Im Anschluss wurde je 100 µL Lösung A in jedes Well pipettiert. Vor der Messung wurde bei Raumtemperatur der NOVOstar Galaxy mit der Lösung B vorbereitet. Die Messung erfolgte im NOVOstar Galaxy, der je 25 µL Lösung B direkt vor der Messung in jedes Well injizierte. Der NOVOstar maß jedes Well 30 s lang in kurzen Intervallen nach der Injektion von Lösung B. Die Messungen wurden nach der Anleitung des Herstellers durchgeführt.

4.3.3 Herstellung der Textilextrakte für die Untersuchungen zur antioxidativen Wirkung gegen RNS und ROS

Für die Herstellung der Textilextrakte wurden die zu untersuchenden Textilien mit einer Schere in ca. 1 cm² große Stücke zerkleinert. Für die Versuche wurden pro Extrakt 200 mg der jeweiligen Textilprobe zerkleinert, was einer Konzentration von 0,02 mg/mL entspricht. Diese wurden nach dem Abwiegen in sterile Erlenmeyerkolben gefüllt. Danach wurden diese für 20 min bei 121 °C im Dampfsterilisator autoklaviert. Folgend wurden jeweils 10 mL R&A-Puffer aus dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Peroxynitrit und ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Superoxid und andere freie Radikale hinzugefügt. Die beschrifteten Erlenmeyerkolben wurden fest verschlossen für 24 h bei 37 °C im Schüttelwasserbad inkubiert. Die Überstände wurden in Bechergläser mit je einem Trichter, in dem ein Faltenfilter lag, gegossen. Die nassen Textilproben wurden in 50 mL Röhrchen, in die eine sterile Mullkompressen platziert wurde, gefüllt. Danach wurden die verschlossenen Röhrchen 10 min bei 1000 rpm zentrifugiert. Die jeweiligen Überstände wurden durch je einen Filter in die Bechergläser gegeben. Es folgte die Sterilfiltration unter der Sterilbox durch einen Minisartfilter. Die Textilextrakte wurden bei 4-8 °C im Kühlschrank für maximal eine Woche gelagert.

In einem weiteren Ansatz wurden die Textilien Baumwolle gelb 0181 und Funktionsfaserfarn weiß 0100 mit einer Konzentration von 0,2 g/mL mit dem jeweiligen R&A-Puffer aus dem RNS- und ROS-Test **ohne** vorheriges Autoklavieren für 24 h bei 37 °C im Schüttelwasserbad inkubiert. Das weitere Vorgehen blieb wie bereits beschrieben. Die Plattenbelegung für die Textilextrakte in entsprechender Verdünnung erfolgte für RNS wie in Tabelle 11 und für ROS wie in Tabelle 12 beschrieben.

4.3.4 Herstellung der Schweißlösungen

Zur Herstellung von 1 Liter saurer Schweißlösung wurden 900 mL Aqua dest., 5 g Natriumchlorid (NaCl), 2,2 g Natriumdihydrogenphosphat Dihydrat (NaH₂PO₄·2H₂O), 0,5 g L-Histidinmonohydrochlorid Monohydrat (C₆H₉O₂N₃·HCl·H₂O) vermischt und mit 13 mL 0,1 N Natriumhydroxid (NaOH) auf den pH-Wert 5,5 eingestellt.

Zur Herstellung der alkalischen Schweißlösung wurden 900 mL Aqua dest., 5 g Natriumchlorid (NaCl), 2,5 g Dinatriumhydrogenorthosphosphat Dihydrat (Na₂HPO₄·2H₂O) und 0,5 g L-Histidinmonohydrochlorid Monohydrat (C₆H₉O₂N₃·HCl·H₂O) vermischt und

mit 16,5 mL der 0,1 N Natriumhydroxid (NaOH) auf den pH-Wert 8 eingestellt. Danach erfolgte die Sterilfiltration beider Schweißlösungen mit dem Minisartfilter. Die basische und die saure Schweißlösung wurden bei 2-8 °C im Kühlschrank gelagert.

Um zu überprüfen, in welcher Verdünnung die Schweißlösungen die RNS- und ROS-Inhibition nicht stören, wurden folgende Verdünnungen der sauren und basischen Schweißlösung hergestellt.

Tabelle 14 Verdünnungen der sauren Schweißlösung (P1-P8) mit R&A-Puffer zur Bestimmung der RNS-Inhibition in % mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited; die Verdünnungen für die basische Schweißlösung (bSL) waren äquivalent. Die Plattenbelegung erfolgte wie in Tabelle 16.

P1	25 µL sSL und 75 µL R&A-Puffer
P2	20 µL sSL und 80 µL R&A-Puffer
P3	15 µL sSL und 85 µL R&A-Puffer
P4	10 µL sSL und 90 µL R&A-Puffer 1:1
P5	10 µL sSL 1:2 und 90 µL R&A-Puffer
P6	10 µL sSL 1:10 und 90 µL R&A-Puffer
P7	10 µL sSL 1:100 und 90 µL R&A-Puffer
P8	10 µL sSL 1:1000 und 90 µL R&A-Puffer

Tabelle 15 Für die Proben P5-P8 wurden Stammlösungen in den Konzentrationen 1:2, 1:10, 1:100 und 1:1000 in den entsprechenden Schweißlösungen hergestellt. Die basische Schweißlösung wurde wie die saure Schweißlösung verdünnt und in einem unabhängigen Ansatz gemessen.

P5	Verdünnung 1:2 250 µL sSL + 250 µL R&A-Puffer
P6	Verdünnung 1:10 50 µL sSL + 450 µL R&A-Puffer
P7	Verdünnung 1:100 50 µL sSL aus der 1:10 Verdünnung+ 450 µL R&A-Puffer
P8	Verdünnung 1:1000 50 µL sSL aus der 1:100 Verdünnung + 450 µL R&A-Puffer

Tabelle 16 Plattenbelegung für die saure Schweißlösung mit R&A-Puffer zur Bestimmung der RNS-Inhibition in % mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited. Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Schweißlösung; S1-S4: Standardkurve in Dreifachbestimmung (Tabelle 10). Die Plattenbelegung für die basische Schweißlösung (bSL) war äquivalent.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		Blank	S1	S3	P1	P3	P5	P7				
C		Blank	S1	S3	P1	P3	P5	P7		SB P1	SB P5	
D		Blank	S1	S3	P1	P3	P5	P7		SB P2	SB P6	
E		PK	S2	S4	P2	P4	P6	P8		SB P3	SB P7	
F		PK	S2	S4	P2	P4	P6	P8		SB P4	SB P8	
G		PK	S2	S4	P2	P4	P6	P8				
H												

4.3.5 Antioxidative Wirkung gegen ROS in saurer und basischer Schweißlösung

Tabelle 17 Verdünnungen der Schweißlösungen (SL) mit R&A-Puffer zur Bestimmung der ROS-Inhibition in %; P1-P8: saure Schweißlösung in entsprechender Verdünnung; P9-P16: basische Schweißlösung (bSL) in entsprechender Verdünnung; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited.

P1/9	25 µL sSL/bSL
P2/10	20 µL sSL/bSL und 5 µL R&A-Puffer
P3/11	15 µL sSL/bSL und 10 µL R&A-Puffer
P4/12	10 µL sSL/bSL und 15 µL R&A-Puffer 1:1
P5/13	10 µL sSL/bSL 1:2 + 15 µL R&A-Puffer
P6/14	10 µL sSL/bSL 1:10 + 15 µL R&A-Puffer
P7/15	10 µL sSL/bSL 1:100 + 15 µL R&A-Puffer
P8/16	10 µL sSL/bSL 1:1000 + 15 µL R&A-Puffer

Tabelle 18 Für die Proben P5-P8 und P13-P16 wurden Stammlösungen in den Konzentrationen 1:2, 1:10, 1:100 und 1:1000 in den entsprechenden Schweißlösungen hergestellt; P5-P8: sSL in entsprechender Verdünnung; P13-P16: bSL in entsprechender Verdünnung

P5/13	vorverdünnt 1:2 250 µL sSL/bSL + 250 µL R&A-Puffer
P6/14	vorverdünnt 1:10 50 µL sSL/bSL + 450 µL R&A-Puffer
P7/15	vorverdünnt 1:100 50 µL sSL/bSL aus der 1:10 Verdünnung+ 450 µL R&A-Puffer
P8/16	vorverdünnt 1:1000 50 µL sSL/bSL aus der 1:100 Verdünnung + 450 µL R&A-Puffer

Tabelle 19 Plattenbelegung für die Schweißlösungen (sSL und bSL) mit R&A-Puffer zur Bestimmung der ROS-Inhibition in % mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited; P1-P8: sSL in entsprechender Verdünnung; P9-P16: bSL in entsprechender Verdünnung; Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Schweißlösung; S1-S4: Standardkurve in Dreifachbestimmung (Tabelle 13).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A				SB P1	SB P3	SB P5	SB P7	SB P9	SB P11	SB P13	SB P15	
B	Blank	S1	S3	P1	P3	P5	P7	P9	P11	P13	P15	
C	Blank	S1	S3	P1	P3	P5	P7	P9	P11	P13	P15	
D	Blank	S1	S3	P1	P3	P5	P7	P9	P11	P13	P15	
E	PK	S2	S4	P2	P4	P6	P8	P10	P12	P14	P16	
F	PK	S2	S4	P2	P4	P6	P8	P10	P12	P14	P16	
G	PK	S2	S4	P2	P4	P6	P8	P10	P12	P14	P16	
H				SB P2	SB P4	SB P6	SB P8	SB P10	SB P12	SB P14	SB P16	

4.3.6 Herstellung der Textilextrakte in saurer und basischer Schweißlösung

Die Herstellung der Textilextrakte erfolgte wie unter 4.3.3 beschrieben. Anstatt des R&A-Puffers wurden die Textilproben Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß in saurer bzw. basischer Schweißlösung für 24 h bei 37 °C inkubiert.

Die jeweiligen Textilproben Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß wurden im Dampfsterilisator autoklaviert. Danach wurden die Textilproben in saurer bzw. basischer Schweißlösung für 24 h bei 37 °C im Schüttelwasserbad inkubiert. Die restliche Weiterverarbeitung erfolgte wie bei der Herstellung der Textilextrakte unter 4.3.3. Die ersten beiden unabhängigen Ansätze für die RNS- und den ROS-Untersuchungen

wurden mit Textilextrakten der Konzentration von 0,02 g/mL getestet. Die folgenden beiden unabhängigen Ansätze für die ROS-Untersuchungen wurden mit einer erhöhten Textilextraktkonzentration von 0,2 g/mL getestet. Die Textilextrakte waren Baumwolle gelb sowie Funktionsfasergarn weiß in saurer bzw. basischer Schweißlösung in entsprechender Konzentration. Die Plattenbelegung für die RNS-Inhibition in sSL und bSL erfolgte wie in Tabelle 11.

4.3.7 Antioxidative Wirkung gegen ROS mit Textilextrakten in saurer und basischer Schweißlösung

Tabelle 20 Probenbezeichnung für ROS-Untersuchung; sExt/bExt gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in saurer/basischer Schweißlösung; sExt/bExt weiß: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß in saurer/basischer Schweißlösung; je 10 µl P1-P5 und P7-P11 werden aus einer 1:2 Verdünnung mit R&A-Puffer siehe Tabelle 22 nach Herstellung einer Vorverdünnung siehe Tabelle 21 in die MTP pipettiert; Pipettierschema siehe Tabelle 19.

P1/7	10 µL sExt/bExt gelb aus 1:2
P2/8	10 µL sExt/bExt gelb aus 1:20
P3/9	10 µL sExt/bExt gelb aus 1:200
P4/10	10 µL sExt/bExt weiß aus 1:2
P5/11	10 µL sExt/bExt weiß aus 1:20
P6/12	10 µL sExt/bExt weiß aus 1:200

Tabelle 21 Herstellung von Vorverdünnungen mit sSL: saurer Schweißlösung P1-6; bSL: basischer Schweißlösung P 7-12 der P 1-3 und P 7-9 sExt/bExt gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in sSL/bSL; P 4-6 und P 10-12 sExt/bExt weiß: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß in sSL/bSL

P1/7	1:1 gelb sExt/bExt
P2/8	1:10 50 µL sExt/ bExt gelb und 450 µL sSL/bSL
P3/9	1:100 50 µL sExt/bExt gelb aus der 1:10 und 450 µL sSL/bSL
P4/10	1:1 weiß sExt/bExt
P5/11	1:10 50 µL sExt/bExt weiß und 450 µL sSL/bSL
P6/12	1:100 50 µL sExt/bExt weiß aus der 1:10 und 450 µL sSL/bSL

Tabelle 22 Aus den Vorverdünnungen von Tabelle 21 wurden die Proben für die 1:2 Verdünnung mit R&A-Puffer hergestellt, welche für die ROS-Untersuchung benötigt wurden. sSL: saure Schweißlösung; bSL: basische Schweißlösung; P 1-3 und P 7-9 sExt/bExt gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in sSL/bSL; P4-6 und P 10-12 sExt/bExt weiß: 24 h-Funktionsgarntextilextrakt weiß in sSL/bSL

P1/7	250 µL 1:1 sExt/bExt gelb + 250 µL R&A-Puffer
P2/8	250 µL 1:10 sExt/bExt gelb + 250 µL R&A-Puffer
P3/9	250 µL 1:100 sExt/bExt gelb + 250 µL R&A-Puffer
P4/10	250 µL 1:1 sExt/bExt weiß + 250 µL R&A-Puffer
P5/11	250 µL 1:10 sExt/bExt weiß + 250 µL R&A-Puffer
P6/12	250 µL 1:100 sExt/bExt weiß + 250 µL R&A-Puffer

Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb sowie der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß hatten eine Textilextraktkonzentration von je 0,02 g/mL in saurer bzw. basischer Schweißlösung. Sie wurden in zwei unabhängigen Ansätzen mit dem Test Kit für ROS untersucht.

In zwei weiteren unabhängigen Ansätzen wurden die Konzentrationen des 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb sowie des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß auf 0,2 g/mL in saurer sowie basischer Schweißlösung erhöht. Die Verdünnungen der jeweiligen Textilextrakte P1-P12 erfolgte entsprechend Tabelle 20.

4.3.8 Antioxidative Wirkung bei Textilextrakten in Ethanol

Tabelle 23 Verdünnungen Ethanol 70 % mit R&A-Puffer zur Bestimmung der ROS-Inhibition in %; P1-P8: Ethanol 70 % in entsprechender Verdünnung; Pipettierschema wie in Tabelle 19; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited.

P1	25 µL 70 % Ethanol
P2	20 µL 70 % Ethanol und 5 µL Puffer
P3	15 µL 70 % Ethanol und 10 µL Puffer
P4	10 µL 70 % Ethanol und 15 µL Puffer
P5	10 µL 70 % Ethanol 1:2 und 15 µL R&A-Puffer
P6	10 µL 70 % Ethanol 1:10 und 15 µL R&A-Puffer
P7	10 µL 70 % Ethanol 1:100 und 15 µL R&A-Puffer
P8	10 µL 70 % Ethanol 1:100 und 15 µL R&A-Puffer

Tabelle 24 Für die Proben P5-P8 wurden Stammlösungen in den Konzentrationen 1:2, 1:10, 1:100 und 1:1000 in Ethanol-Verdünnungen hergestellt.

P5	Verdünnung 1:2 250 µL 70 % Ethanol + 250 µL Puffer
P6	Verdünnung 1:10 50 µL 70 % Ethanol + 450 µL Puffer
P7	Verdünnung 1:100 50 µL 70 % Ethanol aus der 1:10 Verdünnung + 450 µL Puffer
P8	Verdünnung 1:1000 50 µL 70 % Ethanol aus der 1:100 Verdünnung + 450 µL Puffer

4.4 Statistik

Es wurden stets zwei unabhängige Ansätze für alle Versuche durchgeführt. Bei den Biokompatibilitätsuntersuchungen erfolgte die Messung für jede Probe in Vierfachbestimmung. Bei den Untersuchungen zur antioxidativen Wirkung erfolgte die Messung jeder Probe in Dreifachbestimmung.

Die gewonnenen Messwerte wurden mit dem Programm Excel analysiert. Es erfolgte die Bestimmung der arithmetischen Mittelwerte, der Standardabweichungen sowie des p-Wertes. Das Signifikanzniveau wurde für die gesamten Berechnungen auf einen α -Fehler von maximal 5 % festgelegt. Die Kennzahl für das Signifikanzniveau, die p-Werte, wurden mit einer dreistufigen Sternsymbolik gekennzeichnet: (*) $p \leq 0,05$ signifikant; (**) $p \leq 0,01$ hochsignifikant und (***) $p \leq 0,001$ höchstsignifikant. Die Mittelwerte wurden mit Hilfe des t-Tests auf ihre statistische Signifikanz überprüft.

Nach der DIN EN ISO 10993-5:2007 wurde der Anstieg der Zellzahl über 30 % als proliferierend bewertet, wohingegen der Abfall der Zellzahl ab 30 % als zytotoxisch

bewertet wurde. Die antioxidative Wirkung wurde ebenso ab 30 % Inhibition im Vergleich zum Baumwolltextilextrakt als antioxidativ wirksam bewertet.

5 Ergebnisse

5.1 Untersuchungen zum Einfluss der Textilextrakte *in vitro* auf ihre Biokompatibilität
In den Untersuchungen wurden der Einfluss des Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) sowie des Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) mit abnehmenden Konzentrationsgradienten auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten untersucht.

Die HaCaT-Keratinocyten wurden mit den entsprechenden 24 h- und 72 h-Baumwoll- bzw. Funktionsfasergarntextilextraktverdünnungen inkubiert. Das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten wurde mit reinem Zellkulturmedium als Kontrolle parallel dazu beurteilt. Die Bestimmungen des ATP-Gehalts erfolgten über Chemilumineszenzmessungen mit dem LUMIstar, die LDH- und Proteinbestimmungen erfolgten über Absorptionsmessungen mit dem FLUOstar nach jeweils 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messwerte wurden am Computer mithilfe des Programms Excel ausgewertet.

5.1.1 Untersuchungen zum Einfluss der 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten unter sterilen Bedingungen

5.1.1.1 Bestimmung des ATP-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb

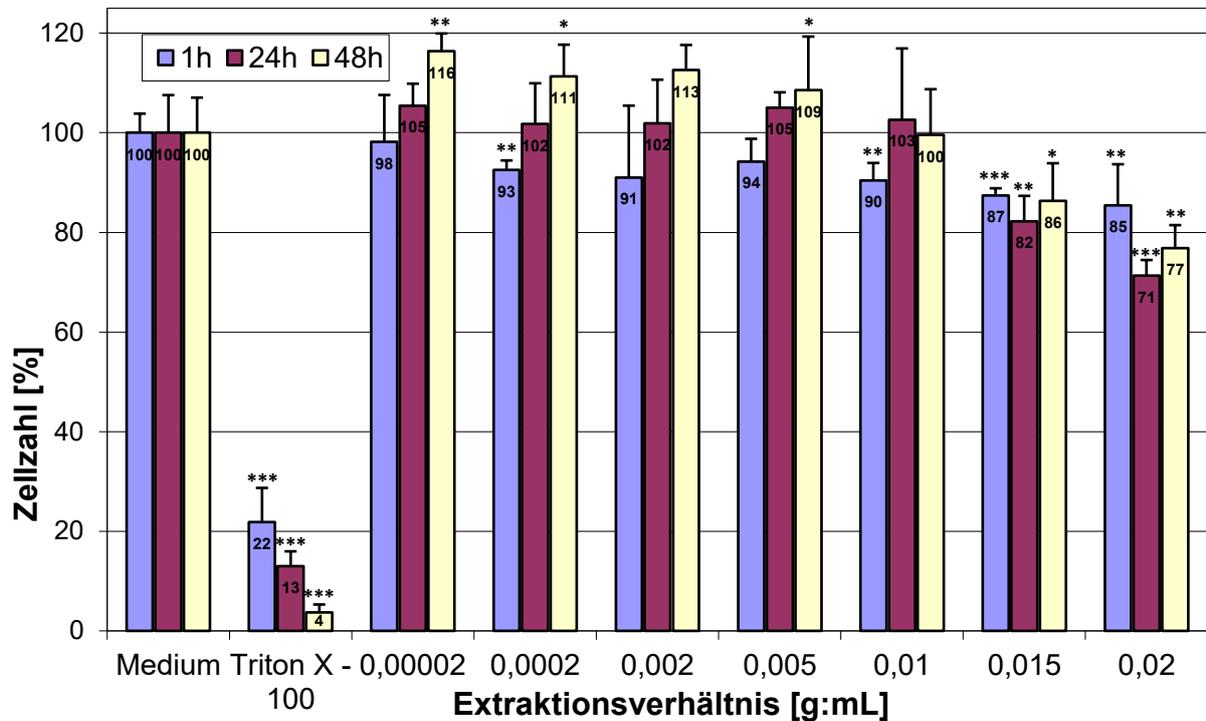


Abbildung 11 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die ATP-Messung der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$

Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) zeigte nach einer Inkubationsdauer von 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten.

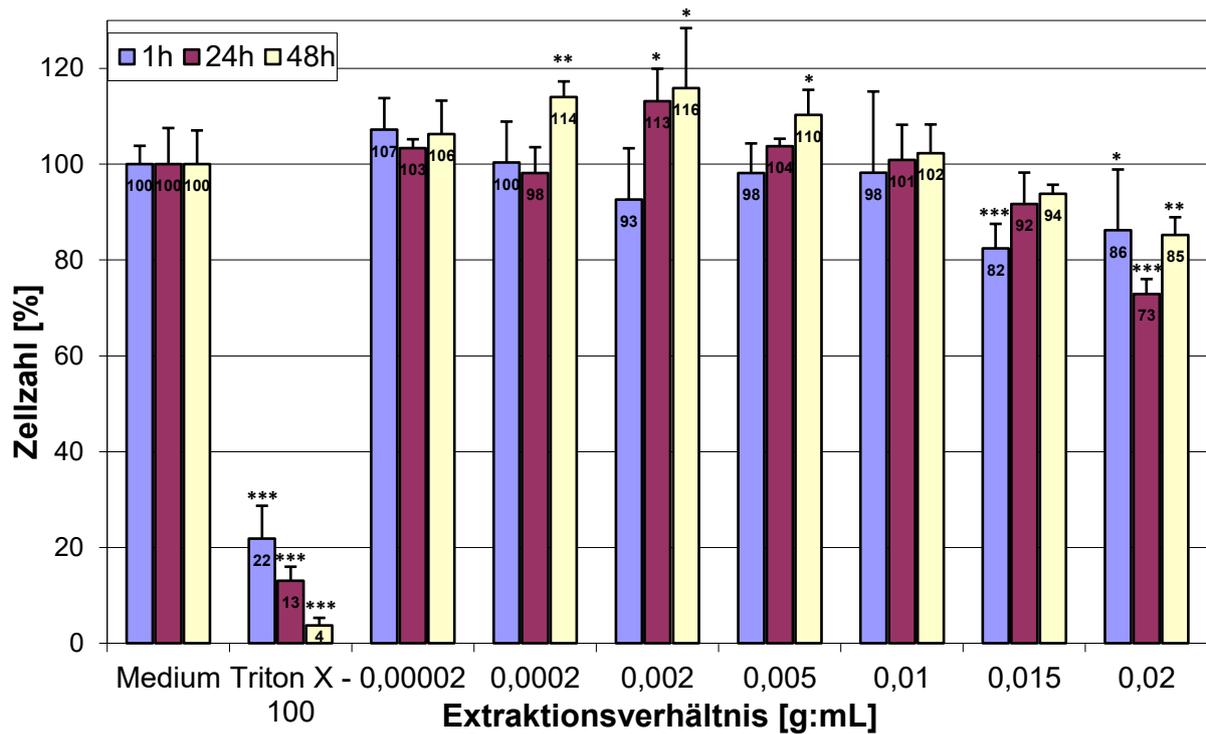


Abbildung 12 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. ATP-Messung der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$

Der 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) zeigte nach einer Inkubationsdauer von 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten.

5.1.1.2 Bestimmung des LDH-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb

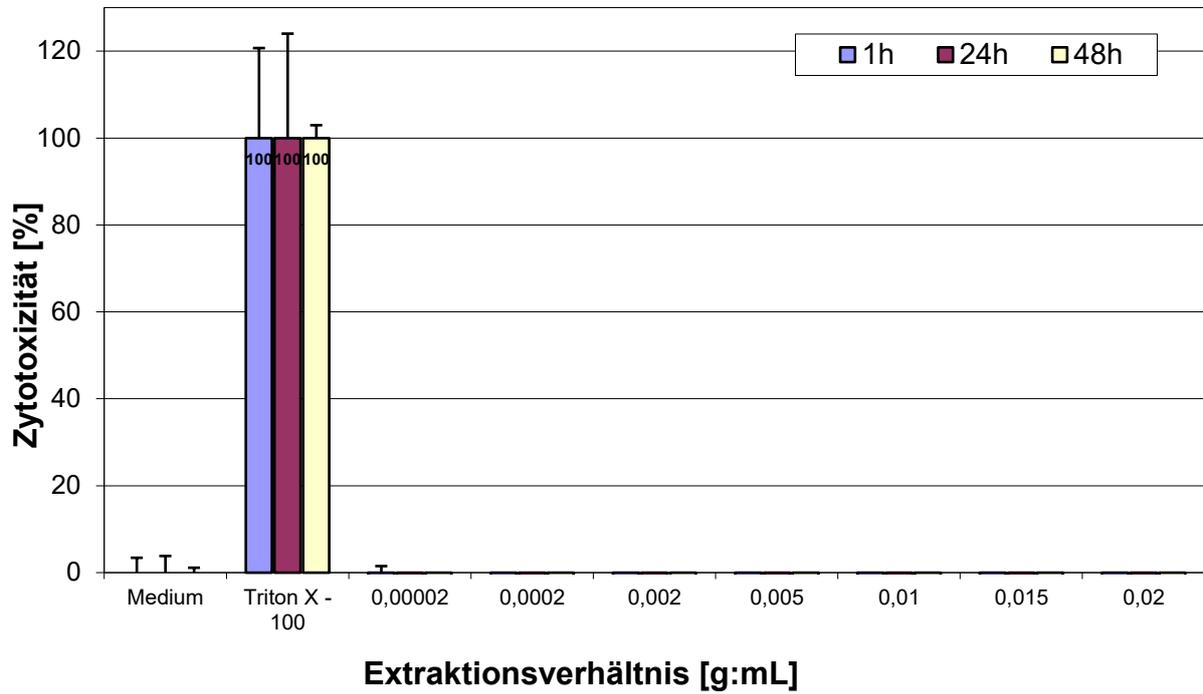


Abbildung 13 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Bestimmung des LDH-Gehaltes erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen.

