

Derinin Yapısının Aydınlatılması ve Geçirgenliğinin Değerlendirilmesinde Kullanılan Biyofiziksel Yöntemler

Biophysical Methods Used to Assess the Structure and the Permeability of Skin

Sevgi GÜNGÖR,^a
M. Sedef ERDAL,^a
Deniz ÖZDİN^a

^aFarmasötik Teknoloji AD,
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 19.07.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 10.12.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Sevgi GÜNGÖR
İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Teknoloji AD, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
sgungor@istanbul.edu.tr

ÖZET İnsan derisi, organizmayı çevresel faktörlere karşı koruyan ve aynı zamanda organizmadan sıcaklık ve su kaybını da düzenleyen önemli bir organdır. Geniş yüzey alanına sahip olması ve uygulamanın kolaylığı deriyi, gerek lokal gerekse sistemik etki elde etmek üzere ilaç uygulama açısından ideal kılmaktadır. Ancak, insan derisinin en dış tabakası olan stratum corneum, organizmayı korumak üzere mükemmel bir biçimde düzenlenmiştir ve yüksek derecede bariyer özelliğine sahiptir. Yapısal olarak tuğlalar ile örülmüş bir duvara benzetilen stratum corneum'da seramidler, kolesterol ve serbest yağ asitlerinden oluşan hücreler arası lipidler yapı ve bileşimleri bakımından çok özeldir. Derinin yapısının aydınlatılması ve bariyer işlevini üstlenmiş olan stratum corneum'un, özelliklerinin tanımlanması, derinin bakımı ve tedavisine yönelik yeni formülasyonların geliştirilmesi ve deriden ilaç moleküllerinin geçişinin incelenmesi açısından önem taşımaktadır. Deri üzerinden gerçekleşen su kaybı, derinin hidrasyon seviyesi, yüzey lipidlerinin miktarı, mekanik ve yüzey özellikleri ile epidermal lipidlerin yapısal düzeni parametrelerinin in vivo, ex vivo ve in vitro olarak incelenmesi amacıyla çeşitli biyofiziksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, dermatoloji, farmasötik teknoloji ve kozmetoloji alanlarında derinin bariyer işlevinin değerlendirilmesinde ve derinin yapısal özelliklerinin aydınlatılmasında yararlanılan biyofiziksel yöntemlerden en çok kullanılanları ele alınmış ve araştırma örnekleri sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Deri emilimi; epidermis; spektroskopi, fourier transform kızılötesi; su kaybı, fark edilemeyen

ABSTRACT Human skin is a well engineered organ that protects organism against environmental factors and regulates heat and water loss from the body. It has a large surface area and it is easily accessible. Therefore, it offers an ideal application site to deliver therapeutic agents for both local and systemic actions. However, the outermost layer of skin, the stratum corneum, is a highly efficient and well organized barrier. Stratum corneum has been represented as a brick and mortar model and the unique mixture of its intercellular lipids composed mainly of ceramides, cholesterol and free fatty acids. Understanding of the structure and function of the skin and stratum corneum is vital to develop novel formulations designed for care and treatment of skin and to evaluate permeation of drug molecules through it. Parameters such as transepidermal water loss, hydration state and amount of surface lipids of stratum corneum, mechanical and surface properties of skin, and conformational order of intercellular lipids have been investigated in vivo, ex vivo and in vitro by using various biophysical methods. The purpose of this review is to provide an overview of the use of biophysical methods mostly used to assess the barrier function and structural parameters of skin in the fields of dermatology, pharmaceutical technology and cosmetology.

Key Words: Skin absorption; epidermis; spectroscopy, fourier transform infrared; water loss, insensible

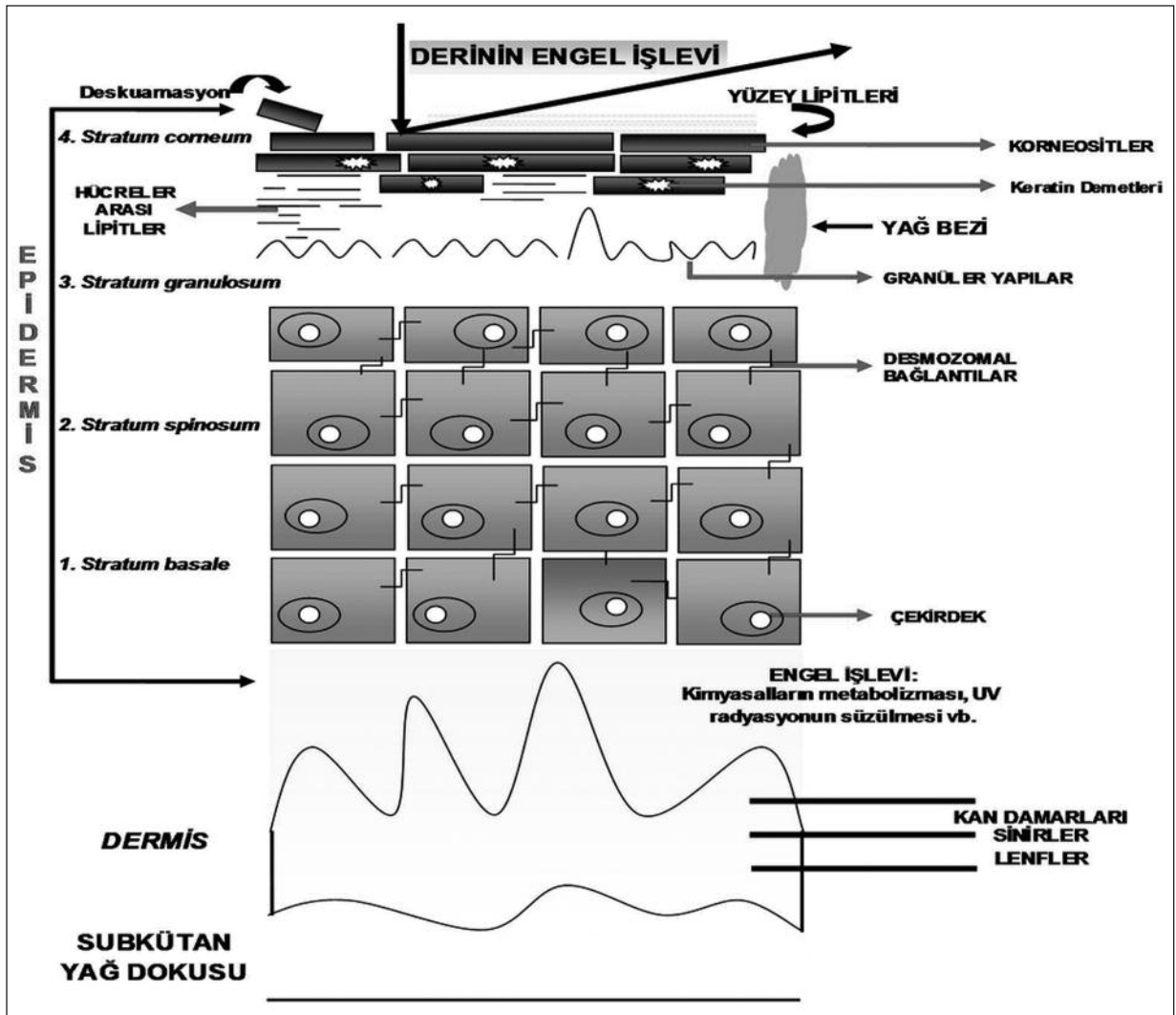
İnsan derisi, dış çevredeki zararlı kimyasal bileşikler ile mikroorganizmaların organizmaya girişini engellerken, aynı zamanda organizmanın sıcaklık ve su kaybını da düzenleyen bir organdır. Deri, kişinin vücut kütlelerinin ortalama %10'unu oluşturur. Yaklaşık 1.7 m² olan geniş yüzey alanı ve kolay erişilebilir olması deriyi, gerek lokal gerekse sistemik etki elde etmek üzere ilaç uygulama açısından ideal kılar. Ancak, insan derisi organizma dışındakini dışarıda, organizma içindakini içeride tutmak üzere mükemmel bir şekilde organize edilmiş morfolojik bir yapıya ve kendini yenileyen yüksek derecede bariyer özelliğine sahiptir (Şekil 1).^{1,2}

Deri histolojik olarak 3 ana tabakadan oluşur:^{2,3}

1. *Epidermis*: Göz kapaklarında 0.06 mm'den topuk ve avuç içlerinde 0.8 mm'ye kadar değişebilen kalınlıkta, düzenli olarak kendini yenileyen, kan damarları içermeyen ve dışta yer alan tabakadır.

2. *Dermis*: Deriye mekanik destek sağlayan bileşenleri, mukopolisakkarid yapısında bir jele gömülü halde içermektedir.

3. *Hipodermis*: *Dermis* ile vücut bileşenleri arasında bir köprü gibi görev yapan ve en altta yer alan yağ tabakasıdır.



ŞEKİL 1: Derinin şematik gösterimi.