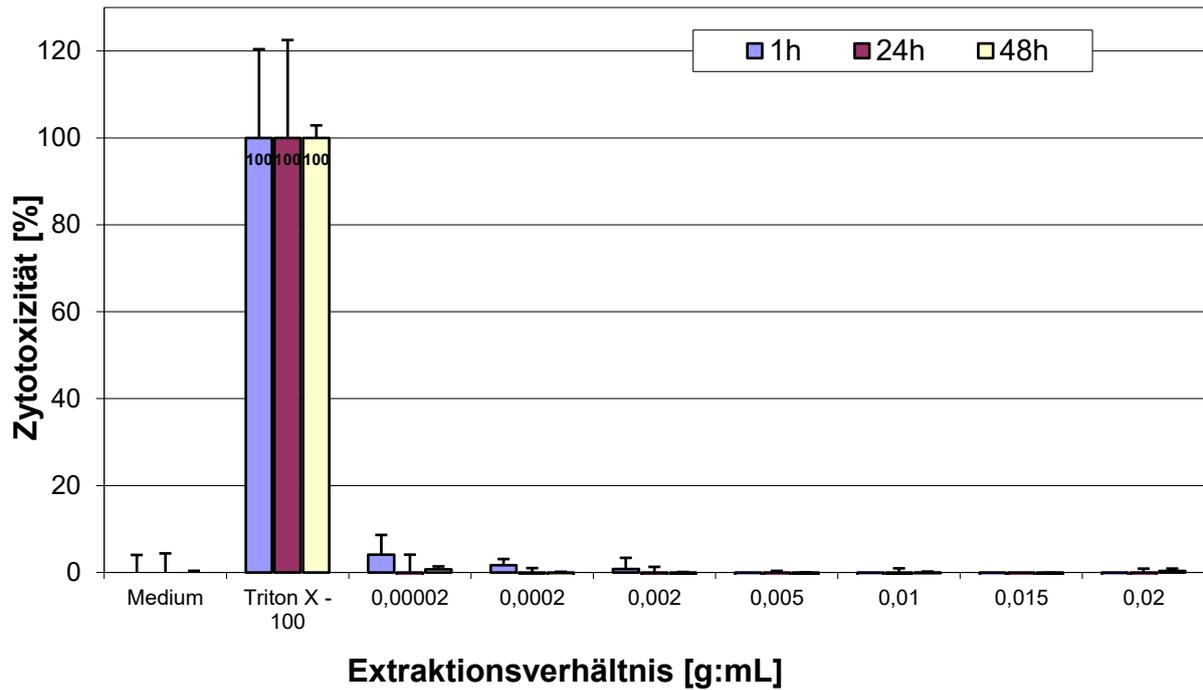


Abbildung 14 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Bestimmung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen.

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb wurden keine zytotoxischen Wirkungen auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt.

5.1.1.3 Bestimmung des Proteingehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb

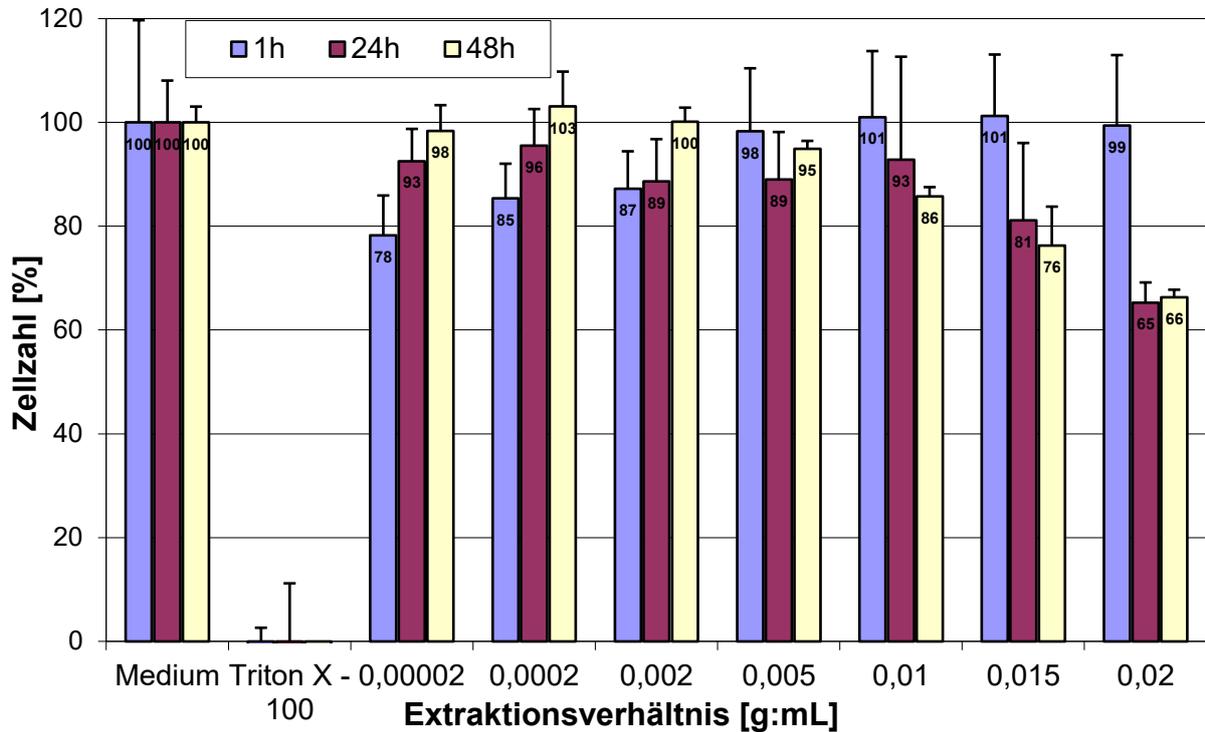


Abbildung 15 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima im FLUOstar.

Nach 24 h und 48 h Inkubation mit dem 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) mit der höchsten Konzentration von 0,02 g/mL wurden zytotoxische Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt. Die statistischen Berechnungen ergaben, dass die Ergebnisse statistisch nicht signifikant waren.

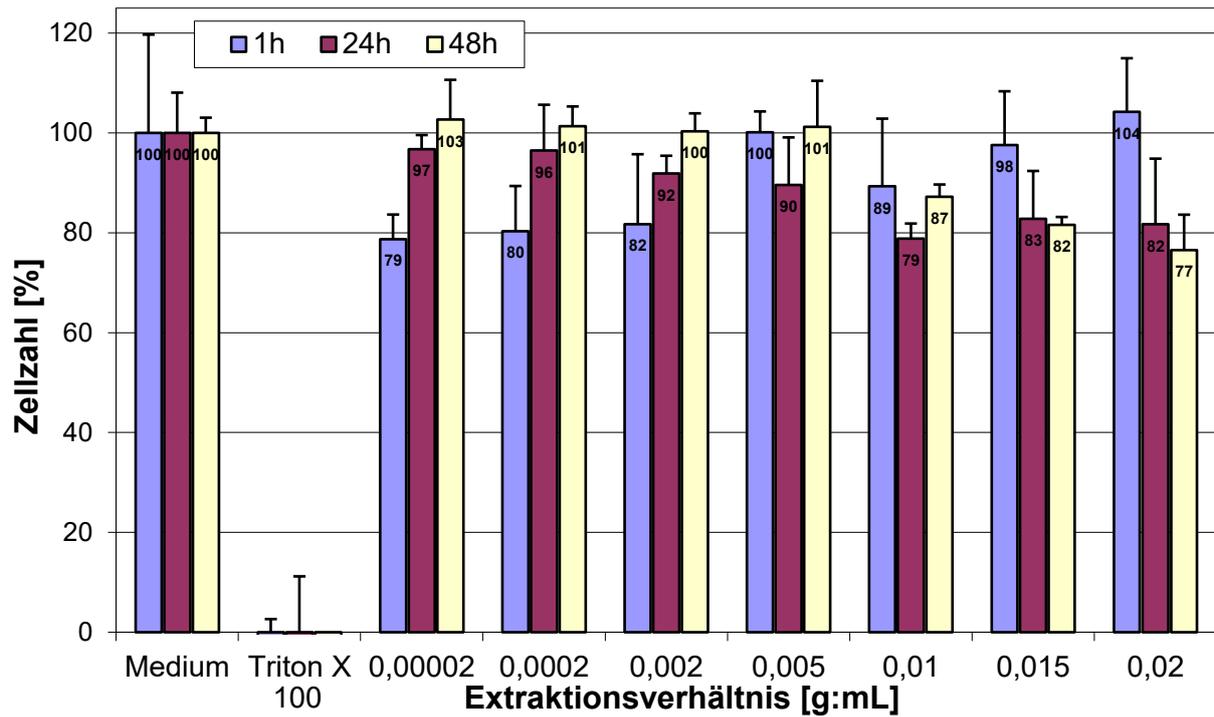


Abbildung 16 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinozyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima im FLUOstar.

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit dem 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) wurden keine zytotoxischen Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinozyten festgestellt. Die Berechnungen ergaben, dass die Ergebnisse statistisch nicht signifikant waren.

5.1.2 Untersuchungen zum Einfluss der 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten unter sterilen Bedingungen

5.1.2.1 Bestimmung des ATP-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß

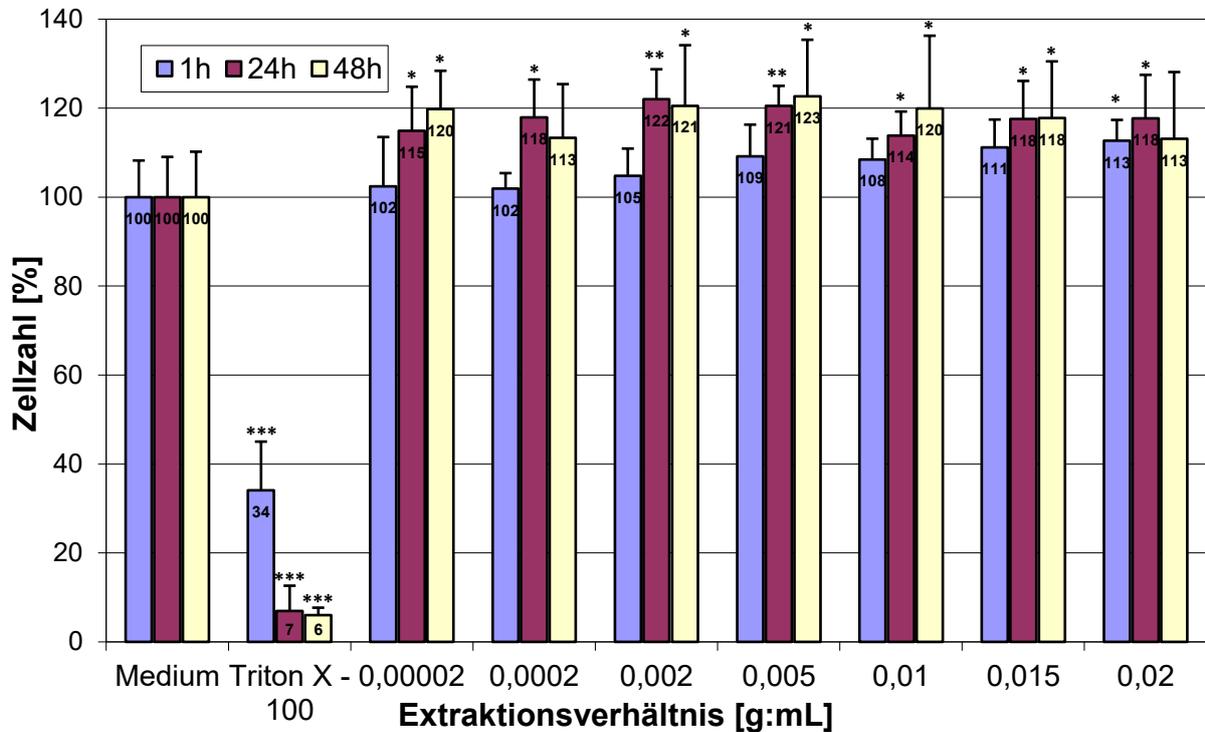


Abbildung 17 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des ATP-Gehaltes der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit dem 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) wurden keine zytotoxischen Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt.

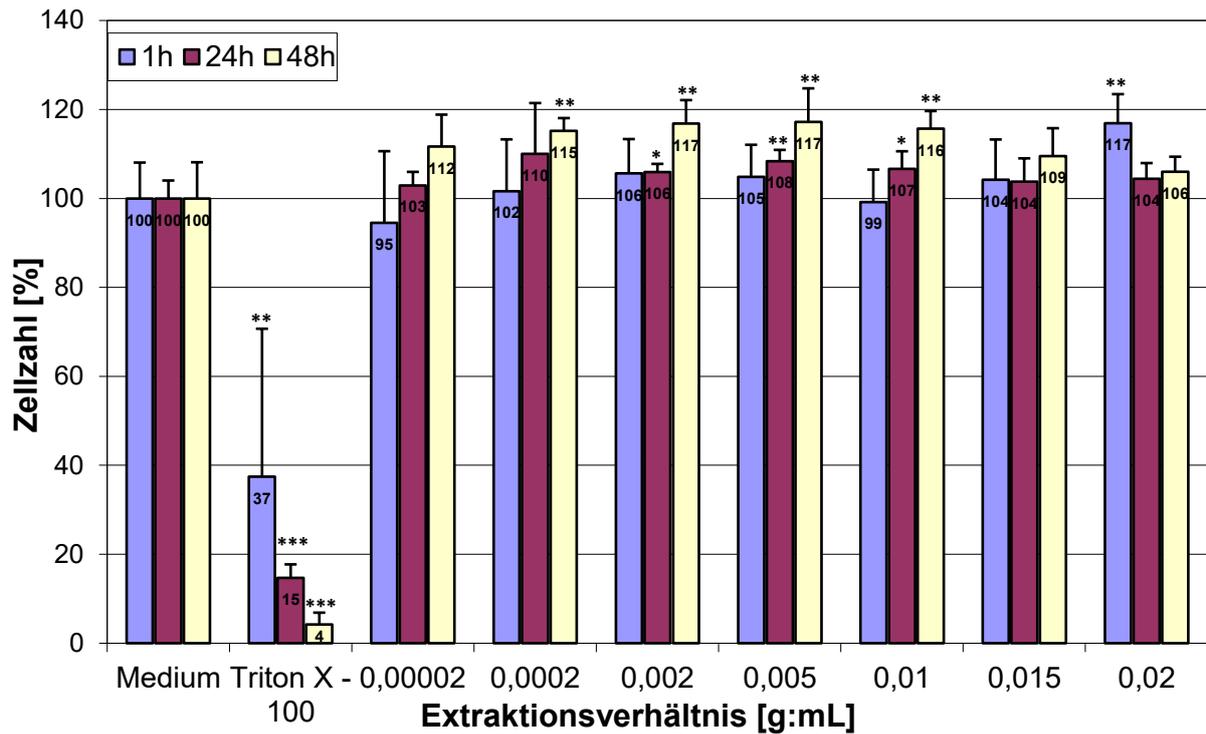


Abbildung 18 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des ATP-Gehalts der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß wurden weder proliferative noch antiproliferative Wirkungen auf das Wachstumsverhalten die HaCaT-Keratinocyten festgestellt.

5.1.2.2 Bestimmung des LDH-Gehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß

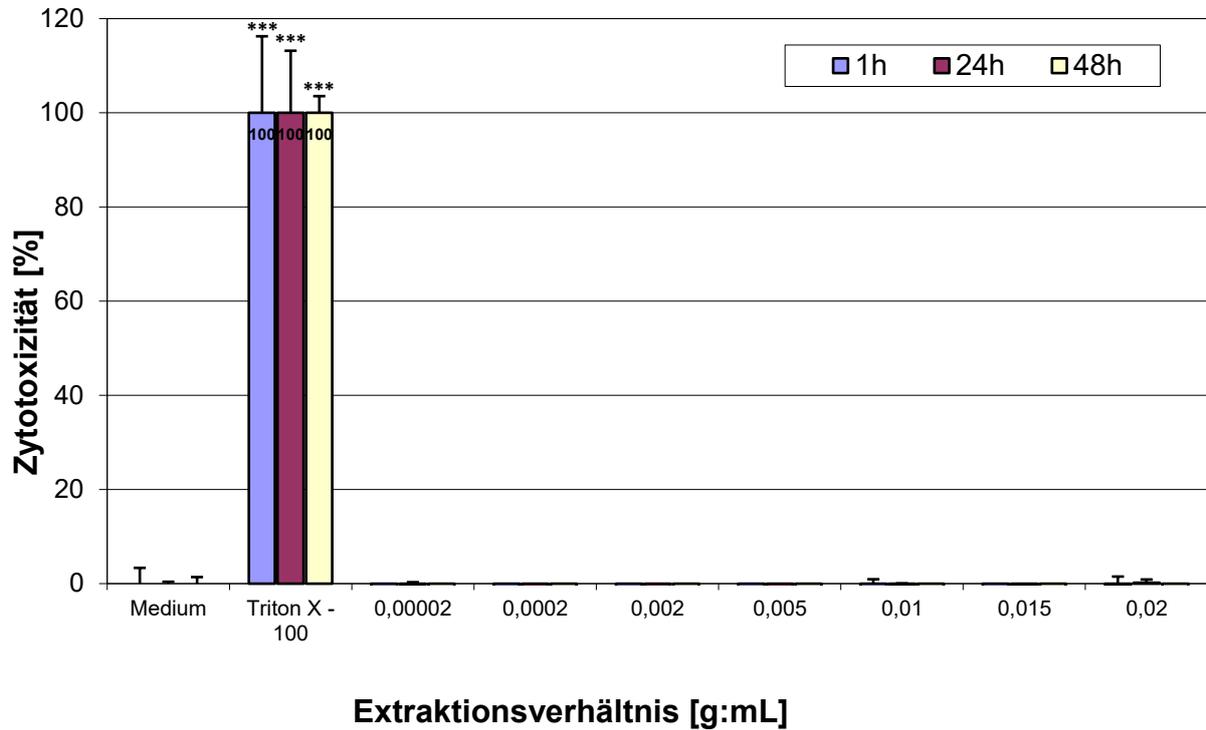


Abbildung 19 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen; (***) $p \leq 0,001$

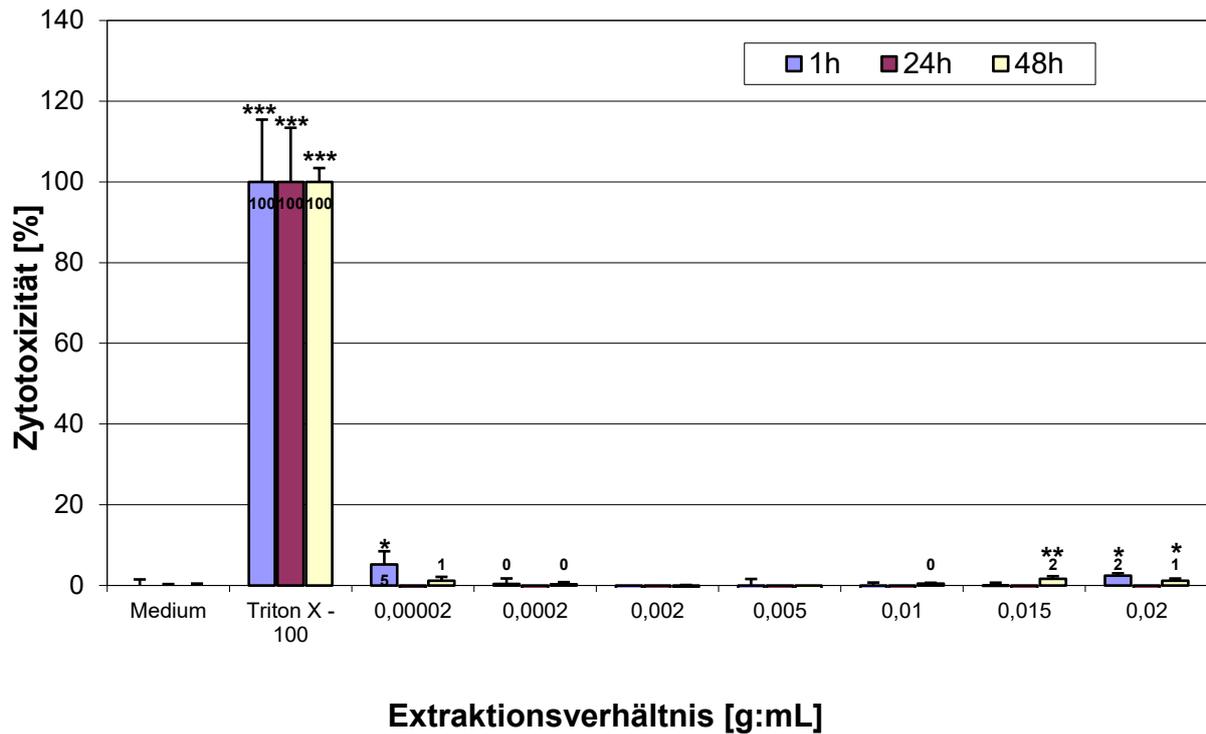


Abbildung 20 Biokompatibilität des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen. (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) wurden weder proliferative noch antiproliferative Wirkungen auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt.

5.1.2.3 Bestimmung des Proteingehaltes nach Inkubation durch die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß

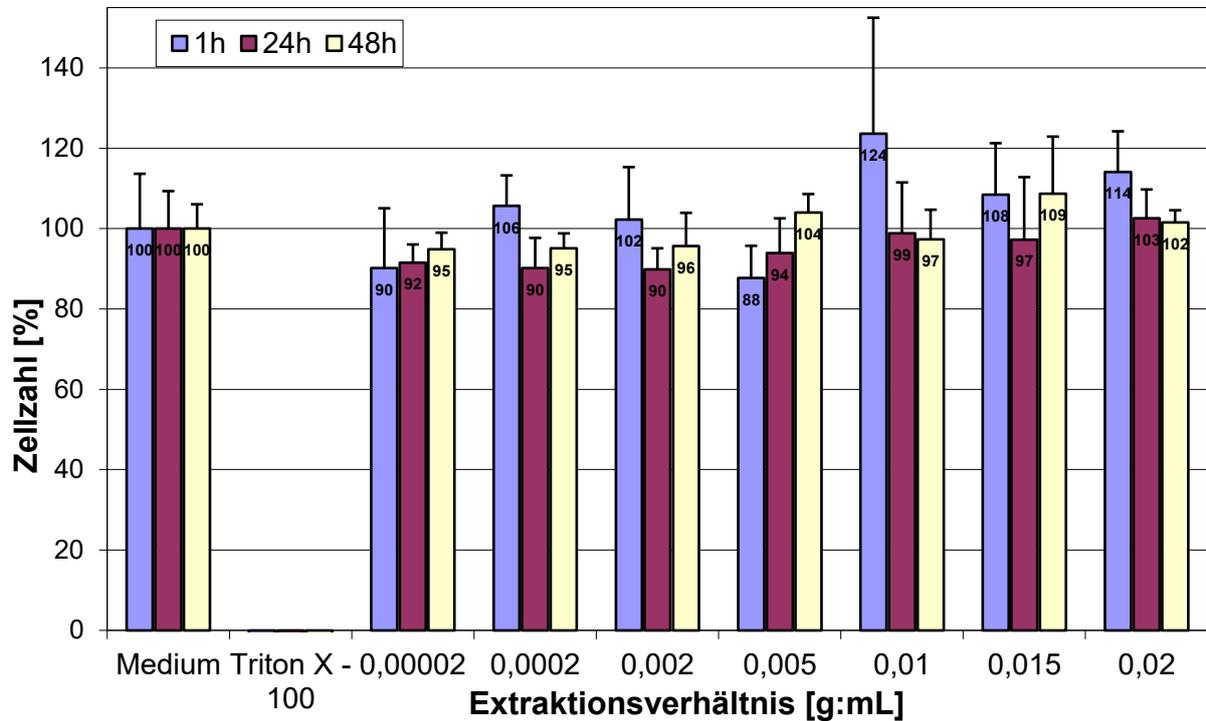


Abbildung 21 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) mit HaCaT-Keratinozyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima und wurde mit dem FLUOstar gemessen.

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit dem 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) wurden weder proliferative noch antiproliferative Wirkungen auf die HaCaT-Keratinozyten festgestellt. Die Ergebnisse waren statistisch nicht signifikant.

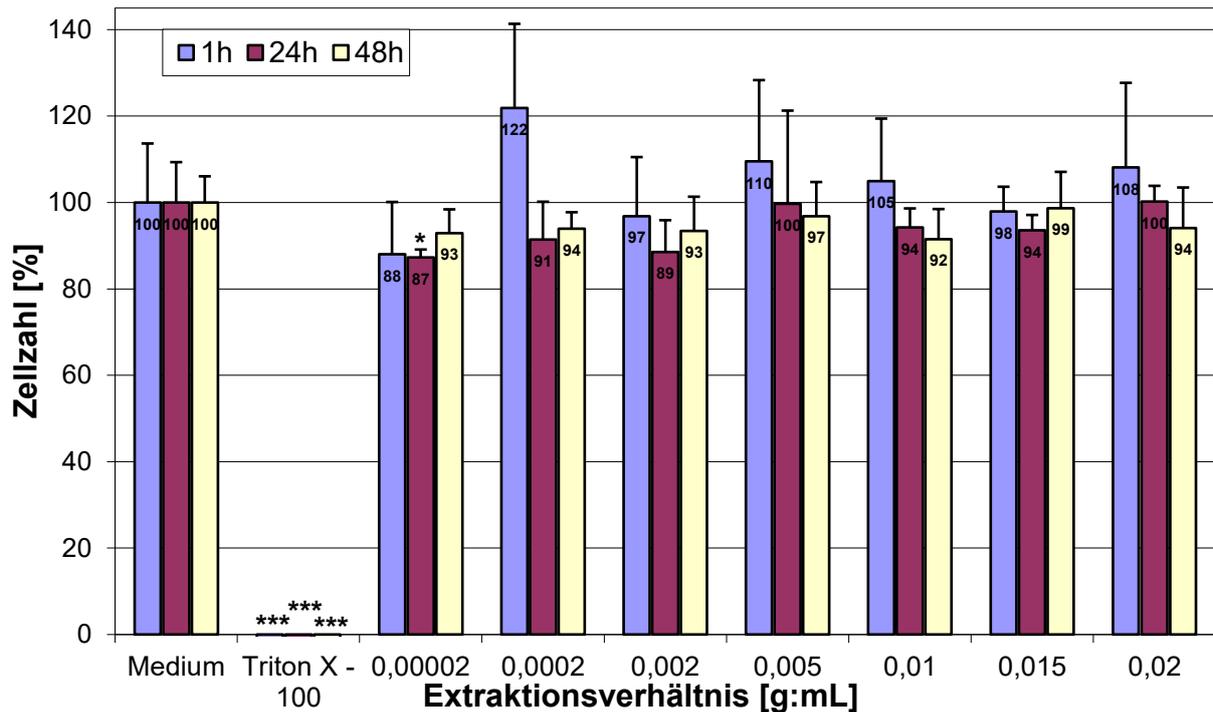


Abbildung 22 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) mit HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima und wurde mit dem FLUOstar gemessen. (***) $p \leq 0,001$, (*) $p \leq 0,05$.

Nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation mit 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) wurden weder proliferative noch antiproliferative Wirkungen auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt. Die Ergebnisse waren statistisch nicht signifikant.

5.1.3 Zusammenfassung der Biokompatibilitätsergebnisse

Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril):

- **ATP:** Der 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) zeigte nach 1 h, 24 h und 48 h weder einen proliferativen noch einen antiproliferativen Effekt auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten.
- **LDH:** Es konnten beim 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) nach 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt werden.

- **Proteinbestimmung:**
 - Es konnten beim 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) nach 24 h und 48 h Inkubation bei einer Konzentration von 0,02 g/mL antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten festgestellt werden. Die Zellzahl sank dabei um 35 % (24 h) bzw. 34 % (48 h) gegenüber der Zellzahl im Medium ab. Die Ergebnisse waren statistisch nicht signifikant.
 - Der 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) zeigte nach 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten. Die Ergebnisse waren statistisch nicht signifikant.

Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril):

- **ATP und LDH:** Die 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß (0,02 g/mL, steril) zeigten nach 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten.
- **Proteinbestimmung:** Die 24 h und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß (0,02 g/mL, steril) zeigten nach 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten. Die Ergebnisse waren statistisch nicht signifikant.

Der Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) zeigte vereinzelt einen antiproliferativen Effekt auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten. Der Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) zeigte weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten.

5.2 Untersuchungen der Textilproben und Textilextrakte *in vitro* auf ihre antioxidative Wirkung gegen freie Radikale

5.2.1 Untersuchungen der Textilproben und Textilextrakte *in vitro* gegen die reaktiven Stickstoffspezies RNS

5.2.1.1 Antioxidative Wirkung der herausgestanzten Textilproben gegen RNS

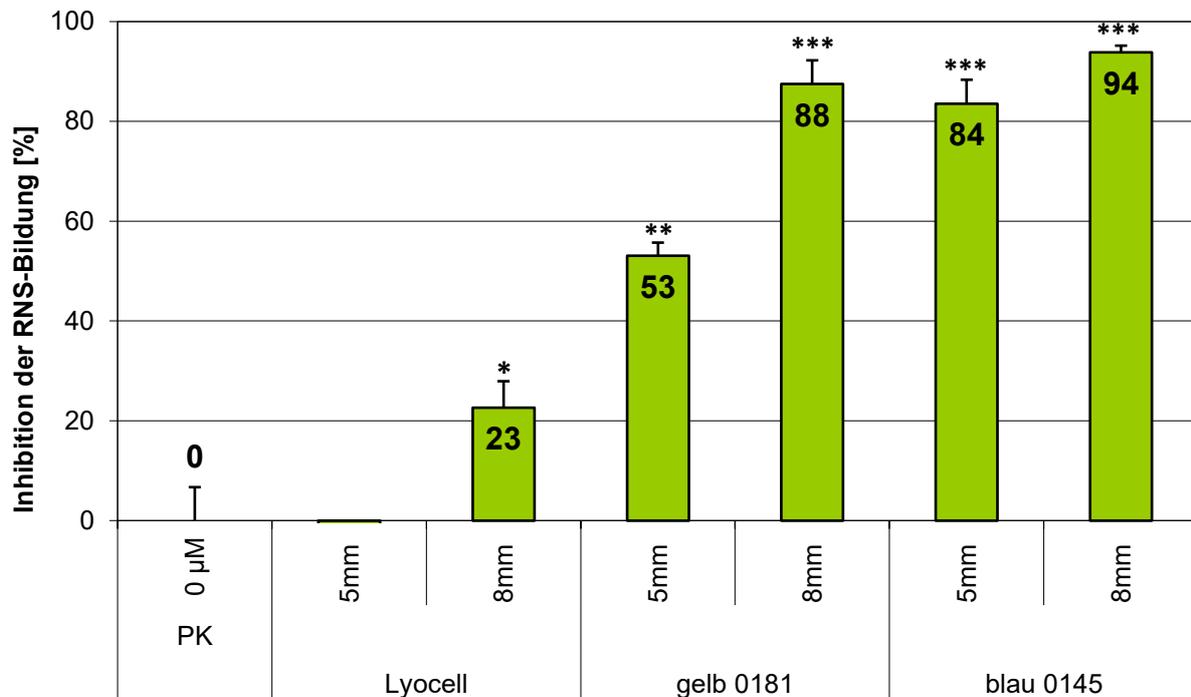


Abbildung 23 Inhibition der RNS-Bildung in % mit den ausgestanzten Textilproben Lyocell, Baumwolle gelb 0181 und Funktionsfasergarn blau 0145; PK: Pholasin®-Kontrolle; Die Textilproben wurden mit Hilfe von Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt. Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$.

Die ausgestanzten Textilproben Baumwolle gelb 0181 sowie das Funktionsfasergarn blau 0145 zeigten im Vergleich zur Lyocell-Kontrolle eine signifikante Inhibition der RNS-Bildung. Lyocell und Baumwolle gelb 0181 enthalten keine Funktionsfasern, die antioxidativ wirksam sein könnten. Lyocell und Baumwolle gelb 0181 dürften im Vergleich zum Funktionsfasergarn blau 0145 daher keine Inhibition der RNS-Bildung zeigen. Es konnte nicht gezeigt werden, dass das Funktionsfasergarn im Vergleich zu Baumwolle und Lyocell antioxidativ wirksame Substanzen enthält.

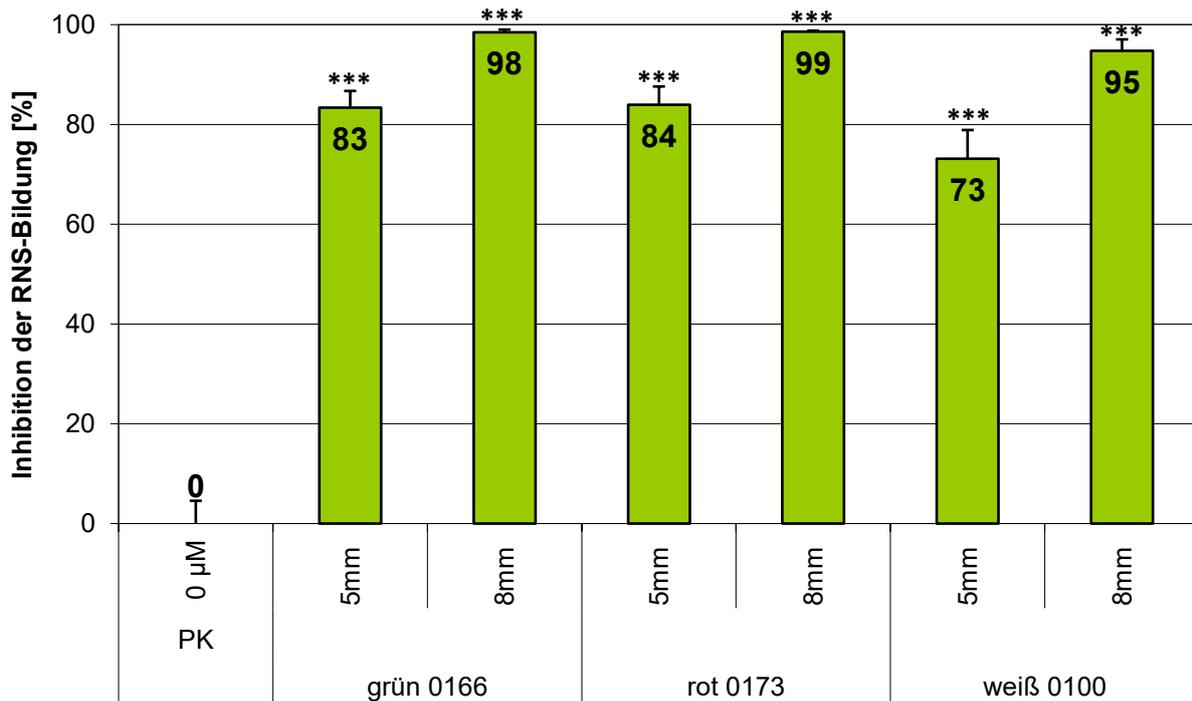


Abbildung 24 Inhibition der RNS-Bildung in % mit den ausgestanzten Textilproben Funktionsfasergarn grün 0166, rot 0173 und weiß 0100; PK: Pholasin®-Kontrolle; Die Textilproben wurden mit Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt. Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$.

Die Textilproben Funktionsfasergarn grün 0166, rot 0173 und weiß 0100 enthielten unterschiedliche Anteile an antioxidativ wirksamem Vitamin E. Die Inhibition der RNS-Bildung müsste mit zunehmender Konzentration des Vitamin E linear ansteigen. Auch hier war keine konzentrations- bzw. flächenabhängige Steigerung der RNS-Inhibition erkennbar.

5.2.1.2 Antioxidative Wirkung der herausgestanzten eingeweichten Textilproben gegen RNS

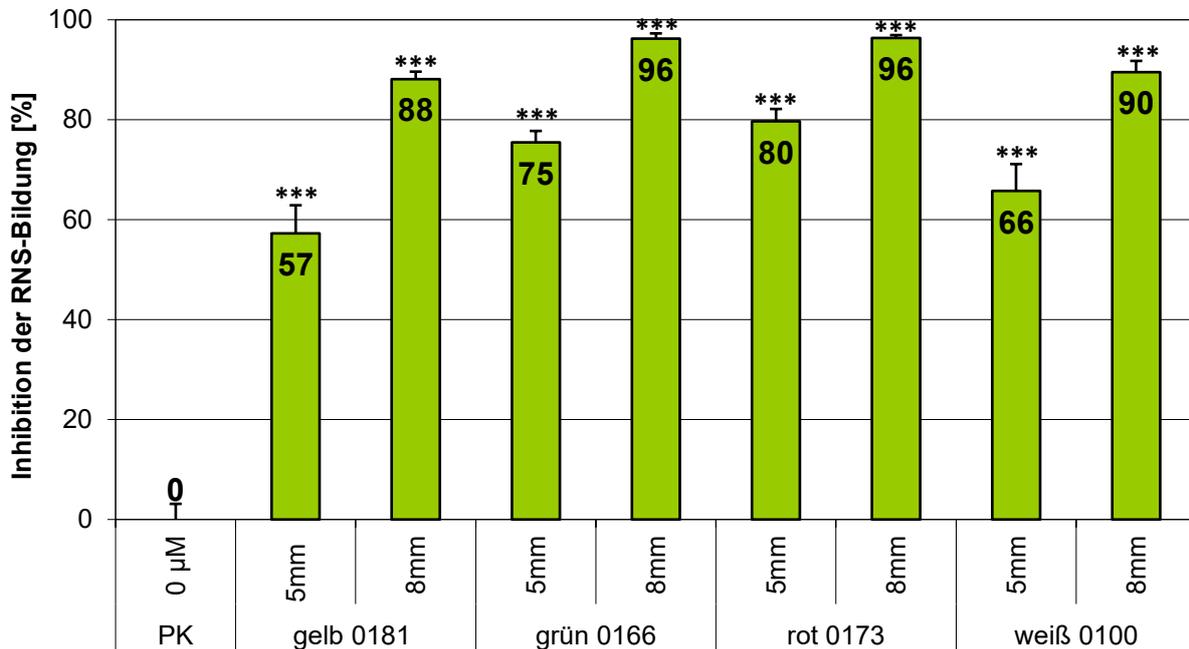


Abbildung 25 Inhibition der RNS-Bildung in % mit ausgestanzten Textilproben Baumwolle gelb 0181 und Funktionsfasergarn grün 0166, rot 0173 und weiß 0100. PK: Pholasin®-Kontrolle; Die Textilproben wurden mit Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt und vor der Messung für eine Stunde in R&A-Puffer eingeweicht. Die eingeweichten Proben wurden vor der Untersuchung in eine neue MTP überführt. Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVostar; (***) $p \leq 0,001$.

Die ausgestanzten Proben Baumwolle gelb 0181 sowie die Funktionsfasergarntextilproben grün 0166, rot 0173 und weiß 0100 mit unterschiedlichen prozentualen Anteilen an Vitamin-E-haltigen Funktionsfasergarn zeigten nach 1 h in R&A-Puffer eingeweicht alle im Vergleich zur Nullprobe Baumwolle gelb 0181 keine biologisch relevante signifikante Inhibition der RNS-Bildung. Baumwolle gelb 0181 war ausgehend von dieser Untersuchung erneut in der Lage RNS zu inhibieren, obwohl diese keinerlei Funktionsfasergarn enthielt. Die Untersuchung war daher nicht aussagekräftig, ob das Funktionsfasergarn im Vergleich zur Nullprobe Baumwolle gelb 0181 antioxidativ wirksam war. Es erfolgte schließlich eine Änderung der Untersuchung. Die Textilproben wurden mittels Textilextrakte auf ihre antioxidative Wirkung untersucht. Da sich das Vitamin E offenbar nicht im R&A-Puffer gelöst hatte, wurden Textilextrakte mit einer sauren und einer basischen Schweißlösung hergestellt.

5.2.1.3 Antioxidative Wirkung des Vitamin E Analogon in unterschiedlichen Lösungsmitteln gegen RNS

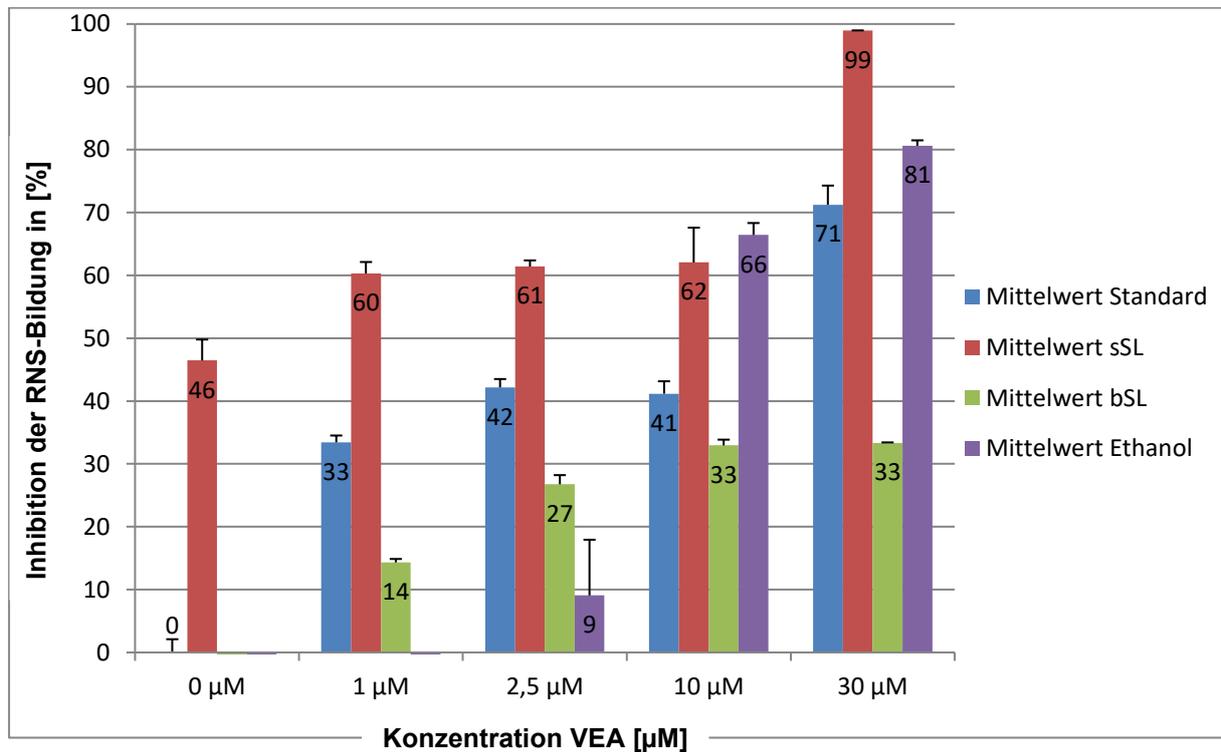


Abbildung 26 Inhibition der RNS-Bildung in %; VEA: Vitamin E Analogon; sSL: saure Schweißlösung; bSL: basische Schweißlösung; VEA gelöst in R&A-Puffer (=blau, Mittelwert Standard), sSL, bSL und Ethanol 70%; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar.

Das natürlich vorkommende Vitamin E ist fettlöslich. Es erfolgte daher die Überprüfung, ob sich das Vitamin E Analogon aus dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit in unterschiedlichen Lösungsmitteln wie der sauren Schweißlösung, basischen Schweißlösung und Ethanol 70 % lösen ließ, um zu überprüfen, ob die jeweiligen Lösungsmittel geeignet waren. Das Vitamin E Analogon war in der Lage sich in den jeweiligen Lösungsmitteln saure Schweißlösung, basische Schweißlösung und Ethanol 70 % zu lösen und antioxidativ wirksam zu sein.

5.2.1.4 Antioxidative Wirkung der Baumwollgarntextilextrakte gelb und Funktionsfaser- garntextilextrakte weiß in saurer Schweißlösung gegen RNS

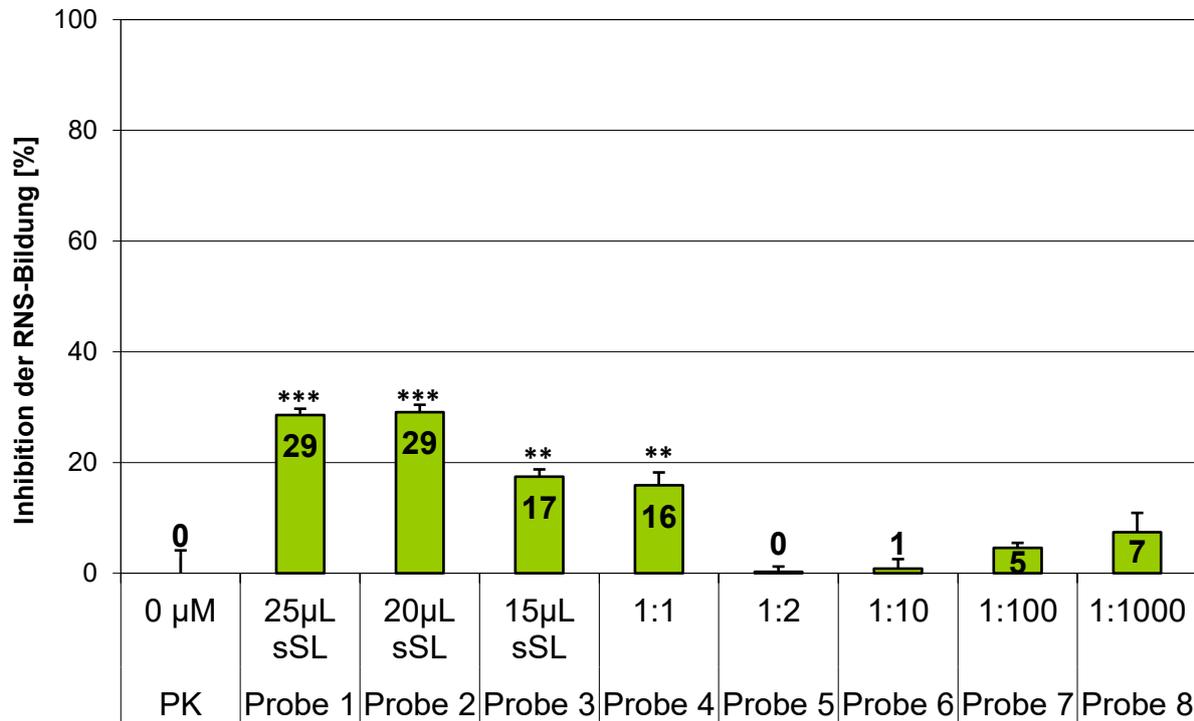


Abbildung 27 Inhibition der RNS-Bildung in % mit der sauren Schweißlösung als Probe 1-8 in absteigenden Konzentrationen; PK: Pholasin[®]-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$.

Die saure Schweißlösung zeigte bei der 1:2 Verdünnung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit keine eigenen antioxidativ wirksamen Eigenschaften und wurde als Lösungsmittel für die 24 h-Textilextrakte verwendet.

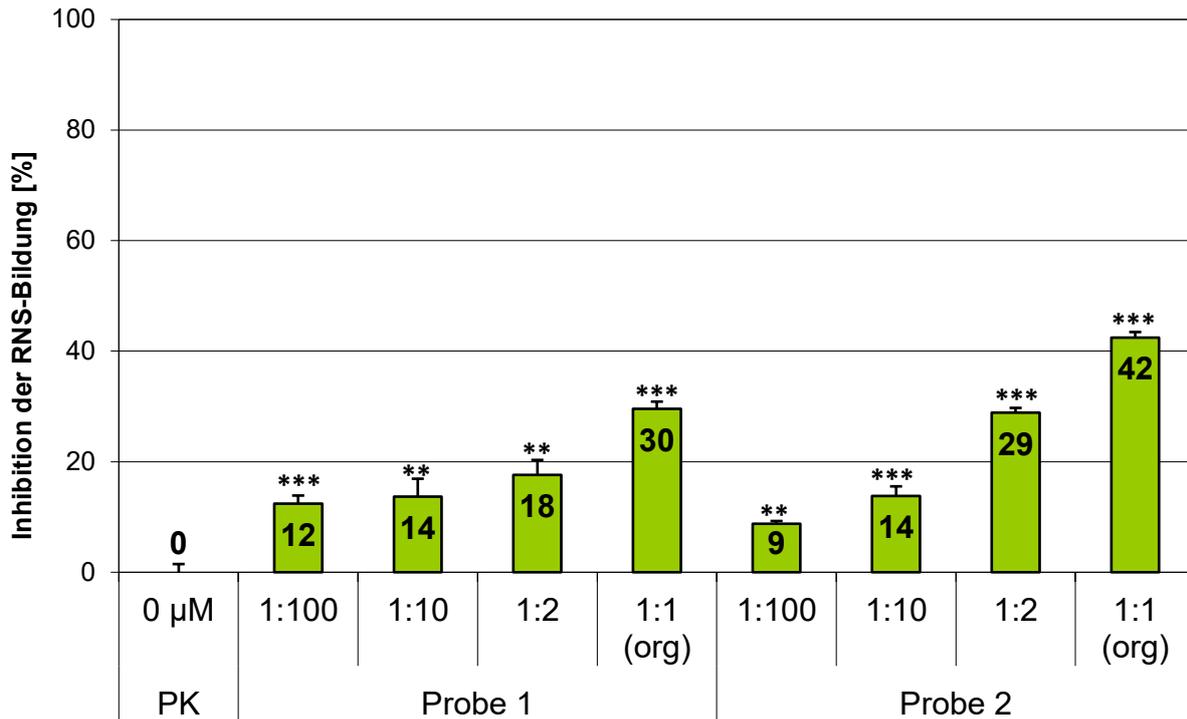


Abbildung 28 Inhibition der RNS-Bildung in % in saurer Schweißlösung mit den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) und Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril); PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$.

Bei der Messung zeigten der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) und der Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) im Vergleich keine biologisch signifikante relevante Inhibierung der RNS. Die Proben 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in unterschiedlichen Konzentrationen zeigten bei fehlender antioxidativer Funktionsfaser eine Inhibition der RNS-Bildung im unverdünnten 1:1 Extrakt im Vergleich zur Pholasin®-Kontrolle. Diese Untersuchung zeigte daher keinen Nachweis für eine antioxidative Wirkung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß.

5.2.1.5 Antioxidative Wirkung des Baumwollgarntextilextrakts gelb und Funktionsfasergarntextilextrakts weiß in basischer Schweißlösung gegen RNS

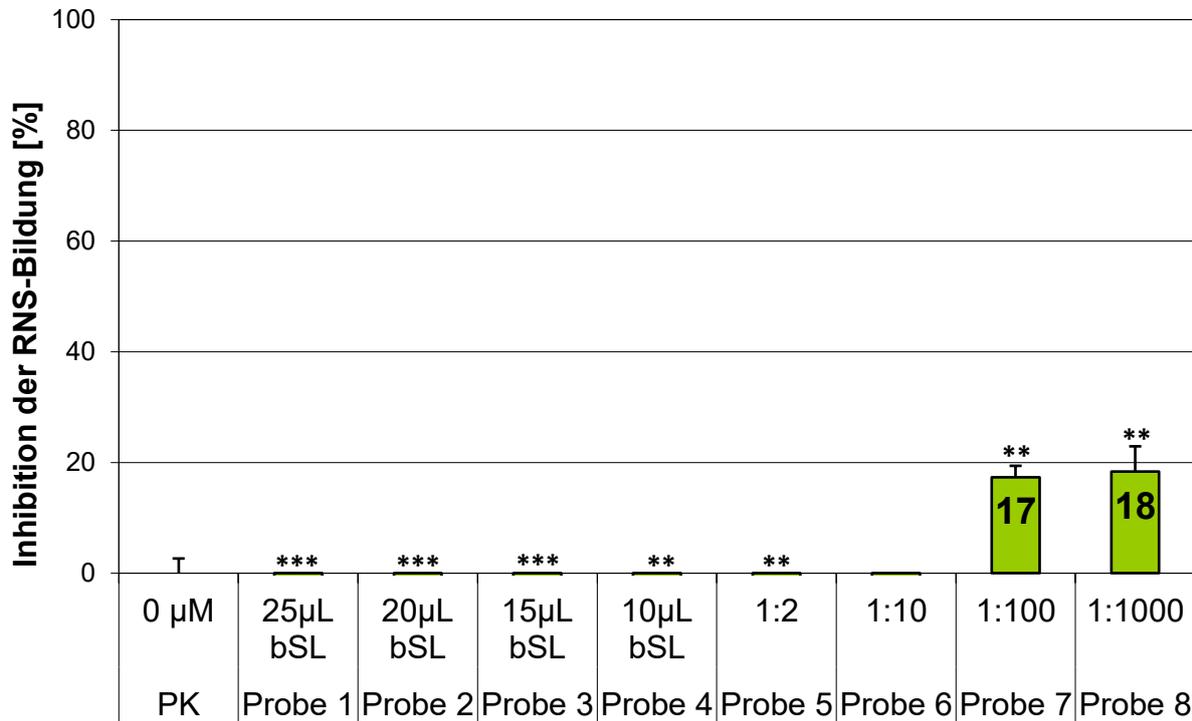


Abbildung 29 Inhibition der RNS-Bildung in % mit der basischen Schweißlösung (bSL) als Probe 1-8 in absteigenden Konzentrationen; PK: Pholasin[®]-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$.

Um die basische mit der sauren Schweißlösung vergleichen zu können, wurde die basische Schweißlösung ebenso in unterschiedlichen Konzentrationen mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit untersucht. Die 1:2 Verdünnung zeigte keine eigene antioxidativ wirksamen Eigenschaften und wurde als Lösungsmittel für die Textilextrakte verwendet.

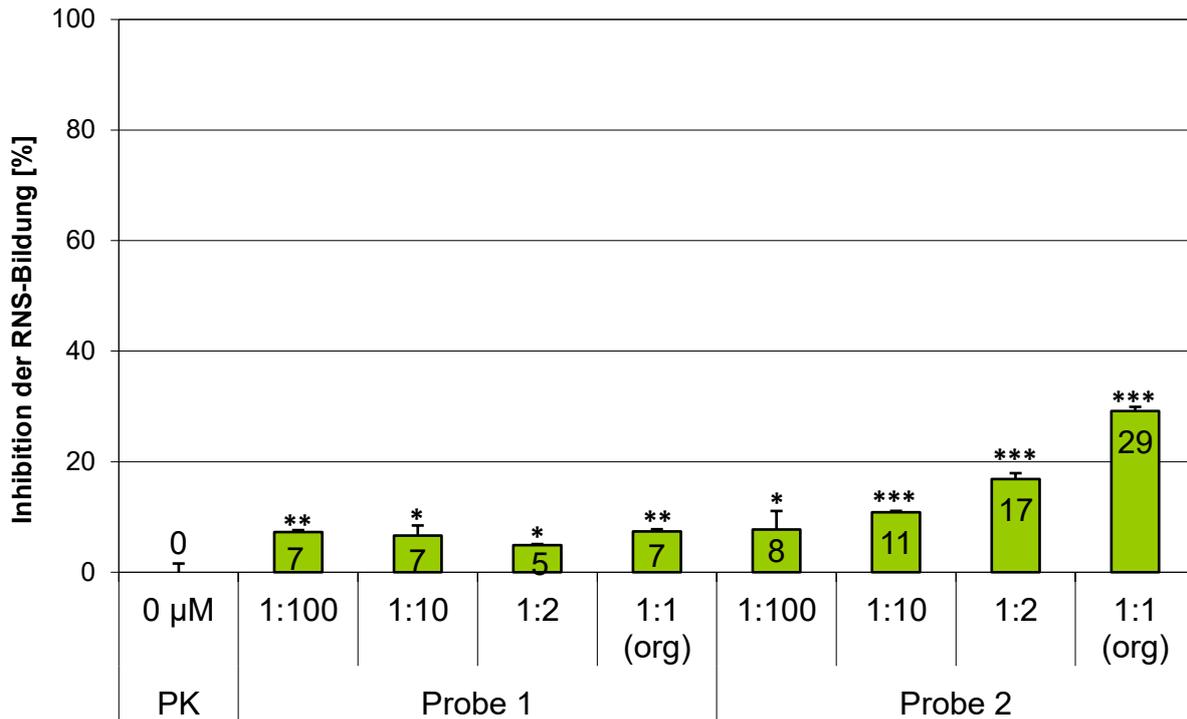


Abbildung 30 Inhibition der RNS-Bildung in % mit 24 h-Textilextrakten in basischer Schweißlösung mit den Verdünnungen: 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril); Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril); Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$.

Die Proben 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) und 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) zeigten jeweils in den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1 keine signifikante biologisch relevante Inhibition der RNS.

5.2.1.6 Antioxidative Wirkung des nicht autoklavierten Baumwollgarntextilextrakts gelb und des nicht autoklavierten Funktionsfasergarntextilextrakts weiß gegen RNS

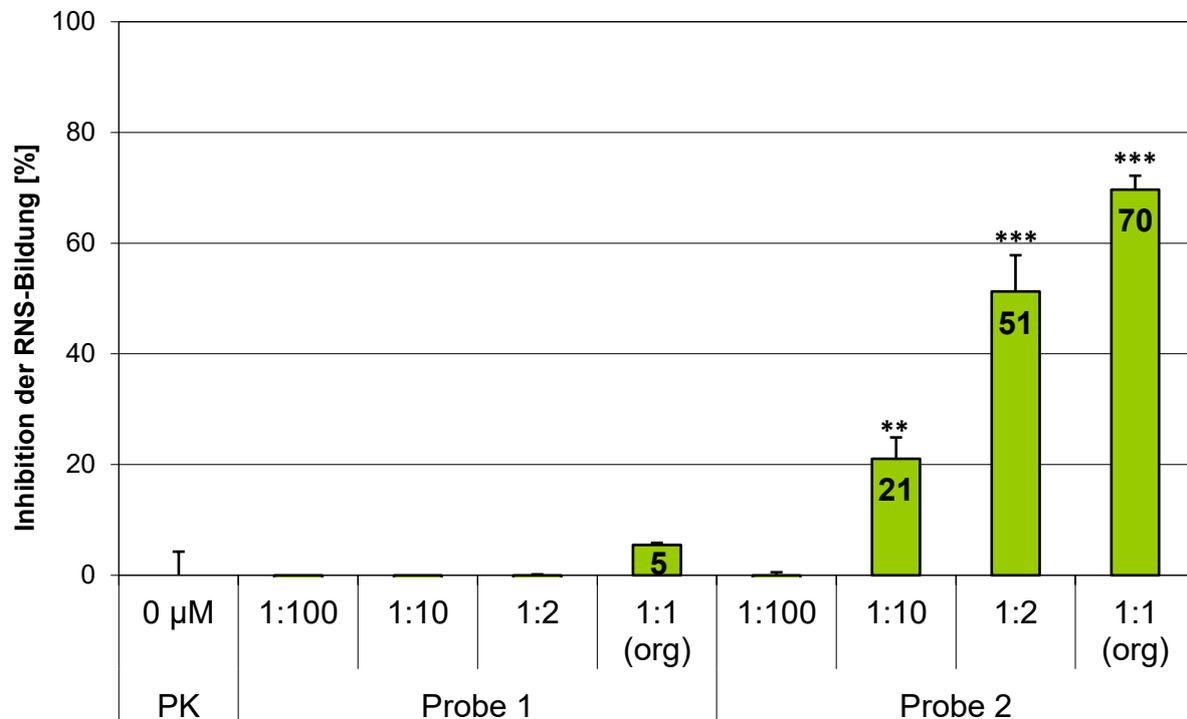


Abbildung 31 Inhibition der RNS-Bildung in % in R&A-Puffer mit den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) und Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL); ohne Autoklavieren; nur mit Minisartfilter sterilfiltriert; PK: Pholasin®-Kontrolle mit Filter sterilfiltriert; Blutagarkontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$.

Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) konnte die Bildung der reaktiven Stickstoffspezies mit den Verdünnungen, 1:2 und 1:1 signifikant inhibieren. Die Inhibition war direkt von der Konzentration des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) abhängig. Die stärkste Inhibition wies der unverdünnte 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) mit 70 % auf. Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) zeigte keine signifikante Inhibition der reaktiven Stickstoffspezies. Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) und Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) wurden ohne vorheriges Autoklavieren hergestellt. Zur Kontrolle wurden der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb und der Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) auf Blutagar ausgestrichen und im Brutschrank 24 h inkubiert, dabei trat ein deutliches Bakterienwachstum beim Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) auf, wohingegen der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) in der Blutagarkontrolle kein Bakterienwachstum aufwies.

5.2.2 Untersuchungen der Textilproben und Textilextrakte *in vitro* gegen die reaktive Sauerstoffspezies ROS und andere freie Radikale

5.2.2.1 Antioxidative Wirkung der herausgestanzten Textilproben gegen ROS

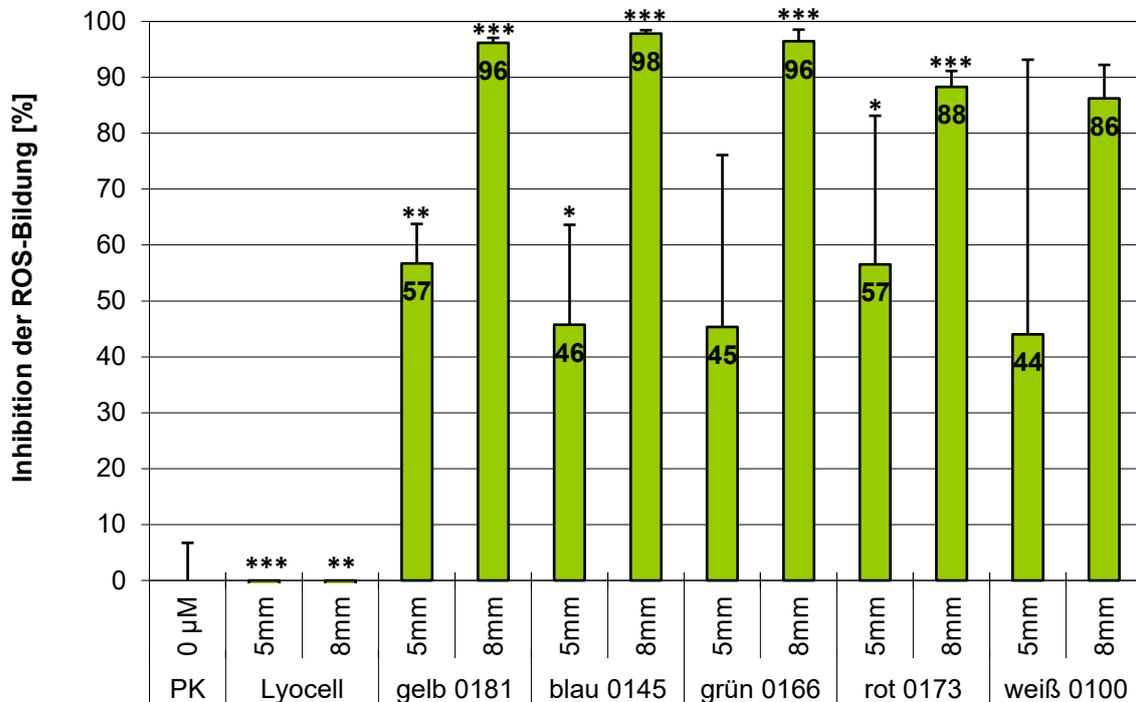


Abbildung 32 Inhibition der ROS-Bildung in % mit den ausgestanzten Textilproben: Lyocell, Baumwolle gelb 0181, Funktionsfasergarn blau 0145, grün 0166, rot 0173 und weiß 0100. Die Textilproben wurden mit Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt. PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$.

Die ausgestanzten Textilproben Lyocell, Baumwolle gelb 0181 sowie die Funktionsfasergarne blau 0145, grün 0166, rot 0173 und weiß 0100 wurden mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale untersucht. Im Vergleich zum Lyocell zeigten die Textilproben Baumwolle gelb 0181, Funktionsfasergarn blau 0145, grün 0166, rot 0173 und weiß 0100 eine signifikante Inhibition der RNS-Bildung. Lyocell und Baumwolle enthielten keine Funktionsfasern, die antioxidativ wirksam sein könnten, wodurch keine antioxidative Wirkung der Funktionstextilien nachgewiesen werden konnte.

5.2.2.2 Antioxidative Wirkung der Baumwollgarntextilextrakte gelb und Funktionsfasergarntextilextrakte weiß in saurer Schweißlösung gegen ROS

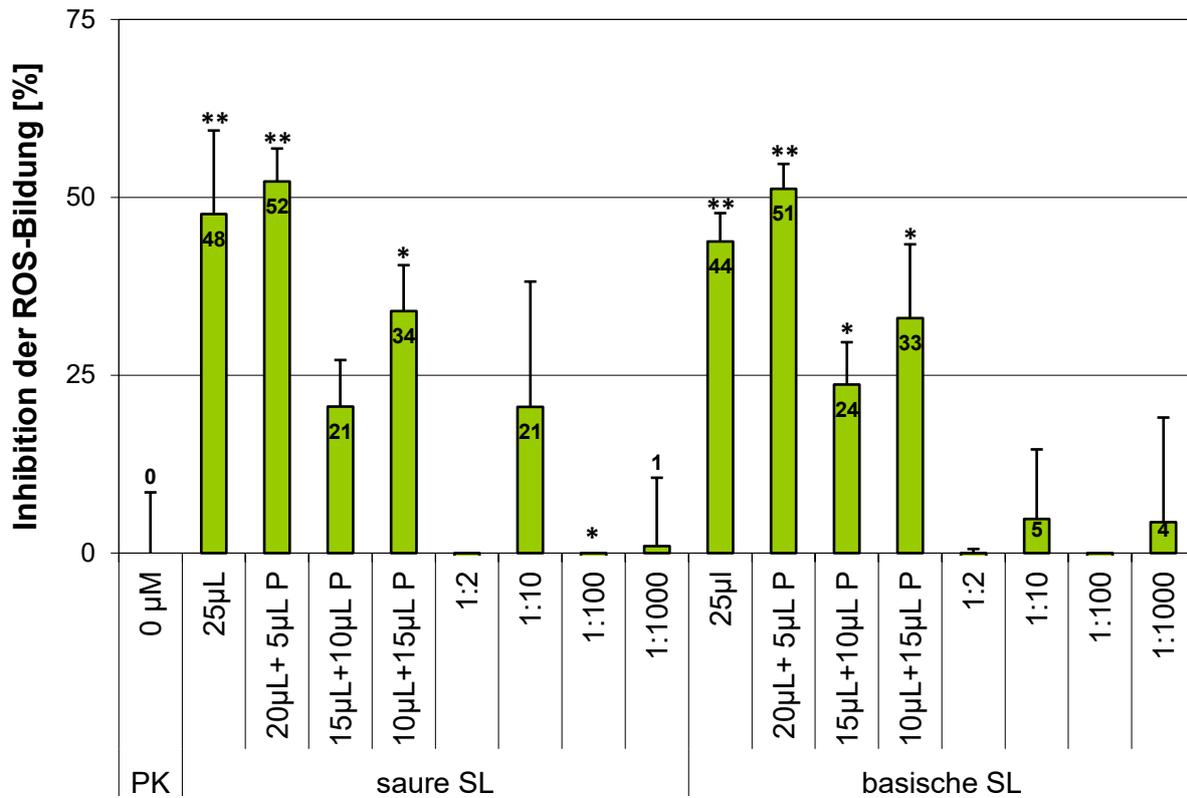


Abbildung 33 Inhibition der ROS-Bildung in % mit saurer und basischer Schweißlösung (SL) in absteigenden Konzentrationen; PK: Pholasin®-Kontrolle; P: R&A-Puffer; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$.

Die sauren und basischen Schweißlösungen zeigten bei der 1:2 Verdünnung keine eigenen antioxidativ wirksamen Eigenschaften und wurden als Lösungsmittel für die 24 h-Textilextrakte verwendet.

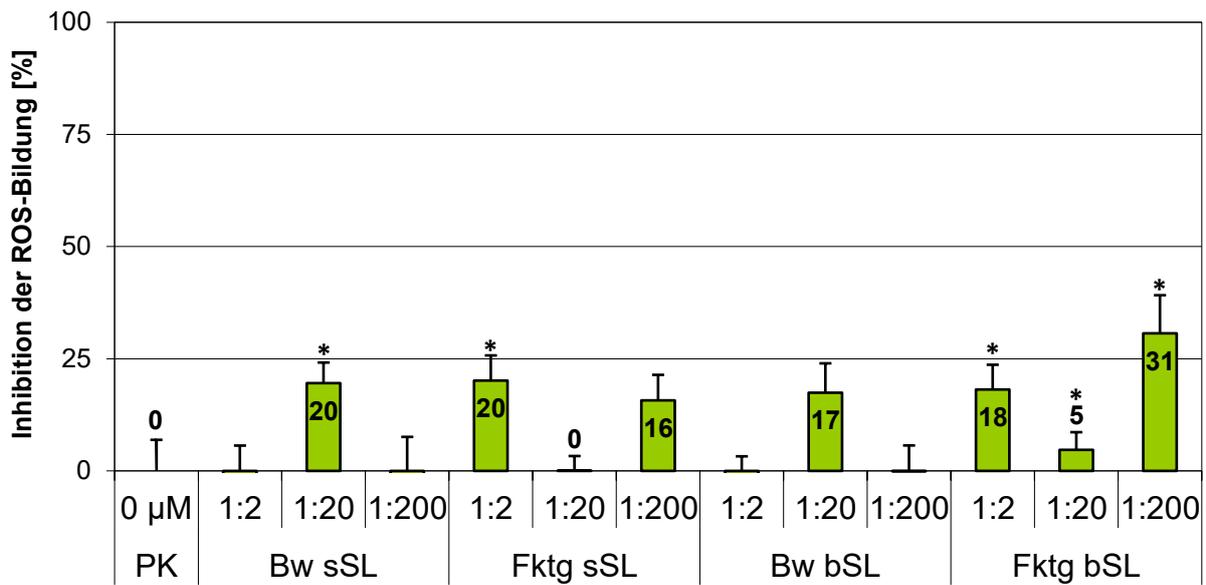


Abbildung 34 ROS-Inhibition in %; Bw sSL/bSL: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) in sSL/bSL; Fktg sSL/bSL: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) in sSL/bSL; sSL: saure Schweißlösung, bSL: basische Schweißlösung; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (*) $p \leq 0,05$

Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) in basischer Schweißlösung mit 1:200 Verdünnung zeigte im Vergleich zum 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) mit 1:200 Verdünnung eine signifikante ROS-Inhibition von 31 %. Die weiteren Ergebnisse des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) zeigten im Vergleich zum 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) keine Inhibition der ROS-Bildung.

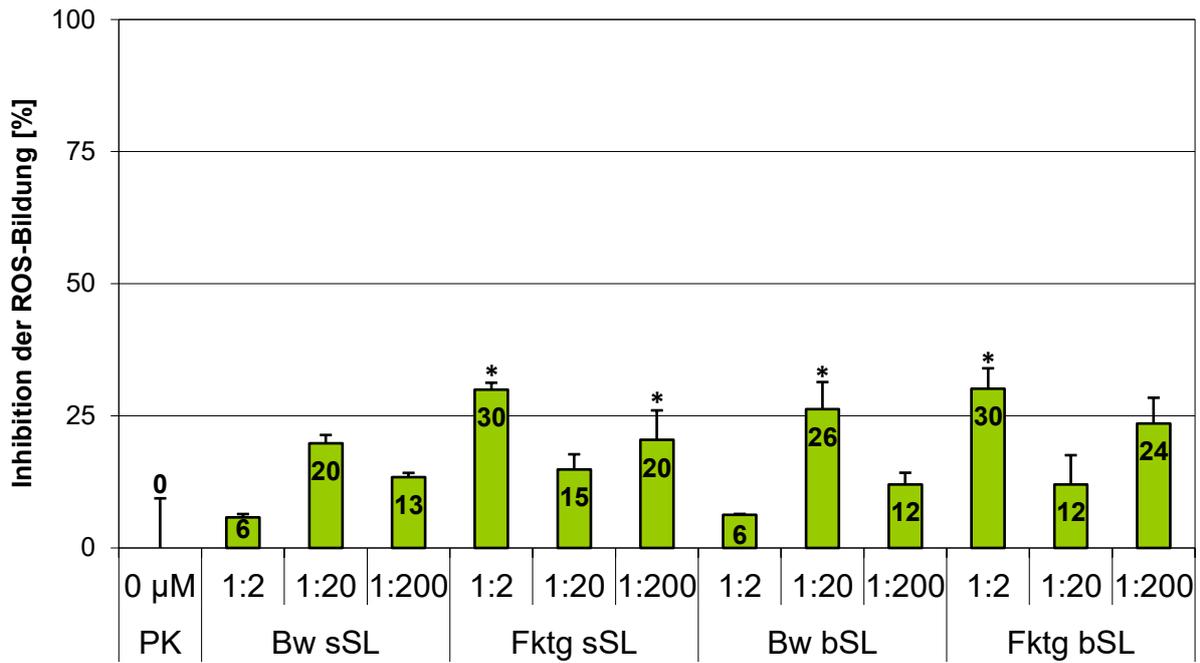


Abbildung 35 Inhibition der ROS-Bildung in % mit Bw sSL/bSL: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in sSL/bSL (0,2 g/mL, steril); Fktg sSL/bSL: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß in sSL/bsL (0,2 g/mL, steril); Verdünnungen 1:200, 1:20 und 1:2; sSL: saure Schweißlösung, bSL: basische Schweißlösung; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (*) $p \leq 0,05$

Es erfolgte eine Erhöhung der Konzentration beider Textilextrakte auf eine Konzentration von **0,2 g/mL**. Die Ergebnisse des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, steril) zeigten im Vergleich zum 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL, steril) keine Inhibition der ROS-Bildung.

5.2.2.3 Antioxidative Wirkung der Baumwollgarntextilextrakte gelb und Funktionsfasergarntextilextrakte weiß in Ethanol gegen ROS

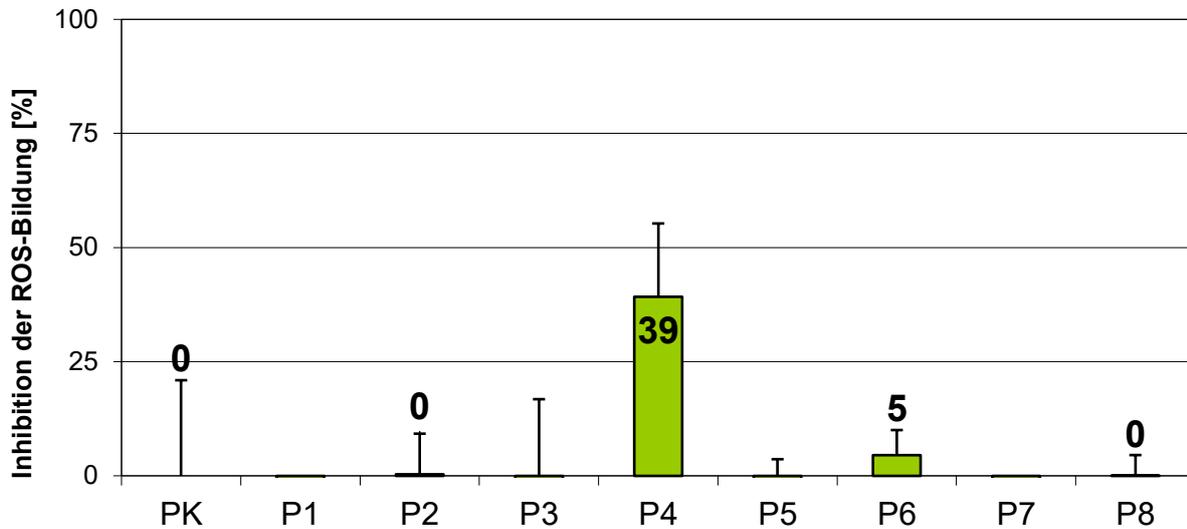


Abbildung 36 Inhibition der ROS-Bildung in % mit Ethanol 70 % in absteigenden Konzentrationen P1-P8: Ethanol 70 % in entsprechenden Konzentrationen siehe Tabelle 23; Pipettierschema: siehe Tabelle 19; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar.

Das Ethanol 70 % zeigte bei der Probe 5 mit der 1:2 Verdünnung keine eigenen antioxidativ wirksamen Eigenschaften und wurde als Lösungsmittel für den 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL, steril) und 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, steril) verwendet.

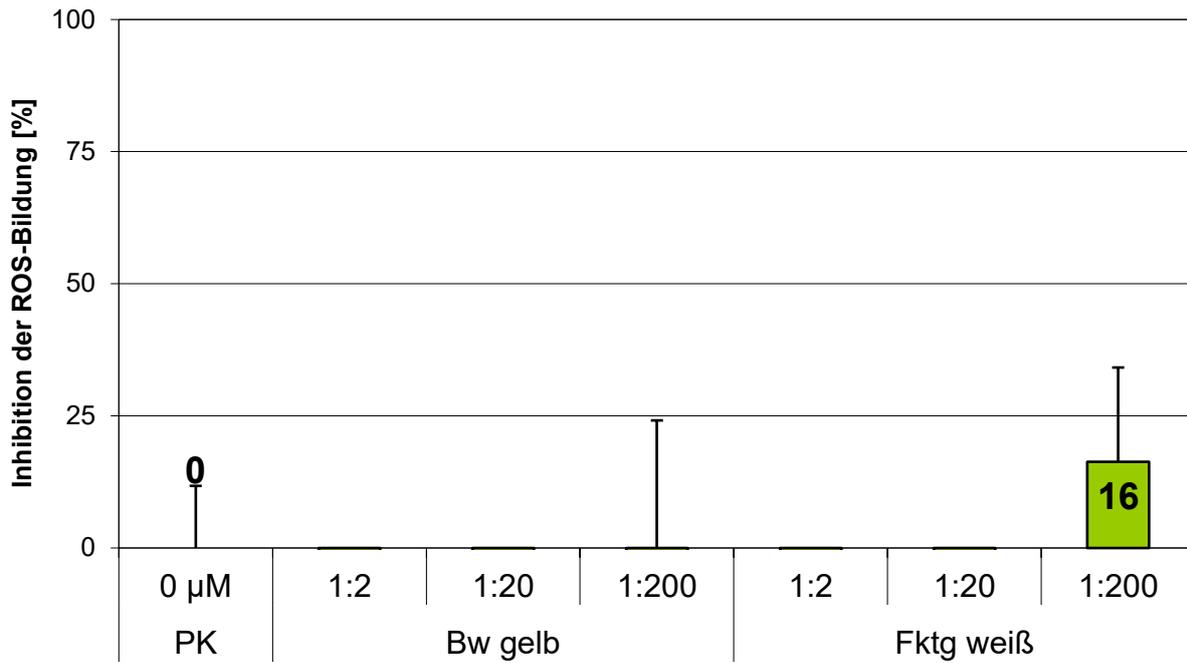


Abbildung 37 Inhibition der ROS-Bildung in %; Bw gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL, steril) in Ethanol 70 %; Fktg weiß: Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, steril) in Ethanol 70 % mit den Verdünnungen 1:200, 1:20 und 1:2; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar.

Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, steril) zeigte gegenüber dem 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL, steril) keine antioxidative Wirkung.