Stratum corneum (horny layer, boynuzsu tabaka, SC) epiderminin en dış tabakasıdır. *Stratum compactum* (korneositlerin daha sıkı bir arada bulunduğu alt kısım) ve *stratum disjunctum* (korneositlerin gevşek ve daha seyrek bir dizilim gösterdiği üst kısım) olarak iki ayrı tabakada incelenebilmektedir.⁴

SC, basit bir tanımlama ile hücreler arası lipidlerin çevrelediği keratin dolu ölü hücreler olan korneositlerden oluşmaktadır. SC yapısal olarak, tuğlalar ile örülmüş bir duvara benzetilmektedir. Keratin hücreleri bir duvarın örülmesinde kullanılan tuğlalar ve keratin hücreleri arasındaki hücreler arası lipid matriksi de tuğlalar arasındaki harç tabakası olarak tanımlanmaktadır.² Seramidler, kolesterol ve serbest yağ asitlerinden oluşan hücreler arası lipidler, yapı ve bileşimleri bakımından çok özeldir. Özellikle, SC hücreler arası lipidlerinin tabakalı düzeni ve polimorfizmi ile derinin bariyer işlevi arasında doğrudan ilişki bulunmaktadır.⁵

İnsan derisinin yapısının aydınlatılması, özellikle de derinin bariyer işlevini üstlenmiş olan SC'nin çeşitli özelliklerinin tanımlanması ve topikal uygulanan ürünlerle epidermal biyokimya arasındaki etkileşimlerin daha iyi anlaşılması, gerek derinin bakım ve tedavisine yönelik formülasyonların geliştirilmesi gerekse deriden ilaç moleküllerinin geçişinin incelenmesi açısından oldukça önemlidir.⁶

Deri üzerinden gerçekleşen su kaybı, derinin hidrasyon seviyesi ve yüzey lipidlerinin miktarı, derinin mekanik ve yüzey özellikleri, epidermal lipidlerin yapısal düzeni parametrelerinin, *in vivo*, *ex vivo* ve *in vitro* olarak incelenmesi, deriye topikal ve transdermal yol ile uygulanan ürünlerin etkinliğinin kanıtlanması amacıyla çeşitli biyofiziksel yöntemler kullanılmaktadır.⁷

Biyofiziksel yöntemler kullanılarak yapılan değerlendirmelerde sağlıklı veriler alınabilmesi için Avrupa Kontakt Dermatit Birliği Standardizasyon Grubu Kılavuzunda belirtilmiş olan; bireye, çevreye ve cihazlara bağlı değişkenler göz önüne alınmalı ve ölçümlerde belirli koşullara dikkat edilmelidir.^{7,8}

■ Deneilerin gerçekleştirildiği laboratuvar ortamında şartlandırılmış hava koşulları bulunmalı-

dır. Sabit sıcaklık (20-22 °C) ve sabit nem (%40-60 bağıl nem) koşulu sağlanmalıdır.

■ *İn vivo* deneylerde, denekler ölçümlerden en az 15 dakika önce analizin gerçekleştirileceği odada bulunmalı ve analiz süresince odadan dışarı çıkmamalıdır. Bu şekilde ölçümleri etkileyebilecek kısa süreli koşulların etkisi en aza indirilebilmektedir.

■ Topikal uygulanan ürünlerin deri üzerindeki etkilerinin ölçülmesinde en uygun vücut bölgesi seçilmelidir. Genellikle kolun ön yüzeyinin kullanılması uygundur.

■ Ölçümü yapan kişinin deneyimli olması aranan bir özelliktir.

Bu derlemede, dermatoloji, farmasötik teknoloji ve kozmetoloji alanlarında derinin bariyer işlevinin değerlendirilmesinde ve derinin yapısal özelliklerinin aydınlatılmasında yararlanılan biyofiziksel yöntemlerden en sık kullanılanları ele almıştır.

■ DERİ ÜZERİNDEN GERÇEKLEŞEN SU KAYBININ (TransEpidermal Su Kaybı, TransEpidermal Water Loss, TEWL) İZLENMESİ

Derinin yapısı, bütünlüğü ve bariyer işlevinin incelenmesinde kullanılan girişimsel olmayan (non-invaziv) biyofiziksel yöntemlerin başında transepidermal su kaybı [Transepidermal water loss, (TEWL)] ölçümleri gelmektedir.⁹⁻¹¹

SC daki suyun %25-35'i bağıl su olarak bulunmaktadır. Serbest su ise, dokularda polar elektrolitler için çözücü olarak rol almaktadır. SC yapısında yer alan ve "Natural Moisturizing Factor (NMF)" olarak bilinen doğal nemlendirici faktör bileşiminde serbest aminoasitler, aminoasit türevleri ve tuzlar bulunmaktadır.¹² Bu higroskopik karışım suyun SC'de kalmasını sağlayarak deriye esneklik kazandırır. Ayrıca korneositlerdeki keratinden zengin yapılar fonksiyonel grup olarak -OH ve -COOH grupları içerir ve bu gruplar da suyun dokuda bağlı kalmasını sağlar.^{2,13} Deri altındaki su, pasif difüzyon esasıyla SC'den geçer ve deri yüzeyinden su buharı olarak kaybedilir. Her gün deri üzerinden yaklaşık olarak 3-6 g/sa/m² su buharlaş-

maktadır (*perspirato insensibilis*). Bant ile soyma tekniği (tape stripping) ile SC tamamen uzaklaştırıldığında ise bu değer 70 g/sa/m²'ye çıkmaktadır.¹⁴

Deriden kaybedilen toplam su miktarını ifade eden TEWL; SC'nin bütünlüğü ve sağlığının bir göstergesi olarak kabul edilir. Derinin bariyer işlevi bozulduğunda veya bütünlüğünü kaybettiğinde, TEWL artar. Bu artış sonrası epidermin alt tabakalarına sinyaller aracılığı ile haber verilerek hücreler arası lipidlerin yenilenmesi ve bariyer işlevinin tamiri sağlanır. TEWL'nin izlenmesi ile tamir yanıtının ne kadar sürdüğü saptanabilir ve hassas farklılıklar bile TEWL'nin ölçülmesi ile saptanabilir.^{15,16} Birçok deri hastalığına TEWL artışının eşlik ettiği belirlenmiştir.¹⁷⁻²¹

TEWL'yi etkileyen bir dizi bireysel faktör bulunmaktadır (Tablo 1).^{22,23} Yapılan çalışmalar TEWL ölçüm sonuçlarının *in vitro* ve *in vivo* koşullarda tekrarlanabilir olduğunu göstermektedir. TEWL ölçümlerinde Evaporimetre (Evaporimeter®), Vapometre (VapoMeter®), Tewa-Metre (TEWA-Meter®), DermaLab® ve Biox AquaFlux olarak bilinen ticari cihazlar kullanılmaktadır. TEWL değeri, g. m⁻².h⁻¹ birimi ile ifade edilmektedir.^{23,24}

Ölçümlerde kullanılan bu cihazlarda kapalı oda (closed chamber, VapoMeter®) ve açık oda (open chamber, TewaMeter®, DermaLab®) olmak üzere iki farklı sistem kullanılmaktadır. Kapalı oda sistemi havalandırılan odalı (ventilated chamber), havalandırılmayan odalı (unventilated chamber) ve

kondenzatörlü (condenser chamber, Biox AquaFlux) olmak üzere üç farklı tiptedir.²⁵

Kapalı oda yöntemi ile yapılan ölçümler, kapalı hava odasındaki bağıl nem artışına dayanır. Arka arkaya yapılan ölçümlerden sonra su buharının birikmesi bu sistemlerde karşılaşılan en önemli sorundur. Ayrıca, deride oklüzyona da yol açabilmektedir. Bu nedenle geliştirilen yeni bir yaklaşım kapalı ölçüm odacığında biriken su buharının uzaklaştırılması için bir kondenzatör kullanılmasıdır. Kondenzatör suyun donma noktasının altındaki dereceye (-7.65 °C) soğutulmuştur, su buharını tutarak yeni ölçüme başlama zamanını kısaltır.²⁶

Havalandırılan oda sistemlerinde, oda boyunca kuru ya da nemlendirilmiş gaz geçişi vardır. Ölçümler arasında en az 20 saniye beklenmesi cihazın şartlanması için gereklidir. Bunun nedeni, oda içinde ve dışındaki bağıl nem ve sıcaklığın dengelenmesi gerekliliğidir.²⁷

Açık oda sistemlerde, iki adet nem sensörü vardır ve ölçüm Fick Difüzyon Yasası na dayanmaktadır.²⁸ Termo- ve hidro- sensörlerinden gelen veriyi, içinde yer alan bir mikroprosesör aracılığı ile numerik değere çevirmektedir.²⁵

Farklı formülasyonların uygulanması sonrasındaki TEWL farklılıklarının saptanmasında kondenzatörlü sistemlerin en hassas olduğu, bütün ölçümlerde yöntem validasyonu ve standardizasyonu yapılmasının gerektiği bildirilmiştir.²⁸

Topikal uygulanan formülasyonlarda yer alan ilaçların deriden emilimi ile biyoyararlanımı ve bi-

TABLO 1: Transepidermal su kaybı (TEWL)'ni etkileyen bireysel faktörler.

Yaş	Bireylerde başlangıç TEWL değeri (baseline TEWL) yaş ilerledikçe azalmaktadır. Prematüre bebeklerde ise ilk haftalarda en fazladır
Cinsiyet	TEWL üzerine belirgin bir etkisi saptanmamıştır
İrk	TEWL üzerine belirgin bir etkisi saptanmamıştır
Anatomik bölge	Önemli bir değişkendir avuç içi >taban> alın=kulak arkası=tırnak=elin dış yüzeyi> ön kol=üst kol=kasık=göğüs>karın=sırt
Birey içi-bireylerarası etkiler	Anatomik bölge ve farklı gün açısından ele alındığında birey içi farklılık bireylerarası farklılıktan anlamlı ölçüde azdır
Terleme	Fiziksel, termal veya duygusal terleme TEWL ölçümlerinin doğruluğunu etkileyen önemli değişkenlerdir. TEWL ölçümlerinin yapıldığı oda sıcaklığı 22°C'den az sıcaklıkta olmalıdır
Vasküler etkiler	TEWL basit vazokonstriksiyon ve vazodilatasyondan etkilenmemektedir
Derinin yüzey sıcaklığı	TEWL ölçümlerinde derinin sıcaklığı önemlidir, deneğin deney öncesi koşullandırılması gerekir Deri yüzeyi sıcaklığı ölçülerek raporlarda belirtilmelidir

yoşedeğerliğinin incelendiği dermatofarmakokinetik (DPK) çalışmalarda da TEWL ölçümlerinden yararlanılmaktadır. Özellikle ilaç absorpsiyonunda bariyer rolünü üstlenen SC'nin kalınlığının saptanması DPK çalışmalarında önem kazanmaktadır. Kalınlığın saptanabilmesi için SC tabakaları yapışkan bantlarla ardı ardına uzaklaştırılmakta ve bu işlem TEWL ölçümleri ile kombine edilmektedir.^{29,30}