5.2.2.4 Antioxidative Wirkung des nicht autoklavierten Baumwollgarntextilextrakts gelb und des nicht autoklavierten Funktionsfasergarntextilextrakts weiß gegen ROS

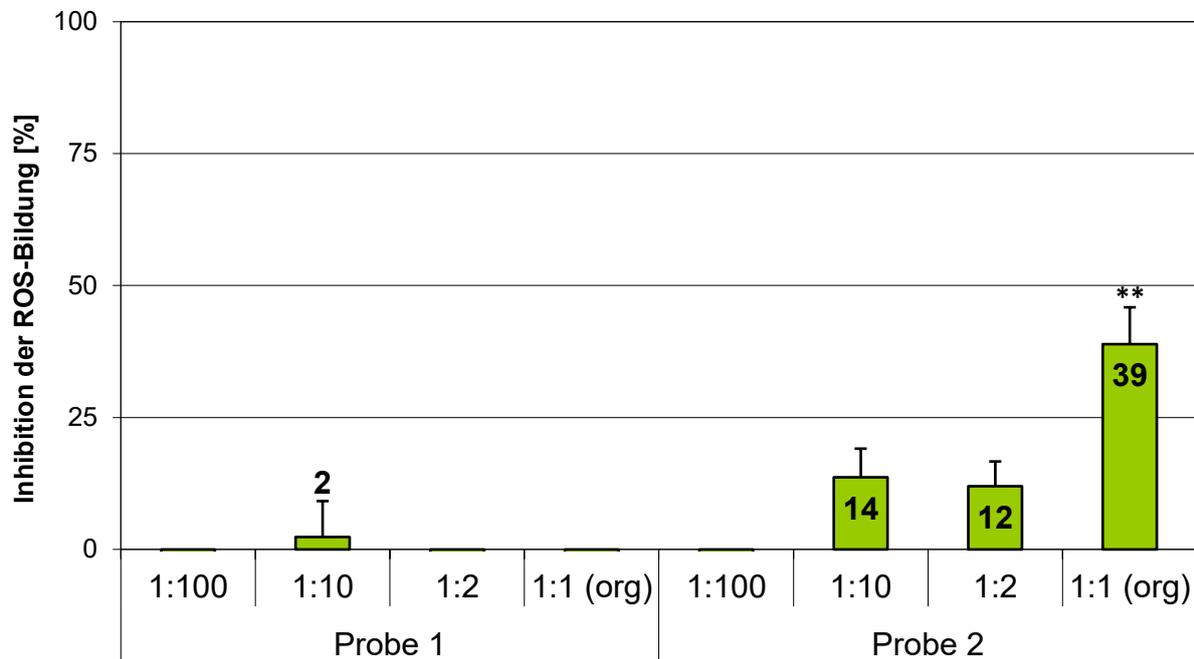


Abbildung 38 Inhibition der ROS-Bildung in % in R&A-Puffer mit den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL); Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL); **ohne** Autoklavieren; nur mit Minisartfilter sterilfiltriert; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; Blutagarkontrolle der Proben 1 und 2; (**) $p \leq 0,01$.

Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) konnte die Bildung der reaktiven Sauerstoffspezies in der Probe 2 mit der Verdünnung 1:1 signifikant inhibieren. Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) zeigte keine Inhibition der ROS-Bildung. Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) und 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) wurden ohne vorheriges Autoklavieren hergestellt. Zur Kontrolle wurden der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) und der Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) auf Blutagar ausgestrichen und im Brutschrank 24 h inkubiert, dabei trat ein deutliches Bakterienwachstum beim Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) auf, wohingegen der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) in der Blutagarkontrolle kein Bakterienwachstum aufwies.

5.2.3 Zusammenfassung der Ergebnisse zur antioxidativen Wirkung

RNS:

- Die ausgestanzten Textilproben gelb 0181, grün 0166, rot 0173 und weiß 0100 zeigten selbst nach Einweichen für eine Stunde in R&A-Puffer keine antioxidative Wirkung gegen RNS.
- Die 24 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb (0,02 g/mL, steril) in sSL und bSL zeigten keine antioxidative Wirkung gegen RNS.
- Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) zeigte ohne Autoklavieren keine antioxidative Wirkung gegen RNS.
- Die 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß (0,02 g/mL, steril) in sSL und bSL zeigten keine antioxidative Wirkung gegen RNS.
- Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) zeigte ohne Autoklavieren eine signifikante Inhibierung in Abhängigkeit zur Konzentration des Extrakts.
- Es erfolgte keine Untersuchungen der Textilextrakte gelöst in Ethanol gegen RNS, da bereits eine antioxidative Wirkung bei den nicht autoklavierten Textilextrakten gezeigt werden konnte.

ROS:

- Die ausgestanzten Textilproben gelb 0181, blau 0145, grün 0166, rot 0173 und weiß 0100 zeigten keine antioxidative Wirkung gegen ROS. Auf ein Einweichen der Textilproben für eine Stunde in R&A-Puffer wurde verzichtet, da bei der entsprechenden Untersuchung gegen RNS keine antioxidative Wirkung festgestellt werden konnte.
- Die 24 h-Baumwollgarntextilextrakte gelb (0,02 g/mL, steril) in sSL und bSL zeigten keine antioxidative Wirkung gegen ROS.
- Der 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) zeigte ohne Autoklavieren keine Inhibition der ROS.
- Die 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakte weiß (0,02 g/mL, steril) in sSL zeigten keine antioxidative Wirkung gegen ROS. Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) in bSL mit einer 1:200 Verdünnung zeigte zwar eine Inhibition der ROS-Bildung. Diese war nicht konzentrationsabhängig, weshalb keine Inhibition der ROS festgestellt werden konnte.
- Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) zeigte ohne Autoklavieren eine signifikante Inhibition der ROS.

Insgesamt betrachtet war die RNS-Inhibition deutlich größer als die ROS-Inhibition.

6 Diskussion und Schlussfolgerung

Ziel dieser Arbeit war es, festzustellen, ob das Funktionsfasergarn im Vergleich zum Baumwollgarn einen zytotoxischen Effekt auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinozyten hatte und welche Wirkung das eingearbeitete Vitamin E zeigte. Die Fragen zur Biokompatibilität und zur antioxidativen Wirkung des Funktionsfasergarns konnten vollständig beantwortet werden.

- Das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinozyten wurde durch die autoklavierten Textilextrakte des Funktionsfasergarns weiß (0,02 g/mL) weder proliferativ noch antiproliferativ beeinflusst. Die Textilextrakte des 24 h- und des 72 h-Baumwollgarntextilextraktes gelb (0,02 g/mL) zeigten bei der Untersuchung zur Proteinbestimmung eine antiproliferative Wirkung auf die HaCaT-Keratinozyten.
- Um eine Wachstumshemmung der HaCaT-Keratinozyten durch eine bakterielle, virale oder fungale Besiedlung auszuschließen und um die Untersuchungen korrekt durchführen zu können, mussten die Textilien vorher autoklaviert werden, was ausgehend von den Untersuchungen zur antioxidativen Wirkung wahrscheinlich eine Denaturierung des Vitamin E zur Folge hatte. Durch die Untersuchungen der autoklavierten und nicht autoklavierten Textilextrakte auf ihre antioxidative Wirkung konnte festgestellt werden, dass das eingearbeitete Vitamin E nicht hitzestabil war. Aufgrund dessen zeigten die autoklavierten Textilextrakte unabhängig vom Extraktionsmedium und der Extraktkonzentration keine antioxidative Wirkung, während der nicht autoklavierte Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL) eine konzentrationsabhängige antioxidative Wirkung gegen RNS und ROS zeigte.
- Das Herauslösen des Vitamin E in einem Textilextrakt war notwendig, da die Untersuchungen auf ihre antioxidative Wirkung mit den herausgestanzten Textilproben keine aussagekräftigen Ergebnisse erbrachten. Unterschiedliche Extraktionsmedien wie die sSL, bSL und Ethanol waren zur Feststellung der antioxidativen Wirksamkeit nicht zwingend erforderlich und konnten die Untersuchungen stören, da die verwendeten Test Kits nicht auf diese Lösungsmittel geeicht waren.
- Das eingearbeitete Vitamin E des Funktionsfasergarntextilextraktes wirkte *in vitro* konzentrationsabhängig antioxidativ gegen RNS und ROS.

Die Untersuchungen zur Bestimmung der Biokompatibilität wurden *in vitro* mit HaCaT-Keratinocyten durchgeführt. *In vitro* Untersuchungen sind notwendig, um die Biokompatibilität von neu entwickelten Materialien zu überprüfen. Mit *in vitro* Untersuchungen kann man direkte Rückschlüsse auf das Wachstumsverhalten der verwendeten Zelllinie schließen. Die untersuchte Funktionsfasergarntextilie ist ein Bekleidungsstück und kommt später mit der Haut beziehungsweise mit den Keratinocyten in Kontakt. Daher wurden HaCaT-Keratinocyten, um eine größtmögliche Übereinstimmung zu gewährleisten, verwendet (van Wyk et al. 2001). Die HaCaT-Keratinocyten werden schon seit vielen Jahren erfolgreich für unterschiedliche Biokompatibilitätsuntersuchungen verwendet (Kürschner 2007, Radestock et al. 2007, Banche et al. 2015). Die Biokompatibilitätsuntersuchungen, bei denen das Probenmaterial als Extrakte untersucht wurden, zeigten bezüglich des zellulären Wachstumsverhaltens genauere Ergebnisse als Untersuchungen, bei denen die Probenmaterialien auf den Zellen platziert und die Zonen der Wachstumsinhibition gemessen wurden (Johnson et al. 1983). Die Grenze der hier verwendeten *in vitro* Modelle mit HaCaT-Keratinocyten ist, dass diese aus einer Lage HaCaT-Keratinocyten bestehen und damit ein 2-D-Modell darstellen. Es gibt Hinweise aus Untersuchungen, dass sich die Zellen in ihrer natürlichen dreidimensionalen Form *in vivo* anders als in einem 2-D-Modell *in vitro* verhalten (Wiegand und Hipler 2008). Die Epidermis besteht normalerweise aus unterschiedlichen Zelltypen wie Keratinocyten, Langerhanszellen und anderen Zellen. Diese Zellen sind untereinander verbunden und können mittels verschiedener Stoffe kommunizieren (Fritsch und Schwarz 2018). Kritisch zu bewerten ist, dass in *in vitro* 2-D-Modellen nur Zellen einer einzigen Zelllinie verwendet werden. Es gibt keine Proteingerüste, Kommunikationen von Zellen mit der extrazellulären Matrix, Zell-Zell-Kommunikation oder Verbindungen zwischen unterschiedlichen Zelltypen. In *in vitro* 3-D-Modellen werden z. B. die räumliche Anordnung der Zellen oder verschiedene Gerüstmaterialien berücksichtigt (Haycock 2011).

Von den Textilproben Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß wurden Textilextrakte hergestellt, wie unter 4.2.1 beschrieben nach DIN-EN-ISO 10993-5 und -12 (DIN-EN-ISO 2007a, DIN-EN-ISO 2007b). Ein vorheriges Autoklavieren war notwendig, da reines Lyocell ohne zusätzliche antibakterielle Bearbeitung keine eigenen antibakteriellen Eigenschaften aufwies (Zikeli 2006, Wendt 2012). Um die Textilproben vergleichen zu können, musste auch das Baumwollgarn autoklaviert werden. Ohne

Autoklavieren konnte man nicht unterscheiden, ob eine mögliche zytotoxische Wirkung von einer mikrobiologischen Besiedlung der Textilproben oder von dem eingearbeitetem Vitamin E ausging. Durch das Autoklavieren der Textilproben konnte man eine mögliche mikrobielle Besiedlung durch die Textilproben ausschließen, was z. B. eine Wachstumshemmung zur Folge haben könnte. Ebenso könnten die Bakterien das vorhandene Vitamin E verstoffwechseln oder selbst Toxine produzieren, was ebenfalls zu einer eingeschränkten Aussage über die Biokompatibilität führen würde. Man musste diesen Kompromiss eingehen und untersuchen, ob ein möglicherweise inaktiviertes Vitamin E eine zytotoxische Wirkung hatte. Ein vorheriges Autoklavieren wurde in anderen Untersuchungen von verschiedenen Wundauflagenmaterialien schon erfolgreich angewendet (Schönfelder et al. 2005).

In einem weiteren Ansatz wurden die Textilproben zur Untersuchung auf eine mögliche antioxidative Wirkung nicht autoklaviert, wie unter 4.3.3 beschrieben. Es erfolgte eine Sterilfiltration mit einem Minisartfilter und anschließenden Blutagarkontrollen der sterilfiltrierten Textilextrakte. Die Blutagarkontrollen des Funktionsfasergarns weiß (0,2 g/mL), welches zu 100 % aus Funktionsfasergarn mit 20 % Vitamin E-Fasern bestand, wiesen eine deutliche bakterielle Besiedlung auf, während die Blutagarkontrollen des Baumwollgarns gelb (0,2 g/mL), welches zu 100 % aus Baumwollgarn bestand, nahezu frei von Bakterien waren. Dies zeigte deutlich, dass eine reine Sterilfiltration der Textilextrakte mittels Minisartfilter nicht ausreichte, um sterile Extrakte für die Untersuchungen zu erhalten.

Zur Bestimmung der Biokompatibilität wurden die Untersuchungen mit folgenden Methoden durchgeführt: Chemilumineszenzmessungen mit dem ATPlite™-M Kit von Perkin Elmer, Absorptionsmessungen mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay für LDH und mit dem BC Assay Protein Quantitation Kit von Uptima.

Zur Bestimmung des ATP-Gehalts wurde das ATPlite™-M Kit von Perkin Elmer verwendet. ATP spielt als Energieträger eine wichtige Rolle, da nur die vitalen Zellen ATP als Energie verwenden bzw. bilden. Somit kann mit dem ATP-Gehalt die funktionelle Integrität von Zellen untersucht werden, da bei einer geschädigten Zellmembran die Zelle die Fähigkeit verliert, ATP zu bilden, und der ATP-Gehalt aufgrund des schnellen Abbaus durch die ATPasen stark abfällt. Der ATP-Assay wird unter anderem verwendet, um ATP als Funktion der Zellzahl (Sevin et al. 1988) oder der Zellvitalität (Miret et

al. 2005) zu messen. Diese Biolumineszenzmethode detektiert eine geringe Zellzahl, ist am empfindlichsten, wenig Artefakt anfällig und geht dabei schnell und effizient vor (Riss et al. 2016). Der Nachteil ist, dass ATP omnipräsent ist und daher muss streng eine Kontamination der Proben durch kontrolliertes Arbeiten ausgeschlossen werden. Des Weiteren kann mit der ATP-Untersuchung nur die Anzahl der vitalen Zellen bestimmt werden und nicht die Gesamtzahl der Zellen.

Der Zelltod kann entweder durch Apoptose oder durch Nekrose eintreten. Ein charakteristisches Merkmal der Nekrose ist die Zerstörung der Zellmembran. Bei der Nekrose, die z. B. von einer schädlichen Textilprobe ausgelöst werden könnte, wird dann LDH aus den geschädigten Zellen freigesetzt, welche dann mittels des kolorimetrischen CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay gemessen wird. Der CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay misst dabei die Integrität der Zellmembran, indem er nur die von lysierten Zellen freigegebene LDH misst. Dabei wird die LDH von vitalen Zellen nicht erfasst. Die Detektion von freigesetzter LDH ins Zellmedium hat sich schon sehr lange als verlässlicher Marker für die Zellnekrose erwiesen (Anuforo et al. 1978, Masanet et al. 1988, Brander et al. 1993, Singer et al. 1999, Reddersen et al. 2019). Das Ausmaß der Zellmembranschädigung hängt von der Einwirkzeit der Proben auf die Zellen und der Dosis des untersuchten Probenmaterials ab (Cook und Mitchell 1989). Der Vorteil ist, dass das Zellkulturmedium nur teilweise benötigt wird und die vitalen Zellen können noch für weitere Untersuchungen verwendet werden. Der Nachteil ist, dass mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay kleinere zytotoxische Effekte auf die Zellen kaum messbar sind (Bopp und Lettieri 2008).

Proteine sind bei vitalen Zellen allgegenwärtig und nehmen an sehr vielen Stoffwechselfvorgängen teil. Sie nehmen mechanische und strukturelle Aufgaben wie z. B. beim Zytoskelett wahr. Sie können ebenso als Enzyme fungieren und damit lebensnotwendige Stoffwechselreaktionen katalysieren. Die Menge an Proteinen hängt direkt mit der Anzahl an vitalen Zellen zusammen und wird im BC Assay gemessen. Der BC Assay mit der zugrunde liegenden Biuretreaktion ist nicht ganz so empfindlich wie der ATP-Test (Wiegand und Hipler 2008). Störend wirken sich z. B. andere Moleküle wie Glukose, Mercaptoethanol und weitere aus, weil diese selbst Cu^{2+} zu Cu^+ reduzieren, wodurch Cu^+ mit der Bicinchoninsäure einen violetten wasserlöslichen Farbkomplex

bildet. Dadurch entstehen falsche Ergebnisse (Brown et al. 1989). Bei dem BC Assay werden bestimmte Zusammensetzungen, z. B. bestimmte Aminosäuren, in den Proteinen detektiert und die Reaktion muss unter präzisen Temperaturbedingungen kontrolliert stattfinden (Wiechelman et al. 1988, Brady und Macnaughtan 2015). Ebenso ist der Zeitpunkt der Untersuchung entscheidend, da sich die Farbkomplexe kontinuierlich entwickeln und keinen richtigen Endpunkt aufweisen. Ein Vorteil ist, dass der BC Assay eine große Bandbreite an anwendbaren Detergenzien aufweist. Der BC Assay wird seit vielen Jahren erfolgreich zur Bestimmung der Proteinkonzentration eingesetzt. Aufgrund vieler Untersuchungen wurden Anleitungen entwickelt, um sicher den passenden Protein Assay zur geplanten Untersuchung zu wählen (Olson und Markwell 2007).

Die Bestimmung der ATP-Gehaltes sowie des LDH-Gehaltes zeigte bei den 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakten gelb (0,02 g/mL, steril) sowie bei den 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakten weiß (0,02 g/mL, steril) nach 1 h, 24 h und 48 h weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten. Der ATP-Assay ist empfindlicher als der verwendete LDH-Assay (Weyermann et al. 2005). Insgesamt ließ sich daraus ableiten, dass die ermittelten Ergebnisse bezüglich der LDH des 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) und 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) die Ergebnisse aus den ATP-Untersuchungen stützten. Es besteht eine direkte Korrelation zwischen der Freilassung von LDH aufgrund geschädigter Zellmembranen und dem damit verbundenen Anstieg von nachweisbarer LDH im Zellmedium und einer raschen Abnahme der Zellvitalität, welche durch einen ATP-Assay detektiert wird (Hipler et al. 2007). Da die Zellmembranen der HaCaT-Keratinocyten intakt waren, konnte keine LDH im untersuchten Zellmedium nachgewiesen werden.

Die Proteinbestimmung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) ergab teilweise zytotoxische Effekte. Dabei sank die Zellzahl um 35 % nach 24 h und um 34 % nach 48 h ab. Der 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) zeigte weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten. Beim 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) ergaben die Proteinbestimmungen weder proliferative noch antiproliferative Effekte auf das Wachstumsverhalten der HaCaT-Keratinocyten. Beim

24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) waren keinerlei Zusammenhänge in Bezug auf die Zytotoxizität in Abhängigkeit von der Konzentration der Baumwollgarntextilextrakte gelb (0,02 g/mL, steril), Inkubationszeit der Baumwollgarntextilextrakte gelb (0,02 g/mL, steril) (24 h oder 72 h) noch von der Messzeit (1 h, 24 h und 48 h) erkennbar. Die Ergebnisse der Proteinbestimmung waren weder beim 24 h- und 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) noch beim 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) statistisch signifikant.

Um die Biokompatibilität von verschiedenen Textilproben zu ermitteln, sind Biokompatibilitätsuntersuchungen, die verschiedene Aspekte einer Zellnekrose ermitteln, notwendig. Hier wurden die ATP-, die LDH- und die Proteinkonzentration ermittelt. Die Ergebnisse der ATP- und LDH-Untersuchungen sind statistisch signifikant und ergaben keine zellschädigende Wirkung der Funktionstextilie weiß. Der BC Assay war ein adäquater Test, um die Proteinkonzentration zu ermitteln. Die Ergebnisse aus der Proteinbestimmung waren zwar statistisch nicht signifikant, stützten dennoch die Ergebnisse aus den ATP- und LDH-Untersuchungen, dass keine zytotoxischen Wirkungen von den 24 h- und 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakten weiß (0,02 g/mL, steril) ausgingen. Die Ergebnisse aus den ATP-, LDH- und Proteinuntersuchungen stimmten weitestgehend überein, was die Sicherheit bezüglich einer Aussage zur Biokompatibilität erhöhte. Schlussendlich ist es notwendig, mittels verschiedener Assays, die die unterschiedlichen Aspekte einer Zellnekrose detektieren, die Biokompatibilität zu bestimmen, um eine sichere Aussage zur Biokompatibilität treffen zu können. Die hier verwendeten Assays haben alle ihre Schwachpunkte, doch durch Verwendung mehrerer unterschiedlicher Assays kann die qualitative Aussage in Bezug auf eine mögliche Biokompatibilität erhöht werden. Aufgrund des Autoklavierens waren die Ergebnisse nur eingeschränkt verwendbar, da aufgrund der Hitze von einem denaturierten Vitamin E ausgegangen werden musste. Man konnte aber sagen, dass weder das hergestellte Funktionsfasergarn weiß aus Lyocell noch das verwendete Vitamin E zytotoxisch wirkten. Die teilweise zytotoxischen Wirkungen des Baumwollgarns lagen wahrscheinlich an einer Pestizidbelastung der zugrunde liegenden Baumwollpflanzen oder anderer Chemikalien während des Herstellungsprozesses.

Die Untersuchungen zur Biofunktionalität der Textilproben Baumwollgarn und Funktionsfasergarn erfolgten mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für

Peroxynitrit und dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited. Diese Methoden werden seit vielen Jahren zuverlässig verwendet (Schönfelder et al. 2005, Tamburic et al. 2010). Das Pholasin[®] ist ein bewährter und verlässlicher Indikator für die Anwesenheit freier Radikale (Roberts et al. 1987). Zuerst wurden die Textilproben als Stanzen in unterschiedlichen Größen untersucht, was ebenso in anderen Untersuchungen durchgeführt wurde (Wiegand et al. 2013, Schönfelder et al. 2005). Nach der DIN-EN-ISO-10993-5 und -12 ist es wichtig, dass die Proben möglichst im Zustand der späteren Verwendung untersucht werden. Die herausgestanzten Textilproben zeigten selbst nach einer Stunde in R&A-Puffer eingeweicht keine konzentrations- bzw. flächenabhängige Inhibition der RNS (5.2.1.1 und 5.2.1.2) und ROS (5.2.2.1) im Vergleich zum Baumwollgarn.

Deshalb erfolgte eine Änderung in der Untersuchung. Es wurden 24 h-Textilextrakte von Baumwollgarn gelb und Funktionsfasergarn weiß mit einer Konzentration von 0,02 g/mL steril hergestellt. Eine Änderung des Extraktionsmediums wurde ebenso angewendet, da es möglich war, dass sich das vom Hersteller der Strickschläuche verarbeitete Vitamin E nicht in R&A-Puffer lösen konnte. Des Weiteren erfolgte eine Untersuchung, die zeigte, dass sich das Vitamin E Analogon aus dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Peroxynitrit in anderen Lösungsmitteln wie Ethanol, sSL und bSL lösen ließ (5.2.1.3).

Die Textilien sollten später mit der Haut und daher auch mit Schweiß in Kontakt kommen. Aufgrund des unterschiedlichen pH-Werts von Schweiß wurden eine saure und eine basische Schweißlösung hergestellt. Da die Schweißlösungen und Ethanol kein Bestandteil der Test Kits waren, erfolgte zunächst eine Untersuchung auf deren eigene antioxidative Wirkung, um eine mögliche durch die Schweißlösung bzw. Ethanol verursachte Störung der Messwerte erkennen zu können. Die Schweißlösungen und Ethanol zeigten bei der 1:2 Verdünnung für RNS und ROS keine eigenen antioxidativ wirkenden Eigenschaften, welche schließlich die Verdünnung der Extrakte bildete.

Des Weiteren ist es wichtig, dass man die Proben in mindestens drei unterschiedlichen Konzentrationen untersucht, wie hier geschehen, um eine Aussage über die antioxidative Wirkung der Proben machen zu können (Hengst et al. 2009).

Bei den Untersuchungen der Extrakte in sSL und bSL konnte keine relevante Inhibition der RNS durch den 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) im Vergleich zum 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) festgestellt werden. Der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) in bSL zeigte gegenüber dem 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) eine signifikante ROS-Inhibition von 31 % bei der 1:200 Verdünnung. Hier konnte ebenso keine Abhängigkeit der ROS-Inhibition von der Konzentration festgestellt werden. Nach Erhöhung der Konzentration der 24 h-Textilextrakte bei den Untersuchungen zur Inhibition der ROS zeigte der 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, steril) ebenfalls keine Inhibition der ROS gegenüber dem 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL). Daher waren diese Untersuchungen zur Biofunktionalität nicht aussagekräftig. Die ermittelten Ergebnisse der Untersuchungen konnten daran liegen, dass die RNS/ROS-Untersuchung mit den 24 h-Textilextrakten in sSL und bSL die Messungen störten, weil die Test Kits nur auf die entsprechenden R&A-Puffer als Lösungsmittel kalibriert waren und dass das Vitamin E durch das Autoklavieren denaturiert wurde.

Es erfolgte eine erneute 24 h-Textilextraktherstellung des Baumwoll- und Funktionsfasergarns **ohne** vorheriges Autoklavieren mit einer Konzentration von 0,2 g/mL im jeweiligen R&A-Puffer, um eine mögliche Denaturierung des Vitamin E und eine Störung durch ein anderes Extraktionsmedium zu vermeiden. Diese Untersuchungen zeigten deutlich eine signifikante Inhibition der RNS-Bildung beim 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, unsteril) mit 70 % bei der 1:1 Verdünnung in Abhängigkeit zur Konzentration des Textilextraktes. Bei der ROS-Inhibition war ein geringerer Unterschied in Abhängigkeit zur Konzentration des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, unsteril) von nur 39 % bei der 1:1 Verdünnung erkennbar. Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Funktionsfasergarntextilie weiß antioxidativ gegen die reaktive Stickstoff- und Sauerstoffspezies wirksam war. Zu beachten war, dass der sterilfiltrierte 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, unsteril) im Vergleich zum 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL, unsteril) eine deutliche bakterielle Besiedlung, welche mit Blutagarkontrollen nachgewiesen wurden, aufwies. Daher ist das Ergebnis kritisch zu betrachten, da die im Textilextrakt vorhandenen Bakterien in der Lage gewesen sein könnten das verarbeitete Vitamin E anteilig zu verstoffwechseln, sodass die antioxidative Wirkung des Funktionsfasergarns weiß viel höher, als hier dargestellt, sein könnte.

Der Hersteller der Strickschläuche hatte ein Vitamin E in sein Funktionsfasergarn eingearbeitet. Vitamin E, vor allem α -Tocopherol, reagiert aufgrund seiner chemischen Struktur sehr schnell und am besten mit Peroxylradikalen (Burton et al. 1985), was die gute antioxidative Wirkung gegenüber RNS zeigte. Das natürliche Vitamin E kann als Antioxidant auch andere Radikale einfangen. Wichtig ist, dass man bei *in vitro* Untersuchungen nicht nur die antioxidative Wirkung auf ein Radikal beschränkt. Um ein Gesamtbild der antioxidativen Wirkung zu erhalten, ist die Abklärung mit weiteren Radikalen wie der reaktiven Sauerstoffspezies notwendig. Hier konnte gezeigt werden, dass das verarbeitete Vitamin E neben dem Peroxynitrit auch Superoxid und andere freie Radikale wirksam abfangen konnte.

Der Schweiß erfüllt beim Menschen viele Funktionen, wie z. B. Thermoregulation, Aufbau des Säureschutzmantels und enthält antimikrobielle Peptide wie Dermicidin (Schittek et al. 2001, Murakami et al. 2002) und Cathelicidine (Gallo et al. 1994), um sich gegen Infektionen zu wehren. Der hydrolipide Film, der die Haut überzieht, besteht aus Sebum und Schweiß und schützt dabei die Hautoberfläche (Shelmire 1959), indem er unter anderem die Bildung eines normalen Hautmikrobioms unterstützt (Leyden et al. 1975).

Die Haut besitzt Talg-, apokrine, ekkrine und apoekkrine Drüsen. Die Talgdrüsen, die vor allem durch Androgene reguliert werden, sind mit den Haarfollikeln verbunden und produzieren eine fetthaltige und ölige Substanz: Sebum. Das Sebum schützt die Haare und Haut, indem es sie wie eine Lotion überzieht. Des Weiteren besteht der Talg aus Squalen, Wachsestern und verschiedenen Triglyzeriden. Die Triglyzeride können durch Esterasen der Haut sowie durch Korynebakterien in freie Fettsäuren gespalten werden, welche einen Teil des sauren pH-Werts der Haut bilden. Die Talgdrüsen unterstützen die Kolonisierung mit Anaerobiern wie *Propionibacterium acnes*, welche bei den Haarwurzeln leben, die ebenso wichtige Fettsäuren produzieren mit dem sie den pH-Wert der Haut bei ca. 5 aufrechterhalten, welcher wiederum andere Bakterien wie z. B. Staphylokokken inhibiert (Grice und Segre 2011).

Die Schweißproduktion erfolgt durch apokrine und ekkrine Drüsen. Die ekkrinen Drüsen produzieren den größten Anteil des Schweißes und sind für die Thermoregulation bedeutend. Schweiß besteht hauptsächlich aus Wasser, NaCl, Kalium, Bikarbonat (HCO_3^-) und enthält Lactat, Urea, Ammoniak sowie weitere Bestandteile. Der

Schweiß-pH-Wert wird durch das $\text{HCO}_3\text{-CO}_2$ -Puffersystem stabilisiert, d. h., bei einer geringeren Schweißrate ist das Puffersystem in der Lage den Schweiß zu acidifizieren und bei einem pH-Wert von ca. 5 zu halten, weil entweder eine H^+ -Sekretion oder eine HCO_3 -Resorption stattfindet. Einer der Aufgaben des Schweißkanals ist die Reabsorption von Natrium, Kalium und Bikarbonat, um die lebenswichtigen Elektrolyte nicht zu verlieren. Bei einer höheren Schweißrate z. B. bei körperlicher Betätigung liegt der pH-Wert bei 6,5 bis 7, da die Resorption von Bikarbonat nicht in dem Ausmaß stattfindet, um den sauren pH-Wert aufrechtzuerhalten. Dadurch verschiebt sich der pH-Wert der Haut temporär ins Basische. Weiterhin verläuft die Natriumrückresorption gleichförmig und ist unabhängig von der Schweißrate, was bei einer hohen Schweißrate zu einem ausgeprägten Elektrolytverlust führen kann (Sato et al. 1989).

Auf der Haut befindet sich stets ein hydrolipider Film aus Sebum und Schweiß, welcher direkt mit Textilien in Kontakt kommt. Daher ist Schweiß mit unterschiedlichen pH-Werten ein mögliches Lösungsmittel, dass das Vitamin E aus der Funktionstextilie herauslösen bzw. mit ihm interagieren kann. Schweiß ist besonders für Atopiker wichtig, weil bei Menschen mit AD Schweiß in allen Altersgruppen ein auslösender Faktor für starken Pruritus sein kann. Dies ergaben Untersuchungen mittels Fragebogen, wonach viele Personen mit AD der Meinung waren, dass sich ihre AD durch Schwitzen verschlechterte (Yosipovitch et al. 2002, Williams et al. 2004, Dawn et al. 2009). Zusätzlich enthält der Schweiß von Atopikern weniger antimikrobielle Peptide, wodurch es zu einer veränderten Zusammensetzung des Hautmikrobioms kommen kann. Um die unterschiedlichen pH-Werte des Schweißes zu berücksichtigen, wurden neben der sauren auch eine basische Schweißlösung hergestellt, um herauszufinden, ob es Unterschiede in der Löslichkeit des Vitamin E bei verschiedenen pH-Werten gab. Die Textilextrakte Baumwollgarn gelb und Funktionsfasergarn weiß wurden nur mit vorher autoklavierten Textilproben hergestellt. Nachdem nicht autoklavierte Textilproben in R&A-Puffer eine antioxidative Wirksamkeit des Vitamin E zeigten, wurden keine weiteren Textilextrakte mit nicht autoklavierten Textilproben hergestellt. Rückblickend hätte man die Textilproben, um diese auf ihre antioxidative Wirksamkeit zu untersuchen, nicht in andere Lösungsmittel wie den Schweißlösungen lösen müssen.

Der Hersteller der untersuchten Strickschläuche hatte ein Vitamin E in die Fasern eingearbeitet. Die genaue Einarbeitung sowie die chemische Struktur des Vitamin E waren ein Betriebsgeheimnis.

Vitamin E nimmt viele verschiedene Aufgaben im Körper wahr. In der Epidermis hat es vor allem eine zentrale Rolle im synergistisch wirkenden Antioxidationsystem gegen freie Radikale (Rimbach et al. 2010). Im Körper werden bei normalen Stoffwechselfvorgängen ständig freie Radikale produziert, die durch die vorhandenen zellulären Mechanismen unschädlich gemacht werden. Chronische Entzündungen, die unter anderem durch eine Überproduktion freier Radikale charakterisiert sind, sorgen langfristig dafür, dass das antioxidative System überlastet wird, was dauerhaft zu Störungen der Haut bis hin zu einer Dermatitis führen kann. Bei oxidativem Stress, dessen Quelle physischer, umweltbedingter oder psychischer Natur sein kann, ist es wichtig, folgende Aspekte zu berücksichtigen. Zum einen kommt es während einer akuten Phase der AD zu einem erhöhten oxidativen Stress und zum anderen ist es oxidativer Stress an sich als Folge der Umwelt oder anderer Faktoren. Hinzu kommt eine verminderte Leistungsfähigkeit des antioxidativen Systems bei Patienten mit AD (Ji und Li 2016). In Studien konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einem Ekzem eine höhere Lipidperoxidation hatten als die Vergleichsgruppe (Amin et al. 2015) und die Mengen an Antioxidantien wie Vitamin E, C und A waren erniedrigt (Sivaranjani et al. 2013, Amin et al. 2015). Insgesamt betrachtet, sorgt oxidativer Stress langfristig für eine geschädigte Hautbarriere (Niwa et al. 2003). Um die Haut dauerhaft zu schützen, gibt es viele Möglichkeiten oxidativen Stress zu verringern, z. B. indem man das antioxidative System unterstützt und Faktoren, die vermehrt freie Radikale produzieren, verringert (Ji und Li 2016). Bei der Unterstützung des antioxidativen Systems kommen zum einen Vitamine wie Vitamin A (Ponce et al. 2012), D (Bao et al. 2008), C (Telang 2013) und E (Kapun et al. 2014) sowie andere Substanzen mit antioxidativer Wirkung wie Melatonin (Sener et al. 2002, Reiter et al. 2009) und Oxytocin (Deing et al. 2013) in Betracht.

Präklinisch konnte in verschiedenen Untersuchungen an HaCaT-Keratinocyten gezeigt werden, dass Vitamin E positive Effekte wie eine Besserung der Hautfeuchtigkeit durch eine Erhöhung der Ceramide (Kato und Takahashi 2012), Verbesserung des Zellschutzes gegen oxidativen Stress (Gehin et al. 2006) und eine Verstärkung des antioxidativen Systems durch Erhöhung des Glutathions hatte (Masaki et al. 2002).

Tierstudien an Mäusen (Hayashi et al. 2012, Tsuduki et al. 2013) und Hunden (Kapun et al. 2014) konnten eine Verbesserung der AD-Symptome durch Gabe von Vitamin E zeigen. Des Weiteren wurden viele klinische Studien an Menschen unterschiedlichen Alters durchgeführt, die einen positiven Effekt von oral aufgenommenem Vitamin E auf die Hautgesundheit zeigen konnten (Tsourelis-Nikita et al. 2002, Martindale et al. 2005, Jaffary et al. 2015). In einer Studie konnte eine Verbesserung der Haut von Patienten mit einer milden bis moderaten AD durch die topische Applikation von einer Vitamin-E-haltigen Lotion bei AD gezeigt werden (Patrizi et al. 2016). Diesen Untersuchungen stehen Studien gegenüber, die keinen nennenswerten Zusammenhang von Vitamin E auf die AD zeigen konnten (Miyake et al. 2010, Nwaru et al. 2014) sowie Einzelfälle, die eine Kontaktdermatitis nach Anwendung einer Vitamin-E-haltigen Creme nachwies (de Groot et al. 1991, Ohko et al. 2012). Vitamin E wird seit vielen Jahren untersucht und angewendet. Bislang zeigten die Studien überwiegend, dass Vitamin E einen positiven Effekt auf die AD haben konnte und dass das Vitamin E bis auf wenige Einzelfälle für den Menschen in der Anwendung sicher war. Vitamin E wurde dabei entweder oral durch Nahrungsergänzungsmittel oder durch eine topische Applikation von Lotionen oder Ölen aufgenommen. Die Verwendung von Vitamin E in einer Funktionstextilie könnte eine dauerhafte Abgabe des Vitamins an die Haut von Atopikern ermöglichen und so die Haut über einen längeren Zeitraum stabil mit Vitamin E versorgen. Dadurch könnte eine Funktionstextilie mit Vitamin E eine zusätzliche Möglichkeit zur Unterstützung der Behandlung von AD werden.

Vitamin E wird seit langer Zeit zur Stabilisierung von Fetten vor allem von Frittierfetten verwendet, um ein zu schnelles Verderben der Fette zu vermeiden (Pongracz 1988). In mehreren Untersuchungen wurde das Verhalten von Frittierfetten bei unterschiedlichen Temperaturen untersucht (Pongracz 1988, Barrera-Arellano et al. 2002, Aladedunye und Przybylski 2009, Alizadeh et al. 2016). Bei Fetten und Ölen ist die Oxidation ein Problem, da diese das Fett kürzer lagerfähig und schneller ungenießbar macht. Es wurden synthetische wie auch natürliche Antioxidationsmittel untersucht, die eine Oxidation der Fette aufgrund ihrer antioxidativen Eigenschaften verzögern konnten. In einer Untersuchung wurden verschiedene natürliche Öle mit unterschiedlichem Tocopherolgehalt sowie Öle mit zugesetzten Tocopherolen untersucht. Die Öle wurden dabei für 2 h bis 10 h bei ca. 180 °C erhitzt. Danach wurde jeweils der Tocopherolgehalt gemessen. Insgesamt betrachtet nahm der Tocopherolgehalt ab, je

länger die hohe Temperatur einwirkte. Nach 2 h konnte in allen untersuchten Ölen ein Tocopherolgehalt von über 50 % festgestellt werden (Barrera-Arellano et al. 2002).

Da Vitamin E als sehr hitzestabil gilt, konnte man anfänglich davon ausgehen, dass nur ein Teil des verarbeiteten Vitamin E durch das Autoklavieren für 20 min bei 121 °C denaturiert wurde. Wenn man die antioxidativen Untersuchungen der Textilextrakte betrachtet, welchen das Autoklavieren der Textilproben vorausging, dann musste man aufgrund der Ergebnisse davon ausgehen, dass das vom Hersteller verwendete Vitamin E weniger hitzestabil war.

In vielen Kosmetika wird Vitamin E aufgrund der antioxidativen Eigenschaften eingesetzt. Topisch appliziertes Vitamin E zeigte bislang wirksame Effekte gegen UV-bedingte Hautschäden wie Rötungen, Sonnenbrand, Entzündungen und Hyperpigmentierung. Insgesamt sind Kosmetika mit einer Kombination aus Vitamin C, E und Ferulasäure, welche sich in einem spezifischen Mischungsverhältnis gegenseitig stabilisieren, z. B. wie im *Skinceuticals C E Ferrulic® Serum*, effektiver gegen oxidativen Stress (Lin et al. 2005). Mit topisch applizierten Vitamin E und C konnten viel größere Mengen im Hautreservoir gespeichert werden, als das über die orale Einnahme erreicht werden konnte, sofern man diese Kosmetika korrekt applizierte. Damit konnten diese Kosmetika länger selbst einige Tage nach der Applikation wirksam gegen oxidativen Stress schützen (Pinnell et al. 2001, Burke und Pinnell 2015).

6.1 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Arbeit wurden Baumwollgarn und Textilien mit einer Vitamin-E-haltigen Funktionsfaser (weiß 0100 mit 20 % Vitamin E-Faser) auf ihre Biokompatibilität gegenüber HaCaT-Keratinocyten und auf ihre Biofunktionalität gegen RNS und ROS untersucht.

Mittels der ATP-, LDH- und Proteinbestimmung konnte eine gute Biokompatibilität des Funktionsfasergarns gegenüber den HaCaT-Keratinocyten festgestellt werden. Zytotoxische Effekte waren für das Funktionsfasergarn weiß nicht nachweisbar. Die Biokompatibilitätsuntersuchungen fanden alle an 2-D-Modellen statt. Die 2-D-Modelle stoßen auf ihre Grenzen, wenn die Biotransformation von Stoffen oder die perkutane Absorption untersucht werden soll, da für solche Untersuchungen komplexe 3-D-Modelle notwendig sind. Die 3-D-Modelle, um z. B. AD zu untersuchen, benötigen noch einige Zeit, da die derzeitigen 3-D-Modelle noch nicht alle notwendigen Zelltypen enthalten, wobei vor allem aber die dendritischen Zellen sehr schwer zu kultivieren sind (Alépée et al. 2014). Die Verwendung solcher 3-D-Hautmodelle könnte in Zukunft die Lücke zwischen *in vivo* Untersuchungen und 2-D-Modellen *in vitro* schließen, um Materialien auf ihre Biokompatibilität zu überprüfen (Alépée et al. 2014). Derzeit sind die 2-D-Modelle mit HaCaT-Keratinocyten als erster *in vitro* Schritt zeitgemäß und es lässt sich zuverlässig sagen, ob Materialien biokompatibel sind. Ein möglicher nächster Schritt wäre die *in vitro* Untersuchung mittels eines Hautirritationstests (Alépée et al. 2010) an etablierten 3-D-Modellen, die mittlerweile von verschiedenen kommerziellen Herstellern angeboten werden wie z. B. EpiDerm™, SkinEthic™, EpiSkin™.

Des Weiteren wäre eine Erweiterung der Funktionstextilien mit antibakteriellen Eigenschaften sinnvoll, um vorheriges Autoklavieren zu vermeiden. In anderen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass sich dafür z. B. Silber oder Zink eignen, da diese sich durch das Zimmer-Lyocell-Verfahren dauerhaft in den Kern der Faser integrieren lassen und antifungal und -bakteriell wirken (Hipler und Zikeli 2006, Lansdown et al. 2007, Wiegand et al. 2013). Diese zusätzliche Bearbeitung würde es ermöglichen die Textilextrakte ohne Autoklavieren mit aktivem Vitamin E an HaCaT-Keratinocyten auf dessen Biokompatibilität zu untersuchen.

Eine deutliche antioxidative Wirkung des Funktionsfasergarns gegen RNS und ROS war nur in Form von nicht autoklavierten 24 h-Funktionsfasergarnextrakten

nachweisbar, wobei die antioxidative Wirkung in der 1:1 Verdünnung gegen RNS am stärksten war. Die Untersuchungen mit autoklavierten Textilextrakten in anderen Lösungsmitteln wie sSL und bSL erbrachten keine verwertbaren Ergebnisse. Das ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Peroxynitrit und das ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited zur Untersuchung der antioxidativen Wirkung eines Materials oder einer Substanz sollten in Zukunft hauptsächlich mit den vom Hersteller mitgelieferten Lösungsmitteln verwendet werden, da andere Lösungsmittel Interferenzen und damit falsche Ergebnisse verursachen könnten. Zukünftig könnte man in einer zusätzlichen Untersuchung aus nicht autoklavierten Textilproben Baumwollgarn gelb und Funktionsfasergarn weiß entsprechende Textilextrakte herstellen und untersuchen, um herauszufinden, ob sich das Vitamin E in einer der beiden Schweißlösungen besser lösen lässt, ob es antioxidativ wirkt und ob trotz möglicher Interferenzen bei Verwendung dieser Test Kits eine antioxidative Wirkung erkennbar ist. Die Untersuchungsergebnisse zur antioxidativen Wirkung von Substanzen unterscheiden sich nicht nur zwischen den unterschiedlichen Laboratorien, sondern teilweise auch innerhalb eines Labors bei Verwendung unterschiedlicher Methoden zur Feststellung der antioxidativen Wirkung einer Substanz. Weiterhin gibt es keinen Test, der als Standardtest zur Untersuchung der antioxidativen Wirkung von Substanzen definiert ist, weshalb man mit dem Datenvergleich aus unterschiedlichen Untersuchungen sehr kritisch umgehen muss (Schlesier et al. 2002). Zum besseren Vergleich der erhaltenen Daten mit anderen Studien wäre die Einführung eines Standardtests wünschenswert.

Die Vitamin-E-haltigen Funktionsfasern wiesen hier *in vitro* eine deutliche antioxidative Wirkung gegen RNS (70 %) und ROS (39 %) auf. In einer *in vivo* Studie von Fluhr et al. konnte eine Verbesserung der AD nach Tragen von SeaCell[®] Active-Textilien beschrieben werden. Die Kontrollgruppe erhielt langärmelige T-Shirts aus Baumwolle und die Testgruppe T-Shirts aus SeaCell[®] Active. *In vitro* erfolgte die Bestimmung der antioxidativen Wirkung der Textilien gegenüber RNS und ROS mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit, wobei SeaCell[®] Active-Textilien die höchste antioxidative Wirkung gegenüber RNS und ROS aufwiesen. Zusammengefasst wies die Testgruppe eine antibakterielle Wirkung gegenüber *S. aureus* auf. Die physiologischen und klinischen Parameter zeigten eine leichte Verbesserung, die nur teilweise statistisch signifikant war.

Fluhr et al führte die Wirkungsweise zumindest teilweise auf die antioxidativen Eigenschaften der SeaCell® Active-Textilien zurück (Fluhr et al. 2010).

Diese *in vivo* Studie zeigte, dass eine antioxidative Eigenschaft einer Funktionstextilie, die *in vitro* bestimmt wurde, zu einer Verbesserung der AD führen konnte. Um einen möglichen Nutzen der Vitamin-E-haltigen Funktionsfasern zur Verbesserung der Lebensqualität von Atopiker festzustellen, sollte eine *in vivo* Studie wie bei Fluhr et al. durchgeführt werden.

7 Literaturverzeichnis

- Abeck D, Strom K. 2000. Optimal Management of Atopic Dermatitis. *American Journal of Clinical Dermatology*, 1 (1):41-46.
- Abele H, Beer K, Blanck N, Braun S, Braunewell H, Carle R. 2011. *Der Brockhaus Ernährung: gesund essen, bewusst leben*. Gütersloh, München: Brockhaus.
- Adalier N, Parker H. 2016. Vitamin E, Turmeric and Saffron in Treatment of Alzheimer's Disease. *Antioxidants (Basel)*, 5 (4).
- Ahn K. 2014. The role of air pollutants in atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134 (5):993-999.
- Aladedunye FA, Przybylski R. 2009. Degradation and nutritional quality changes of oil during frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86 (2):149-156.
- Alépée N, Tornier C, Robert C, Amsellem C, Roux M-H, Doucet O, Pachot J, Méloni M, de Brugerolle de Fraissinette A. 2010. A catch-up validation study on reconstructed human epidermis (SkinEthic™ RHE) for full replacement of the Draize skin irritation test. *Toxicology in Vitro*, 24 (1):257-266.
- Alépée N, Bahinski A, Daneshian M, De Wever B, Fritsche E, Goldberg A, Hansmann J, Hartung T, Haycock J, Hogberg H, Hoelting L, Kelm JM, Kadereit S, McVey E, Landsiedel R, Leist M, Lübberstedt M, Noor F, Pellevoisin C, Petersohn D, Pfannenbecker U, Reisinger K, Ramirez T, Rothen-Rutishauser B, Schäfer-Korting M, Zeilinger K, Zurich M-G. 2014. State-of-the-art of 3D cultures (organs-on-a-chip) in safety testing and pathophysiology. *ALTEX*, 31 (4):441-477.
- Alizadeh L, Nayebzadeh K, Mohammadi A. 2016. A comparative study on the in vitro antioxidant activity of tocopherol and extracts from rosemary and *Ferulago angulata* on oil oxidation during deep frying of potato slices. *Journal of food science and technology*, 53 (1):611-620.
- Amin MN, Liza KF, Sarwar MS, Ahmed J, Adnan MT, Chowdhury MI, Hossain MZ, Islam MS. 2015. Effect of lipid peroxidation, antioxidants, macro minerals and trace elements on eczema. *Archives of Dermatological Research*, 307 (7):617-623.
- Anuforo DC, Acosta D, Smith RV. 1978. Hepatotoxicity studies with primary cultures of rat liver cells. *In Vitro*, 14 (12):981-988.
- Asakura K, Nishiwaki Y, Milojevic A, Michikawa T, Kikuchi Y, Nakano M, Iwasawa S, Hillebrand G, Miyamoto K, Ono M, Kinjo Y, Akiba S, Takebayashi T. 2009. Lifestyle Factors and Visible Skin Aging in a Population of Japanese Elders. *Journal of Epidemiology*, 19 (5):251-259.
- Baek J, Lee M-G. 2016. Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology. *Redox Report*, 21 (4):164-169.
- Banche G, Prato M, Magnetto C, Allizond V, Giribaldi G, Argenziano M, Khadjavi A, Gulino GR, Finesso N, Mandras N. 2015. Antimicrobial chitosan nanodroplets: new insights for ultrasound-mediated adjuvant treatment of skin infection. *Future Microbiol*, 10 (6):930.
- Bao BY, Ting HJ, Hsu JW, Lee YF. 2008. Protective role of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells. *International journal of cancer*, 122 (12):2699-2706.
- Barrera-Arellano D, Ruiz-Méndez V, Velasco J, Márquez-Ruiz G, Dobarganes C. 2002. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds at frying

- temperatures in oils differing in degree of unsaturation and natural antioxidant content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82 (14):1696-1702.
- Bickers DR, Lim HW, Margolis D, Weinstock MA, Goodman C, Faulkner E, Gould C, Gemmen E, Dall T. 2006. The burden of skin diseases: 2004: A joint project of the American Academy of Dermatology Association and the Society for Investigative Dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55 (3):490-500.
- Boothe WD, Tarbox JA, Tarbox MB. 2017. Atopic dermatitis: pathophysiology. *Management of Atopic Dermatitis*:21-37.
- Bopp SK, Lettieri T. 2008. Comparison of four different colorimetric and fluorometric cytotoxicity assays in a zebrafish liver cell line. *BMC pharmacology*, 8:8-8.
- Bosetti M, Massè A, Tobin E, Cannas M. 2002. Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity. *Biomaterials*, 23 (3):887-892.
- Boukamp P, Petrussevska RT, Breitkreutz D, Hornung J, Markham A, Fusenig NE. 1988. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J Cell Biol*, 106 (3):761-771.
- Boyer G, Laquière L, Le Bot A, Laquière S, Zahouani H. 2009. Dynamic indentation on human skin in vivo: ageing effects. *Skin Research and Technology*, 15 (1):55-67.
- Brady PN, Macnaughtan MA. 2015. Evaluation of colorimetric assays for analyzing reductively methylated proteins: Biases and mechanistic insights. *Analytical Biochemistry*, 491:43-51.
- Brander C, Wyss-Coray T, Mauri D, Bettens F, Pichler WJ. 1993. Carrier-mediated uptake and presentation of a major histocompatibility complex class I-restricted peptide. *European Journal of Immunology*, 23 (12):3217-3223.
- Brown RE, Jarvis KL, Hyland KJ. 1989. Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Analytical Biochemistry*, 180 (1):136-139.
- Burke KE, Pinnell DM. 2015. Topical Vitamins E, C, and Ferulic Acid and Topical L-Selenomethionine. *Cosmeceuticals and Active Cosmetics*:297.
- Burton GW, Doba T, Gabe E, Hughes L, Lee FL, Prasad L, Ingold KU. 1985. Autoxidation of biological molecules. 4. Maximizing the antioxidant activity of phenols. *Journal of the American Chemical Society*, 107 (24):7053-7065.
- Cals-Grierson MM, Ormerod AD. 2004. Nitric oxide function in the skin. *Nitric Oxide*, 10 (4):179-193.
- Cook JA, Mitchell JB. 1989. Viability measurements in mammalian cell systems. *Analytical Biochemistry*, 179 (1):1-7.
- Crouch SPM, Kozlowski R, Slater KJ, Fletcher J. 1993. The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *Journal of Immunological Methods*, 160 (1):81-88.
- Dąbrowska AK, Spano F, Derler S, Adlhart C, Spencer ND, Rossi RM. 2018. The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors. *Skin Research and Technology*, 24 (2):165-174.
- Davies E, Rogers NK, Lloyd-Lavery A, Grindlay DJC, Thomas KS. 2018. What's new in atopic eczema? An analysis of systematic reviews published in 2015. Part 1: epidemiology and methodology. *Clinical and Experimental Dermatology*, 43 (4):375-379.
- Dawn A, Papoiu ADP, Chan YH, Rapp SR, Rasette N, Yosipovitch G. 2009. Itch characteristics in atopic dermatitis: results of a web-based questionnaire. *British Journal of Dermatology*, 160 (3):642-644.