Deri farmakokinetiğinin girişimsel olmayan yöntemlerle izlenmesi ve tekrarlanabilir sonuçların elde edilmesinin, gelecekte bireylerden kan örnekleri alınması gereksinimini ortadan kaldıracığı düşünülmektedir.²⁹ Çalışmaların birçoğu TEWL ile deriden emilim arasında kantitatif korelasyon varlığına işaret etmektedir. Ancak aşırı lipofilik etkin maddelerin emilimi ile TEWL arasında korelasyon saptanamamıştır.^{31,32}

Hidrofilik ve orta derecede lipofilik özellikteki ilaçların deriden emiliminin incelenmesinde ise TEWL ölçümleri, derinin permeabilitesindeki değişikliklerin öngörülmesine yardımcı olmaktadır.³³⁻³⁷

TEWL ölçümleri, klinik dermatolojide deri fonksiyonlarının karakterizasyonu ile iritan ve alerjik yama testi reaksiyonlarının tanımlanmasında parametrik değerlendirme yapılmasını sağlar. Özellikle dermatit, ihtiyoz ve sedef hastalığı (*psoriasis*) gibi deri hastalıkları ve bu hastalıklarla birlikte seyreden enfeksiyöz durumlarda derinin hidrasyonu ve bariyer bütünlüğünün incelenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.³⁸⁻⁴²

Dermatitli bireylerde derinin engel işlevini tamire yönelik olarak hücrelerarası lipidleri içeren formülasyonlar geliştirilmiş ve etkileri TEWL ölçümleri ile değerlendirilmiştir. Seramit ve yağ asitlerinin tek başlarına veya ikili karışımlar halinde kullanıldıklarında tamiri geciktirdikleri saptanmıştır. Sadece hücrelerarası lipidlerin tam karışımları veya tek başına kolesterol varlığında derinin engel işlevinde iyileşme görülmüş ve TEWL azalmıştır.^{6,17}

Keratinositlerin mitoz bölünmesinin arttığı sedef hastalığında, TEWL ölçümleri hastalıklı derinin bütünlüğünün bozulduğunu ve su kaybının normalden fazla olduğunu göstermektedir.^{43,44}

Keratinizasyon ve epidermal farklılaşma aşamalarındaki bozulma sonucunda ortaya çıkan ihtiyoz hastalığında SC kalınlaşmaktadır. Ancak TEWL ölçümleri, bu kalınlaşmaya rağmen derinin bariyer bütünlüğünde azalma olduğuna işaret etmektedir.^{33,39}

DERİ HİDRASYONUNUN İZLENMESİ

Deri ve SC hidrasyon seviyesinin belirlenmesinde en fazla kullanılan yöntem, derinin elektriksel kapasitesinin ölçülmesidir. Bu amaçla kullanılan ticari cihazlar arasında aynı prensiple çalışan Corneometer®, Moisturemeter®, Skicon® -200 ve DPM® -9003 yer almaktadır.^{7,45-47}

Corneometer® elektrodu deriye uygulandığında, su ve ilgili iyonların sirkülasyonunu, dolayısıyla epidermadaki hidrasyona bağlı olarak değişen elektrik kapasitesini ölçmektedir. 1 kapasitans ölçüm ünitesi, 0.02 mg/cm²'deki su içeriğine eş değerdir.⁴⁸⁻⁵⁰ Ölçümlerde, deri yüzeyinin elektrot ile tam olarak temas etmesi sonuçlarda kararlılığın sağlanması bakımından elzemdir.¹⁷

SC hidrasyon derecesinin saptanması dermatolojide fizyolojik ve terapötik araştırmalar açısından çok önemli role sahiptir. Korneositlerin deri yüzeyinden atılması sürecinde yer alan hidrolitik enzimlerin düzenlenmesi SC'nin su içeriği ile doğrudan ilişkilidir. Derinin su içeriği klinik görünüşünü ve mekanik özelliklerini etkilemesinin yanı sıra topikal uygulanan farmasötik formülasyonların etkinliğini de önemli ölçüde değiştirmektedir. Genel kanı, dokunun hidrasyonundaki artışın hidrofilik ve lipofilik etkin maddelerin emilimini artırdığı yönündedir.^{2,13,23,51}

Derinin oksidatif stresten korunması ve neminin arttırılmasına yönelik olarak, ekinezya ekstresi içeren krem ve jel uygulamalarının yapıldığı bir çalışmada, elektrik kapasitesi ölçümleri, ekinezya içeren formülasyonların uygulanmalarının ardından deri hidrasyonunun arttığını göstermiştir.⁵²

Jel bazında uygulanan farklı nemlendiricilerin (üre, bitkisel bir ekstre, NMF bileşenleri, bazı karbohidrat türevi maddeler) SC hidrasyonu üzerindeki etkileri araştırılırken biyofiziksel cihazlar olarak Moisturemeter® ve Corneometer® kulla-

nılmıştır. Gönüllü deneklere yapılan uygulama sırasında ve sonrasında belirli aralıklarla gerçekleştirilen ölçümler sonucunda, özellikle üre ve karbohidrat türevi içeren jel formülasyonlarının nemlendirici etkisinin en fazla olduğu ve iki cihazın ölçümleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür.⁵³

Altı farklı emülsiyon ve 10 farklı jel formülü bileşimindeki ürenin (%5) etkinliği araştırılmıştır. On gönüllü deneğin ön kol yüzeyinde seçilen bir alana uygulama yapılmış, hidrasyondaki artış derinin elektriksel kapasitesinin Corneometer® ile ölçülmesi ile izlenmiştir. Uygulamanın 1 saat sonrasında yapılan ölçümlerle bileşiminde üre yer alan formülasyonun kuru deri tedavisinde hidrasyonu iyileştirici etkide olduğu gösterilmiştir.⁵⁴

Genelde SC hidrasyonu ile TEWL değerleri arasında doğru orantılı bir ilişki bulunmaktadır. TEWL'nin düşük olması, SC su içeriğinin normal seviyede olduğunun işaretidir. Epidermanın bariyer bütünlüğünün bozulduğu deri hastalıklarında bu durumun tersi geçerlidir.²⁵ Son yıllarda yapılan araştırmalar atopik egzamalı bireylerde TEWL'nin ölçülmesinin hastalığın patofizyolojisinin aydınlatılmasında yol gösterici olduğuna işaret etmektedir. TEWL atopik dermatitli bireylerde sağlıklı bireylere göre yaklaşık 10 kat daha yüksek çıkmakta, Corneometer® ile gerçekleştirilen kapasitans ölçümleri ise deri hidrasyonunun düşük olduğunu göstermektedir.^{41,55-57}

Gliserin, humektan özelliğinden dolayı farmasötik ve kozmetik formülasyonlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Model lipidler üzerinde yapılan araştırmalar, gliserinin SC lipid karışımlarının kristalizasyonunu önlediğini göstermiştir. Bu etkinin tekrarlanan kullanımlarda derinin bariyer işlevi üzerinde olumsuz bir etkisi bulunup bulunmadığını görmek amacıyla gönüllü denekler üzerinde %20 gliserin içeren krem uygulanmasının plasebo ile karşılaştırılması yapılmıştır. Derinin hidrasyonundaki değişimler Corneometer®, bariyer işlevindeki değişimlerse TEWL'nin Evaporimetre® ile ölçülmesinin yanında, deri kan akımının ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir. On günlük uygulama sonucunda hidrasyon değerlerinin arttığı saptanırken,

gliserinin derinin bariyer işlevi üzerinde olumlu ya da olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir.⁵⁸

DERİ YÜZEYİNİN pH'ININ İZLENMESİ

Deri yüzeyinin asidik pH'ı (5.4-5.9), epidermanın bariyer işlevinin sürdürülebilirliğinde hayati öneme sahiptir. İlk olarak 1892 de Heuss tarafından derinin asidik karakteri tanımlanmış ve daha sonra 1928'de Schade ve Marchionini tarafından, koruyucu özelliğe vurgu yapan "asit manto" tanımlaması literatüre kazandırılmıştır. Derinin asit mantosunun eksikliği bariyer bütünlüğünün bozulmasına neden olur ve bu durum birçok deri hastalığına zemin oluşturur.^{59,60}

Deri pH'ının tayininde, sensör elemanlarını içeren cam elektrot ile gerçekleştirilen analizler (pH Meter®) hızlı, basit ve tekrarlanabilir ölçümlere olanak vermektedir. Yüzey pH'ının ölçümleri yaş, anatomik bölge, eşlik eden hastalık gibi endojen faktörlerden etkilenirken, mevsim değişiklikleri, temizlik prosedürleri, kullanılan kozmetik ürünler ya da ilaçlar gibi dış faktörler de deri pH'ını etkilemektedir.^{61,62}

Atopik dermatit ve sedef hastalarında deri pH'ı ölçümlerinin yapıldığı bir çalışmada, nötral pH'a sahip temizlik ürünlerinin kullanılmasının epidermal bariyer tamirini geciktirdiği ve yaklaşık 10 kullanımdan sonra bu ürünlerin alkali pH'a sahip ürünlere eş değer etki yarattığı anlaşılmıştır.²⁵

Sekiz-dokuz yaş aralığındaki çocukları kapsayan bir araştırmada, atopik dermatit bulgusu olan çocuklarda deri yüzey pH'ı normal koşullardan çok daha yüksek bulunmuş, derinin kuruluşu arttıkça pH değerinin de arttığı belirtilmiştir.⁵⁵

DERİNİN MEKANİK VE YÜZEY ÖZELLİKLERİNİN İZLENMESİ

Derinin, özellikle de SC'nin mekanik özelliklerinin ölçülmesi kolay bir işlem değildir. Deri esneklik ve gerginliğinin analizinde kullanılan cihazlardan en bilinenleri, Cutometer® ve Dermal Torquemeter® dir.^{63,64}

Cutometer® ile yapılan ölçümlerde, deri yüzeyine 50-500 mbar arasında değişen vakum değer-

leri uygulanarak gerek yüzeyin gerekse daha derin tabakaların esneklik ve viskozite değerleri hesaplanabilmektedir.⁶⁵

Dermal Torquemeter® cihazı ile deri yüzeyine paralel bir güç uygulanarak, daha çok yüzeye yakın kısımların mekanik özelliklerine ait bilgiler elde edilmektedir. Tekrarlanabilirlik ve doğruluk bakımından sorunların yaşanabildiği bir analiz yöntemidir.⁶⁶

Dimetilaminoetanol (DMAE)'ün yaşlanma karşıtı formülasyonlardaki etkinliğine dair yapılan bir araştırmada, DMAE içeren formülasyonlar gönüllü deneklere uygulanmıştır. SC su içeriği ve derinin mekanik özellikleri Corneometer® ve Cutometer® kullanılarak, gerek uygulama öncesi gerekse tekrarlanan uygulamaların ardından ölçülmüştür. Histometrik ve histopatolojik çalışmalar, dermal kalınlık ve kolajen fiber kalınlığını sadece DMAE destekli formülasyonların arttırdığını göstermiştir. Cutometer® ile yapılan ölçümlerin sonucunda derinin mekanik özelliklerinde anlamlı değişim gözlenmezken, Corneometer® ile yapılan ölçümler deri hidrasyonunun arttığını belirlemiştir.⁶⁶

Kişisel bakım ürünlerinden uygunluğu en çok çalışılan formülasyonlar arasında nano taşıyıcı sistemler gelmektedir. Tokoferol asetat yüklenmiş bir lipid nano taşıyıcı sistemin insan derisinin hidrasyonu, biyomekanik özellikleri ve antioksidan kapasitesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, derinin hidrasyonu ve biyomekanik özelliklerinin incelenmesinde yine Corneometer® ve Cutometer® kullanılmıştır. Dört haftalık uygulama süresinin ardından deri su içeriğinin arttığı, ancak epidermanın viskoelastik parametrelerin değişmediği gözlenmiştir.⁶⁷

Taramalı Elektron Mikroskopisi [Scanning Electron Microscopy (SEM)] pahalı bir teknik olmakla birlikte, SC yüzeyinin hücre içi ve hücreler arası yapısının aydınlatılması açısından çok uygundur. Deri yüzeyinin bir video kamera ile UV ışık kaynağı altında incelenmesine olanak veren Visioscan® isimli cihaz da derinin pürüzlülüğü konusunda bilgi sağlamaktadır.⁷

DERİ YÜZEY LİPIDLERİNİN İZLENMESİ

Deri yüzeyinde koruyucu özellikteki hidrolipid filmin ana bileşeni olan sebum lipidleri sebace bezlerde üretilirler ve derinin bariyer işlevi üzerinde belirgin bir etkiye sahip değildir. Ancak akne ve seboreik dermatit gibi bazı deri hastalıkları, artan sebum salgısı ile ilişkili olduklarından, sebum salgısının azaltılmasına yönelik araştırmalar devam etmektedir.^{23,60}

Deri yüzeyine doğrudan yapıştırılabilen polimerik bir film olan Sebutape®, yüzey lipidlerini absorbe ettiğinde rengini değiştirmekte ve oluşan renk üzerinden, sebum salgılanma oranı, salgılanan toplam miktar gibi parametreler tayin edilebilmektedir.^{7, 68,69}

Fotometrik bir cihaz olan Sebumeter® ile yapılan ölçümlerde ise, pürüzlü yüzeye sahip olan plastik bir film deri yüzeyine bastırılarak, yüzey lipidlerinin filme geçmesi sağlanmaktadır. Lipidler, yüzeydeki boşlukları dolduracak şekilde yayılarak plastik filmin ışığa karşı geçirgenliğini arttırmaktadır. Cihaz, 1 cm²'deki yüzey lipidlerinin miktarını, ışık geçirgenliğinde oluşan fark üzerinden belirlemekte ve µg cinsinden vermektedir.^{7,48}

Kuru deri sendromu olan 30 hastada Sebumeter® ile yapılan ölçümler sebum seviyesinin düştüğünü göstermiştir. Aynı hastalarda asidik bir temizleme ürünü ve emolyen uygulanmasının etkinliği değerlendirilmiş, belli bir uygulama süresinin sonunda sebum seviyelerinin yükseldiği, TEWL'nin azaldığı ve derinin su içeriğinin arttığı saptanmıştır.⁷⁰

DERİNİN KAN AKIŞININ İZLENMESİ

Lazer Doppler Akışmetre [Laser Doppler Flowmeter (LDF)] cihazı ile kütan kan akışının izlenmesi, derinin fizyolojik ve patolojik süreçlerinin ve deri üzerinde farmakolojik etkisi bulunan maddelerin neden olduğu dolaşım değişimlerinin izlenmesinde kullanılmaktadır. Basit, hızlı ve düşük maliyetli olması gibi avantajları bulunmakla birlikte, LDF'den elde edilen verilere temkinli yaklaşılmalı, bireyler arası farklılıkların olabileceği göz ardı edilmemelidir. LDF'nin gelişmiş şekli olan Lazer Doppler Gö-

rüntüleme [Laser Doppler Imaging (LDI)] ise belli bir deri bölgesindeki kan akışının haritasını çıkarılmaktadır. İki yöntem birbirini tamamlayıcı özelliindedir.^{46,71-73}

Deri yüzeyine yakın bölgede kan akışı arttırdığından, sedef hastalığı LDF çalışmalarının da konusu olmuştur. LDI tekniği de hastalıklı plakların alanının ve kan akışı seviyesinin belirlenmesinde hızlı ölçüm olanağı sağlamaktadır. Bu yöntemle, lezyonlar klinik açıdan belirgin hale gelmeden önce saptanabilmekte ve bu şekilde de PUVA tedavisine yanıt iyileşmektedir.

Deriyi etkileyen iç ve dış tüm faktör ve koşullar LDF araştırmaları kapsamında yer almaktadır. Sedef hastalığında olduğu gibi dermatit, pigment lezyonlar ve melanom varlığında da LDF, sağlıklı deri alanı ile aradaki sınırın belirlenmesinde ve tedavi etkinliğinin ölçülmesinde kullanılan bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır.⁷¹

STRATUM CORNEUM HÜCRELER ARASI LİPİDLERİNİN YAPI VE DAVRANIŞLARININ İZLENMESİ

Epidermanın geçirgenlik bariyeri ve onun asıl bileşeni SC'nin kompleks yapısı birçok iç ve dış faktör etkisi ile değişime uğrayabilmektedir. TEWL ölçümleri, SC su içeriği ve yüzey özellikleri bir bütün olarak ele alınmalıdır. Daha detaylı ve kesin bir değerlendirme için SC lipidlerinin yapısal düzeninin de incelenmesi gerekmektedir.^{3,4,74-77} Bu amaçla aşağıda belirtilen teknikler kullanılmaktadır.

X-IŞINI DAĞILIMI VE ELEKTRON DAĞILIMI YÖNTEMLERİ

Dar ve geniş açılı X-ışını dağılımı yöntemleri ile SC lipidlerinin tabakalı yapıları ve özellikle derinin engel işlevinde büyük öneme sahip olan katı kristalize, jel ve sıvı kristalize faz düzenleri hakkında bilgi edinilmiştir.^{3,21,78,79}

Geniş Açılı X-Işını Dağılımı [Wide Angle X-Ray Diffraction (WAXD)] ve Elektron Dağılımı yöntemleri ise, SC keratin ve su içeriği ile hücreler arası lipidlerin yapısal düzenleri hakkında bilgi sağlamaktadır.^{76,80,81}

KALORİMETRİK YÖNTEMLER

Lipidlerin polimorfizmi, derinin geçirgenliği üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bu nedenle gerek insan SC'si gerekse model lipid karışımları üzerinde hücreler arası lipidlerin termal davranışları çalışılmıştır.⁸²⁻⁸⁵

Diferansiyel Tarama Kalorimetresi [Differential Scanning Calorimetry (DSC)] ile yapılan termal analiz çalışmaları, SAXD ve WAXD analizleri ile paralel yürütülerek, SC'deki hücreler arası lipidlerin yapısal düzeni konusundaki bilgiler sağlamlaştırılmıştır. 30-120 °C aralığında termal analiz uygulanan SC lipidlerinin 37°C, 60-65°C, 80-85 °C ve 95-110 °C'lerde, 4 adet karakteristik endotermik değişim (T1, T2, T3 ve T4) gösterdiği görülmüştür. Sıcaklık absorpsiyonu ile bir fazın başka bir faza dönüşümü sonucunda endotermik bir pik oluşmaktadır.^{82,83}

İlk üç endotermik değişim, SC lipidlerinin termal davranışına bağlanırken, sonuncusunun SC'nin protein bileşeni olan keratinden kaynaklandığı ve geri dönüşümsüz olduğu düşünülmektedir. DSC analizleri, korneositlerin ana bileşeni olan keratinin çok kararlı bir yapı sergilediğini ve ancak 95°C'yi aşan sıcaklıkta denatüre olarak termal faz geçişi gösterdiğini belirlemiştir. 51-55 °C'deki beşinci bir termal geçişin, kornife zarfın dışında yer alan kovalan bağlı lipidlerden kaynaklandığı bildirilmiştir.^{83,84}

Farklı uygulamaların sonucunda elde edilen termogramlar değerlendirilirken faz değişiminin yaşandığı sıcaklık derecesi, endoterm entalpisi ve kooperatif göz önüne alınmaktadır.

Deriden emilimde, formülasyonlarda yer alan çözücüler ve penetrasyon arttırıcıların etkileri incelenirken, DSC endotermelerinde pik değişimlerinin yaşandığı sıcaklık değerlerinin daha düşük/yüksek değerlere kayması, izleme kolaylığı sağlamaktadır.

Oleik asit ya da terpenlerle muamele edilmiş SC örneklerinde lipid endotermelerinin görüldüğü sıcaklık derecesi düşerken son endoterm etkilenmemiştir. Bu durum, uygulanan penetrasyon arttırıcıların SC lipidlerinin çifte tabakalı düzenini bozduğuna işaret etmektedir. Sodyum lauril sülfat

uygulanmış örneklerde ise 4 endotermik geçişin büyüklük ve sıcaklık derecelerinde meydana gelen azalma, membranın tamamının, protein ve lipidlerin yapısının bozulduğunu göstermiştir.⁸⁶

INFRARED SPEKTROSKOPİSİ

Infrared (IR) spektroskopisi derinin, özellikle de SC'nin bariyer işlevinin daha iyi anlaşılmasına yönelik araştırmalarda kullanılan, SC yapı ve dinamiğine ilişkin çok önemli bulgular sağlayan biyofiziksel bir yöntemdir.^{19,87-89}

SC üzerinde gerçekleştirilen spektroskopik çalışmalarda en fazla bilgi sağlayan lipid absorbansları, hidrofobik alkil zincirlerinden kaynaklanırlar. SC'deki hücreler arası lipidlerin alkil zincir düzeninde sıcaklığa bağlı olarak gerçekleşen bozulmalar, karbon-hidrojen (CH₂) asimetrik (2920 cm⁻¹) ve simetrik (2850 cm⁻¹) gerilme bantlarının dalga numaralarının daha yüksek değerlere kaymasına (blue shift) neden olur.^{75,89-92}

Bir kızılötesi absorbansın eğrisinin altındaki alan, absorbe olan birimin miktarı ile doğru orantılı olduğundan, CH₂ asimetrik gerilme bandının altında kalan alanın lipid miktarı ile ilgili bilgi sağladığı da belirtilmektedir. Benzer şekilde, bu absorbansların bant genişliği, çalışılan SC lipidlerinin yapısal düzeni hakkında bilgi vermektedir.^{83,90,93}

Genel olarak, CH₂ simetrik gerilme bandına ait dalga numarasının 2850 cm⁻¹'i geçmemesi, hegzagonal tip çifte tabakalı yapılar için karakteristiktir ve düzenli alkil zincirlerine işaret eder. Dalga numarası 2852-2854 cm⁻¹ arasında bulunursa, sıvı kristalize faz durumunun göstergesi olmaktadır.^{94,95} Deri biyopsilerinden elde edilen SC lipidlerinin CH₂ simetrik gerilme absorbansları, spektral pozisyonlarını 25-60 °C arasında 2849.7-2850.8 cm⁻¹ arasında değiştirmektedirler.^{4,85}

Amit 1 (1645 cm⁻¹) ve Amit 2 (1545 cm⁻¹) absorbansları, amid bağlarındaki C=O gerilme ve N-H eğilme absorbansları ile ilgili bilgi verirler ve hidrojen bağlanmasının derecesinden etkilenirler. Amit 1 ve Amit 2 absorbansları incelenerek, SC'nin heterojen yapıda bir zar olduğu ve su içeriğinin yüzeyden *stratum granulosum*'a doğru arttığı saptanmıştır.^{4,75,90}

1740 cm⁻¹ ve 1710 cm⁻¹'deki absorbanslar, lipidlerin C=O gerilme bandından kaynaklanır. Daha çok sebum lipidlerinin göstergesi olan bu absorbansların şiddeti incelenen vücut bölgesine göre farklılık göstermektedir.^{19,96}

2100 cm⁻¹'deki OH gerilme bandına ait absorbans yine SC su içeriğinin tayinine yönelik olarak kullanılmış, doğrudan ve kantitatif ölçüm olanağı sağladığı bildirilmiştir. Bu bant deri hidrasyonu arttığında ortaya çıkmaktadır.^{76,90,97,98}

Fourier Dönüşümlü IR Spektroskopisi [Fourier Transformed IR Spectroscopy (FTIR)] yöntemi, spektral bilgilerin alışımlı IR spektroskopisine oranla çok daha iyi çözünürlük ile elde edilmesini, hızlı, hassas ve doğru analiz yapılmasını sağlamaktadır.^{89,93} Bu yöntemle çok bileşenli örneklerin çalışılması mümkündür. Bir absorbansa ait dalga numarasının saptanma doğruluğu, FTIR yöntemi ile 0.01 cm⁻¹'den fazla olmaktadır.⁹⁹ FTIR yönteminin iki farklı tekniği olan Transmisyon (Transmission) ve Hafifletilmiş Toplam Yansıtma [Attenuated Total Reflectance (ATR)] FTIR spektroskopileri kullanılarak SC ve lipid membranların faz davranışları araştırılmaktadır.^{4,77,100}

Transmisyon-FTIR Spektroskopisi

10-20 µm kalınlığındaki SC tabakası, Transmisyon-FTIR yöntemi ile analize uygun bir yüzeydir. Transmisyon-FTIR tekniğinde örnek, IR ışınının geçiş yolu üzerine konulmaktadır. SC'den elde edilen spektrum, lipid, protein ve suya ait absorbanslar ile tanımlanmaktadır.^{77,90} Transmisyon-FTIR spektroskopisi, seramid, kolesterol ve serbest yağ asidi karışımından oluşan model lipid sistemlerinin sıcaklığa bağlı faz davranışlarının araştırılması için kalorimetrik yöntemler ile birlikte kullanılmaktadır.¹⁰¹⁻¹⁰⁴

Toz edilmiş SC'den haloperidol maddesinin geçişinin incelendiği bir çalışmada, propilen glikol ve terpen karışımlarının etkin maddenin emilimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Transmisyon FTIR spektroskopisi ve DSC yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen analizlerin sonucunda, terpenlerin ilacın termodinamik aktivitesini arttırdıkları, SC lipid yapısını etkiledikleri, ancak keratin yapısı

üzerinde herhangi bir etki göstermedikleri belirlenmiştir.¹⁰⁵

Hafifletilmiş Toplam Yansıtma

(Attenuated Total Reflectance, ATR) -FTIR Spektroskopisi

Derinin engel işlevinin araştırılmasında önemli bir yöntem, özel bir IR tekniği olan Hafifletilmiş Toplam Yansıtma [Attenuated Total Reflectance (ATR)] spektroskopisidir.⁴ FTIR spektroskopisinin, *in vitro* ölçümlerin yanı sıra *in vivo* SC değerlendirmelerinde de geniş oranda fayda sağlayan bir teknik halini alması, ATR-FTIR yöntemi sayesinde gerçekleşmiştir.⁹⁰

ATR-FTIR yönteminde örnek IR'ye geçirgen olan özel bir kristalin yüzeyi ile temas ettirilir. Deri söz konusu olduğunda, IR radyasyonun penetrasyon derinliği, cihaza, ATR kristaline, ilgilenilen dalga boyuna ve deri örneğinin hidrasyon seviyesine bağlı olarak 0.3-3 µm arasındadır. Dolayısıyla deri, bu teknik ile doğrudan analiz edildiğinde, tek bir ATR-FTIR spektrumundan elde edilen bilgi kristal ile temas eden ilk tabakalara aittir. SC'nin daha derin kısımları ile ilgili bilgiler, bant ile soyma yöntemi sonucunda elde edilebilir.^{4,90,101}

Bant ile soyma yöntemi ATR-FTIR spektroskopisi ile birlikte kullanıldığında, gönüllü deneklerin kollarının ön kol bölgesinde yapılan ölçümlerde hücreler arası lipidler ve SC hidrasyon oranına ilişkin bilgiler elde edilebilmiştir. CH₂ asimetrik gerilme absorbansının dalga numarası deri yüzeyinden derine inildikçe daha düşük değerlere kaymaktadır.^{97,106} Diğer taraftan yüzeye yakın lipidlerin derindeki lipidlerden daha sıvı oldukları belirlenmiştir. Bu durumla ilgili bir açıklama, yüzeye yakın lipidlerin epidermal lipidler ile yağ bezlerinden sentezlenen ve daha düşük erime noktasına sahip olan lipidlerin bir karışımı olduğu şeklindedir.⁹⁰

Jadoul ve ark., uzun süreli iyontoforezin ardından SC yapısını ATR-FTIR ve X-ışını dağılımı gibi iki farklı fiziksel teknik ile incelemişlerdir. ATR-FTIR çalışmaları, iyontoforez işleminin SC'nin yüzeye yakın kısımlarının hidrasyonunda önemli ve geri dönüşümlü bir artış sağladığını göstermiş, ancak lipidlerin akışkanlığında bir değişme gözlenmemiştir. CH₂ asimetrik gerilme bantının

incelenmesi ile iyontoforez işleminin SC lipid alkil zincir düzeninde bozulmaya yol açmadığı belirlenmiştir.⁷⁵

Nair ve Panchagnula, dehidrate epidermis örnekleri üzerinde Transmisyon-FTIR tekniği ile çalışarak, iyontoforez işleminin derinin hidrasyonunu arttırdığını belirlemişlerdir.¹⁰⁷

Bir başka çalışmada, yapışkan bantla soyma işlemi ile ATR-FTIR spektroskopisi birleştirilerek, topikal formülasyonlardaki taşıyıcıların insan SC da engel işlevine etkileri incelenmiştir. Bir merhem ve bir Y/S emülsiyonu oklüziv ve oklüziv olmayan koşullar altında gönüllülere uygulanmıştır. Deri hidrasyonunun arttırılmasında formülasyondaki taşıyıcıların cinsi ve miktarının etkili olduğu anlaşılmış, ayrıca oklüzyon işleminin TEWL'yi arttırdığı saptanmıştır.⁹⁸

Gloor ve ark.nın bir çalışmasında FTIR spektroskopisi, boynuzsu tabakanın çeşitli seviyelerindeki su miktarının saptanmasında uygun bir yöntem olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada s/y ve y/s tipi emülsiyonlar deriyi nemlendirme etkileri bakımından karşılaştırılmış, anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.¹⁰⁸

Atopik dermatit hastaları ve sağlıklı gönüllülerde SC hidrasyonu karşılaştırıldığında, dermatitli deneklerin derilerinde egzama lezyonları taşımayan kısımların hidrasyonunun sağlıklı gönüllülerinkine oranla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durum özellikle kuru ve pürüzlü deri klinik belirtilerini taşıyan atopik dermatit hastalarında daha belirgin bulunmuştur. ATR-FTIR spektroskopisi ve yapışkan bant ile soyma işleminin birlikte kullanıldığı çalışmada, su içeriğinin derinin klinik görünüşünü etkileyen tek faktör olmadığı sonucuna varılmıştır.¹⁰⁹

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan bir etkin madde olan valsartanın deriden emilimi ile ilgili bir çalışmada insan ve sıçan derisi kullanılarak çeşitli penetrasyon artırıcı maddelerin etkinliği araştırılmıştır. FTIR spektroskopisi ile yapılan analiz, kullanılan penetrasyon artırıcı maddelerin boynuzsu tabaka lipidlerini ekstre ederek derinin bariyer işlevini azalttığını, böylelikle de etkin madde valsartanın deriden emilimini arttırdığını göstermiştir.¹¹⁰

Vernix caseosa, anne rahmindeki fetusu hamileliğin son döneminde kaplayan, koruyucu özellikte, biyolojik bir filmidir. *Vernix caseosa*'nın normal deri üzerindeki nemlendirici ve aseton etkisi ile kurumuş deri üzerinde tamir edici etkileri, Corneometer® cihazı ve ATR-FTIR spektroskopisi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen panel testleri ile doğrulanmıştır. *In vivo* koşullarda, anatomik bölgeye bağlı olduğu bilinen hidrasyon, lipid bileşimi ve alkil zincirlerinin yapısal düzeni gibi biyofiziksel parametrelerin *Vernix caseosa* uygulaması sonucunda olumlu yönde değiştiği saptanmıştır.¹¹¹

Propilen glkol ve Transcutol®'den oluşan iki farklı yardımcı çözücü sisteminde uygulanan terpenlerin deri üzerindeki etkileri *in vitro* ve *in vivo* koşullarda incelenmiştir. ATR-FTIR spektroskopisi ile yapılan analizlerde, özellikle Transcutol®-terpen karışımlarının SC lipidlerinin yapısal düzenini etkilediği ve CH₂ gerilme bantlarının dalga numarasının daha yüksek değere kaydığı saptanmıştır.^{112,113}

RAMAN SPEKTROSKOPİSİ

Raman ve IR spektroskopileri, radyasyonla farklı etkileşimde bulunan, ancak birbirini tamamlayıcı özellikte olan iki tekniktir. Bir moleküler vibrasyonun Raman spektrumunda saptanabilmesi için moleküler polarize olma yeteneğinin değişmesi gerekmektedir.⁴

SC moleküler yapısının aydınlatılmasında önemli bir yere sahip olan Raman spektroskopisinden SC hidrasyonu, NMF ve keratin oranlarının ölçülmesinde de yararlanılmaktadır. Deri lipidleri ve proteinlerinin fizikokimyasal özellikleri Raman spektroskopisi ile incelenerek epidermal metabolizma bozukluklarının rol oynadığı deri hastalıklarında patolojik farklılaşmalar hakkında yorum yapılabilmektedir.^{4,114}

Deri incelemelerinde 1.200-1.000 cm⁻¹ aralığında yer alan bir dizi önemli absorban, suyun IR'yi kuvvetle absorbe etmesi sonucunda kapanmakta ve görülememektedir. Oysa aynı bantlar Raman spektrumu için karakteristiktir.

Raman spektrumunda, 2.940 cm⁻¹'deki CH bandı yüksekliğinin 3.250 cm⁻¹'deki OH gerilme

bandı yüksekliğine oranı derinin su içeriği konusunda bilgi sağlamakta, bu değer derinin su içeriğinin yükselmesi ile artmaktadır.⁴

SC proteinlerinin konformasyonunun gerek *in vivo* gerekse deri modelleri üzerinde Raman spektroskopisi ile incelenmesi sonucunda psöriatik derinin protein yapısında konformasyon değişimi saptanmış ve değişmelerin hastalığın derecesine göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir.^{115,116}

NÜKLEER MANYETİK REZONANS SPEKTROSKOPİSİ

Nükleer Manyetik Rezonans [Nuclear Magnetic Resonance (NMR)] çalışmaları, korneositleri çevreleyen kornife zarf proteinleri ile ilgili bilgi sağlamış ve normal koşullar altında bu proteinlerin katı yapıda oldukları saptanmıştır. Kornife zarfın kırılabilirliğinin artması, derinin engel işlevinin azalmasına neden olmakta ve bu durum çeşitli deri hastalıklarını beraberinde getirmektedir.⁸⁴

NMR tekniği ile SC'nin kalın olduğu avuç içi ve tabanlar gibi vücut bölgelerinde hidrasyon profilleri çıkarılmıştır, ancak diğer vücut bölgelerinde bir değerlendirme yapılması açısından NMR tekniği yetersiz bulunmuştur.¹¹⁷

SONUÇ

Derinin, özellikle en dıştaki SC tabakasının yapısal özellikleri ve bariyer bütünlüğünün incelenmesinde, farklı prensiplerle çalışan çeşitli biyofiziksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler, derinin bütünlüğünün değerlendirilmesinin yanında, topikal olarak uygulanan ilaçların gerek deriden emiliminin gerekse derinin belirli tabakalarına ulaştığının kanıtlanması için öngöründe bulunulması açısından önem taşımaktadır.

Derinin kompleks bir yapıya sahip olmasından dolayı, epidermadaki bariyerin tanımlanması için tek bir parametrenin izlenmesi ve değerlendirilmesi yeterli olmamaktadır. Sonuç olarak, var olan yöntemleri bütünleştiren multiparametrik yaklaşımların, derinin yapısının aydınlatılması, bütünlüğünün incelenmesi ve formülasyonların deri üzerinde oluşturduğu yapısal değişikliklerin araştırılması açısından daha başarılı sonuçlar vermesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Denda M. Skin barrier function as a self organizing system. *Forma* 2000;15(3):227-32.
- Williams AC. *Transdermal and Topical Drug Delivery, From Theory to Clinical Practice*. 1sted. London: Pharmaceutical Press; 2003. p. 1-13.
- Bouwstra JA, Pilgram G, Gooris G, Koerten H, Ponc M. New aspects of the skin barrier organization. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14(Suppl 1):52-62.
- Prasch T, Förster T. Detection of cosmetic changes in skin surface lipids by infrared and raman spectroscopy. In: Förster T, ed. *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*. 1sted. NY: Marcel Dekker; 2002. p.227-54.
- Bouwstra JA. Structure of stratum corneum lipid layers and interactions with lipid liposomes. In: Thomas Förster, ed. *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*. 1sted. NY: Marcel Dekker; 2002. p.37-74.
- Loden M. Skin barrier function: Effects of moisturizers. *Cosm Toilet* 2001;116 (6):31-40.
- Lambers H, Pronk H. Biophysical methods for stratum corneum characterization. In: Förster T, ed. *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*. 1sted. NY: Marcel Dekker; 2002. p.185-225.
- Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis* 1990;22(3):164-78.
- Kalia YN, Pirot F, Guy RH. Homogeneous transport in a heterogeneous membrane: water diffusion across human stratum corneum in vivo. *Biophysical Journal* 1996;71(5):2692-700.
- Zhai H, Dika E, Goldovsky M, Maibach HI. Tape-stripping method on man: comparison of evaporimetric methods. *Skin Res Technol* 2007;13(2):207-10.
- Fluhr JW, Feingold KR, Elias PM. Transepidermal water loss reflects permeability barrier status: validation in human and rodent in vivo and ex vivo models. *Exp Dermatol* 2006;15(7):483-92.
- Marty JP. [NMF and cosmetology of cutaneous hydration]. *Ann Dermatol Venerol* 2002;129(1 Pt 2):131-6.
- Rawlings AV. Advances in stratum corneum biology and understanding of dry skin. *Cosm Toilet* 2003;118(1-2):36-44.
- Tagami H, Kikuchi K. Diseases that affect barrier function. In: Elias PM, Feingold KR, eds. *Skin Barrier*. 1st ed. NY: Taylor & Francis; 2006. p.447-63.
- Kalia YN, Alberti I, Sekkat N, Curdy C, Naik A, Guy RH. Normalization of stratum corneum barrier function and transepidermal water loss in vivo. *Pharm Res* 2000;17(9): 1148-50.
- Menon GK. New insights into skin structure: structuring the surface. *Adv Drug Del Rev* 2002;54(Suppl 1):3-17.
- Loden M, Olsson H, Axell T. Friction, capacitance and transepidermal water loss (TEWL) in dry atopic and normal skin. *Br J Dermatol* 1992;126(2):137-41.
- Paepe K, Roseeuw D, Rogiers V. Repair of acetone and sodium lauryl sulphate damaged human skin barrier function using topically applied emulsions containing barrier lipids. *JEADV* 2002;16(6):587-94.
- Tanojo H, Junginger HE, Bodde HE. In vivo human skin permeability enhancement by oleic acid: transepidermal water loss and Fourier transform infrared spectroscopy studies. *J Cont Rel* 1997;47(1):31-9.
- Berndt U, Wigger-Alberti W, Gabard B, Elsner P. Efficacy of a barrier cream and its vehicle as protective measures against occupational irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 2000;42(2):77-80.
- Lavrijsen APM, Bouwstra JA, Gooris GS, Weerheim A, Bodde HE, Ponc M. Reduced skin barrier function parallels abnormal stratum corneum lipid organization in patients with lamellar ichthyosis. *J Inv Dermatol* 1995;105(4):619-24.
- Wester RC, Maibach HI. Human percutaneous absorption and transepidermal water loss (TEWL) correlation. In: Bronaugh RL, Maibach HI, eds. *Percutaneous Absorption*. 4thed. FL: Taylor & Francis; 2005. p.509-19.
- Darlenski R, Saanig S, Tsankov N, Fluhr JW. Non invasive methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2009;72(2):295-303.
- Rougier A, Dupuis D, Lotte C, Roguet R. The measurement of the stratum corneum reservoir. A predictive method for in vivo percutaneous absorption studies: influence of application time. *J. Invest. Dermatol*. 1985;84(1):66-8.
- Elkeeb R, Hui X, Chan H, Tian L, Maibach HI. Correlation of transepidermal water loss with skin barrier properties in vitro: comparison of three evaporimeters. *Skin Res Technol* 2010;16(1):9-15.
- Imhof RE, DeJesus MEP, Xiao P, Cortea LI, Berg EP. Closed chamber TEWL measurement: microclimate, calibration and performance. *Int J Cosm Sci*; 31(1): 97-118.
- De Paepe K, Houben E, Adam R, Wiesemann F, Rogiers V. Validation of VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open-chamber Tewameter. *Skin Res Technol* 2005;11(1):61-9.
- Farahmand S, Tien L, Hui X, Maibach HI. Measuring transepidermal water loss: a comparative in vivo study of condenser-chamber, unventilated-chamber and open-chamber systems. *Skin Research and Technology* 2009;15(4):392-8.
- Kalia YN, Alberti I, Naik A, Guy RH. Assessment of topical bioavailability in vivo: the importance of stratum corneum thickness. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2001;14(Suppl 1): 82-6.
- Russell LM, Wiedersberg S, Delgado-Charro MB. The determination of stratum corneum thickness an alternative approach. *Eur J Pharm Biopharm* 2008;69(3):861-70.
- Levin J, Maibach HI. The correlation between transepidermal water loss and percutaneous absorption: an overview Review. *J Contr Rel* 2005;103(2):291-9.
- Shah VP, Flynn GL, Yacobi A, Maibach HI, Bon C, Fleischer NM, et al. Bioequivalence of Topical Dermatological Dosage Forms - Methods of Evaluation of Bioequivalence. *Pharm Research* 1998;15(2):167-71.
- Rougier A, Dupuis D, Lotte C, Roguet R, Schaefer H. In vivo correlation between stratum corneum reservoir function and percutaneous absorption. *J Invest Dermatol* 1983;81(3):275-78.
- Oestmann E, Lavrijsen A, Hermans J, Ponc M. Skin barrier function in healthy volunteers as assessed by transepidermal water loss and vascular response to hexyl nicotinate: intra- and inter-individual variability. *Br J Dermatol* 1993;128(2):30-6.
- Lamaud E, Lambrey B, Schalla W, Schaefer H. Correlation between transepidermal water loss and penetration of drugs. *J Invest Dermatol* 1984;82(5):556.
- Tsai J, Sheu H, Hung P, Cheng C. Effect of barrier disruption by acetone treatment on the permeability of compounds with various lipophilicities: implications for the permeability of compromised skin. *J Pharm Sci* 2001;90 (9):1242-54.
- Aalto-Korte K, Turpeinen M. Transepidermal water loss and absorption of hydrocortisone in widespread dermatitis. *Br J Dermatol* 1993;128 (6):633-5.
- Shahidullah M, Raffle EJ, Rimmer AR. Transepidermal water loss in patients with dermatitis. *Br J Dermatol* 1969;81(10):722-30.

39. Lavrijsen A, Oestmann E, Hermans J, Bodde H, Vermeer B, Ponc M. Barrier function parameters in various keratinization disorders: transepidermal water loss and vascular response to hexyl nicotinate. *Br J Dermatol* 1993;129(5):547-54.
40. Matsumoto M, Sugiura H, Uehara M. Skin barrier function in patients with completely healed atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2000;23(3):178-82.
41. Loden M, Andersson AC, Lindberg M. Improvement in skin barrier function in patients with atopic dermatitis after treatment with a moisturizing cream (Canoderm). *Brit J Dermatol* 1999;140(2):264-7.
42. Shah JH, Zhai H, Maibach HI. Comparative evaporimetry in man. *Skin Res Technol* 2005;11(3):205-8.
43. DiSepio D, Chandraratna RAS, Nagpal S. Novel approaches for the treatment of psoriasis. *DDT* 1999;4(5):222-31.
44. Ermertcan AT, Öztürkcan S. [Novelties in treatment of psoriasis]. *Dermatose* 2004;2:6471.
45. Choi SJ, Song MG, Sung WT, Lee DJ, Lee JH, Lee ES, et al. Comparison of transepidermal water loss, capacitance and pH values in the skin between intrinsic and extrinsic atopic dermatitis patients. *J Korean Med Sci* 2003;18(1):93-6.
46. Zhai H, Maibach HI. Occlusion vs skin barrier function. *Skin Res Technol* 2002;8(1):1-6.
47. Katagiri C, Sato J, Nomura J, Denda M. Changes in environmental humidity affect the water-holding property of stratum corneum and its free amino acid content, and the expression of filaggrin in the epidermis of hairless mice. *J Dermatol Sci* 2003;31(1):29-35.
48. Jemec GBE, Na R. Hydration and plasticity following long term use of a moisturizer: a single blind study. *Acta Derm Venereol* 2002;82(5):322-4.
49. Sator PG, Schmidt JB, Hönigsmann H. Comparison of epidermal hydration and skin surface lipids in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2003;48(3):352-8.
50. Swatschek D, Schatton W, Kellerman J, Müller WEG, Kreuter J. Marine sponge collagen: isolation, characterization and effects on the skin parameters surface pH, moisture and sebum. *Eur J Pharm Biopharm* 2002;53(1):107-13.
51. Benson HAE. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. *Curr Drug Del* 2005;2(1):23-33.
52. Yotsawimonwat S, Rattanadechsakul J, Rattanadechsakul P, Okonogi S. Skin improvement and stability of *Echinacea purpurea* dermatological formulations. *Int J Cosmet Sci* 2010; DOI 10.1111/j.1468-2494.2009.00559.x.
53. Leite e Silva VR, Schulman MA, Ferelli C, Gimenis JM, Ruas GW, Baby AR, et al. Hydrating effects of moisturizer active compounds incorporated into hydrogels: in vivo assessment and comparison between devices. *J Cosmet Dermatol* 2009;8(1):32-9.
54. Couteau C, Coiffard LJ, Seville-Rivain V. Influence of excipients on moisturizing effect of urea. *Drug Dev Ind Pharm* 2006;32(2):239-42.
55. Hon KL, Wong KY, Leung TF, Chow C, Ng PC. Comparison of Skin Hydration Evaluation Sites and Correlations among Skin Hydration, Transepidermal Water Loss, SCORAD Index, Nottingham Eczema Severity Score, and Quality of Life in Patients with Atopic Dermatitis. *Am J Clin Dermatol* 2008;9(1):45-50.
56. Sakurai K, Sugiura H, Matsumoto M. Occurrence of patchy parakeratosis in normal-appearing skin in patients with active atopic dermatitis and in patients with healed atopic dermatitis: a cause of impaired barrier function of the atopic skin. *J Dermatol Sci* 2002;30(1):37-42.
57. Ogawa H, Yoshiike T. Atopic dermatitis: studies of skin permeability and effectiveness of PUVA treatment. *Pediatr Dermatol* 1992;9(4):383-5.
58. Loden M, Wessman W. The influence of a cream containing 20% glycerin and its vehicle effect on skin barrier properties. *Int J Cosmet Sci* 2001;23(2):115-9.
59. Elias PM, Schmuth M. Abnormal skin barrier in the etiopathogenesis of atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9(5):437-46.
60. Ansari S. Skin pH and skin flora. In: Barel AO, Paye M, Maibach HI, eds. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 3rd ed. NY: Informa Healthcare; 2009. p.221-33.
61. Zlotogorski A. Distribution of skin surface pH on the forehead and cheek of adults. *Arch Dermatol Res* 1987;279(6):398-401.
62. Eberlein-König B, Schaefer T, Huss-Marp J, Darsow U, Möhrenschrager M, Herbert O, et al. Skin surface pH, stratum corneum hydration, transepidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children. *Acta Derm Venereol* 2000;80(3):188-91.
63. Koch RJ, Cheng ET. Quantification of skin elasticity changes associated with pulsed carbon dioxide laser skin resurfacing. *Arch Facial Plast Surg* 1999;1(4):272-5.
64. Boyce ST, Supp AP, Wickett RR, Hoath SB, Warden GD. Assessment with the dermal torque meter of skin pliability after treatment of burns with cultured skin substitutes. *J Burn Care and Rehabilitation* 2000;21(1 Pt 1):55-63.
65. Dobrev H. In vivo study of skin mechanical properties in scleredema of buschke. *Acta Derm Venereol* 1998;78(2):103-6.
66. Tadini KA, Campos PM. In vivo skin effects of a dimethylaminoethanol (DMAE) based formulation. *Pharmazie* 2009;64(12):818-22.
67. Moddaresi M, Tamburic S, Williams S, Jones SA, Zhao Y, Brown MB. Effects of lipid nanocarriers on the performance of topical vehicles in vivo. *J Cosmet Dermatol* 2009;8(2):136-43.
68. Kim MK, Choi SY, Byun HJ, Huh CH, Park KC, Patel RA, et al. Comparison of sebum secretion, skin type, pH in humans with and without acne. *Arch Dermatol Res* 2006;298(3):113-9.
69. Kligman AM, Miller DL, McGinley KJ. Sebustape: a device for visualizing and measuring human sebaceous secretion. *J Soc Cosmet Chem* 1986;37(4):369-74.
70. Fluhr JW, Miteva M, Primavera G, Ziemer M, Elsner P, Berardesca E. Functional assessment of a skin care system in patients on chemotherapy. *Skin Pharmacol Physiol* 2007;20(5):253-9.
71. Tur E. Blood flow as a technology in percutaneous absorption: the assessment of the cutaneous microcirculation by laser doppler and photoplethysmographic techniques. In: Bronaugh RL, Maibach HI, eds. *Percutaneous Absorption*. 4th ed. FL: Taylor & Francis; 2005. p.331-50.
72. Gehring W, Gloor M. [Evaluation of a dexpanthenol-containing formulation in the repetitive washing test as a model for the investigation of barrier creams]. *Akt Dermatol* 2001;27(8-9):279-84.
73. Lodén M, Bárány E. Skin-identical lipids versus petrolatum in the treatment of tape stripped and detergent-perturbed human skin. *Acta Derm Venereol* 2000;80(6):412-5.
74. Höltje M, Förster T, Brandt B, Engels T, van Rybinski W, Höltje HD. Molecular dynamics simulations of stratum corneum lipid models: fatty acids and cholesterol. *Biochim Biophys Acta* 2001;1511(1):156-67.
75. Jadoul A, Doucet J, Durand D, Preat V. Modifications induced on stratum corneum structure after in vitro iontophoresis: ATR-FTIR and x-ray scattering studies. *J Contr Rel* 1996;42(2):165-73.
76. Jadoul A, Bouwstra JA, Preat V. Effects of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum, review of the biophysical studies. *Adv Drug Del Rew* 1999;35(1):89-105.

77. Pouliot R, Germain L, Auger A, Tremblay N, Juhasz J. Physical characterization of the stratum corneum of an in vitro human skin equivalent produced by tissue engineering and its comparison with normal human skin by ATR-FTIR spectroscopy and thermal analysis (DSC). *Biochim Biophys Acta* 1999;1439(3): 341-52.
78. Pilgram GSK, Engelsma van Pelt AM, Ooestergetel GT, Koerten HK, Bouwstra JA. Study on the lipid organization of stratum corneum lipid models by cryo electron diffraction. *J Lipid Res* 1998;39(8):1669-76.
79. Schreiner V, Gooris GS, Pfeiffer S, Lanzendorf G, Wenck H, Diembeck W, et al. Barrier characteristics of different human skin types investigated with x-ray diffraction, lipid analysis and electron microscopy imaging. *J Invest Dermatol* 2000;114(4):654-60.
80. Bouwstra JA, Gooris GS, Dubbelaar FER, Weerheim AM, Ijzerman AP, Ponc M. Role of ceramide 1 in the molecular organization of the stratum corneum lipids. *J Lipid Res* 1998;39(1):186-96.
81. Pilgram GSK, van der Meulen J, Gooris GS, Koerten HK, Bouwstra J. The influence of two azones and sebaceous lipids on the lateral organization of lipids isolated from human stratum corneum. *Biochim et Biophys Acta* 2001;1511(2):244-54.
82. Krill SL, Knutson K, Higuchi WI. The stratum corneum lipid thermotropic phase behavior. *Biochim Biophys Acta* 1992;1112(2):281-6.
83. Lawson EE, Anigbou ANC, Williams AC, Barry BW, Edwards HGM. Thermally induced molecular disorder in human stratum corneum lipids compared with a model phospholipid system; FT-Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta* 1998;54A(3):543-58.
84. Moore DJ, Rerek ME, Mendelsohn R. Lipid domains and orthorhombic phases in model stratum corneum: evidence from FTIR spectroscopy studies. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234(3):797-801.
85. Velkova V, Lafleur M. Influence of the lipid composition on the organization of skin lipid model mixtures: an infrared spectroscopy investigation. *Chemistry and Physics of Lipids* 2002;117(1-2):63-74.
86. Babita K, Kumar V, Rana V, Subheet J, Tiwary AK. Thermotropic and spectroscopic behavior of skin: relationship with percutaneous penetration enhancement. *Curr Drug Del* 2006;3(1):95-113.
87. Mendelsohn R, Moore DJ. Vibrational spectroscopic studies of lipid domains in biomembranes and model systems. *Chem Phys Lipids* 1998;96(1-2):141-57.
88. Mendelsohn R, Moore DJ. Infrared determination of conformational order and phase behavior in ceramides and stratum corneum models. *Methods in Enzymology* 2000;312: 228-47.
89. Naik A, Guy RH. Infrared spectroscopic and differential scanning calorimetric investigations of the stratum corneum barrier function. In: Potts RO, Guy RH, eds. *Mechanisms of Transdermal Drug Delivery*. 1sted. NY: Marcel Dekker; 1997. p.87-162.
90. Stuart B. Biological Applications. In: Stuart B, ed. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. England: John Wiley&Sons; 2004. p. 138-140.
91. Bouwstra JA, Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS, Ponc M. Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Progress in Lipid Research* 2003;42(1):1-36.
92. Harrison JE, Groundwater PW, Brain KR, Hadgraft J. Azone induced fluidity in human stratum corneum. A fourier transform infrared spectroscopy investigation using the perdeuterated analogue. *J Controlled Release* 1996;41(3):283-90.
93. Laugel C, Rafidison P, Potard G, Aguadisch L, Baillet A. Modulated release of triterpenic compounds from a O/W/O multiple emulsion formulated with dimethicones: infrared spectrophotometric and differential calorimetric approaches. *J Cont Rel* 2000;63(1-2):7-17.
94. Chen HC, Mendelsohn R, Rerek ME, Moore DJ. Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry studies of fatty acid homogeneous ceramide 2. *Biochim Biophys Acta* 2000;1468(1-2):293-303.
95. Gay CL, Guy RH, Golden GM, Mak VHW, Francoeur, ML. Characterization of low temperature lipid transitions in human stratum corneum. *J Inv Dermatol* 1994;103(2):233-9.
96. Brancalion L, Bamberg MP, Skamaki T, Kollias N. Attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy as a possible method to investigate biophysical parameters of stratum corneum in vivo. *J Inv Dermatol* 2001;116(3):380-6.
97. Curdy C, Naik A, Kalia YN, Alberti I, Guy RH. Non invasive assesment of the effect of formulation excipients on stratum corneum barrier function in vivo. *Int J Pharm* 2004;271(1-2):251-6.
98. Bodde HE, Pechtold LARM, Subnel MTA, de Haan FHN. Monitoring in vivo skin hydration by liposomes using infrared spectroscopy in conjunction with tape stripping. In: Braun-Falco O, Korting HC, Maibach HI, eds. *Liposome Dermatics*. 1sted. Berlin: Springer Verlag; 1992.
99. Goni FM, Alonso A. Spectroscopic techniques in the study of membrane solubilization, reconstitution and permeabilization by detergents. *Biochim Biophys Acta* 2000;1508(1-2): 51-68.
100. Glombitza B, Müller-Goyman C. Influence of different ceramides on the structure of in vitro model lipid systems of the stratum corneum lipid matrix. *Chemistry and Physics of Lipids* 2002;117(1-2):29-44.
101. Inoue T, Yanagihara SI, Misono Y, Suzuki M. Effect of fatty acids on phase behavior of hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer: saturated versus unsaturated fatty acids. *Chem Phys Lipids* 2001;109(2):117-33.
102. Krill SL, Knutson K, Higuchi WI. Ethanol effects on the stratum corneum lipid phase behavior. *Biochim Biophys Acta* 1992;1112(2): 273-80.
103. Ongpipattanakul B, Francoeur ML, Potts RO. Polymorphism in stratum corneum lipids. *Biochim Biophys Acta* 1994;1190(1):115-22.
104. van der Merwe D, Riviere JE. Comparative studies on the effects of water, ethanol, and water/ethanol mixtures on chemical partitioning into porcine stratum corneum and silastic membrane. *Toxicology in Vitro* 2005;19(1):69-77.
105. Vaddi HK, Ho PC, Chan SY. Terpenes in propylene glycol as skin penetration enhancers: permeation and partition of haloperidol, fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry. *J Pharm Sci* 2002;91(7):1639-51.
106. Touitou E, Meidan VM, Horwitz E. Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. *J Contr Rel* 1998;56(1-3):7-21.
107. Nair VB, Panchagnula R. Influence of electrical parameters in the iontophoretic delivery of a small peptide: in vitro studies using arginine, vasopressin as a model peptide. *II Farmaco* 2004;59(7):583-93.
108. Gloor M, Hirsch G, Willebrandt U. On the use of infrared spectroscopy for the in vivo measurement of the water content of the horny layer after application of dermatologic ointments. *Arch Dermatol Res* 1981;271(3):305-13.
109. Gloor M, Heymann B, Stuhert T. Infrared spectroscopic determination of the water content of the horny layer in healthy subjects and in patients suffering from atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1981;271(4):429-36.
110. Rizwan M, Aqil M, Ahad A, Sultana Y, Ali MM. Transdermal delivery of valsartan: I. Effect of various terpenes. *Drug Dev Ind Pharm* 2008;34(6):618-26.
111. Erdal MS, Araman A. [Investigation of the interaction of vernix caseosa with human skin using biophysical methods]. *Turkiye Klinikleri J Dermatol* 2007;17(3):171-9.

112. Erdal MS, Özdin D, Güngör S. ATR-FTIR spectroscopic analysis of the effect of terpene/co-solvent mixtures on pig skin. *Eur J Pharm Sci* 2009;38(Suppl 1):147-9.
113. Güngör S, Erdal MS, Özdin D. In-vitro and in-vivo evaluation of penetration enhancer effects of terpene-transcutol mixtures with ATR-FTIR spectroscopy. *J Pharm Pharmacol* 2010; 62(6):801.
114. Abramovits W, Stevenson LC. Changing paradigms in dermatology: new ways to examine the skin using noninvasive imaging methods. *Clin in Dermatol* 2003;21(5):353-8.
115. Bernard G, Auger M, Soucy J, Pouliot R. Physical characterization of the stratum corneum of an in vitro psoriatic skin model by ATR-FTIR and Raman spectroscopies. *Biochim Biophys Acta* 2007;1770(9):1317-23.
116. Osada M, Gniadecka M, Wulf HC. Near-infrared Fourier transform Raman spectroscopic analysis of proteins, water and lipids in intact normal stratum corneum and psoriasis scales. *Exp Dermatol* 2004;13(6):391-5.
117. Kilpatrick-Liverman LT, Kazmi P, Wolff E, Polefka TG. The use of near-infrared spectroscopy in skin care applications. *Skin Res Technol* 2006;12(3):162-9.