- de Groot AC, Berretty PJ, van Ginkel CJ, den Hengst CW, van Ulsen J, Weyland JW. 1991. Allergic contact dermatitis from tocopheryl acetate in cosmetic creams. *Contact Dermatitis*, 25 (5):302-304.
- Decker T, Lohmann-Matthes M-L. 1988. A quick and simple method for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements of cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *Journal of Immunological Methods*, 115 (1):61-69.
- Deing V, Roggenkamp D, Kühnl J, Gruschka A, Stäb F, Wenck H, Bürkle A, Neufang G. 2013. Oxytocin modulates proliferation and stress responses of human skin cells: implications for atopic dermatitis. *Experimental dermatology*, 22 (6):399-405.
- Deller T. 2018. *Histologie : Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie : das Lehrbuch*. 5. Aufl. München: Urban-&-Fischer-Verlag.
- DIN-EN-ISO. 2007a. 10993-5: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten-Teil 5: Prüfungen auf In-vitro-Zytotoxizität (ISO 10993-5: 2007); Deutsche Fassung EN ISO 10993-5: 2007.
- DIN-EN-ISO. 2007b. 10993-12: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 12: Probenvorbereitung und Referenzmaterialien. (ISO 10993-12: 2007); Deutsche Fassung EN ISO 10993-12: 2007.
- DIN-EN-ISO. 2009. 10993-1: Beurteilung und Prüfung im Rahmen eines Risikomanagementsystems -Teil 1 (ISO 10993-1: 2009); Deutsche Fassung EN ISO 10993-1: 2009.
- Diridollou S, De Rigal J, Querleux B, Leroy F, Holloway Barbosa V. 2007. Comparative study of the hydration of the stratum corneum between four ethnic groups: influence of age. *International Journal of Dermatology*, 46 (s1):11-14.
- Dom S, Droste JHJ, Sariachvili MA, Hagendorens MM, Oostveen E, Bridts CH, Stevens WJ, Wieringa MH, Weyler JJ. 2010. Pre- and post-natal exposure to antibiotics and the development of eczema, recurrent wheezing and atopic sensitization in children up to the age of 4 years. *Clinical & Experimental Allergy*, 40 (9):1378-1387.
- Eichenfield LF, Hanifin JM, Luger TA, Stevens SR, Pride HB. 2003. Consensus conference on pediatric atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 49 (6):1088-1095.
- Ekanayake-Mudiyanselage S, Tavakkol A, Polefka TG, Nabi Z, Elsner P, Thiele JJ. 2005. Vitamin E Delivery to Human Skin by a Rinse-Off Product: Penetration of α -Tocopherol versus Wash-Out Effects of Skin Surface Lipids. *Skin Pharmacology and Physiology*, 18 (1):20-26.
- Ellwood P, Asher MI, Garcia-Marcos L, Williams H, Keil U, Robertson C, Nagel G. 2013. Do fast foods cause asthma, rhinoconjunctivitis and eczema? Global findings from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase three. *Thorax*, 68 (4):351-360.
- Elmose C, Thomsen SF. 2015. Twin studies of atopic dermatitis: interpretations and applications in the filaggrin era. *Journal of allergy*, 2015.
- Evans HM, Bishop KS. 1922. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*, 56 (1458):650.
- Evans HM, Emeeson OH, Emerson GA. 1936. The isolation from wheat germ oil of an alcohol, α -tocopherol, having the properties of vitamin E. *Journal of Biological Chemistry*, 113:319-332.
- Feeney M, Du Toit G, Roberts G, Sayre PH, Lawson K, Bahnson HT, Sever ML, Radulovic S, Plaut M, Lack G, Chan S, Fox A, Abraham M, Adam M, Clough L,

- Coverdale L, Fisher H, Henley F, Hussain S, Johnston V, Nixon A, O'Dwyer-Leeson U, Sheridan A, Amarra T, Cockerell K, Lacey S, Harland G, Stedman C, Towell R, Basting M, Clarke C, Cleaver R, Deutsch G, Harris E, Nirenstein L, Parr A, Becares N, Crossley M, do Couto Francisco N, Richards K, Patel D, Pietraszewicz E, Stephens A, Sudra A, Wester R, Wilson A, Wu C, Heath J, Hersee K, Patkunam D, Adamkiewicz M, Asare A, Chani E, Evind J, Harris K, Lim N, Nasser N, Plough A, Romaine J, Stahly M, Panza JL, McCachren S, Mason T, Nelson V. 2016. Impact of peanut consumption in the LEAP Study: Feasibility, growth, and nutrition. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 138 (4):1108-1118.
- Fernholz E. 1938. On the constitution of α -tocopherol. *J Am Chem Soc*, 60:700-705.
- Fiume MM, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Liebler DC, Marks JG, Shank RC, Slaga TJ, Snyder PW, Andersen FA, Heldreth B. 2018. Safety Assessment of Tocopherols and Tocotrienols as Used in Cosmetics. *International Journal of Toxicology*, 37 (2_suppl):61S-94S.
- Fluhr JW, Breternitz M, Kowatzki D, Bauer A, Bossert J, Elsner P, Hipler UC. 2010. Silver-loaded seaweed-based cellulosic fiber improves epidermal skin physiology in atopic dermatitis: safety assessment, mode of action and controlled, randomized single-blinded exploratory in vivo study. *Exp Dermatol*, 19 (8):e9-15.
- Fritsch P, Schwarz T. 2018. *Dermatologie Venerologie : Grundlagen. Klinik. Atlas. 3 Aufl.:* Springer, Berlin, Heidelberg.
- Gallo RL, Ono M, Povsic T, Page C, Eriksson E, Klagsbrun M, Bernfield M. 1994. Syndecans, cell surface heparan sulfate proteoglycans, are induced by a proline-rich antimicrobial peptide from wounds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91 (23):11035-11039.
- Garnsworthy RK, Gully RL, Kenins P, Mayfield RJ, Westerman RA. 1988. Identification of the physical stimulus and the neural basis of fabric-evoked prickle. *Journal of Neurophysiology*, 59 (4):1083-1097.
- Garritsen FM, Brouwer MWD, Limpens J, Spuls PI. 2014. Photo(chemo)therapy in the management of atopic dermatitis: an updated systematic review with implications for practice and research. *British Journal of Dermatology*, 170 (3):501-513.
- Gauger A. 2006. Silver-Coated Textiles in the Therapy of Atopic Eczema. *Current Problems in Dermatology*, 33:152-164.
- Gauger A, Mempel M, Schekatz A, Schäfer T, Ring J, Abeck D. 2003. Silver-Coated Textiles Reduce *Staphylococcus aureus* Colonization in Patients with Atopic Eczema. *Dermatology*, 207 (1):15-21.
- Gauger A, Fischer S, Mempel M, Schaefer T, Foelster-Holst R, Abeck D, Ring J. 2006. Efficacy and functionality of silver-coated textiles in patients with atopic eczema. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 20 (5):534-541.
- Gehin A, Guyon C, Nicod L. 2006. Glyphosate-induced antioxidant imbalance in HaCaT: The protective effect of Vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22 (1):27-34.
- Ghasemi-Mobarakeh L, Kolahreez D, Ramakrishna S, Williams D. 2019. Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 10:45-50.
- Giacomini PU, Mammone T, Teri M. 2009. Gender-linked differences in human skin. *Journal of Dermatological Science*, 55 (3):144-149.

- Ginsburg I. 1998. Could synergistic interactions among reactive oxygen species, proteinases, membrane-perforating enzymes, hydrolases, microbial hemolysins and cytokines be the main cause of tissue damage in infectious and inflammatory conditions? *Medical Hypotheses*, 51 (4):337-346.
- Goebeler M, Hamm H. 2017. *Basiswissen Dermatologie*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag GmbH.
- Grice EA, Segre JA. 2011. The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9 (4):244-253.
- Ha S-W, Wintermantel E. 2009. Biofunktionalität. *Medizintechnik*. Springer, 105-111.
- Hachem J-P, Man M-Q, Crumrine D, Uchida Y, Brown BE, Rogiers V, Roseeuw D, Feingold KR, Elias PM. 2005. Sustained Serine Proteases Activity by Prolonged Increase in pH Leads to Degradation of Lipid Processing Enzymes and Profound Alterations of Barrier Function and Stratum Corneum Integrity. *Journal of Investigative Dermatology*, 125 (3):510-520.
- Hanifin JM, Rajka G. 1980. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Suppl)*, 92:44-47.
- Harms M. 2012. Etablierung und Verwendung von humanen Keratinozytenmodellen zur Auffindung von Naturstoffen mit UV-schützenden und regenerationsfördernden Wirkstoffen Greifswald: Universität Greifswald.
- Hayashi D, Sugaya H, Ohkoshi T, Sekizawa K, Takatsu H, Shinkai T, Urano S. 2012. Vitamin E improves biochemical indices associated with symptoms of atopic dermatitis-like inflammation in NC/Nga mice. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 58 (3):161-168.
- Haycock JW. 2011. 3D cell culture: a review of current approaches and techniques. *3D cell culture*. Springer, 1-15.
- Hengst C, Werner S, Müller L, Fröhlich K, Böhm V. 2009. Determination of the antioxidant capacity: influence of the sample concentration on the measured values. *European Food Research and Technology*, 230 (2):249-254.
- Hipler UC, Zikeli. 2006. SeaCell Active - Die natürliche Cellulosefaser mit antimikrobiellen Eigenschaften. *Akt Dermatol*, 32:23-26.
- Hipler UC, Schönfelder U, Hipler C, Elsner P. 2007. Influence of cyclodextrins on the proliferation of HaCaT keratinocytes in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 83A (1):70-79.
- Horimukai K, Morita K, Narita M, Kondo M, Kitazawa H, Nozaki M, Shigematsu Y, Yoshida K, Niizeki H, Motomura K-i, Sago H, Takimoto T, Inoue E, Kamemura N, Kido H, Hisatsune J, Sugai M, Murota H, Katayama I, Sasaki T, Amagai M, Morita H, Matsuda A, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. 2014. Application of moisturizer to neonates prevents development of atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134 (4):824-830.e826.
- Inoue Y, Shibasaki M, Hirata K, Araki T. 1998. Relationship between skin blood flow and sweating rate, and age related regional differences. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 79 (1):17-23.
- Jaffary F, Faghihi G, Mokhtarian A, Hosseini SM. 2015. Effects of oral vitamin E on treatment of atopic dermatitis: A randomized controlled trial. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 20 (11):1053.
- Ji H, Li X-K. 2016. Oxidative Stress in Atopic Dermatitis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016:2721469.

- Johnson HJ, Northup SJ, Seagraves PA, Garvin PJ, Wallin RF. 1983. Biocompatibility test procedures for materials evaluation in vitro. I. Comparative test system sensitivity. *J Biomed Mater Res*, 17 (4):571-586.
- Johnson M. 2013. Detergents: Triton X-100, tween-20, and more. *Mater Methods*, 3 (1):163.
- Kapun AP, Salobir J, Levart A, Kalcher GT, Svete AN, Kotnik T. 2014. Vitamin E supplementation in canine atopic dermatitis: improvement of clinical signs and effects on oxidative stress markers. *Veterinary Record:vetrec-2014-102547*.
- Karrer P, Fritzsche H, Ringier BH, Salomon H. 1938. Synthese des α -Tocopherols. *Helvetica Chimica Acta*, 21 (1):820-825.
- Kathuria P, Silverberg JI. 2016. Association of pollution and climate with atopic eczema in US children. *Pediatric Allergy and Immunology*, 27 (5):478-485.
- Kato E, Takahashi N. 2012. Improvement by sodium dl- α -tocopheryl-6-O-phosphate treatment of moisture-retaining ability in stratum corneum through increased ceramide levels. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20 (12):3837-3842.
- Knittel D, Buschmann HJ, Hipler C, Elsner P, Schollmeyer E. 2004. Funktionelle Textilien zur Hautpflege und als Therapiemedium. *Aktuelle Dermatologie*, 30 (01/02):11-17.
- Korkina L, Pastore S. 2009. The role of redox regulation in the normal physiology and inflammatory diseases of skin. *Front Biosci (Elite Ed)*, 1:123-141.
- Korzeniewski C, Callewaert DM. 1983. An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. *Journal of Immunological Methods*, 64 (3):313-320.
- Kubo M, Kambayashi Y, Takemoto K, Okuda J, Muto M, Ogino K. 2005. Reactive nitrogen species formation in eosinophils and imbalance in nitric oxide metabolism are involved in atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *Free Radical Research*, 39 (7):719-727.
- Kürschner U. 2007. Untersuchungen zur Toxizität und Biotransformation an der humanen Keratinozytenzelllinie HaCaT Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- Kushi LH, Folsom AR, Prineas RJ, Mink PJ, Wu Y, Bostick RM. 1996. Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med*, 334 (18):1156-1162.
- Langen U, Schmitz R, Steppuhn H. 2013. Häufigkeit allergischer Erkrankungen in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 56 (5):698-706.
- Lansdown ABG, Mirastschijski U, Stubbs N, Scanlon E, Ågren MS. 2007. Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair and Regeneration*, 15 (1):2-16.
- Lehman TA, Modali R, Boukamp P, Stanek J, Bennett WP, Welsh JA, Metcalf RA, Stampfer MR, Fusenig N, Rogan EM, Harris CC. 1993. p53 Mutations in human immortalized epithelial cell lines. *Carcinogenesis*, 14 (5):833-839.
- Leung DYM. 2013. New Insights into Atopic Dermatitis: Role of Skin Barrier and Immune Dysregulation. *Allergology International*, 62 (2):151-161.
- Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM. 1974. Staphylococcus aureus in the lesions of atopic dermatitis. *Br J Dermatol*, 90 (5):525-530.
- Leyden JJ, McGiley KJ, Mills OH, Kligman AM. 1975. Age-Related Changes In The Resident Bacterial Flora Of The Human Face. *Journal of Investigative Dermatology*, 65 (4):379-381.
- Lin F-H, Lin J-Y, Gupta RD, Tournas JA, Burch JA, Angelica Selim M, Monteiro-Riviere NA, Grichnik JM, Zielinski J, Pinnell SR. 2005. Ferulic Acid Stabilizes a Solution

- of Vitamins C and E and Doubles its Photoprotection of Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 125 (4):826-832.
- Löffler H, Aramaki JUN, Effendy I. 2002. The influence of body mass index on skin susceptibility to sodium lauryl sulphate. *Skin Research and Technology*, 8 (1):19-22.
- Lopez-Torres M, Thiele JJ, Shindo Y, Han D, Packer L. 1998. Topical application of alpha-tocopherol modulates the antioxidant network and diminishes ultraviolet-induced oxidative damage in murine skin. *The British journal of dermatology*, 138 (2):207-215.
- Mahoney CW, Azzi A. 1988. Vitamin E inhibits protein kinase c activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 154 (2):694-697.
- Malafa MP, Fokum FD, Mowlavi A, Abusief M, King M. 2002. Vitamin E inhibits melanoma growth in mice. *Surgery*, 131 (1):85-91.
- Man MQ, Xin SJ, Song SP, Cho SY, Zhang XJ, Tu CX, Feingold KR, Elias PM. 2009. Variation of Skin Surface pH, Sebum Content and Stratum Corneum Hydration with Age and Gender in a Large Chinese Population. *Skin Pharmacology and Physiology*, 22 (4):190-199.
- Martindale S, McNeill G, Devereux G, Campbell D, Russell G, Seaton A. 2005. Antioxidant intake in pregnancy in relation to wheeze and eczema in the first two years of life. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171 (2):121-128.
- Masaki H, Okano Y, Ochiai Y, Obayashi K, Akamatsu H, Sakurai H. 2002. α -Tocopherol increases the intracellular glutathione level in HaCaT keratinocytes. *Free radical research*, 36 (6):705-709.
- Masanet J, Gomez-Lechon M, Castell J. 1988. Hepatic toxicity of paraquat in primary cultures of rat hepatocytes. *Toxicology in vitro*, 2 (4):275-282.
- Miller RA, Britigan BE. 1997. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 10 (1):1.
- Miret S, De Groene EM, Klaffke W. 2005. Comparison of In Vitro Assays of Cellular Toxicity in the Human Hepatic Cell Line HepG2. *Journal of Biomolecular Screening*, 11 (2):184-193.
- Miyake Y, Sasaki S, Tanaka K, Hirota Y. 2010. Consumption of vegetables, fruit, and antioxidants during pregnancy and wheeze and eczema in infants. *Allergy*, 65 (6):758-765.
- Mohd Mutalip SS, Ab-Rahim S, Rajikin HM. 2018. Vitamin E as an Antioxidant in Female Reproductive Health. *Antioxidants*, 7 (2).
- Murakami M, Ohtake T, Dorschner RA, Gallo RL, Schittek B, Garbe C. 2002. Cathelicidin Anti-Microbial Peptide Expression in Sweat, an Innate Defense System for the Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 119 (5):1090-1095.
- Murzina E, Kaliuzhna L, Bardova K, Yurchyk Y, Barynova M. 2019. Human Skin Microbiota in Various Phases of Atopic Dermatitis. *Acta Dermatovenerol Croat*, 27 (4):245-249.
- Nachlas MM, Margulies SI, Goldberg JD, Seligman AM. 1960. The determination of lactic dehydrogenase with a tetrazolium salt. *Analytical Biochemistry*, 1 (4):317-326.
- Niki E. 2010. Do free radicals play causal role in atherosclerosis? Low density lipoprotein oxidation and vitamin E revisited. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 48 (1):3-7.

- Niki E. 2018. Oxidant-specific biomarkers of oxidative stress. Association with atherosclerosis and implication for antioxidant effects. *Free Radical Biology and Medicine*, 120:425-440.
- Niwa Y, Sumi H, Kawahira K, Terashima T, Nakamura T, Akamatsu H. 2003. Protein oxidative damage in the stratum corneum: evidence for a link between environmental oxidants and the changing prevalence and nature of atopic dermatitis in Japan. *British Journal of Dermatology*, 149 (2):248-254.
- Nutten S. 2015. Atopic Dermatitis: Global Epidemiology and Risk Factors. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 66(suppl 1) (Suppl. 1):8-16.
- Nwaru BI, Virtanen SM, Alfthan G, Karvonen AM, Genuneit J, Lauener RP, Dalphin J-C, Hyvärinen A, Pfefflerle P, Riedler J, Weber J, Roduit C, Kaulek V, Braun-Fahrländer C, von Mutius E, Pekkanen J, group tPs. 2014. Serum vitamin E concentrations at 1 year and risk of atopy, atopic dermatitis, wheezing, and asthma in childhood: the PASTURE study. *Allergy*, 69 (1):87-94.
- Ohko K, Ito A, Ito M. 2012. Allergic contact dermatitis syndrome due to tocopherol acetate, in addition to glycyrrhetic acid. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 2 (1):38-40.
- Olson BJSC, Markwell J. 2007. Assays for Determination of Protein Concentration. *Current Protocols in Protein Science*, 48 (1):3.4.1-3.4.29.
- Oyoshi MK, Larson RP, Ziegler SF, Geha RS. 2010. Mechanical injury polarizes skin dendritic cells to elicit a TH2 response by inducing cutaneous thymic stromal lymphopoietin expression. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126 (5):976-984.e975.
- Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant A, Munro CS, El Houate B, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S, McLean WH. 2006. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet*, 38 (4):441-446.
- Patrizi A, Raone B, Neri I, Gurioli C, Carbonara M, Cassano N, Vena GA. 2016. Randomized, controlled, double-blind clinical study evaluating the safety and efficacy of MD2011001 cream in mild-to-moderate atopic dermatitis of the face and neck in children, adolescents and adults. *Journal of Dermatological Treatment*, 27 (4):346-350.
- Pelle E, Muizzuddin N, Mammone T, Marenus K, Maes D. 1999. Protection against endogenous and UVB-induced oxidative damage in stratum corneum lipids by an antioxidant-containing cosmetic formulation. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 15 (3-4):115-119.
- Pinnell SR, Yang H, Omar M, Riviere NM, DeBuys HV, Walker LC, Wang Y, Levine M. 2001. Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies. *Dermatologic surgery*, 27 (2):137-142.
- Ponce IT, Rezza IG, Delgado SM, Navigatore LS, Bonomi MR, Golini RL, Gimenez MS, Anzulovich AC. 2012. Daily oscillation of glutathione redox cycle is dampened in the nutritional vitamin A deficiency. *Biological rhythm research*, 43 (4):351.
- Pongracz G. 1988. Hitzestabilität der Tocopherole. *Lipid / Fett*, 90 (7):247-251.
- Promega (Promega Corporation, 2800 Woods Hollow Road, Madison, WI 53711-5399 USA). CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay.

- Radestock A, Elsner P, Gitter B, Hipler UC. 2007. Induction of apoptosis in HaCaT cells by photodynamic therapy with chlorin e6 or pheophorbide a. *Skin Pharmacol Physiol*, 20 (1):3-9.
- Rat dE. 2007. Richtlinie 93/42/EWG des Rates vom 14. Juni 1993 über Medizinprodukte Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 169/1.
- Reddersen K, Wiegand C, Elsner P, Hipler U-C. 2019. Three-dimensional human skin model infected with *Staphylococcus aureus* as a tool for evaluation of bioactivity and biocompatibility of antiseptics. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 54 (3):283-291.
- Reiche D. 2003. Roche Lexikon Medizin. 5. Aufl. München, Jena: Urban & Fischer Verlag.
- Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan D-X. 2009. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 44 (4):175-200.
- Ricci G, Patrizi A, Bendandi B, Menna G, Varotti E, Masi M. 2004. Clinical effectiveness of a silk fabric in the treatment of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology*, 150 (1):127-131.
- Rimbach G, Moehring J, Huebbe P, Lodge JK. 2010. Gene-Regulatory Activity of α -Tocopherol. *Molecules*, 15 (3).
- Rimbach G, Minihane AM, Majewicz J, Fischer A, Pallauf J, Virgli F, Weinberg PD. 2002. Regulation of cell signalling by vitamin E. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61 (4):415-425.
- Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, Minor L. 2016. Cell viability assays. *Assay Guidance Manual* [Internet]. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences.
- Roberts PA, Knight J, Campbell AK. 1987. Pholasin—A bioluminescent indicator for detecting activation of single neutrophils. *Analytical Biochemistry*, 160 (1):139-148.
- Sapuntsova SG, Lebed'ko OA, Shchetkina MV, Fleishman MY, Kozulin EA, Timoshin SS. 2011. Status of Free-Radical Oxidation and Proliferation Processes in Patients with Atopic Dermatitis and Lichen Planus. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 150 (6):690.
- Sargen MR, Hoffstad O, Margolis DJ. 2014. Warm, Humid, and High Sun Exposure Climates Are Associated with Poorly Controlled Eczema: PEER (Pediatric Eczema Elective Registry) Cohort, 2004–2012. *Journal of Investigative Dermatology*, 134 (1):51-57.
- Sato K, Kang WH, Saga K, Sato KT. 1989. Biology of sweat glands and their disorders. I. Normal sweat gland function. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 20 (4):537-563.
- Schaunig C, Kopera D. 2017. Silk textile with antimicrobial AEM5772/5 (Dermasilk): a pilot study with positive influence on acne vulgaris on the back. *International Journal of Dermatology*, 56 (5):589-591.
- Schittek B, Hipfel R, Sauer B, Bauer J, Kalbacher H, Stevanovic S, Schirle M, Schroeder K, Blin N, Meier F, Rassner G, Garbe C. 2001. Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nature Immunology*, 2 (12):1133-1137.
- Schlaud M, Atzpodien K, Thierfelder W. 2007. Allergische Erkrankungen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 50 (5):701-710.

- Schlesier K, Harwat M, Böhm V, Bitsch R. 2002. Assessment of Antioxidant Activity by Using Different In Vitro Methods. *Free Radical Research*, 36 (2):177-187.
- Schmalz G, Arenholt-Bindslev D. 2005. Biokompatibilität zahnärztlicher Werkstoffe: mit 55 Tabellen. Elsevier, Urban & Fischer Verlag.
- Schmitt J, Schmitt NM, Kirch W, Meurer M. 2009. [Significance of atopic dermatitis in outpatient medical care. Analysis of health care data from Saxony]. *Hautarzt*, 60 (4):320-327.
- Schönfelder U, Abel M, Wiegand C, Klemm D, Elsner P, Hipler UC. 2005. Influence of selected wound dressings on PMN elastase in chronic wound fluid and their antioxidative potential in vitro. *Biomaterials*, 26 (33):6664-6673.
- Schram ME, Tedja AM, Spijker R, Bos JD, Williams HC, Spuls PI. 2010. Is there a rural/urban gradient in the prevalence of eczema? A systematic review. *British Journal of Dermatology*, 162 (5):964-973.
- Schröter C, Hipler UC, Wilmer A, Künkel W, Wollina U. 2000. Generation of reactive oxygen species by *Candida albicans* in relation to morphogenesis. *Archives of Dermatological Research*, 292 (5):260-264.
- Schuelke M, Mayatepek E, Inter M, Becker M, Pfeiffer E, Speer A, Hübner C, Finckh B. 1999. Treatment of ataxia in isolated vitamin E deficiency caused by α -tocopherol transfer protein deficiency. *The Journal of Pediatrics*, 134 (2):240-244.
- Schwentker A, Vodovotz Y, Weller R, Billiar TR. 2002. Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? *Nitric Oxide*, 7 (1):1-10.
- Sener G, Sehirlı AÖ, Altunbas HZ, Ersoy Y, Paskaloglu K, Arbak S, Ayanoglu-Dulger G. 2002. Melatonin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Pineal Research*, 32 (4):231-236.
- Sevin BU, Peng ZL, Perras JP, Ganjei P, Penalver M, Averette HE. 1988. Application of an ATP-bioluminescence assay in human tumor chemosensitivity testing. *Gynecologic Oncology*, 31 (1):191-204.
- Shelmire JB. 1959. Some Interrelations Between Sebum, Sweat and the Skin Surface. *Journal of Investigative Dermatology*, 32 (3):471-472.
- Shindo Y, Witt E, Packer L. 1993. Antioxidant Defense Mechanisms in Murine Epidermis and Dermis and Their Responses to Ultraviolet Light. *Journal of Investigative Dermatology*, 100 (3):260-265.
- Shindo Y, Witt E, Han D, Epstein W, Packer L. 1994. Enzymic and Non-Enzymic Antioxidants in Epidermis and Dermis of Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 102 (1):122-124.
- Simon M, Green H. 1984. Participation of membrane-associated proteins in the formation of the cross-linked envelope of the keratinocyte. *Cell*, 36 (4):827-834.
- Simpson EL, Chalmers JR, Hanifin JM, Thomas KS, Cork MJ, McLean WHI, Brown SJ, Chen Z, Chen Y, Williams HC. 2014. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134 (4):818-823.
- Singer CA, Figueroa-Masot XA, Batchelor RH, Dorsa DM. 1999. The Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway Mediates Estrogen Neuroprotection after Glutamate Toxicity in Primary Cortical Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 19 (7):2455.
- Sivaranjani N, Rao SV, Rajeev G. 2013. Role of reactive oxygen species and antioxidants in atopic dermatitis. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 7 (12):2683.

- Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150 (1):76-85.
- Srour J, Berg E, Mahltig B, Smolik T, Wollenberg A. 2019. Evaluation of antimicrobial textiles for atopic dermatitis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 33 (2):384-390.
- Stoyanovsky DA, Osipov AN, Quinn PJ, Kagan VE. 1995. Ubiquinone-Dependent Recycling of Vitamin E Radicals by Superoxide. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 323 (2):343-351.
- Strömberg H-E, Ågren MS. 1984. Topical zinc oxide treatment improves arterial and venous leg ulcers. *British Journal of Dermatology*, 111 (4):461-468.
- Sugihara A, Sugiura K, Morita H, Ninagawa T, Tubouchi K, Tobe R, Izumiya M, Horio T, Abraham NG, Ikehara S. 2000. Promotive Effects of a Silk Film on Epidermal Recovery From Full-Thickness Skin Wounds (44552). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 225 (1):58-64.
- Sure B. 1924. Dietary requirements for reproduction. II. The existence of a specific vitamin for reproduction. *J BiolChem*, 58:693-709.
- Tamburic S, Knight J, Williams S, Reeves J, Gong X. 2010. In vitro assessment of antioxidant properties of cocoa extract in cosmetic formulations: comparison between analysis by emitted light (ABEL) and ORAC antioxidant capacity methods. *European Dermatology London, London*.
- Telang PS. 2013. Vitamin C in dermatology. *Indian dermatology online journal*, 4 (2):143.
- Thamm R, Poethko--Müller C, Hüther A, Thamm M. 2018. Allergische Erkrankungen bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland – Querschnittergebnisse aus KiGGS Welle 2 und Trends. *Journal of Health Monitoring* 3(3):03–18.
- Thiele JJ. 2001. Oxidative Targets in the Stratum corneum. *Skin Pharmacology and Physiology*, 14 (Suppl. 1):87-91.
- Thiele JJ, Dreher F, Packer L. 2002. Antioxidant defense systems in skin. *Journal of Toxicology: Cutaneous and Ocular Toxicology*, 21 (1-2):119-160.
- Thiele JJ, Schroeter C, Hsieh SN, Podda M, Packer L. 2001. The Antioxidant Network of the Stratum corneum. *Current Problems in Dermatology*, 29:26-42.
- Thiele JJ, Traber MG, Podda M, Tsang K, Cross CE, Packer L. 1997. Ozone depletes tocopherols and tocotrienols topically applied to murine skin. *FEBS Letters*, 401 (2-3):167-170.
- Torres T, Ferreira EO, Goncalo M, Mendes-Bastos P, Selores M, Filipe P. 2019. Update on Atopic Dermatitis. *Acta Med Port*, 32 (9):606-613.
- Tsakok T, Woolf R, Smith CH, Weidinger S, Flohr C. 2019. Atopic dermatitis: the skin barrier and beyond. *British Journal of Dermatology*, 180 (3):464-474.
- Tsourelis-Nikita E, Hercogova J, Lotti T, Menchini G. 2002. Evaluation of dietary intake of vitamin E in the treatment of atopic dermatitis: a study of the clinical course and evaluation of the immunoglobulin E serum levels. *International Journal of Dermatology*, 41 (3):146-150.
- Tsudoku T, Kuriyama K, Nakagawa K, Miyazawa T. 2013. Tocotrienol (unsaturated vitamin E) suppresses degranulation of mast cells and reduces allergic dermatitis in mice. *Journal of oleo science*, 62 (10):825-834.
- van Smeden J, Janssens M, Gooris GS, Bouwstra JA. 2014. The important role of stratum corneum lipids for the cutaneous barrier function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1841 (3):295-313.

- van Wyk CW, Olivier A, Maritz JS. 2001. Cultured pulp fibroblasts: are they suitable for in vitro cytotoxicity testing? *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 30 (3):168-177.
- Vocks E, Busch R, Fröhlich C, Borelli S, Mayer H, Ring J. 2001. Influence of weather and climate on subjective symptom intensity in atopic eczema. *International Journal of Biometeorology*, 45 (1):27-33.
- Weinstein SJ, Wright ME, Lawson KA, Snyder K, Mannisto S, Taylor PR, Virtamo J, Albanes D. 2007. Serum and dietary vitamin E in relation to prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16 (6):1253-1259.
- Wendt N. 2012. Untersuchungen zum Einfluss von Textilextrakten auf HaCaT-Keratinocyten. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Werfel T, Werner A, Frank A, Matthias A, Tilo B, Thomas D, Regina F-H, Uwe G, Annice H, Julia K, Alexander K, Alexander N, Katja N, Hagen O, Bernhard P, Martin R, Martin S, Peter S-G, Jochen S, Thomas S, Doris S, Margitta W. 2016. Leitlinie Neurodermitis [atopisches Ekzem; atopische Dermatitis]. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 14 (1):e1-e75.
- Weyermann J, Lochmann D, Zimmer A. 2005. A practical note on the use of cytotoxicity assays. *International Journal of Pharmaceutics*, 288 (2):369-376.
- Wiechelmann KJ, Braun RD, Fitzpatrick JD. 1988. Investigation of the bicinchoninic acid protein assay: Identification of the groups responsible for color formation. *Analytical Biochemistry*, 175 (1):231-237.
- Wiegand C, Hipler UC. 2008. Methods for the measurement of cell and tissue compatibility including tissue regeneration processes. *GMS Krankenhhyg Interdiszip*, 3 (1):Doc12.
- Wiegand C, Hipler UC, Boldt S, Strehle J, Wollina U. 2013. Skin-protective effects of a zinc oxide-functionalized textile and its relevance for atopic dermatitis. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 6:115-121.
- Williams H, Robertson C, Stewart A, Ait-Khaled N, Anabwani G, Anderson R, Asher I, Beasley R, Björkstén B, Burr M, Clayton T, Crane J, Ellwood P, Keil U, Lai C, Mallol J, Martinez F, Mitchell E, Montefort S, Pearce N, Shah J, Sibbald B, Strachan D, von Mutius E, Weiland SK. 1999. Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the international study of asthma and allergies in childhood. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 103 (1):125-138.
- Williams HC, Burney PGJ, Strachan D, Hay RJ, Party ADDCW. 1994. The U.K. Working Party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis II. Observer variation of clinical diagnosis and signs of atopic dermatitis. *British Journal of Dermatology*, 131 (3):397-405.
- Williams JR, Burr ML, Williams HC. 2004. Factors influencing atopic dermatitis - A questionnaire survey of schoolchildren's perceptions. *British Journal of Dermatology*, 150 (6):1154-1161.
- Wiseman H, Halliwell B. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical Journal*, 313 (1):17-29.
- Witztum JL, Steinberg D. 1991. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 88 (6):1785-1792.
- Wollenberg A, Barbarot S, Bieber T, Christen-Zaech S, Deleuran M, Fink-Wagner A, Gieler U, Girolomoni G, Lau S, Muraro A, Czarnecka-Operacz M, Schäfer T, Schmid-Grendelmeier P, Simon D, Szalai Z, Szepietowski JC, Taïeb A, Torrelo A, Werfel T, Ring J, the European Dermatology Forum tEAoD, Venereology

- tEAoA, Clinical Immunology tETFoAD, European Federation of Allergy, Airways Diseases Patients' Associations tESfD, Psychiatry tESoPD, Global Allergy, Network AE, Specialists tEUoM. 2018. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32 (5):657-682.
- Yamazaki Y, Nakamura Y, Núñez G. 2017. Role of the microbiota in skin immunity and atopic dermatitis. *Allergology International*, 66 (4):539-544.
- Yesilsoy C, Feigal RJ. 1985. Effects of endodontic materials on cell viability across standard pore size filters. *Journal of Endodontics*, 11 (9):401-407.
- Yosipovitch G, DeVore A, Dawn A. 2007. Obesity and the skin: Skin physiology and skin manifestations of obesity. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 56 (6):901-916.
- Yosipovitch G, Goon A, Wee J, Chan Y, Zucker I, Goh C. 2002. Itch characteristics in Chinese patients with atopic dermatitis using a new questionnaire for the assessment of pruritus. *International journal of dermatology*, 41 (4):212-216.
- Zhang A, Silverberg JI. 2015. Association of atopic dermatitis with being overweight and obese: A systematic review and metaanalysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 72 (4):606-616.e604.
- Zikeli S. 2006. Production Process of a New Cellulosic Fiber with Antimicrobial Properties. *Current Problems in Dermatology*, 33:110-126.
- Zuccotti G, Meneghin F, Aceti A, Barone G, Callegari ML, Di Mauro A, Fantini MP, Gori D, Indrio F, Maggio L, Morelli L, Corvaglia L, Neonatology tIso. 2015. Probiotics for prevention of atopic diseases in infants: systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 70 (11):1356-1371.

8 Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Aufbau der menschlichen Haut https://www.doccheck.com/de/detail/photos/4558-aufbau-der-menschlichen-haut-schema (abgerufen am 11.02.2022).....	3
Abbildung 2 Strukturformeln für Tocopherole und Tocotrienole mit den Resten R ^{1,2,3} (Rimbach et al. 2010)	5
Abbildung 3 Synergistisches antioxidatives Netzwerk mit Vitamin E, Vitamin C und dem Thiol-Redox-Kreislauf. PUFA: polyunsaturated fatty acid/mehrfach ungesättigte Fettsäure; ROOH: Lipidperoxid; ROH: Alkohol; ROO•: Peroxylradikal; RO•:Alkoxyradikal; O ₂ ••:Superoxidationradikal; NAD(P)H: Nicotinamideadeninedinukleotide(phosphat) (Rimbach et al. 2010).....	7
Abbildung 4 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn weiß 0100; Material: 4xNM 55/1 Lyocell/ELS; Beschreibung: 100 % Funktionsfasergarn und davon 20 % Vitamin E-Faser V2637	27

Abbildung 5 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn rot 0173; Material: 3xNm 55/1 Lyocell/ELS 1xNm 60/1 Bw; Beschreibung: ca. 75 % Funktionsfasergarn und davon 15 % Vitamin E-Faser V2637	27
Abbildung 6 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn grün 0168; Material: 2xNm 55/1 Lyocell/ELS 2xNm 60/1 Bw; Beschreibung: ca. 50 % Funktionsfasergarn und davon 10 % Vitamin E-Faser V2637	28
Abbildung 7 Strickschlauch aus Funktionsfasergarn blau 0145; Material: 1xNm 55/1 Lyocell/ELS 3xNm 60/1 Bw; Beschreibung: ca. 30 % Funktionsfasergarn und davon 6 % Vitamin E-Faser V2637	28
Abbildung 8 Strickschlauch aus Baumwollgarn gelb 0181; Material: 4xNm 60/1 Bw; Beschreibung: 100 % Baumwollgarn als Nullprobe	29
Abbildung 9 Beispiel für eine ATP-Zellstandardkurve von einer Biokompatibilitätsuntersuchung des Funktionsfasergarntextilextrakts weiß mit $R^{2*} = 0,999$, $y = 0,6511x - 465,6$	34
Abbildung 10 Standardkurve mit BSA (Konzentration 300 µg/mL) aus BC Assay zur Berechnung der Proteinkonzentration. Eine Standardkurve der Biokompatibilitätsuntersuchung des Funktionsfasergarntextilextrakts weiß mit $R^{2*} = 0,996$, $y = 2,97x + 28,93$ wurde hier dargestellt.	39
Abbildung 11 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die ATP-Messung der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$	50
Abbildung 12 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. ATP-Messung der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$	51
Abbildung 13 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakts gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und	

Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Bestimmung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen.....	52
Abbildung 14 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Bestimmung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen.....	53
Abbildung 15 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima im FLUOstar.....	54
Abbildung 16 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima im FLUOstar.....	55
Abbildung 17 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des ATP-Gehalts der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$	56
Abbildung 18 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des ATP-Gehalts der HaCaT-Keratinocyten erfolgte mittels ATPLite™-M Test Kit von Perkin Elmer im LUMIstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$	57
Abbildung 19 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-	

Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen; (***) $p \leq 0,001$	58
Abbildung 20 Biokompatibilität des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) auf die HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Messung des LDH-Gehalts erfolgte mit dem CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay von Promega und wurde mit dem FLUOstar gemessen. (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$	59
Abbildung 21 Biokompatibilitätsuntersuchung des 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) mit HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima und wurde mit dem FLUOstar gemessen.	60
Abbildung 22 Biokompatibilitätsuntersuchung des 72 h-Funktionsfasergarntextilextrakts weiß (0,02 g/mL, steril) mit HaCaT-Keratinocyten mit Mittelwerten und Standardabweichungen nach 1 h, 24 h und 48 h Inkubation. Die Proteinbestimmung erfolgte mit dem BC Assay von Uptima und wurde mit dem FLUOstar gemessen. (***) $p \leq 0,001$, (*) $p \leq 0,05$	61
Abbildung 23 Inhibition der RNS-Bildung in % mit den ausgestanzten Textilproben Lyocell, Baumwolle gelb 0181 und Funktionsfasergarn blau 0145; PK: Pholasin®-Kontrolle; Die Textilproben wurden mit Hilfe von Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt. Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$	63
Abbildung 24 Inhibition der RNS-Bildung in % mit den ausgestanzten Textilproben Funktionsfasergarn grün 0166, rot 0173 und weiß 0100; PK: Pholasin®-Kontrolle; Die Textilproben wurden mit Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt. Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$	64
Abbildung 25 Inhibition der RNS-Bildung in % mit ausgestanzten Textilproben Baumwolle gelb 0181 und Funktionsfasergarn grün 0166, rot 0173 und weiß 0100.	

PK: Pholasin®-Kontrolle; Die Textilproben wurden mit Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt und vor der Messung für eine Stunde in R&A-Puffer eingeweicht. Die eingeweichten Proben wurden vor der Untersuchung in eine neue MTP überführt. Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$ 65

Abbildung 26 Inhibition der RNS-Bildung in %; VEA: Vitamin E Analogon; sSL: saure Schweißlösung; bSL: basische Schweißlösung; VEA gelöst in R&A-Puffer (=blau, Mittelwert Standard), sSL, bSL und Ethanol 70%; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar. 66

Abbildung 27 Inhibition der RNS-Bildung in % mit der sauren Schweißlösung als Probe 1-8 in absteigenden Konzentrationen; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$ 67

Abbildung 28 Inhibition der RNS-Bildung in % in saurer Schweißlösung mit den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) und Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril); PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$ 68

Abbildung 29 Inhibition der RNS-Bildung in % mit der basischen Schweißlösung (bSL) als Probe 1-8 in absteigenden Konzentrationen; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$ 69

Abbildung 30 Inhibition der RNS-Bildung in % mit 24 h-Textilextrakten in basischer Schweißlösung mit den Verdünnungen: 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril); Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril); Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$ 70

Abbildung 31 Inhibition der RNS-Bildung in % in R&A-Puffer mit den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL) und

Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL); **ohne** Autoklavieren; nur mit Minisartfilter sterilfiltriert; PK: Pholasin[®]-Kontrolle mit Filter sterilfiltriert; Blutagarkontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$ 71

Abbildung 32 Inhibition der ROS-Bildung in % mit den ausgestanzten Textilproben: Lyocell, Baumwolle gelb 0181, Funktionsfasergarn blau 0145, grün 0166, rot 0173 und weiß 0100. Die Textilproben wurden mit Stanzen mit einem Durchmesser von jeweils 5 und 8 mm ausgestanzt. PK: Pholasin[®]-Kontrolle; Quantifikation mit ABEL[®] Antioxidant Test Kit mit Pholasin[®] für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (***) $p \leq 0,001$, (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$ 72

Abbildung 33 Inhibition der ROS-Bildung in % mit saurer und basischer Schweißlösung (SL) in absteigenden Konzentrationen; PK: Pholasin[®]-Kontrolle; P: R&A-Puffer; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (**) $p \leq 0,01$, (*) $p \leq 0,05$ 73

Abbildung 34 ROS-Inhibition in %; Bw sSL/bSL: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,02 g/mL, steril) in sSL/bSL; Fktg sSL/bSL: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,02 g/mL, steril) in sSL/bSL; sSL: saure Schweißlösung, bSL: basische Schweißlösung; PK: Pholasin[®]-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (*) $p \leq 0,05$ 74

Abbildung 35 Inhibition der ROS-Bildung in % mit Bw sSL/bSL: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in sSL/bSL (0,2 g/mL, steril); Fktg sSL/bSL: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß in sSL/bSL (0,2 g/mL, steril); Verdünnungen 1:200, 1:20 und 1:2; sSL: saure Schweißlösung, bSL: basische Schweißlösung; PK: Pholasin[®]-Kontrolle; Quantifizierung mit dem ABEL[®] Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; (*) $p \leq 0,05$ 75

Abbildung 36 Inhibition der ROS-Bildung in % mit Ethanol 70 % in absteigenden Konzentrationen P1-P8: Ethanol 70 % in entsprechenden Konzentrationen siehe Tabelle 23; Pipettierschema: siehe Tabelle 19; PK: Pholasin[®]-Kontrolle; Quantifikation

mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar..... 76

Abbildung 37 Inhibition der ROS-Bildung in %; Bw gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL, steril) in Ethanol 70 %; Fktg weiß: Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL, steril) in Ethanol 70 % mit den Verdünnungen 1:200, 1:20 und 1:2; PK: Pholasin®-Kontrolle; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar. 77

Abbildung 38 Inhibition der ROS-Bildung in % in R&A-Puffer mit den Verdünnungen 1:100, 1:10, 1:2 und 1:1; Probe 1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb (0,2 g/mL); Probe 2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß (0,2 g/mL); **ohne** Autoklavieren; nur mit Minisartfilter sterilfiltriert; Quantifizierung mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited im NOVOstar; Blutagarkontrolle der Proben 1 und 2; (**) $p \leq 0,01$ 78

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Diagnosekriterien der AD nach der Konsensuskonferenz der American Academy of Dermatology 11

Tabelle 2 Behandlungsempfehlungen für die Atopische Dermatitis bei Erwachsenen und Kindern nach den konsensusbasierten europäischen Richtlinien; mögliche Superinfektionen sind mit Antibiotika/Antiseptika zu behandeln. Informationen zu Kontraindikationen in der Packungsbeilage¹, zugelassene Indikationen², Off-Label-Medikamente³ (Wollenberg et al. 2018)..... 14

Tabelle 3 Übersicht über die verschiedenen Teile der DIN EN ISO-10993 18

Tabelle 4 Übersicht über die für die Untersuchungen zur Verfügung gestellten Strickschläuche 29

Tabelle 5 verwendete Textilextraktkonzentrationen von Baumwolle gelb und Funktionsfasergarn weiß für die Biokompatibilitätsuntersuchungen; Einheit: g/mL; Pipettierlayout siehe Tabelle 6..... 30

Tabelle 6	Layout des verwendeten Pipettierschemas für die Biokompatibilitätsuntersuchungen mit HaCaT-Keratinocyten; rot = 24 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; blau = 72 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; M* = Low-Kontrolle besteht aus unbehandelten Keratinocyten + Medium DMEM; lila M* (Spalte 12, Zeile G und H) = Backgroundkontrolle besteht aus reinem DMEM; PK* in Spalte 3 = Positivkontrolle besteht aus 0,1 % Triton® X-100 Lösung + Keratinocyten + Medium; grüne PK* (Spalte 11, Zeile F, G und H) = Positivkontrolle/High Kontrolle besteht aus 10 % Triton® X-100 Lösung + Keratinocyten + Zellmedium; BLK % = Substanzkontrolle I besteht aus entsprechendem reinem 24 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; BLK % = Substanzkontrolle I besteht aus entsprechendem reinem 72 h-Textilextrakt in unterschiedlichen Konzentrationen; Spalte 1 und 2 wurden für die jeweiligen mitgeführten Standardkurven verwendet. Die jeweiligen Standardkurven wurden in Doppelbestimmung mit aufsteigenden Konzentrationen von A nach H pipettiert.	32
Tabelle 7	Herstellung der Standardkurve für die Messung des ATP-Gehalts.....	34
Tabelle 8	Herstellung der Standardproteinkurve abgeleitet vom Enhanced Protokoll für die Proteinbestimmung mit dem BC Assay von Uptima	38
Tabelle 9	Layout für Untersuchung auf RNS-Inhibition mit herausgestanzten Textilproben P1: Lyocell, P2: Baumwolle gelb 0181, P3: Funktionsfasergarn blau 0145; Durchmesser der jeweiligen ausgestanzten Textilprobe: 5 mm bzw. 8 mm S1-4: jeweiliger Standard (Tabelle 10); Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: Substanzblank der jeweiligen Textilprobe. Diese Untersuchung wurde in einer weiteren MTP mit den Textilproben P1: Funktionsfasergarn grün 0168, P2: Funktionsfasergarn rot 0173 und P3: Funktionsfasergarn weiß 0100 untersucht. Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited.....	40
Tabelle 10	Übersicht über entsprechenden Volumina R&A-Puffer und VEA für die VEA-Standardkurve zur Bestimmung der RNS aus dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited.....	41
Tabelle 11	Layout für die Untersuchung auf RNS-Inhibition in % mit P1: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb;	

P2: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß; S1-4: jeweiliger Standard (Tabelle 10); Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Textilprobe; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited.....	42
Tabelle 12 Layout für Untersuchungen auf ROS-Inhibition mit Stoffproben P1: Lyocell, P2: Baumwolle gelb 0181, P3: Funktionsfasergarn blau 0145, P4: Funktionsfasergarn grün 0168, P5: Funktionsfasergarn rot 0173, P6: Funktionsfasergarn weiß 0100; Durchmesser der jeweiligen ausgestanzten Textilprobe: 5 mm bzw. 8 mm; Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Textilprobe; S1-S4: Standardkurve in Dreifachbestimmung (Tabelle 13); Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited. ...	43
Tabelle 13 Übersicht über die entsprechenden Volumina R&A-Puffer und L- Ascorbinsäure-Standardlösung (LA) zur Bestimmung der ROS aus dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited.....	43
Tabelle 14 Verdünnungen der sauren Schweißlösung (P1-P8) mit R&A-Puffer zur Bestimmung der RNS-Inhibition in % mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited; die Verdünnungen für die basische Schweißlösung (bSL) waren äquivalent. Die Plattenbelegung erfolgte wie in Tabelle 16.	45
Tabelle 15 Für die Proben P5-P8 wurden Stammlösungen in den Konzentrationen 1:2, 1:10, 1:100 und 1:1000 in den entsprechenden Schweißlösungen hergestellt. Die basische Schweißlösung wurde wie die saure Schweißlösung verdünnt und in einem unabhängigen Ansatz gemessen.	45
Tabelle 16 Plattenbelegung für die saure Schweißlösung mit R&A-Puffer zur Bestimmung der RNS-Inhibition in % mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Peroxynitrit von Knight Scientific Limited. Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Schweißlösung; S1- S4: Standardkurve in Dreifachbestimmung (Tabelle 10). Die Plattenbelegung für die basische Schweißlösung (bSL) war äquivalent.	45

Tabelle 17 Verdünnungen der Schweißlösungen (SL) mit R&A-Puffer zur Bestimmung der ROS-Inhibition in %; P1-P8: saure Schweißlösung in entsprechender Verdünnung; P9-P16: basische Schweißlösung (bSL) in entsprechender Verdünnung; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited.	46
Tabelle 18 Für die Proben P5-P8 und P13-P16 wurden Stammlösungen in den Konzentrationen 1:2, 1:10, 1:100 und 1:1000 in den entsprechenden Schweißlösungen hergestellt; P5-P8: sSL in entsprechender Verdünnung; P13-P16: bSL in entsprechender Verdünnung	46
Tabelle 19 Plattenbelegung für die Schweißlösungen (sSL und bSL) mit R&A-Puffer zur Bestimmung der ROS-Inhibition in % mit dem ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited; P1-P8: sSL in entsprechender Verdünnung; P9-P16: bSL in entsprechender Verdünnung; Blank: R&A-Puffer; PK: Pholasin®-Kontrolle; SB: spezifischer Blank der jeweiligen Schweißlösung; S1-S4: Standardkurve in Dreifachbestimmung (Tabelle 13).	46
Tabelle 20 Probenbezeichnung für ROS-Untersuchung; sExt/bExt gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in saurer/basischer Schweißlösung; sExt/bExt weiß: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß in saurerer/basischer Schweißlösung; je 10µl P1-P5 und P7-P11 werden aus einer 1:2 Verdünnung mit R&A-Puffer siehe Tabelle 22 nach Herstellung einer Vorverdünnung siehe Tabelle 21 in die MTP pipettiert; Pipettierschema siehe Tabelle 19.	47
Tabelle 21 Herstellung von Vorverdünnungen mit sSL: saurer Schweißlösung P1-6; bSL: basischer Schweißlösung P 7-12 der P 1-3 und P 7-9 sExt/bExt gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in sSL/bSL; P 4-6 und P 10-12 sExt/bExt weiß: 24 h-Funktionsfasergarntextilextrakt weiß in sSL/bSL	47
Tabelle 22 Aus den Vorverdünnungen von Tabelle 21 wurden die Proben für die 1:2 Verdünnung mit R&A-Puffer hergestellt, welche für die ROS-Untersuchung benötigt wurden. sSL: saure Schweißlösung; bSL: basische Schweißlösung; P 1-3 und P 7-9 sExt/bExt gelb: 24 h-Baumwollgarntextilextrakt gelb in sSL/bSL; P4-6 und P 10-12 sExt/bExt weiß: 24 h-Funktionsgarntextilextrakt weiß in sSL/bSL	47

Tabelle 23 Verdünnungen Ethanol 70 % mit R&A-Puffer zur Bestimmung der ROS-Inhibition in %; P1-P8: Ethanol 70 % in entsprechender Verdünnung; Pipettierschema wie in Tabelle 19; Quantifikation mit ABEL® Antioxidant Test Kit mit Pholasin® für Superoxid und andere freie Radikale von Knight Scientific Limited. ... 48

Tabelle 24 Für die Proben P5-P8 wurden Stammlösungen in den Konzentrationen 1:2, 1:10, 1:100 und 1:1000 in Ethanol-Verdünnungen hergestellt..... 48

8.3 Danksagung

Besonderer Dank gilt Frau PD Dr. rer. nat. et med. habil. Uta-Christina Hipler, Leiterin des Kliniklabors der Klinik für Hautkrankheiten des Universitätsklinikums Jena, für die Vergabe des Themas und die Betreuung der Arbeit.

Auch möchte ich mich bei Frau Dr. rer. nat. Cornelia Wiegand, stellv. Leiterin des Kliniklabors für Hautkrankheiten des Universitätsklinikums Jena, für die Betreuung der Arbeit sowie bei Frau Doreen Winter und Frau Peggy Gasch für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche danken.

8.4 Ehrenwörtliche Erklärung

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

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

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Frau PD Dr. rer. nat. et med. habil. Uta-Christina Hipler, Frau Dr. rer. nat. Cornelia Wiegand,

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

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

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

Ulm, 15.02.2022

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers