

Aus der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie des
Universitätsklinikums Halle (Saale)
(Direktor: Prof. Dr. med. W. Ch. Marsch)

**Klinische Studie zur Validierung der barriere-protektiven Wirksamkeit
bipolarer Lipide**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Franziska Herrmann
geboren am 24. Februar 1981 in Halle (Saale)

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. J. Wohlrab
2. Prof. Dr. med. U. Blume- Peytavi
3. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. Proksch

02.11.2010

10.11.2011

Referat

Das Stratum corneum stellt mit seinen drei Hauptkomponenten: dem Korneozyten, der interzellulären Lipidmatrix und dem „cornified envelope“ ein hochgeordnetes multilamellares System dar. Die Schicht ist durch ihre außergewöhnliche Lipidzusammensetzung charakterisiert und repräsentiert damit die Hauptpenetrationsbarriere der menschlichen Haut.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Untersuchung der Wirksamkeit von bilayerbildenden Lipiden (DMS®) in Form des Physiogels® A.I. mit und ohne Lichtschutz nach topischer Applikation auf die Hydratation und Barrierefunktion des Stratum corneum.

Im Rahmen eines randomisierten, doppelblinden, intra-individuellen Parallelseitenvergleiches erfolgte die Untersuchung der Wirksamkeit der Studienpräparate (Physiogel® A.I. mit oder ohne Lichtschutz) an 30 gesunden Probanden, die durch die Anwendung von Tape Stripping eine morphologische Reduktion ihres Stratum corneum erfuhren. Dabei wurden die Testpräparate zweimal täglich über einen Zeitraum von fünf Tagen appliziert. Durch etablierte Messmethoden wie die Corneometrie und Tewametrie wurde als Zielparameter die Hydratation der Hornschicht und der transepidermale Wasserverlust erfasst.

Die Ergebnisse zeigen, dass die beschriebenen Verfahren geeignet sind, um die gewählten Zielparameter bewerten zu können. Die Wirksamkeit der beiden Testpräparate konnte in der Corneometrie belegt werden, weil insbesondere der Wassergehalt des Stratum corneum anstieg. Im Gegensatz dazu, konnte in der Tewametrie aufgrund ihrer Sensitivität und intra- bzw. interindividuellen Schwankungen keinen Nachweis hinsichtlich der Effizienz belegt werden.

Es bleibt festzuhalten, dass das untersuchte Dermamembransystem eine Substitution der Barrierefunktionalität realisiert. Insbesondere die bipolaren Lipide in diesem System, wie Phosphatidylcholine, weisen zum einen eine bessere Verträglichkeit auch auf sensitiver Haut auf und können zum anderen die physiokochemischen Gegebenheiten der natürlichen Barriere nachahmen. Die besonderen Vorteile gegenüber den bisherigen Strategien oder Standardvehikelsystemen sind vor allem in der mittel- und langfristigen Effektivität des Systems zu sehen. Die Zukunft wird durch weitere klinische Studien und Entwicklungen derartiger Systeme zeigen, ob diese Vorteile, die sich abzeichnen und die physikochemisch gut begründbar sind, auch in der Pharmakotherapie eine breite Anwendung finden.

Herrmann, Franziska: Klinische Studie zur Validierung der barriere-protectiven Wirksamkeit bipolarer Lipide
Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 71 Seiten, 2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Aufbau und Funktion der menschlichen Haut	1
1.2	Das Stratum corneum – Struktur, Zusammensetzung und Funktion	3
1.2.1	Barrierefunktion des SC	5
1.3	Lipidzusammensetzung im SC	7
1.3.1	Veränderung in der Lipidzusammensetzung des SC	11
1.4	Atopische Dermatitis	12
1.4.1	Barrierefunktion bei atopischer Dermatitis	13
1.4.2	Basistherapie	14
1.5	Vehikelsysteme	15
1.5.1	Klassische Emulsionssysteme	15
1.5.2	Moderne Vehikelsysteme	16
1.5.3	Liposomen	17
1.5.4	Charakteristik Lamelläre Systeme – Derma-Membran-Struktur (DMS®)	18
1.5.5	Vergleich DMS® Basiscreme zu klassischen Emulsionssystemen	21
2	Zielstellung	24
3	Material und Methoden	25
3.1	Studiendesign	25
3.2	Studienprocedere	25
3.3	Patienten	27
3.3.1	Einschlusskriterien	27
3.3.2	Ausschlusskriterien	27
3.4	Studienmedikation	28
3.4.1	Studienpräparate	29
3.4.2	Dosis, Randomisierung und Blindung	30
3.5	Teststrategie	30
3.5.1	Lokalisation der Testareale	30
3.5.2	Primärer Zielparameter - Transepidermaler Wasserverlust mittels Tewametrie	30
3.5.3	Sekundärer Zielparameter – Hydratation mittels Corneometrie	32

3.5.4	Simulation einer Hautschädigung durch Tape Stripping	33
3.6	Adverse and Serious Adverse Events	33
3.7	Richtlinien und Durchführung der vorliegenden Studie	34
3.7.1	Good Clinical Practice – GCP	34
3.7.2	Good Manufacturing Practice – GMP	34
3.7.3	Monitoring klinischer Studien	34
3.8	Statistische Auswertung	34
4	Ergebnisse	36
4.1	Patienten	36
4.2	Corneometrie	36
4.2.1	Prüfung der Wirksamkeit der Studienpräparate 1 und 2	36
4.2.2	Nachweis des Strippingeffektes	40
4.3	Tewametrie	40
4.3.1	Prüfung der Wirksamkeit der Studienpräparate 1 und 2	40
4.3.2	Nachweis des Strippingeffektes	40
4.4	Vergleich Studienpräparate 1 und 2	43
4.5	Adverse and Serious Adverse Events	43
5	Diskussion	44
5.1	Physikochemische Eigenschaften der SC Lipide – Lipidmodellsysteme	44
5.2	Welchen qualitativen und quantitativen Effekt üben die beiden Testpräparate auf die epidermale Barrierenfunktion aus?	48
5.3	Strategien zur Barriersubstitution durch Applikation epikutaner Systeme oder Präparate	52
5.4	Gibt es einen Nachweis, dass Tape Stripping in dieser Studie einen Effekt auf die epidermale Barriere auslöst?	55
5.5	Lassen sich zwischen den beiden Testpräparaten relevante Unterschiede nachweisen?	56
6	Zusammenfassung	59
7	Literaturverzeichnis	61
8	Thesen	69

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

Abb.	Abbildung
AE	Adverse Events
ANOVA	Analysis of Variance
bzw.	beziehungsweise
CE	cornified envelope (Proteinhülle der Korneozyten)
CER	Ceramide
CER[EOS]	Ceramid [EOS]
CHOL	Cholesterol
ChS	Cholesterolsulfat
DMS®	Derma-Membran-Struktur
FFA	Free fatty acid (freie Fettsäuren)
fFS	freien Fettsäuren
EFAD	Essential fatty acid deficiency (essentielle Fettsäurenmangel)
EEMCO	European Group for Efficacy Measurements on Cosmetics and Other Topical Products
g/m ² h	Gramm pro Quadratmeter und Stunde
GCP	Good Clinical Practice
GMP	Good Manufacturing Practice
nm	Nanometer
NMF	Natural Moisturizing Factor (natürlicher Feuchtigkeitsfaktor)
O/W	Öl-in-Wasser
RuO ₄	Rutheniumtetroxid
SAE	Serious Adverse Events
SPO	Standard Operating Procedure
SC	Stratum corneum
Tab.	Tabelle
TEWL	Transepidermal Water Loss (transepidermaler Wasserverlust)
UV	Ultraviolettstrahlung

UVA	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 315 bis 380 nm
UVB	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich von 280 bis 315 nm
W/O	Wasser-in-Öl
µm	Mikrometer
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

1.1 Aufbau und Funktion der menschlichen Haut

Die Haut erfüllt lebenswichtige Aufgaben, die sich in Abwehr- und Schutzfunktion unterteilen lassen. Zum einen schützt sie als Barriere vor mechanischen, physikalischen, biologischen und chemisch-toxischen Noxen, das Eindringen und die Abgabe von körperfremden und -eigenen Substanzen. Zum anderen verhindert sie die Austrocknung der Haut durch Verdunstung und reguliert damit die Wasserabgabe und -aufnahme. Ein wichtiger Parameter, der transepidermale Wasserverlust (TEWL), ist entscheidend für die Untersuchung der Funktionsfähigkeit der Haut (Schneider und Wohlrab, 1997). Des Weiteren ist die Haut zur Sinneswahrnehmung befähigt und besitzt Sensoren für den Tastsinn (Berührung, Druck, Vibration) aber auch für Temperatur und Schmerz. Die Temperaturregulation, die Synthese von Vitamin D3 unter Einfluss von Sonnenlicht als auch die immunologische Abwehr fällt in den Aufgabenbereich der Haut (Junqueira et al., 2002, Welsch, 2006).

Histologisch lässt sich die Haut in drei Schichten gliedern. Von distal nach proximal gesehen sind dies die Epidermis (Oberhaut), Dermis (Lederhaut) und Subcutis (Unterhaut).

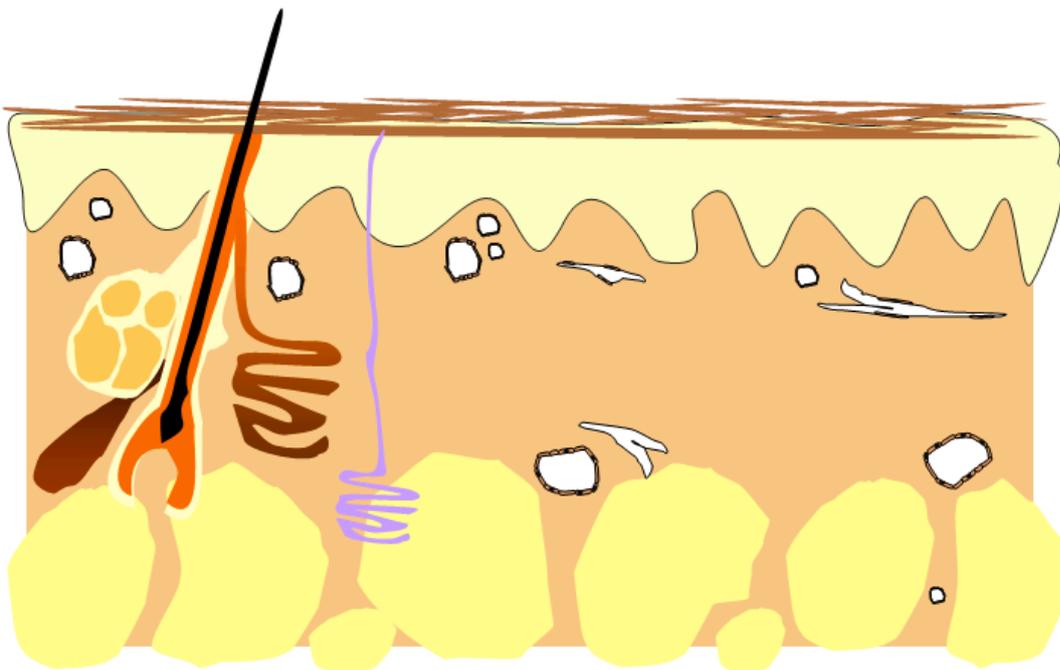


Abb. 1: Schematische Darstellung der menschlichen Haut

Die Subcutis, die tiefste Hautschicht des Körpers, besteht aus Fettgewebe, welches in Bindegewebssepten unterteilt wird und damit läppchenartig aufgebaut ist. Das Fettgewebe enthält viele univakuoläre Fettzellen, die aus einem einzigen großen Tropfen von Triglyzeriden bestehen (Henz und Auböck, 1998). Sie ist eine Verschiebe- und Verbindungsschicht zwischen Dermis und den Faszien der Muskulatur und gestattet die unterschiedlich gute Beweglichkeit der Haut (Steigleder, 1987; Junqueira et al., 2002). Die Subcutis dient als Nährstoff- und Wasserspeicher sowie als mechanisches Schutzpolster. Sie spielt auch bei der Wärmeisolierung eine entscheidende Rolle. In dieser Schicht liegen zahlreiche Blut- und Lymphgefäße, Nerven, Schweißdrüsen und Haarfollikel, die für die Versorgung der Dermis und Epidermis zuständig sind.

Die Dermis besteht aus Bindegewebe und ist durch zapfenförmige Verbindungen eng mit der darüberliegenden Epidermis verzahnt. Sie enthält eine gelartige Grundsubstanz aus besonderen Proteoglykanen wie Hyaluronsäure, saure Mucopolysaccharide, Dermatansulfat u.a., in deren lose ineinander verfilzte Kollagenfaserbündel und elastische, verzweigte Fasern eingebettet sind und damit der Haut Reißfestigkeit und Elastizität verleihen können. Außerdem weist diese Schicht ein ausgedehntes Gefäßnetz, Schweiß- und Talgdrüsen, Nervenbahnen und Sinneszellen (Berührungs- und Druckrezeptoren) auf. Das Gefäßsystem im Korium ist entscheidend für die Durchblutung der Haut und der Thermoregulation. Das Nervengeflecht mit seinen Berührungs-, Schmerz- und Thermorezeptoren ist verantwortlich für die Aufnahme von Reizen aus der Umwelt (Fritsch, 1990; Welsch, 2006).

Die Epidermis als äußerste Schicht der Haut ist ein klassisches Proliferationsgewebe, das sich ständig erneuert und die eigentliche Schützhülle und die direkte Verbindung des Menschen zu seiner Umwelt darstellt. Sie ist ein mehrschichtiges, verhorntes Plattenepithel, dessen Dicke von verschiedenen Faktoren wie Körperregion, Geschlecht und Alter abhängig ist. Die Dicke kann zwischen 30 und 300 µm variieren, wobei insbesondere die Leistenhaut an Handflächen und Fußsohlen am dicksten ist und sich von der Felderhaut des übrigen Körpers unterscheidet.

Die Zellen der Epidermis bestehen zu 90% aus Keratinozyten, während die Nicht-Keratinozyten wie zum Beispiel die Lymphozyten, die Merkelzellen (Mechanorezeptoren), die pigmentproduzierenden Melanozyten und die immunologisch aktiven Langerhans-Zellen in geringerer Zahl vorhanden sind (Moll, 2005).

Die Epidermis teilt sich histologisch von innen nach außen in mehrere horizontal angeordnete und ineinandergreifende Schichten. Die tiefste Zellschicht der Epidermis ist das Stratum basale (Basalzellschicht), dem sich das Stratum spinosum (Stachelzellschicht), das

Stratum granulosum (Körnerschicht) und als äußerste Schicht der Epidermis das Stratum corneum (Hornschicht) anschließen. Im Stratum basale entstehen durch Zellproliferation Keratinozyten, die nach zunehmender Differenzierung, Keratinisierung und Zellreifung in die mittleren Epidermisschichten bis in das Stratum corneum gelangen, wo es zu einer Bildung der protektiven Hornschicht und einer Abstoßung abgestorbener, kernloser Korneozyten (Hornzellen) führt.

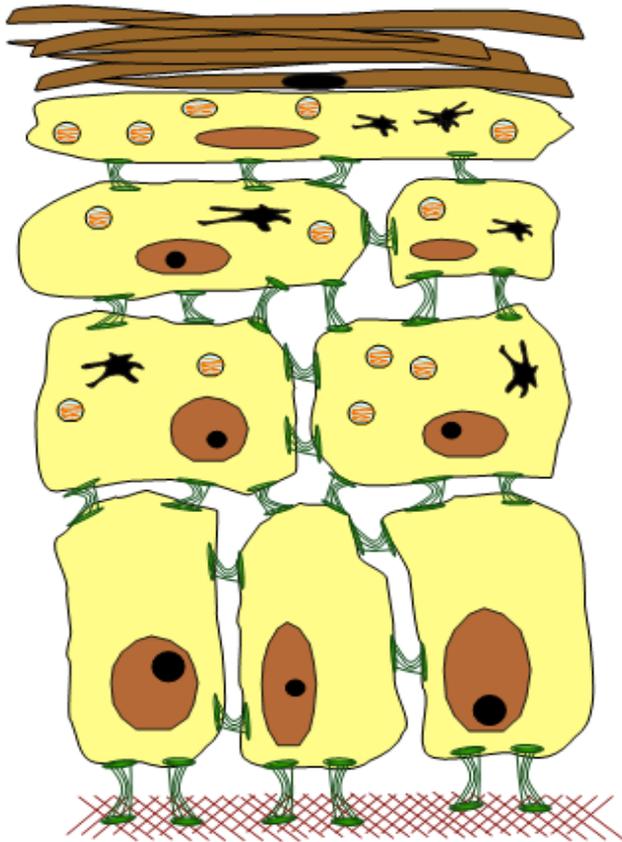


Abb. 2: Schematische Darstellung der Mikrostrukturen der Epidermis

1.2 Das Stratum corneum – Struktur, Zusammensetzung und Funktion

Die Lipiddoppelschichten des Stratum corneum sind unter den biologischen Membranen hinsichtlich der Zusammensetzung, Organisation und physikalischen Eigenschaften einzigartig (Harding, 2004). Das Stratum corneum (SC) ist das Endprodukt der epidermalen Differenzierung und enthält circa 15 % Wasser, 70 % Proteine und 15 % Lipide. Es hat durch seine Funktion als äußere Grenze des Menschen zur Umwelt zunehmend an

Bedeutung gewonnen und besteht aus drei wichtigen Komponenten. Proteinreiche, abgestorbene, etwa 40 μm lange, 0,5 bis 0,8 μm dicke Korneozyten vergleicht man mit Ziegelsteinen (erste Komponente), die in eine lipophile, lipidreiche interzelluläre Matrix als Mörtelschicht (zweite Komponente) eingebettet sind. Von großer Relevanz ist das „cornified envelope“ (CE), welches eine widerstandsfähige Hülle der Korneozyten darstellt und als dritte Komponente eine wichtige Rolle in dem Backsteinmodell spielt. Die Verbindung zwischen der Proteinhülle der Korneozyten und der Lipidmatrix ist entscheidend für die Barrierefunktion (Meguro et al., 2000). Das cornified envelope besteht aus einer 15-20 nm dicken, straffen Struktur mit strukturellen und spezialisierten Lipiden bzw. Proteinen wie Involucrin, Locircrin, kleine prolinreiche Proteine, Keratinzwischenfilamente, Elafin, Cystatin A und desmosomale Proteine (Nemes und Steinert, 1999; Harding, 2004). Die Rolle des cornified envelope wird nicht nur als eine mechanische Barriere angesehen, sondern auch als Gerüst, welches sezernierende, extrazelluläre Lipide in die lamellaren Membranstrukturen organisiert und somit die Permeabilitätsbarrierefunktion vermittelt (Elias, 2005).

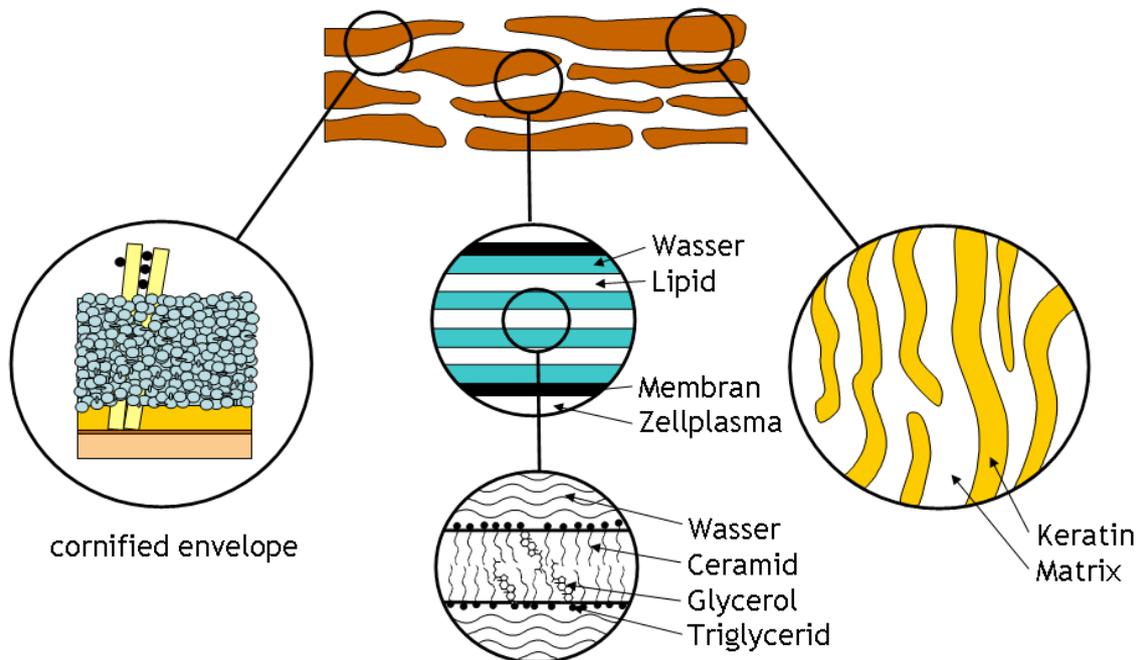


Abb. 3: Backsteinmodell: modifizierte Darstellung der strukturellen und funktionellen Komponenten des Stratum corneum nach Barry (1987)

Das Stratum corneum stellt die Hauptpermeabilitätsbarriere der Haut dar und ist dem ständigen oxidativen Stress wie Sonnenlicht, Lipidperoxidation und verschiedenen

oxidativen Modifikationen ausgesetzt. Die wichtigsten Einflussgrößen für die Permeabilität sind die Barriere- und Reservoirfunktion. Die Barrierefunktion steht räumlich im umgekehrten Verhältnis zur Reservoirfunktion: Mit wachsender Tiefe nimmt die Barrierefunktion zu, die Reservoirfunktion für topisch aufgetragene Stoffe ab (Pittermann, 2007). Die Hornschicht ist auch Übermittler äußerer Reize und hilft der Epidermis auf den jeweiligen Reiz zu reagieren. Im interzellulären Bereich des Stratum corneums dominieren die klassischen regulativen Funktionen wie transkutaner Wasserverlust, Kohäsion und Desquamation, Wassergehalt und perkutane Absorption (Elias, 1991).

1.2.1 Barrierefunktion des Stratum corneum

Die Entdeckung der interzellulären Lipide mit ihrer speziellen Anordnung lieferte Elias die Grundlage des noch immer aktuellen heterogenen, einzigartigen Zwei-Kompartimenten-Modells. Die Funktionsstruktur des SC wird als „brick and mortar model“ (Elias, 1983) beschrieben und ähnelt einer Ziegelsteinmauer. Dabei sind die Korneozyten als Backsteine für die chemische und mechanische Stabilität des SC zuständig und in der interzellulären Lipidmatrix (dem Mörtel) eingebettet, die eigentliche Barrierefunktion, die für die Aufrechterhaltung der Wasserhomöostase und für das Verhindern des Eindringens von exogenen Substanzen verantwortlich ist. Die Hornzellen werden zusammen mit den epidermalen Lipiden durch interzelluläre Proteinstrukturen, die modifizierten Korneodesmosomen, zusammengehalten, deren Abbau zur Desquamation der Korneozyten führt.

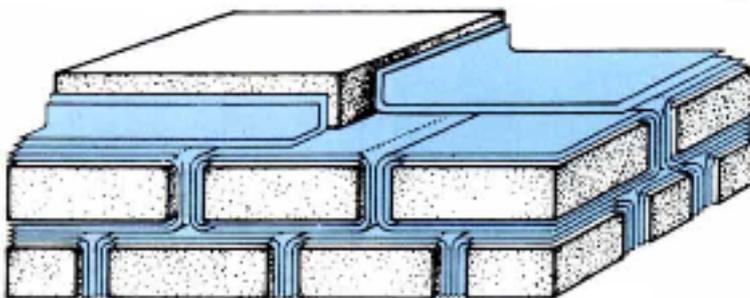


Abb. 4: Schematische Vorstellung des Stratum corneum als „brick and mortar“ Modell nach Landmann (1991)

Entscheidend für die Barrierefunktion ist die Verbindung zwischen der Proteinhülle der Korneozyten (cornified envelope) und der interzellulären Lipidmatrix (Meguro et al., 2000).

Sie wird durch den sogenannten „lipid envelope“ gebildet, eine Lipidhülle aus sehr langkettigen Omegahydroxyceramiden, die kovalent an den Strukturproteinen der Korneozyten gebunden sind (Marekov und Steinert, 1998). Die Korneozyten stellen 80 Vol% des SC dar und besitzen die Fähigkeit zur Wasserbindung. Das Innere der Hornzellen verfügt über große Mengen Keratin sowie den „Natural Moisturizing Factor“ (NMF). Dies ist ein Gemisch aus stark hygroskopischen Aminosäuren (Urocainsäure, Milchsäure, Urea und andere) und wird im Laufe der Differenzierung der Korneozyten durch die Hydrolyse aus Filaggrin gebildet, welches in den Keratohyalingranula enthalten ist (Harding, 2004; Wohlrab, 2005).

Das Wissen über die Organisation und die Zusammensetzung der interzellulären Lipidmatrix ist von großer Wichtigkeit, da die Barrierefunktionalität in dieser Lipidmatrix vermittelt wird und im Wesentlichen auf membranphysiologische Bedingungen aufbaut. Die Grundlage für die Bildung von Membranen sind die physikochemischen Eigenschaften der einzelnen Moleküle.

Im Laufe der letzten 20 Jahre ist klar geworden, dass die Lipide zwischen den Korneozyten einen Dichtungsmechanismus darstellen und aufgrund ihrer hydrophoben Eigenschaften nahezu wasserundurchlässig sind. Diese Charakteristik ist jedoch abhängig von der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Lipide und durch die Nahrungsfaktoren erheblich beeinflussbar.

In den letzten Jahrzehnten sind das Interesse an der Hautfeuchtigkeit sowie die Messung des Wasserverlustes des menschlichen Körpers beträchtlich gestiegen. Blank zeigte anhand vieler Studien, dass das Wasserbindungs- und Haltevermögen der Hornschicht und damit die strukturelle Intaktheit des SC eine wichtige Rolle für die funktionelle Belastbarkeit und den kosmetischen Eindruck der Haut spielen. Mit diesen Erkenntnissen versuchte Blank einen Weg für die Entwicklung von Messverfahren zur Bestimmung der Hautfeuchtigkeit in vivo zu finden (Blank, 1952). Neben den Methoden zur Bestimmung des Wassergehalts des SC wurden mehrere Verfahren zur Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) entwickelt. Dieser dient als wichtiger Parameter zur Beurteilung der Barrierefunktion des SC. Anhand der TEWL Messung mit dem Tewameter kann man die genaue Verdunstungsrate bestimmen und wird in $\text{g}/(\text{hm}^2)$ angegeben. Der transepidermale Wasserverlust korreliert mit dem Grad der Barrierefunktion: Je höher die TEWL - Werte, desto geringer die Barrierefunktion des SC. Beide Methoden, die Messung des Wassergehaltes der Hornschicht und des TEWL, sind zur Erfassung der trockenen, rauen, rissigen Haut wichtig (Zienicke, 1990).

1.3. Lipidzusammensetzung im Stratum corneum

Die Lipidzusammensetzung der Hornschicht ist faszinierend und einzigartig. Es wird im Stratum corneum zwischen den frei extrahierbaren interzellulären und den an die Hornhülle kovalent gebundenen Lipiden unterschieden. Sie können erst nach alkalischer Verseifung freigesetzt werden. Im Laufe der letzten Jahre hat sich gezeigt, dass die frei extrahierbaren SC Lipide vor allem aus Ceramiden, Cholesterol und freien Fettsäuren zusammengesetzt sind.

Die Lipide im Interzellularraum machen etwa 10 - 30% des Gesamtvolumens bzw. 10 - 15% der Gesamtmasse des Stratum corneum aus (Grayson und Elias, 1982). Die Ceramide mit ca. 40% des Gesamtgewichts der Lipide sind die größte Fraktion an extrahierbaren Lipiden, gefolgt von Cholesterol mit 25 - 30% und freien Fettsäuren mit 10 - 25% (Abraham et al., 1987; Wertz et al., 1987; Wertz, 2000). Kleinere Mengen von Cholesterolester (10%) und Cholesterolsulfate (1,9%) scheinen eine kritische Rolle in der normalen Barrierefunktion zu spielen. Die am stärksten vertretenen Lipide auf der Hautoberfläche sind die Sebumlipide, die aus den Talgdrüsen stammen. Diese Talglipide befinden sich fast nur in den oberen Schichten des SC und bestehen im Wesentlichen aus Triglyceriden (57%), Wachsester (25%) und Squalen (12%), freie Fettsäuren und geringen Mengen an freiem Cholesterol. Die Hydrolyse von Triglyceriden an der Oberfläche ist voraussichtlich wichtig, um den freien Fettsäuregehalt des SC zu beeinflussen.

Für die einzelnen Lipide im SC schwanken die prozentualen Angaben je nach Autor sehr unterschiedlich, die sich einerseits aus der Verwendung unterschiedlicher Extraktionsmethoden und -mittel und andererseits aus der inter- und intraindividuellen Variabilität der Lipidzusammensetzung, letzteres in Abhängigkeit von den untersuchten Körperregion, ergeben (Lampe et al., 1983; Wertz 1996a; Ponc et al., 2003).

Das fast vollständige Fehlen von Phospholipiden im SC unterscheidet die Lipidbarriere der Hornschicht von anderen Biomembranen, die vor allem aus Phospholipiden aufgebaut sind (Neubert et al., 2001).

Im SC sind drei essentielle Sterolderivate wie Cholesterol, Cholesterolsulfat und Sterolester vertreten. Die Fraktion der freien Sterole beträgt im SC 14% der Hornschichtlipide. Als wichtigstes Sterol muss das Cholesterol angesehen werden, welches in den verschiedensten Geweben sowohl frei als auch mit Fettsäuren verestert, vorkommt. Als ubiquitärer Bestandteil aller Zellmembranen beeinflusst die Membranfluidität in Abhängigkeit von ihrem jeweiligen Gewichtsanteil und der Eigenschaften anderer Membranbestandteile

(Melnik, 1990; Wertz, 1996a). Der steigende Cholesteringehalt kann zu einer Verflüssigung der kristallinen Phase führen, was eine erhöhte Permeabilität der Barrierschicht zur Folge hat. Eine wesentliche Rolle scheint das Cholesterin in der Regulation der Mobilität der Kohlenwasserstoffketten der SC Lipide zu spielen (Mizushima et al., 1996). Innerhalb des Stratum corneum unterliegt die Cholesterinkonzentration nicht nur einer individuellen sondern auch einer körperregionalen Variation (Lampe et al., 1983).

Cholesterinsulfat (ChS) ist nur in kleinen Mengen an den Hornschichtlipiden beteiligt und dennoch spielt dieses starke amphipatische, polare Lipid in der intermolekularen Quervernetzung und Kohäsion der angrenzenden Korneozyten eine entscheidende Rolle. Es trägt im Wesentlichen zur Integration der Hornschichtlipidlamellen und Desquamation bei (Lampe et al., 1983). Erklärt wird es anhand des negativen Cholesterinsulfates mit positiv geladenen Kalziumionen, die eine Stabilisierung der multilamellaren Lipidschichten bewirken. Seine höchste Konzentration erreicht Cholesterinsulfat im Stratum granulosum, während in den abschilfernden Hornzellen des SC nur noch Spuren nachweisbar sind (Long et al., 1985; Melnik, 1990).

Einen großen Anteil an freien Fettsäuren enthalten die multilamellaren Lipidschichten im SC und während der Differenzierung entstehen langkettige, meist vollständig gesättigte Spezies. Die Kettenlängen der fFS variieren von 12 bis 24 Kohlenstoffatomen, wobei C16 und C18 dominieren (Lampe et al., 1983). Essentielle Fettsäuren, insbesondere die ungesättigten, sind für den Aufbau und Erhaltung der lamellaren Strukturen und der Barrierefunktion entscheidend. Dabei kommt der epidermalen Linolsäure eine besondere Bedeutung zu. Sie ist mit der endständigen ω -Hydroxyfettsäure des Ceramides 1 und A verestert und kann aufgrund ihrer extremen Moleküllänge in benachbarte Lipidmembranen hineinragen (Melnik, 1990; Schürer et al., 1991). Die Linolsäure spielt daher eine sehr wichtige Rolle in Aufrechterhaltung der epidermalen Integrität durch Eingreifen in die Kohäsion des SC und Prävention des transepidermalen Wasserverlustes (Berbis et al., 1990). Die Ceramide (CER) stellen die größte Komponente des Stratum corneum dar und machen ca. 40% an Gewicht der SC Lipide aus. (Gray et al., 1978; Hamanaka et al., 2002). Ihre Bedeutung im SC liegt in der Ausbildung der Lipidbarriere, während sie, in fast allen Geweben des Organismus vorkommen, schon in geringen Konzentrationen als Signalsubstanz fungieren (Colina et al., 2005). Sie bestehen aus langkettigen Sphingoidbasen, die über eine Amidbindung mit einer N-hydroxy- oder α -Hydroxyfettsäure verbunden sind. Bei den hydroxilierten Fettsäuren kann man α - und ω -Hydroxyfettsäuren unterscheiden. Die Sphingoidbasen beinhalten vor allem Sphingosin,

Phytosphingosin und 6-Hydroxysphingosin (Melnik, 1990; Paschold, 2005). Strukturelle Unterschiede in der Kettenlänge, Typ und Ausmaß der Hydroxilierung sowie in der Sättigung sind verantwortlich für die Heterogenität der epidermalen Sphingolipide (Coderch et al., 2003).

In den ersten Studien wurden sechs strukturell unterschiedliche Ceramidfraktionen (Ceramid 1, 2, 3, 4/5, 6I und 6II) im menschlichen SC identifiziert (Wertz et al., 1987). Robson et al. und Hamanaka et al. konnten in ihren Studien chromatographisch sieben Ceramide unterscheiden. Schon wenig später wurden aus einigen Ceramidfraktionen weitere Ceramide 8 und 9 separiert. Diese siedeln sich chromatographisch zwischen den bereits genannten Ceramiden 1-7 an. So war die Nomenklatur der Ceramide, welche anfangs auf ein Nummerierungssystem basierte und die anhand ihrer Mobilität in der Reihenfolge steigender Polarität mit arabischen Zahlen (Cer1-Cer7) gekennzeichnet waren, wenig aussagekräftig (Robson et al., 1994; Hamanaka et al., 2002). Heutzutage wird eine geeignete Nomenklatur von Motta et al. (1993) bevorzugt, die sich insbesondere auf die chemische und molekulare Struktur der Ceramide bezieht. So bezeichnet der letzte Buchstabe immer die Sphingoidbasis: Zum Beispiel „S“ für Sphingosin, „P“ steht für Phytosphingosin und „H“ für 6-Hydroxysphingosin. Die Fettsäuren werden nach der Hydroxilierung mit A für α -Hydroxyfettsäure, N für Nichthydroxyfettsäure oder O für ω -Hydroxyfettsäure benannt. Die Fettsäure kann an ihrer ω -Hydroxyfettsäure mit einer weiteren Fettsäure verestert sein und dafür steht der Buchstabe E (Motta et al., 1993).

Innerhalb der Ceramidklassen wird das CER[EOS] aufgrund seiner einzigartigen Lipidstruktur eine besondere Bedeutung zugewiesen. Das CER[EOS] ist ein außergewöhnliches Sphingolipid, da es eine amidgebundene langkettige ω -Hydroxyfettsäure aufweist und über die ω -Hydroxylgruppe mit einer kürzeren Nichthydroxyfettsäure verestert ist. In der Hornschicht liegt diese Nichthydroxyfettsäure zu 41% als Linolsäure vor. Aufgrund seiner besonderen Moleküllänge ist dieses CER[EOS] fähig, benachbarte Lipiddoppelschichten der interkorneozytären Lipidlamellen miteinander zu verzahnen. Deshalb ist dieses Ceramid für die Stabilität und Struktur der Lipidlamellen und damit die Barrierefunktion der Haut von großer Bedeutung, obwohl es mit 3,2% nur einen geringen quantitativen Anteil aufweist (Wertz et al., 1983; Long et al., 1985; Melnik, 1990).

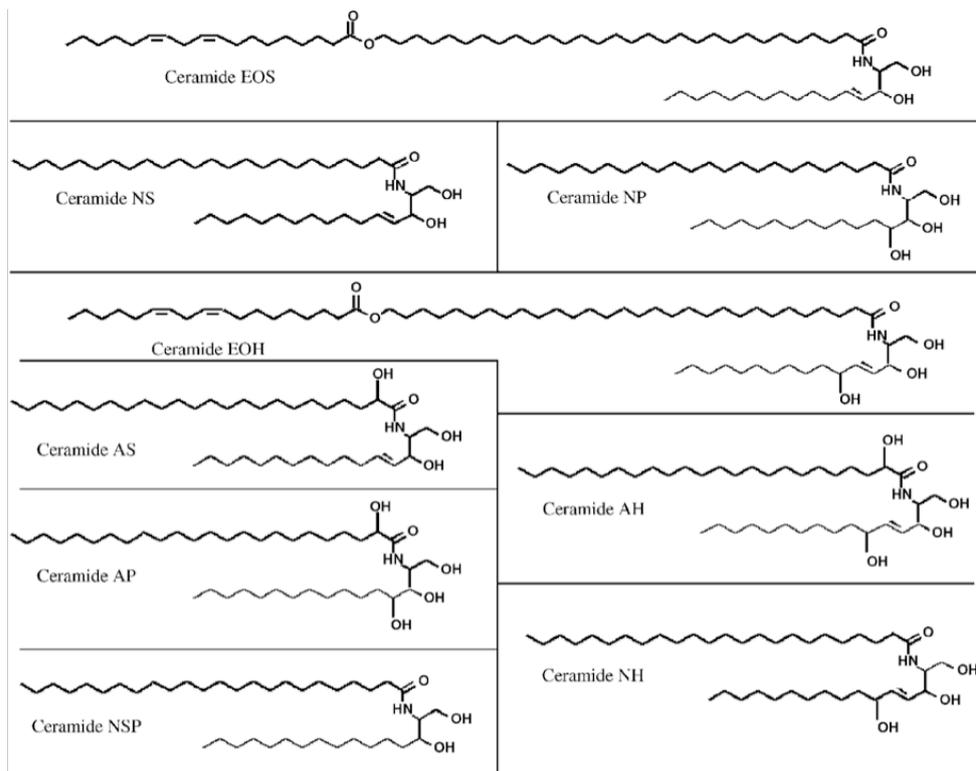


Abb. 5: Molekulare Struktur und Nomenklatur der individuellen Ceramide nach Harding (2004)

Die Sphingoglykolipide, eine weitere Untergruppe der Sphingolipide, sind an der terminalen Hydroxylgruppe des Sphingosins bzw. Phytosphingosins mit Glukose glykosidisch verknüpft. Besonders hervorzuheben, ist das Acylglukosylceramid (Ceramid A), das etwa 50% aller epidermalen Glykolipide ausmacht und auch aus Sphingosin, Glukose und einer langkettigen ω -Hydroxyfettsäure in Amidbindung zusammengesetzt ist. Wie bei dem CER[EOS] ist die ω -Hydroxylgruppe dieser ω -Hydroxyfettsäure zum größten Teil mit Linolsäure verestert. Die Acylglukosylceramide sind überwiegend in den Odland bodies angereichert und bilden mit den Hüllproteinen (Involukrin, Lorikrin und „small proline rich protein“) der Korneozyten den „cornified envelope“ (Melnik, 1990; Steinert et al., 1995).

Abschließend ist an dieser Stelle zu sagen, dass die Ceramide sowohl die quantitativ größte Fraktion der SC Lipide darstellen als auch eine essentielle Rolle bei der Strukturierung und Aufrechterhaltung der Barrierefunktion des SC spielen. Zu diesem Zeitpunkt ist eine detaillierte Funktion der einzelnen Ceramidklassen noch nicht bekannt, jedoch wird ein genaues Wissen über deren physikochemischen Eigenschaften unbedingt erforderlich sein, um den Einfluss der neun Ceramide auf die Barrierefunktion zu analysieren.

1.3.1 Veränderung in der Lipidzusammensetzung des SC

Störungen in der Funktionsfähigkeit der epidermalen Permeabilitätsbarriere, wenn auch eine Konsequenz von umweltbedingten Faktoren oder angeborenen metabolischen Defekten, können schwere Auswirkungen auf die gesamte Hautbeschaffenheit haben. Eine Vielzahl von Faktoren, einschließlich Krankheit, Diät, Rasse und natürlich die externe Umwelt können die Barrierefunktion beeinträchtigen und möglicherweise Trockenheit, Irritation oder Juckreiz verursachen (Harding, 2004).

Der Stellenwert der einzelnen Lipidklassen variiert im Hinblick auf die Effektivität für die Barrierefunktion erheblich. Aus diesem Grund sind die SC-Ceramide mit ihrer einzigartigen Struktur hervorzuheben. Sie spielen eine wichtige Rolle für die Integration der Lipidlamellen des SC und sind somit entscheidend für die Aufrechterhaltung der Barriere. Besonders das CER[EOS] ist das am häufigsten untersuchte SC-Ceramid, das beim Fehlen oder bei fehlerhafter Produktion von CER[EOS] ein vermindertes Wasserretentionsvermögen aufweist und dadurch ein Austrocknen und erhöhte Empfindlichkeit der Haut zur Folge hat. Nachweisbar ist es durch den erhöhten transepidermalen Wasserverlust aufgrund der gestörten Wasserbindungsfähigkeit der Hornschicht (Melnik, 1990; Zienicke, 1990). Den kovalent gebundenen Ceramiden kommt ebenso eine wichtige Bedeutung zu. Sie sind im Wesentlichen an der Ausbildung der interzellulären Lamellenstrukturen der SC-Lipide und somit bei der Aufrechterhaltung der Funktion der Permeabilitätsbarriere beteiligt (Meguro et al., 2000). Die Ceramide sind nicht nur entscheidend für die Regulation und Aufrechterhaltung der Permeabilitätsbarriere, sondern spielen außerdem eine charakteristische Rolle in der Wasserbindungskapazität des SC. Die Hydratation der Hornschicht ist beim Fehlen der Ceramide deutlich vermindert und zeigt die Bedeutsamkeit dieser Lipide für die Wasserbindungsfähigkeit und Kompartimentierung von Wasser im SC (Melnik, 1990). Durch Paige et al. (1994) konnte ein Mangel an bestimmten Acylceramidenfraktionen bei verschiedenen Formen der Ichthyose belegt werden, während bei Patienten mit Psoriasis eine veränderte Verteilung der Ceramide durch Motta et al. (1994) gezeigt werden konnte.

Bei Mangel an essentiellen Fettsäuren (essential fatty acid deficiency = EFAD), insbesondere an Linolsäure verändert sich die CER[EOS]-Struktur und hat eine Verringerung der Barriereintegrität mit einer Zunahme der Permeabilität des SC und eine Erhöhung des TEWL zur Folge (Schürer et al., 1991). Die Wichtigkeit der Fettsäurezusammensetzung des SC im Bezug auf die Barrierefunktion ergibt sich auch aus der Beobachtung, dass es bei der

exogenen Applikation von Ölsäure zu Änderungen in der Hautbarriere führen kann (Schaefer und Redelmeier, 1996). Wird Linolsäure dem Organismus nicht in ausreichender Menge zugeführt, so wird sie durch Ölsäure ersetzt und diese mit der ω -Hydroxyfettsäure verestert. Dieses Ceramid weist nicht die integrierende Wirkung wie das CER[EOS] auf. Ebenfalls hat diese Substitution Einfluss auf die Struktur der Lamellen der Odland Bodies, diese enthalten keine dicht übereinandergestapelten, diskoiden Lamellenpakete mehr, sondern sehen eher wie ein elektronenoptisch ungeordnetes, amorphes Material aus. Aufgrund der resultierenden Desintegration der interkorneozytären Lipidlamellen des SC führt es zu einer signifikanten Steigerung des TEWL. Durch topische als auch orale Applikation von Linolsäure kann die Barrierefunktion verbessert werden (Melnik, 1990, Schürer et al., 1991).

Anhand dieser und zahlreich anderer Untersuchungen bestimmter Hauterkrankungen konnte die Bedeutung der interzellulären Lipide für die Barriereeigenschaft des SC belegt werden.

1.4. Atopische Dermatitis

Die Veränderungen der biophysikalischen Eigenschaften des Stratum corneum, besonders der Wasserpermeabilitätsbarriere, können eine Vielfalt von Krankheiten verschiedener Ätiologien auslösen. Es steht fest, dass dem Stratum corneum eine zentrale Bedeutung bei der Ausbildung von „trockener Haut“ zukommt. Auf Grund verschiedener Untersuchungen lassen sich verschiedene primäre pathogenetische Grundmuster unterscheiden wie Änderungen in der Lipidkomponente, Verminderung der Wasserbindungskapazität und Änderungen in der Flüssigkeitskomponente.

Diese beschriebenen Grundmuster sind in struktureller und funktioneller Hinsicht eng miteinander verbunden und somit an der Ausbildung des dermatologischen Merkmals „trockene Haut“ an pathogenetischen Abläufen parallel beteiligt.

Die wichtigsten Vertreter des beschriebenen Merkmals „trockene Haut“ sind Patienten mit atopischer Dermatitis. Sie sind mit einer spröden, chronisch trockenen und rissigen Hautbeschaffenheit gekennzeichnet, die stark zur Entzündung neigt (Harding, 2004). Mit einer Prävalenz von 2% bis 5% (bei Kindern und Jugendlichen ungefähr 15%) ist die atopische Dermatitis eine der häufigsten Hauterkrankungen. Abhängig von der Lokalisation und das Ausmaß der Symptome kann die atopische Dermatitis als eine schwerwiegende Hauterkrankung betrachtet werden. Die klinischen Zeichen und Symptome sind durch eine trockene Haut, infiltrierte Erytheme, Lichenifikation, pruriginöse Knötchen, gelegentlich

durch virale, bakterielle und Pilzinfektionen verkompliziert, charakterisiert. Die Qualität des Lebens wird oft durch das Auftreten von Schmerzen und Pruritus, nebst der Schlaflosigkeit signifikant beeinflusst. Eine langfristige Therapie auch während der episodischen Intervalle sollte vor allem aus der Anwendung von Hautpflegecremes bestehen, mit dem Ziel die Hautbarrierestörung wiederherzustellen und die Haut vor umweltbedingten Krankheitsauslösern schützen (Eberlein et al., 2008).

1.4.1 Barrierefunktion bei atopischer Dermatitis

Vor allem bei dieser Hautkrankheit spielt klinisch die beeinträchtigte Hornschichtbarriere eine Rolle. Sowohl in der nicht erkrankten als auch in der erkrankten Haut sind eine Xerodermie und eine Barrierschädigung nachzuweisen. Das SC von Patienten mit atopischer Dermatitis weist in trockenen, ekzematösen sowie intakten Hautarealen einen erhöhten transepidermalen Wasserverlust und einen verminderten Wassergehalt als Ausdruck einer gestörten Barrierefunktion auf. Dies lässt sich folglich auf Störungen der Barriere lipide zurückzuführen (Melnik, 1990; Gloor und Gehring, 2003). Die funktionellen Störungen können durch Änderungen der Zusammensetzung, die für die Bildung der Permeabilitätsbarriere entscheidenden SC Lipide, erklärt werden (Melnik, 1990). So ist der Gesamtlipidgehalt in befallener Haut bei Patienten mit atopischer Dermatitis um circa 50% reduziert (Wohlrab, 2005). Vor allem der Anteil der Ceramide [EOS] (1), [NP] (3), [EOH] (4) an den Hornschichtlipiden zeigen bei Atopikern eine deutliche Verminderung (Melnik, 1990). Einige Studien deuten daraufhin, dass die verminderte Menge an totalen Ceramiden verantwortlich für die funktionelle Abnormalität der Haut bei Patienten mit atopischem Ekzem ist (Di Nardo et al., 1998). Besonders das Ceramid [EOS] (1), welches als essentielle Komponente der Permeabilitätsbarrierefunktion angesehen wird, ist beachtlich reduziert und kann zusätzlich strukturelle Veränderungen aufweisen (Imokowa et al., 1991). Aufgrund des Defizits an Linolsäure könnte die Ursache hierfür in der überwiegenden Ersetzung des Ceramid [EOS] an der ω -Hydroxyfettsäure durch Ölsäure liegen. Als Grund wird ein Mangel oder Defekt des Linolsäure-metabolisierenden Enzyms δ -6-Desaturase angenommen. Dieser Mangel an Linolsäure verursacht eine verringerte Barriereintegrität mit steigendem TEWL und erniedrigtem Wassergehalt des SC, als Ausdruck einer Barrierefunktionsstörung (Schneider und Wohlrab, 1997; Wohlrab, 2005). Zusätzlich wurde herausgefunden, dass die Reduktion des Ceramids [NP] mit dem erhöhten TEWL in involvierter als auch in nicht involvierter Haut korreliert (Farwanah et al., 2005). Weiterhin

fanden sich signifikante Verminderungen der sehr langkettigen Fettsäuren und der kovalent an die Korneozyten gebundenen Omega-Hydroxyceramide, die ebenso eine wichtige Rolle bei Ausbildung der interzellulären Lamellenstrukturen der SC Lipide spielen und damit entscheidend für die Aufrechterhaltung der Funktion der Permeabilitätsbarriere sind (Macheleidt et al., 2002). Die genaue Ursache für die einzelnen Aberrationen des epidermalen Lipidstoffwechsels und folglich der reduzierte Lipidgehalt bei atopischer Dermatitis werden von einigen Autoren jedoch kontrovers diskutiert. In der Literatur wird die Hypothese aufgestellt, dass die Keratinozyten von Patienten mit atopischer Dermatitis eine unzureichende Syntheseleistung für sehr lange Acylketten aufweisen. Dagegen wird angeführt, dass der verminderte Ceramidgehalt des SC Folge vom vermehrten Abbau von Ceramiden oder deren Vorstufen durch erhöhte Aktivität der Enzyme zurückzuführen lässt. Außerdem ist der Wassergehalt des SC bei Patienten mit atopischer Dermatitis signifikant reduziert, welches sich auf eine erniedrigte Wasserbindungsfähigkeit der Korneozyten zurückführen lässt. Hierfür wird eine verminderte Anzahl von Keratohyalin-Granula im Stratum granulosum bei Atopikern und damit die gestörte Filaggrin-Synthese als Grund angesehen (Schneider und Wohlrab, 1997; Harding, 2004; Wohlrab, 2005).

1.4.2 Basistherapie

Die adjuvante Anwendung von topischen Präparaten wird auch als „Basistherapie“ chronischer Dermatosen bezeichnet und dient als Teil eines therapeutischen Gesamtkonzepts zur mittel- bzw. langfristigen Verbesserung des Erkrankungsbildes. Neben der spezifischen antientzündlichen Therapie nimmt die Basistherapie bei Patienten mit einer chronisch entzündlichen Dermatose, so auch der atopischen Dermatitis, einen bedeutenden Stellenwert ein. Durch die topische Applikation geeigneter Grundlagen wird dabei auf die physikochemischen Veränderungen in den oberen Hautschichten, insbesondere im Stratum corneum, Einfluss genommen (Wohlrab, 2006).

Bei Atopikern ist die Barrierefunktion mehr oder weniger eingeschränkt und somit ist eine therapeutische Substitution sinnvoll und notwendig, um die physiologischen Bedingungen wieder herzustellen und die entzündliche Reaktion zu supprimieren. Die praktische Erfahrung bei der Therapie von atopischen Patienten hat gezeigt, dass der für das klinisch symptomfreie oder -arme Intervall typische trockene Hautzustand auch die Wahl der Grundlage im Wesentlichen bestimmt. Die Anwendung von derartigen lipidreichen Zubereitungen wie z.B. lipophile Salben bei akuten, nässenden, meist staphylogenen

superinfizierten Arealen führte zu einer Verschlechterung des Hautzustandes. Die klassischen Vehikelsysteme wie O/W-Emulsionen oder Schüttelmixturen bei akuten Schüben bzw. W/O-Emulsionen, wasserfreien (Fett-) Salben oder weichen Pasten bei chronischen Stadien sind aus moderner Sicht nur noch bedingt zeitgemäß. Ziel der Anwendung lipidreicher Basistherapeutika ist eine möglichst rasch einsetzende, jedoch lang anhaltende und gleichmäßige Verteilung innerhalb des SC, ohne diese zu permeieren, zu erreichen (Wohlrab, 2005).

1.5 Vehikelsysteme

1.5.1 Klassische Emulsionssysteme

Öl-in-Wasser-Emulsion (O/W)

Die Öl-in-Wasser-Emulsion ist durch ein mehrphasiges flüssiges System charakterisiert und besteht in der Regel aus einem hohen Wasseranteil. Die äußere (kohärente) geschlossene Phase besteht aus Wasser (Dispersionsmittel), während die innere (disperse), offene Phase aus öligen Bestandteilen besteht. Als lipophile Komponente werden beispielsweise Triglyceride, Fettsäureester und Isopropylpalmitat sowie als Emulgatoren (Tenside und andere) zur Herstellung von O/W-Emulsionen verwendet. Zur Stabilisierung erfolgt ein Zusatz von W/O-Emulgatoren oder Polymere, die an die Grenzfläche adsorbiert werden. Sie eignen sich wegen ihrer flüssiger Konsistenz besonders gut zur topischen Applikation an bestimmten Körperstellen (behaarte Stellen und Gesicht) (Niedner und Ziegenmeyer, 1992; Neubert et al., 2001). O/W-Emulsionen werden bei akuten bis subakuten Entzündungen angewendet und wirken durch ihren hohen Wasseranteil kühlend. Sie werden in der Kosmetik als Hautmilch bezeichnet.

Wasser-in-Öl-Emulsion (W/O)

Die Wasser-in-Öl-Emulsion ist ebenfalls durch ein flüssiges mehrphasiges System mit der öligen Komponente als Dispersionsmittel (äußere geschlossene Phase) und Wasser als disperse Phase gekennzeichnet. Als Emulgatoren werden zur Herstellung der W/O-Emulsionen meist Sorbitanfettsäureester, Glycerolfettsäureester, Cholesterol, Fettalkohole und andere verwendet. Die Stabilität dieser Vehikelsysteme wird durch eine hohe Viskosität der äußeren Phase erreicht. Die Dispersionsmittel sind Öle wie z.B. Oliven-, Rizinus- und Erdnussöl, Lebertran und andere (Neubert et al., 2001).

1.5.2 Moderne Vehikelsysteme

Neben den „konventionellen“ Vehikelsystemen wie Gele, Salben, Cremes oder Emulsionen stehen seit ein paar Jahren moderne, kolloidale (Mikroemulsionen, Nanopartikel), liposomale und lamelläre Vehikelsysteme (Derma-Membran-Strukturen®) im Mittelpunkt der pharmazeutischen Forschung.

Mikroemulsionen bestehen aus zwei, im eingesetzten Konzentrationsbereich nicht miteinander mischbaren Flüssigkeiten, meist Wasser und Öl sowie einem Tensid, dem häufig noch ein Cotensid zugefügt ist. Diese neuartigen Formulierungen sind durch ihre Isotropie, Transparenz oder schwache Opaleszenz, thermodynamischen Stabilität und niedrigen Viskosität charakterisiert. Aufgrund dieser Eigenschaften traten sie seit mehreren Jahren als moderne, kolloidale Arzneistoffträgersysteme immer mehr in den Vordergrund. Sie unterscheiden sich von den klassischen Emulsionen durch ihre sehr geringe Tröpfchengröße im Bereich von 10-200 nm und werden somit den kolloidalen Systemen zugeordnet. Es werden entsprechend den Makroemulsionen Wasser-in-Öl- und Öl-in-Wasser-Emulsionen unterschieden. (Neubert et al., 2001).

Nanopartikel, ein weiteres modernes Vehikelsystem setzte sich im Laufe der Zeit durch. Sie sind Feststoffsysteme aus Arzneistoff und Polymer, die eine Größe von 10 bis 1000 nm aufweisen. Sofern es sich dabei um verfestigte mizellare Systeme, Partikel mit einer kontinuierlichen Hülle oder verfestigte Mikroemulsionen handelt, werden diese als Nanokapseln bezeichnet. Als Nanopartikel werden Teilchen charakterisiert, die aus einer Polymermatrix bestehen, in die ein Arzneistoff eingebettet oder von außen absorbiert sein kann (Neubert et al., 2001). Diese emulgatorfreien Partikel gelten als effektivste Transportformen für fettlösliche Vitamine und besitzen denselben Vorteil wie Liposomen, indem sie die natürliche Membranstruktur der Haut nicht verändern. Mit Nanopartikeln ist es möglich z.B. Körperlotion herzustellen, die einerseits eine wasserähnliche Konsistenz und andererseits eine hohe Fettung aufweisen. Kennzeichnend ist, dass diese Fettstoffe sofort die Barrierschichten der Haut penetrieren können und nicht auf der Hautoberfläche verbleiben (Lautenschläger, 2002).

Während Nanopartikel ebenso wie multiple Emulsionen über den Freisetzungsprozess die Penetration von Wirksubstanzen in der Haut steuern und die Stabilität der Wirkstoffe positiv beeinflussen können, wird die dermale Anwendung von Mikroemulsionen in der Literatur noch kontrovers diskutiert. Als Anlass dafür ist die teilweise Toxizität einiger Inhaltsstoffe bzw. hoher Tensidgehalt der Mikroemulsionen in Betracht zu ziehen. Dagegen weisen

Nanopartikel aufgrund von Einsatz natürlicher Trägermaterialien (Lipide, Biopolymere) eine geringe Toxizität auf (Neubert et al., 2001). Weiterhin wird vermutet, dass Mikroemulsionen eine Zerstörung der flüssigkristallinen Struktur der Lipidbilayer des Stratum corneum verursachen und damit eine Veränderung der Permeabilitätsbarriere bis hin zu steigender Penetration und erhöhte TEWL-Werte aufweisen. Aufgrund dessen setzte sich nur in geringem Maße die Zulassung von Mikroemulsionen in Form kommerzieller Präparate in der Pharmazie durch. Im Vordergrund steht zukünftig die Auswahl besonders hautfreundlicher Bestandteile für die Herstellung von Mikroemulsionen, um ein weiteres Spektrum als bisher in Form kommerzieller Produkte in der Pharmazie und Kosmetik zu etablieren.

1.5.3 Liposomen

Eine Weiterentwicklung der modernen Vehikelsysteme stellen die Liposomen bzw. lamellare Systeme dar. Liposomen sind kugelförmige Lipidvesikel, die von einer oder mehreren Doppelmembranen (Bilayer) umhüllt sind. Ihr grundsätzlicher Aufbau ähnelt der biologischen Membranstruktur wie die Barrierschicht der Haut. Die wichtigsten Bestandteile für die Bildung von Liposomen stellen die Phospholipide, aber auch Ceramide, Cholesterol und nichtionogene Tenside dar. Vor allem eignen sich besonders die natürlichen Phospholipide wie Lecithin und Phosphatidylcholin, da diese essentiell in biologischen Membranen vorkommen und günstige toxikologische Eigenschaften aufweisen (Wohlrab, 1996; Neubert et al., 2001; Yarosh, 2001; Lautenschläger, 2003). Die Lipidmoleküle der liposomalen Membranen sind aufgrund des Aufbaues dieser Verbindungen amphiphil, die aus einem hydrophilen und einem hydrophoben Anteil aufgebaut sind und können somit die Grenzflächenspannung zwischen unterschiedlichen Substanzen (Phasen) herabsetzen. Bei der Entwicklung von Liposomen kann der Zusatz von physiologisch bedenklichen Emulgatoren aufgrund des amphiphilen Charakters des Phosphatidylcholins verzichtet werden. Gleiches gilt für sogenannte lamellare Systeme.

Wegen ihrer besonderen und interessanten Eigenschaften können Liposomen als Modell für biologische Membranen eingesetzt werden. Sie integrieren sich leicht in die Barrierschichten der Haut, ohne deren physikalische Struktur zu verändern. Weiterhin können diese Lipidvesikel kosmetische, meist wasserlösliche, sowie medikamentöse Wirkstoffe einkapseln und somit als Trägersysteme geschützt in die Haut transportieren. Sie

können aufgrund ihrer Doppelmembranen gewandt die Barrierschicht penetrieren und ihre Permeabilität gegenüber Wirkstoffen steigern.

Die bemerkenswertesten Vorteile der topisch liposomalen Medikamentenformulierungen gehen aus ihren dargelegten Fähigkeiten hervor. Sie verringern die schwerwiegenden Nebenwirkungen und Unverträglichkeiten, die aus der unerwünscht hohen systemischen Absorption des Medikamentes hervorgehen. Zum einen verbessern sie signifikant die Anreicherung der Arzneimittel und zum anderen können sie eine breitere Vielfalt von hydrophilen und hydrophoben Wirkstoffen leichter inkorporieren. Aufgrund ihrer geringen Toxizität und Biokompatibilität bieten sich Liposomen hervorragend als Trägersysteme an (Egbaria und Weiner, 1990; Wohlrab, 1996), weisen jedoch nur ein begrenztes Aufnahmevermögen für Fettstoffe auf. Durch Beimischung von Emulgatoren wurde versucht dies zu verbessern. Da die Membranen von liposomalen Systemen ebenso empfindlich auf Emulgatoren reagieren wie die Membranen der Hautbarriere, ist dies jedoch fehlgeschlagen (Lautenschläger, 2002).

Dennoch werden Liposomen in sehr vielen Fachgebieten eingesetzt und eröffnen somit beispielsweise als drug carrier system ein breites Anwendungsspektrum. Vor allem die Verwendung dieser liposomalen Systeme in der Kosmetik, Medizin und Pharmakologie ist von außerordentlichem Interesse (Egbaria und Weiner, 1990; Wohlrab, 1996).

1.5.4 Charakteristik Lamelläre Systeme – Derma-Membran-Struktur (DMS®)

Die hier verwendeten Studienpräparate Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz sind nicht nach dem herkömmlichen Öl-in-Wasser- oder Wasser-in-Öl-Prinzip aufgebaut. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass sie lamelläre Strukturen aufweisen. Mit Hilfe von Hochdrucktechnologie wird zunächst ein fluides, primär vaskuläres System in ein rigides, lamellares System umgewandelt. Die dabei entstehende „Derma-Membran-Struktur“ (DMS®) ähnelt der Struktur der physiologischen Lipidbarriere der Haut und kann als morphologisches Äquivalent der Barrierefunktion angesehen werden.

Aufgrund dieses technischen Verfahrens wird bei der Herstellung der Bilayersysteme konsequent auf irritierende Stoffe verzichtet. Durch die Abwesenheit von Ingredienzien wie Mineralöle, Silikone, Parfümöle, Farbstoffe, Emulgatoren und insbesondere bedenklichen Konservierungsstoffen, die für allergische Reaktionen der Haut verantwortlich sein können, wird eine hohe Hautverträglichkeit erzielt. Eine einmal gebildete DMS®-Struktur, die sich wie die Barrierschichten der Haut verhält, kann hydrophile und lipophile Stoffe aufnehmen.

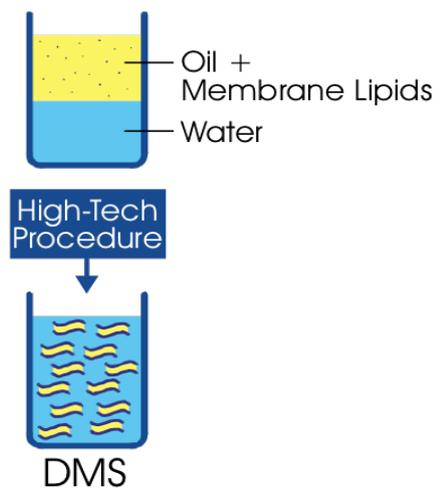


Abb. 6: Herstellung von DMS® nach Lautenschläger (2002)

DMS® ist eine Basiscreme, die aus spezifisch zusammengesetzten Membranlipiden besteht und lamelläre Strukturen aufweist. Anhand der Tabelle (Tab. 1) ist zu erkennen, dass diese Lipide ausschließlich körpereigentliche Fette pflanzlichen Ursprungs sind und keineswegs körperfremde Fette wie Vaseline oder Paraffine aufweisen (Lautenschläger, 2002).

Tab. 1: Zusammensetzung der Stratum corneum Lipide / Hauptkomponenten der DMS® Basiscreme nach Lautenschläger (2002)

Stratum corneum - Lipide	DMS® Basiscreme
Triglyceride	Caprylic/Capric Triglyceride, aus Palmkernöl
Squalen	Squalan, aus Oliven
Ceramide	Ceramid-3, aus Hefe
Cholesterol, Cholesterolester	Phytosterine, z.B. (aus Shea-Butter)
-----	Phosphatidylcholin, hydriert (aus Soja-Lecithin)
freie Fettsäuren	-----

Die Zusammensetzung und Herstellung dieser gebrauchsfertigen multilamellären Creme stellt ein Vehikel dar, welches der deutschen Kosmetikordnung entspricht. Die

Anwendungen der DMS® Basiscreme und der DMS® mit Zusatz von Wirkstoffen sind in der Kosmetik und Dermatologie zu finden, wie z.B. bei:

- Altershaut
- trockener und sensibler Haut
- unreiner Haut und Akne
- (Berufs-) Dermatosen
- atopischer Dermatitis und Barrierestörungen.

Der große Vorteil der DMS® Basiscreme mit oder ohne pharmazeutischen Zusätzen ist der nahezu nahtlose Übergang von dermatologischer Therapie zur Hautpflege mit der gleichen Grundlage und umgekehrt (Lautenschläger, 2002).

Durch die Abwesenheit von Emulgatoren ist die Eigenschaft der Phospholipide, insbesondere des Phosphatidylcholins, hervorzuheben. Die Phospholipide sind durch ihre Amphiphilie charakterisiert und somit am Aufbau der Doppellipidschicht der Biomembran beteiligt. Der wohl häufigste Vertreter ist das Phosphatidylcholin, welches aufgrund seiner Bipolarität membranbildende Eigenschaften aufweist. Phosphatidylcholin kann beim Kontakt mit Wasser spontan Lipiddoppelschichten bilden. Es wirkt als Emulgator oder Dispergiermittel und hat die besondere Fähigkeit mit Öl und Wasser flüssigkristalline Lamellarphasen von hoher Stabilität auszubilden (Schöffling, 2002).

Das Phosphatidylcholin der Biomembranen ist chemisch mit zwei Stoffen verbunden. Eine Substanz stellt die Linolsäure dar. Sie ist essentiell für den Aufbau der CER[EOS]-Struktur und somit für die Aufrechterhaltung der Barrierefunktion der Haut von großer Bedeutung. Cholin ist ein weiterer Bestandteil, der eine wichtige Rolle in der Hautschuttfunktion spielt, insbesondere bei der Prävention der Hautalterung (Lautenschläger, 2003).

Phosphatidylcholin greift biochemisch gesehen entscheidend in den Ceramidstoffwechsel ein. Es überträgt seine Phosphocholingruppe auf die Ceramide und begünstigt somit die Bildung der für die lebensfähigen Zellen charakteristischen Sphingomyeline. Außerdem können sich diese Verbindungen an die Proteine (Keratin) der Haut binden und halten dabei auch die mittransportierten fettlöslichen Pflegesubstanzen fest (Lautenschläger, 2003). Phosphatidylcholine werden überwiegend aus Sojabohnen und nur in geringen Mengen aus Sonnenblumen und Raps gewonnen.

Aus dermatologischer und kosmetischer Perspektive wurde durch lamelläre Systeme mit speziell physikochemischen Eigenschaften bestimmter Lipide eine Verbesserung der

Barrierefunktion erfolgreich nachgewiesen. Insbesondere hydrierte Soja-Phosphatidylcholine sind als funktioneller und struktureller Ersatz des Lipidmusters des SC durch Integration von Membranstrukturen geeignet. Das Muster kann größtenteils durch identische physikochemische Eigenschaften der hydrierten Phosphatidylcholine und die interzellulären Lipide des SC erklärt werden (Elias, 1981; Armen et al., 1998; Bringezu et al., 2002; Wohlrab et al., 2010).

1.5.5 Vergleich DMS® Basiscreme zu klassischen Emulsionssystemen

Die DMS® Basiscreme unterscheidet sich von den herkömmlichen O/W-Emulsionen und W/O-Emulsionen, weil sie lamelläre Strukturen aufweist, die sich in ihrem Aufbau, ihrer Struktur und Zusammensetzung an die natürliche Lipidbarriere der Haut erinnert. Die O/W-Emulsionen enthalten Emulgatoren aus synthetischen Detergenzien oder Tensiden, sowie Konservierungsmitteln, die in Langzeit einen schädigenden Effekt auf die Lipidbarriere haben und zusätzlich eine Exsikkose der Hornschicht bewirken. In diesen Emulsionen dominieren hydrophile und in geringerem Umfang lipophile Emulgatoren.

Die W/O-Emulsionen enthalten Emulgatoren, in denen eine lipophile Dominanz vorherrscht, aber keine Konservierungsmittel. Sie bewirken dennoch eine Verbesserung der Hydratation der Hornschicht und der Barrierefunktion. Der Hydratationseffekt von W/O-Emulsionen lässt sich teilweise durch die Einlagerung von Wasser erklären, welches aus der Emulsion frei wird (Gloor und Gehring, 2000; Gloor, 2004). Vergleichend zur einer Studie von Gloor und Gehring zeigten Ergebnisse mit einer kurzzeitigen Behandlung, dass der okklusive Effekt der W/O Emulsionen gering war. Die Hydratation ist also nicht nur in der Okklusion zu sehen, sondern auch durch die Abgabe von Wasser der Emulsionen zu vermuten. (Gloor und Gehring, 2000). Da der TEWL dauerhaft erniedrigt bleibt, entsteht ein Barriereeffekt. Wegen der klinischen Relevanz verwendet man bei Patienten mit atopischer Dermatitis die W/O-Emulsionen.

W/O-Emulsionen sind besser geeignet als O/W-Emulsionen für die Behandlung der trocknen Haut. Jedoch ist das Zusammenwirken von Hitze, Okklusion und der Lipidfilm auf der Hautoberfläche nach Applikation von W/O-Emulsionen als Nachteil zu betrachten. Die hervorragende Derma-Membran-Struktur®, wie sie in den hier verwendeten Studienpräparaten Physiogel A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz vorkommt, ermöglicht den Transport der hautähnlichen Lipide und Ceramide in die Hornschicht ohne Beifügung von Emulgatoren. Diese sind sonst in konventionellen Vehikelsystemen (O/W bzw. W/O-

Emulsionen) erforderlich. Wie auch immer können sie durch Akkumulation die eigenen Hautlipide durch Waschung ausschwemmen (wash-out-effect). Dies ist der Grund für das weitere Austrocknen (Brüning et al., 2002).

In einer Studie von DermoTopics (Gesellschaft für Dermopharmazie e.V.) wurden die O/W- und W/O-Emulsionen mit DMS®-Basiscremes anhand der Messungen des TEWL mit der Tewametrie verglichen. Es bestanden keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Prüfpräparaten. Im Gegensatz dazu sind in den Abbildungen (Abb. 7) deutliche Strukturunterschiede zwischen O/W-Emulsion und Lipidbarriere der Haut sowie eindeutige Strukturgemeinsamkeiten zwischen Lipidbarriere der Haut und DMS®-Creme zu erkennen (DermoTopics, 2001).

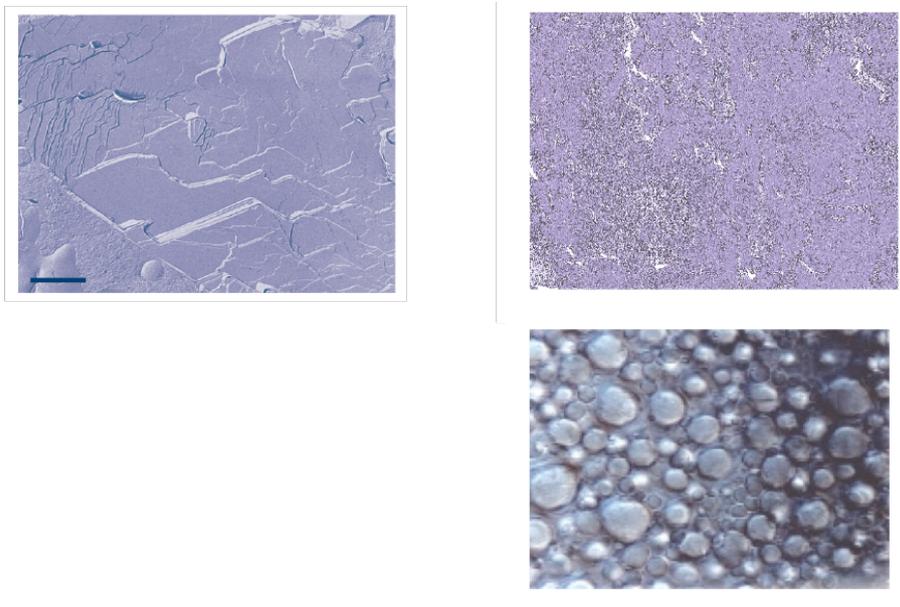


Abb. 7 a-c: Elektronmikroskopische Bilder einer DMS (links oben=a) und Vergleich mit einer O/W-Emulsion (rechts unten=c) und Interzellulärschicht der Haut (rechts oben=b) nach Lautenschläger (2002)

In der Studie von Wohlrab et al. (2010) wurde festgestellt, dass die O/W-emulgatorhaltigen Testpräparate durch ihre Anwendung einen Einfluss auf die natürlichen Lipide im SC haben und damit die Permeabilität des Systems erhöhen. Die Interaktion der Lipide mit vitalen Zellen wie z.B. Keratinozyten, dendritischen Zellen und Lymphozyten, könnte teilweise für irritative Inflammationen verantwortlich sein. Aus diesem Grund ist die Anwendung der O/W-emulgatorhaltigen Präparate in der Hautpflege und in der Pharmakotherapie der Dermatosen als auch in der Kosmetik problematisch. Um solche ungünstigen Effekte zu vermeiden, sollte auf die Verwendung von niedrig konzentrierten, besonders

hautfreundlichen W/O-Emulgatoren, vor allem bei der Applikation der vorgeschädigten atopischen Haut geachtet werden. Die Anwendung von selbstemulgierenden Membransystemen von Soja-Phosphatidylcholinen stellt den Gebrauch von konventionellen O/W-Emulgatoren in den Hintergrund. Um das Risiko der irritativen Effekte zu minimieren, ist deswegen der Einsatz dieser für die Erhaltung der Therapie von chronischen Dermatosen empfehlenswert (Wohlrab et al., 2010).

Werden die vorliegenden Studienpräparate mit den sogenannten Feuchtigkeitscremes verglichen, die den „Natural Moisturizing Factor“ (NMF) wie zum Beispiel Harnstoff enthalten, zeigt sich ebenfalls ein signifikanter Einfluss auf die Hauthydratation. Diese NMF sind intrazelluläre hygroskopische und wasserlösliche Substanzen, die das Wasser binden können und deshalb auch als Wasserbindungsfaktoren bezeichnet werden (Marty, 2002). Diese beinhalten eine Mischung aus niedermolekularen, wasserbindenden Faktoren wie Glycerol, Aminosäuren, Pyrrolidoncarbonsäure, Citrate, Harnstoff und weitere (Rawlings und Harding, 2004). Es wird angenommen, dass diese Substanzen im Stratum corneum aufgefangen werden. Sie können dabei das Wasser an sich ziehen, in der Hornschicht binden und somit den Grad der Hydratation steigern (Lodén, 1996). Als ein wichtiger NMF-Vertreter hinsichtlich therapeutischer Verwendung bei Patienten mit trockener Haut und der mit diesem Hautzustand einhergehenden Dermatosen, ist der Harnstoff zu erwähnen. Es ist bekannt, dass bei Abwesenheit von Wasser die Hornschicht spröde wird. Des Weiteren entsteht eine Schädigung der Barrierefunktion sobald die Korneozyten eingeschrumpft sind und sich zwischen ihnen Risse bilden (Lodén et al., 1999). Diese Feuchtigkeitscreme unterscheidet sich zur lamellaren DMS® Basiscreme, nicht nur hinsichtlich der Zusammensetzung sondern auch bezüglich ihres Einflusses auf die Barrierefunktion der Hornschicht bei gesunden Probanden sowie bei Patienten mit atopischer Dermatitis (Lodén et al., 1999).

Charakteristisch für diese Cremes ist der kurzfristige, schnell einsetzende und hohe Effekt. Im Vergleich hierzu, zeigen Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz einen langfristigen aber nicht so hohen Effekt. Entscheidend ist hierbei wohl nicht die Höhe des Effektes sondern seine langfristige Wirkung auf die epidermale Barrierefunktionalität des SC.

2 Zielstellung

Ziel dieser Studie war es, ein entwickeltes, kosmetisches Bilayersystem mit und ohne Zusatz eines Sonnenschutzfilters hinsichtlich der Effektivität auf die Barriersubstitution zu testen und wissenschaftlich zu belegen. Das Ausmaß und den Zeitablauf der Barriersubstitution zu erfassen, stellte einen weiteren Nutzen dieser Untersuchung dar.

Ein gemeinsames Ziel für relevante Studien dieser Art war es, bilayer-bildende, bipolare Lipide als selbstemulgierende Systeme zu entwickeln, die nicht nur eine funktionelle Substitution, sondern auch eine morphologische Integration ermöglichen.

Mit standardisierten, möglichst nicht-invasiven Methoden wie die Tewametrie und die Corneometrie sollte dies aufgezeigt werden.

Insbesondere stellten sich folgende Fragen:

1. Welchen qualitativen und quantitativen Effekt üben die beiden Testpräparate auf die epidermale Barrierefunktion aus?
2. Gibt es einen Nachweis, dass das Tape Stripping in dieser Studie einen Effekt auf die Barriere auslöst?
3. Lassen sich zwischen den beiden Testpräparaten relevante Unterschiede nachweisen?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

In der vorliegenden Studie handelte es sich um einen doppelblinden, randomisierten, intra-individuellen Parallelseitenvergleich. Durchgeführt wurde diese Studie gemäß den Vorschriften der Deklaration von Helsinki (Version von 1996).

Bei der fünftägigen Studie erfolgte die Evaluierung der Hauptzielparameter am Probanden an den Tagen 0, 1, 2, 3 und 4, die in einem Protokoll festgehalten wurden. Am Tag 0 fanden jeweils eine Basismessung (Visite 1) und eine Kontrolle (Visite 2) der Probanden statt, während an den restlichen Tagen (Visite 3, 4, 5, 6) jeweils nur eine Kontrolle vorgenommen wurde.

3.2 Studienprocedere

Die Studie wurde als eine kosmetische Studie zielend auf die Verbesserung des Regenerationseffektes durch topisch angewandte Bilayer-Systeme durchgeführt. Um den Substitutionseffekt von den Testpräparaten (Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz) im Vergleich zu den unbehandelten Testbereichen zu beweisen, erfolgte eine Basismessung von Tewametrie und Corneometrie am Tag 0/Visite 1. Nach der Basismessung wurde/n ein und/oder zwei von den drei Testarealen an jedem vorderen Unter- bzw. Oberarm 20-mal mit Hilfe von Tesafilm gestrippt, um eine morphologische Reduktion des Stratum corneum zu erzielen. Nach 30-minütiger Wartezeit wurden die Zielparameter noch einmal durch Messung von Tewametrie und Corneometrie aller Testareale protokolliert (Visite 2). Jedem Probanden wurden, entsprechend eines Randomisierungsplanes, zwei Testpräparate und ein Applikationsschema ausgehändigt (siehe Abb. 8). Die Testpräparate wurden von den Probanden zweimal täglich auf die entsprechenden Testareale gemäß dem Randomisierungsplan angewandt. Die Randomisierung des behandelten/unbehandelten volaren Unterarms wurde Testperson-abhängig und durch den Sponsor veranlasst. Weitere Messungen von den Zielparametern wurden an den Tagen 1 (Visite 3), 2 (Visite 4), 3 (Visite 5) und 4 (Visite 6) veranlasst. Topische Arzneimittel oder Pflegeprodukte (z.B. Seife oder Duschgel) durften in diesem Zeitintervall nicht auf die Unter- bzw. Oberarme aufgetragen werden.

Applikationsschema Unter- bzw. Oberarm

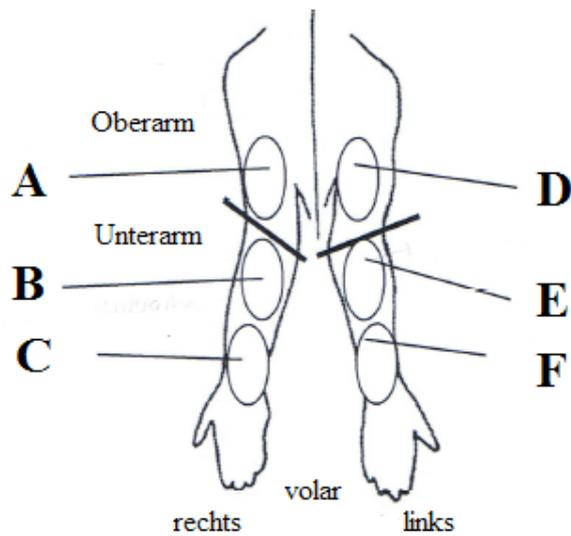


Abb. 8: Applikationsschema für die Untersuchung der Wirksamkeit von den Testpräparaten 1 und 2

Tab. 2: Überblick des Ablaufs der Visiten und Studienprocedere

	Visite 1 (Tag 0)	Visite 2 (Tag 0)	Visite 3 (Tag 1)	Visite 4 (Tag 2)	Visite 5 (Tag 3)	Visite 6 (Tag 4)
Information und Einverständnis	X					
Anamnestische Befragung	X					
Ein-/Ausschlusskriterien	X					
Eintragung/Fortsetzung der Studie	X	X	X	X	X	
Festlegung der Testbereiche	X					
Basismessung	X					
Tesafilmstrippen		X				
Messung des primären/sekundären Zielparameters	X	X	X	X	X	X
Ende der Studie						X

3.3 Patienten

Für diese Pilotstudie wurden 30 gesunde Probanden, welche die Einschlusskriterien erfüllten und die Ausschlusskriterien nicht aufwiesen, rekrutiert. Die Einschreibung in die klinische Studie erfolgte, nachdem die Probanden schriftlich und mündlich über das Procedere, das Ziel und die Risiken der Studie aufgeklärt worden waren und ihr schriftliches Einverständnis abgegeben hatten. Zusätzlich wurden in der Eingangsuntersuchung folgende Daten eruiert: Alter, Geschlecht, Körpergröße und -gewicht, Hauttyp und das Existieren von allergischen, medikamentösen, dermatologischen, kardiovaskulären, pulmonalen, endokrinologischen, psychiatrischen und anderen Erkrankungen.

3.3.1 Einschlusskriterien

Die Probanden sollten folgende Kriterien erfüllen:

- ausschließlich freiwillige Teilnahme
- Alter von 18 - 65 Jahre, Kaukasischer Ursprung
- Keine systemische Medikamententherapie in den letzten vier Wochen (orale Kontrazeptiva ausgeschlossen)
- Keine topische Therapie seit mindestens vier Wochen bevor Studienbeginn
- Keine topischen angewandten Kosmetika und/oder andere Hautpflegepräparate sowie in den Bereichen der Arme und Hände seit mindestens vier Wochen bevor Studienbeginn
- Schriftliches Einverständnis für die Teilnahme an der Studie, nach genauer Erklärung der Ziele, Risiken und des Procedere der klinischen Studie

3.3.2 Ausschlusskriterien

Die Probanden durften folgende Kriterien nicht nachweisen:

- Vorliegen von chronischer, entzündlicher Haut- oder systemischer Erkrankung unter Beeinflussung der Barrierefunktion der Haut
- Vorliegen von Unverträglichkeit und/oder Überempfindlichkeit gegen irgendwelche weiteren aktiven und/oder passiven Bestandteile der Testpräparate
- Vorhandensein von folgenden Erkrankungen:
 - Atopische Dermatitis

- Immunsuppression (Defizienz)
- Transplantat – Träger (ausgenommen Auto-Transplantat)
- Behandlung mit systemischen Medikamenten seit mindestens vier Wochen bevor Studienbeginn (außer orale Kontrazeptiva)
- Anwendung von Kosmetika und/oder Hautpflegeprodukte in dem Bereich der Arme und Hände seit mindestens vier Wochen vor Studienbeginn
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Teilnahme eines Mitgliedes aus einem Haushalt (an der Studie)
- Unzuverlässigkeit oder Mangel an Kooperation

3.4 Studienmedikation

Zwei topisch ähnliche Testpräparate wurden verwendet, die von dem Sponsor Stiefel International R & D her- bzw. bereitgestellt wurden. Aufgrund eines neuartigen High-Tech-Herstellungsverfahrens weisen die Testpräparate sogenannte lamelläre Strukturen, Derma-Membran-Strukturen (DMS®) auf, die als morphologische Äquivalente der Barrierefunktion betrachtet werden können. Diese außergewöhnliche Charakteristik der DMS® besteht darin, dass ihre Struktur tatsächlich sehr ähnlich der Hautbarriere der Hornschicht ist. Daneben ist sie in Bezug auf ihre chemische Struktur mit der natürlichen Komponente der Haut vergleichbar. Die Hautverträglichkeit dieser DMS® wird durch die Abwesenheit von Ingredienzien wie Mineralöle, Silikone, Parfümöle, Farbstoffe und insbesondere physiologisch bedenklicher Konservierungsstoffe unterstützt, die für allergische Reaktionen der Haut verantwortlich sein können. Im Gegensatz zu Liposomen und Nanopartikeln, welche aus natürlichen Phosphatidylcholinen (Fettsäure-Population, hauptsächlich Linolsäure) zusammengesetzt sind, enthalten DMS® hydrierte Phosphatidylcholine (mit einer Fettsäuren-Population aus Stearin- und Palmitinsäure), die ceramid-ähnliche Eigenschaften aufweisen. Demzufolge haben hydrierte Phosphatidylcholine eine starke natürliche Affinität zu den Lipidbilayern der Hautbarriere, stabilisieren den TEWL in einer physiologisch bedeutenden Balance und schützen daher die Haut vor dem Eindringen fremder Substanzen. Die Hauptkomponenten der DMS®-Basiscreme sind folgende: Wasser, hydrierte Phosphatidylcholine (extrahiert von Sojabohnen-Lecithin), öl-basierte Substanzen, Phytosterole (extrahiert von Sheabutter) und feuchtigkeitsspendende Wirkstoffe (Glycerine etc.) (Lautenschläger, 2002).

Diese Prüfpräparate unterliegen der deutschen Kosmetikverordnung von 1997. Gemäß der Lage derzeitiger Forschung ist ein spezielles Modell von Lipiden qualitativ und quantitativ für das Funktionieren der Hornschicht verantwortlich. Die topische Applikation von solchen membranbildenden Lipiden führt zu einer Substitution der Barrierefunktion. Bedingt durch die morphologische Integration der angewandten Lipide innerhalb der Bilayerstrukturen der Hornschicht findet deshalb eine funktionelle Substitution statt. Mit der Applikation von den Testpräparaten an einer standardisiert morphologischen Reduktion des Stratum corneum ist ein Substitutionseffekt mit einer Erneuerung des physiologischen funktionellen Zustandes der Hornschicht zu erwarten.

3.4.1 Studienpräparate

Physiogel® A.I. Creme mit Lichtschutz (Präparat 2) enthält im Unterschied zu Physiogel® A.I. Creme (Präparat 1) physikalische Lichtschutzfilter wie Titandioxid und Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine (Tab. 3).

Tab. 3: Unterschiede in der Zusammensetzung von Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz

Physiogel® A.I. Creme	Physiogel® A.I. Creme mit Lichtschutz
Aqua	Aqua
Olea Europaea	C11-12 Benzoate
Glycerin	Glycerin
Pentylene Glycol	Titanium Oxide
Palm Glycerides	Pentylene Glycol
Olus	Tri-C12-13 Alkyl Citrate
Hydrogenated Lecithin	Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine
Squamane	Caprylic/ Capric Triglyceride
Betaine	Acrylates Copolymer
Palmitamide MEA	Palmitamide MEA
Sarcosine	Hydrogenated Lecithin
Acetamide MEA	Butyrospermum Parkii
Hydroxyethylcellulose	Betaine
Sodium Carbomer	Squalane

Carbomer	Sarcosine
Xanthan Gum	Acetamide MEA
	Alumina
	Hydroxyethylcellulose
	Polyhydroxystearic Acid
	Aluminium Stearate
	Xanthan Gum

3.4.2 Dosis, Randomisierung und Verblindung

Die Testpräparate wurden unter verblindeten Bedingungen an dem Tag 0 nach dem Stripping (Visite 2) auf die Testfelder durch den Probanden selbst entsprechend der Empfehlung des Studienpersonals aufgetragen. Die zwei Testpräparate, vorliegend in LDPE Tuben mit jeweils 50 ml Inhalt, wurden vom Sponsor bereitgestellt und an die Probanden ausgehändigt. Eine fachspezifische Randomisierung von der behandelten und unbehandelten Seite des volaren Unterarms sowie von den Testpräparaten und der Kontrolle wurde durch einen, an der Studie unbeteiligten, qualifizierten Biometriker, Herrn Prof. R. Neubert (Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie) vorgenommen.

3.5 Teststrategie

3.5.1 Lokalisation der Testareale

Auf der Innenseite der Unter- und Oberarme wurden mit Hilfe einer Schablone und mit einem Hautmarker jeweils drei 5x5 cm große Testfelder A, B und C (rechts), sowie D, E und F (links) symmetrisch festgelegt und gekennzeichnet. Der äußere Abstand zwischen den Testarealen sollte mindestens 3 cm sein.

3.5.2 Primärer Zielparameter - Transepidermaler Wasserverlust mittels Tewametrie

Als Maß für die Beurteilung der Barrierefunktion des Stratum corneum wurde der transepidermale Wasserverlust (TEWL) als primärer Zielparameter herangezogen. Unter

TEWL versteht man einerseits die passive Diffusion von Wasser durch die Hornschicht, die auch als Perspiratio insensibilis bezeichnet wird und andererseits den Wasserverlust bedingt durch die aktive Schweißsekretion. (Zienicke, 1990).

Um die Wasserbindungskapazität der Hornschicht zu erfassen, wurde der TEWL als ein nicht dimensionaler Messwert an den Testfeldern am Tag 0, 1, 2, 3, 4 nach dem Studienbeginn mittels Tewameter TM 210 (COURAGE & KHAZAKA electronic GmbH) und unter standardisierten Bedingungen gemessen.

Die vorliegende Studie wurde gemäß der Leitlinie für die Tewametrie „EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences“ (Rogiers und EEMCO Group, 2001) durchgeführt.

Die Messung des transepidermalen Wasserverlustes mit Hilfe der Tewametrie ist eine etablierte und nicht-invasive Methode zur Beurteilung der epidermalen Lipidbarriere und liefert die Möglichkeit in vivo, an der Haut, den Effekt von topischer Behandlung in einem objektiven Weg zu kontrollieren (Barel und Clarys, 1995; Rogiers und EEMCO Group, 2001). Darüber hinaus basiert diese Messung auf einer Bewertung des Wasserdampfgradienten, die notwendig ist, um die Anforderungen der Kosmetika einschließlich Produktmilde, Reduktion in der irritativen Hautreaktion, Hauthydratation, Hautreparatur und schützender Effekt gegen UV-Schädigung und weitere, zu gewährleisten (Rogiers und EEMCO Group, 2001).

Das Tewameter besteht aus einem Messinstrument und einer Messsonde. Die Messsonde ist durch einen offenen, zylinderförmigen Sondenkopf mit zwei Hygrosensoren sowie mit zwei Thermistoren, die im unterschiedlichen Abstand zur Hautoberfläche platziert sind, gekennzeichnet. Diese zwei Sensoren können die Feuchtigkeit und die Temperatur an zwei verschiedenen Punkten messen. Der daraus resultierende Verdunstungsgradient des Wassers wird über die Hautoberfläche ermittelt und in $\text{g/m}^2\text{h}$ (Gramm pro Quadratmeter und Stunde) angegeben (Zienicke, 1990). Die externen Bedingungen der Messung wurden in Übereinstimmung mit den EEMCO-Richtlinien (European Expert Group of Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Topical Products) gewährleistet (Rogiers und EEMCO Group, 2001).

Um eine bestmögliche Tewametrie-Messung sicher zustellen, versuchte man die inneren und äußeren Einflussfaktoren möglichst zu vermeiden. Nach der Akklimatisation der Probanden mit Hilfe der Klimaanlage konnte die Messung an den volaren Armen in der Räumlichkeit durchgeführt werden. Die Raumtemperatur musste kontinuierlich aufgrund sommerlicher Hitze klimatisiert werden. Der transepidermale Wasserverlust wurde mit Hilfe des

Messgerätes an Unter- und Oberarm gemessen, wobei die Innenseite des Armes auf dem Tisch nach oben lag. Die Messsonde wurde senkrecht zur Hautoberfläche und mit nach oben gerichteter Öffnung des Zylinderkopfes aufgesetzt. Um Einfluss auf die Messgenauigkeit zu gewinnen, war es von großer Bedeutung zum einen die Messsonde ohne Druck auf die Haut aufzusetzen und zum anderen möglichst keinen Spalt zwischen Hautoberfläche und Sonde zuzulassen. Bei der Messung der TEWL-Werte kam es zum Beginn zu leichten Schwankungen, die aufgrund unterschiedlicher Temperatur von Hautoberfläche und Sonde erklären sind. Der Messvorgang war beendet, wenn sich der TEWL-Wert auf einem stetigen Level gehalten hatte.

3.5.3 Sekundärer Zielparameter - Hydratation mittels Corneometrie

Als sekundärer Zielparameter galt die Hydratation der Hornschicht als Maß für deren Wassergehalt, welcher mittels Corneometrie ermittelt wurde.

Für die Evaluierung der Hydratation der Hornschicht wurde die Kapazität über der Hautoberfläche mit Hilfe des Corneometers CM 820 (COURAGE & KHAZAKA electronic GmbH) mit einer Messtiefe von 30 µm gemessen.

Die Corneometrie erzielt eine weltweite Akzeptanz als effizientes Instrument, um die Variationen des Wassergehaltes im Stratum corneum, insbesondere die Trockenheit der Haut und den Effekt der Behandlung, zu messen. Sie stellt eine empfohlene und nicht-invasive Methode zur Hautfeuchtigkeitsmessung dar (O`goshi und Serup, 2005).

Die gegeneinander isolierten gitterförmigen Metallplatten in der Messsonde agieren wie ein Kondensator, der eine Messänderung in der Kapazität entsprechend des Wassergehaltes als nicht dimensionaler Wert an den Testarealen am Tag 0, 1, 2, 3, 4 nach Studienbeginn bestimmt. Die externen Bedingungen der Messung wurden gemäß den EEMCO-Richtlinien garantiert.

Auf dieselbe geforderte Art und Weise wie für die Tewametrie-Messung sollten die Probanden im akklimatisierten Zustand sein. Die Messung fand wie bei der Tewametrie am Unter- und Oberarm statt, jedoch verlangt das Messprinzip ein planes Anliegen der Messsonde bei konstantem Andruck.

3.5.4 Simulation einer Hautschädigung durch Tape Stripping

Tape Stripping stellt eine Methode dar, um eine morphologische Reduktion des Stratum corneum und somit eine Reduktion der Barrierefunktionalität zu erzielen. Im Rahmen der Studie wurde diese Methode eingesetzt, um einen Effekt der entsprechenden Hautareale unter Berücksichtigung der Verwendung der Testpräparate im Vergleich zu den unbehandelten Arealen zu dokumentieren. Tape Stripping ist eine reaktionslose, dem Probanden nicht gefährdende, standardisierte Methode, die klinisch und ethisch vertretbar ist. Für das Tape Stripping eignete sich Tesa-Klebeband (Größe 5x5 cm), um das gesamte Testfeld zu behandeln. Das Klebeband wurde auf die vorgesehenen Testareale gemäß dem Randomisierungsplan angebracht und wurde zusätzlich mit einem Papierband bedeckt. Um einen gleichmäßigen Druck über das gesamte Testareal zu ermöglichen, wurde eine kleine Rolle mit derselben Größe des Testfeldes genutzt. Das anschließende Abreißen des Klebebandes sollte schnellstmöglich durchgeführt werden. Mit Hilfe dieses Tesa-Klebebandes sollte in mehreren Zyklen (20-mal) die oberen Zellschichten der Hornschicht eines definierten Hautareals abgetragen werden. Circa 30 Minuten nach Entfernen des Klebebandes konnte der Effekt des Tape Stripping durch Tewametrie und Corneometrie belegt werden.

3.6 Adverse and Serious Adverse Events

Unter Adverse and Serious Adverse Events (AE/SAE) versteht man alle (schwerwiegenden) unerwünschten Nebenwirkungen, die im Rahmen einer klinischen Studie bei einem Probanden auftreten können. Es ist unwesentlich, ob das AE/SAE in einem kausalen Zusammenhang mit der klinischen Studie steht, relevant ist nur der zeitliche Zusammenhang. Die Probanden wurden nach den AE/SAE bei jeder Kontrolle befragt und bei ihrem Vorkommen in einer vorgeschriebenen Art dokumentiert. Die SAE veranlassten den Versuchsleiter die Durchführung der Studie unverzüglich zu beenden, um den Probanden nicht zu gefährden. Bei Auftreten der „Serious Adverse Events“ gemäß der SAE-Form sollte der Sponsor innerhalb von 24 Stunden informiert werden. Außerdem ist eine Meldung an die zuständigen Gesundheitsbehörden und Ethikkommissionen zwingend erforderlich, wenn der Verdacht des ursächlichen Zusammenhanges mit der Testsubstanz oder dem Prüfverfahren besteht.

3.7 Richtlinien und Durchführung der vorliegenden Studie

3.7.1 Good Clinical Practice – GCP

Um den Schutz der teilnehmenden Probanden und deren Datenschutz zu gewähren, treten nach wissenschaftlichen und ethischen Gesichtspunkten aufgestellte Regeln zur Durchführung der Studie in Kraft. Integriert in die Gute Klinische Praxis (GCP) sind Wissenschaftlichkeit der Studie, die Qualitätssicherung sowie die Verantwortung von Sponsoren, Monitoren und Versuchsarzt. Diese gelten international und sind für die Durchführung klinischer Studien standardisiert. Daraus resultiert die Vergleichbarkeit der Forschungsergebnisse.

3.7.2 Good Manufacturing Practice – GMP

Die Richtlinien zur Guten Herstellungspraxis (GMP) beinhalten die Sicherung der Qualität der Prüfsubstanzen und deren Herstellung für die klinischen Studien.

3.7.3 Monitoring klinischer Studien

Unter Monitoring versteht man die fortlaufende Überwachung, Beobachtung sowie Betreuung von Beginn bis zum Abschluss der Studie. Das Monitoring wird nach vorher festgelegten SPO's des Sponsors entsprechend der GCP durchgeführt. Standard Operating Procedures (SPO's) sind standardisierte Arbeitsanweisungen, welche das Vorgehen innerhalb eines betriebswirtschaftlichen Prozesses darstellt. Sie finden Anwendung in den pharmazeutischen Prozessen und klinischen Studien, wo es entscheidend ist, die Einhaltung immer gleicher Prozessdurchführungen zu garantieren und zu belegen. Unterschiedliche Aufgabenbereiche wie z.B. Studienplanung, die Studieninitiierung, die Überprüfung der protokollgemäßen Arbeit des Prüfarztes sowie des protokollgemäßen Umganges mit der Studienmedikation, die Datenverifizierung/Datenschutz während der Monitoring Visite sowohl der Abschlussbesuch ergeben sich für den Monitor.

3.8 Statistische Auswertung

Als Software für die statistische Auswertung wurde SAS V8.2 und MS Exel angewendet. Ab einer grundlegenden statistischen Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ konnten

Unterschiede als signifikant festgestellt werden. Für die statistische Evaluierung bot sich die Ein-Weg-Varianzanalyse (One Way Analysis of Variance [One-Way ANOVA]) an, da nur ein Faktor in den verschiedenen Mittelwertgruppen untersucht werden sollte. Die One-Way Analyse ist eine Technik, die zwei oder mehrere Proben aus normalverteilten Populationen mit entsprechender Varianz vergleichen kann. Des Weiteren wurde der Friedman-Test (Rangvarianzanalyse), ein nichtparametrischer statistischer Test zum Vergleich von drei oder mehr gepaarten Stichproben, hinzugezogen. Damit ist dieser das parameterfreie Äquivalent zu dem parametrischen ANOVA mit wiederholten Messungen, der eine Normalverteilung der Werte voraussetzt. Der Kruskal-Wallis-Test wurde zusätzlich zur Varianzanalyse/Vergleich von drei oder mehreren unabhängigen (ungepaarten) Gruppen eingesetzt. Als parameterfreier Test prüft er die sinngemäße Hypothese, jedoch verteilungsunabhängig. Statistisch signifikante Unterschiede wurden mit Hilfe von multiplen Paarvergleichen nach dem Student-Newman-Keuls Test untersucht.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten

Es nahmen insgesamt 13 Frauen und 17 Männer (Total: 30) mit Hauttyp II an dieser Studie teil. Das Durchschnittsalter der Freiwilligen betrug 27 Jahre (mindestens 22; maximal 34), das Durchschnittsgewicht ergab 68,9 kg (mindestens 52 kg; maximal 83 kg) und die Durchschnittshöhe betrug 174,3 cm (mindestens 160 cm; maximal 194 cm).

Für die Evaluation der Wirksamkeit von den Testpräparaten 1 und 2 wurde an 30 Probanden an gestrippter und ungestrippter Haut im Vergleich zu den Kontrollfeldern getestet.

4.2 Corneometrie

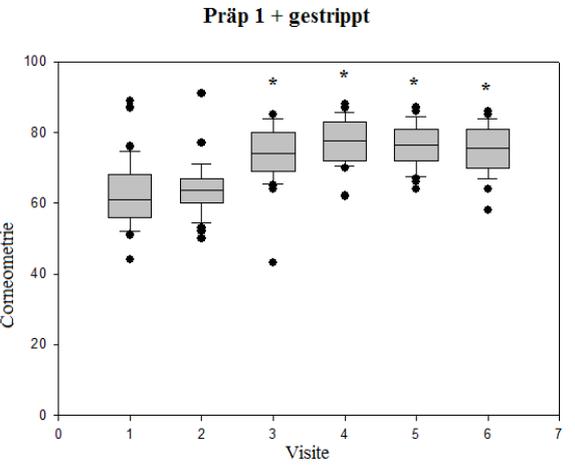
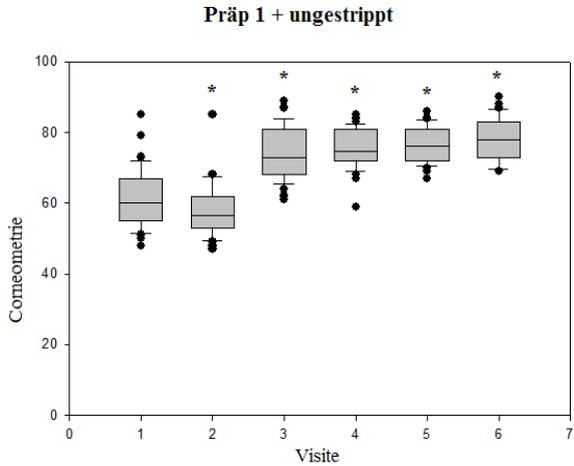
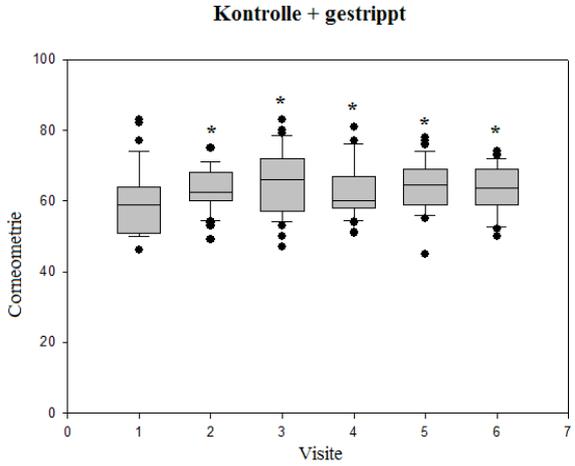
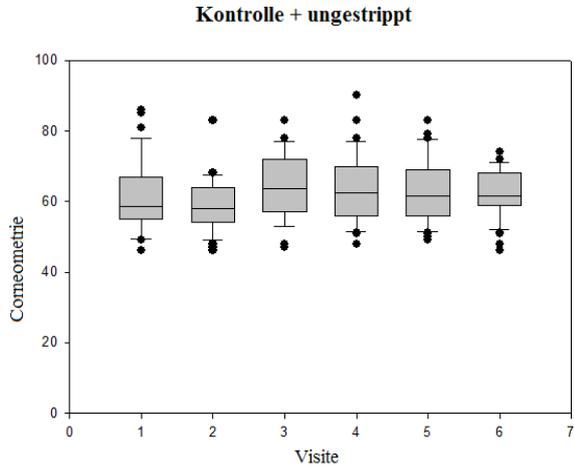
4.2.1 Prüfung der Wirksamkeit der Studienpräparate 1 und 2

Die Aufteilung der Statistik in der Corneometrie zur Prüfung der Wirksamkeit der beiden Studienpräparate erfolgte in der vorliegenden Studie in Visiten- und präparatbezogenem Verlauf. Die Testpräparatfelder 1 und 2 ungestrippt sowie gestrippt wurden jeweils mit ungestrippten und gestrippten Kontrollfeldern verglichen. Die Kontrollfelder wurden nicht mit den Studienpräparaten behandelt.

Visitenverlauf (Abbildung):

Für das ungestrippte Kontrollfeld konnte bei den sechs Visiten kein signifikanter Unterschied der Hydratation der Hornschicht nachgewiesen werden. Während bei dem gestrippten Kontrollfeld eine wesentliche Erhöhung der Hydratation in der Visite 2, 3, 4, 5, 6 gegenüber der Baseline (Visite 1) festzustellen ist. In der Visite 2 ist bei den ungestrippten Testpräparatfeldern 1 und 2 eine minimale Reduktion der Hydratation gegenüber der Baseline (Visite 1) zu erkennen. Indessen konnte in der Visite 2 bei den gestrippten Feldern der Studienpräparate 1 und 2 keine signifikante Reduktion, eher ein geringer Anstieg der Hydratation gegenüber der Baseline (Visite 1) erfasst werden. Währenddessen steigt die Hydratation des Stratum corneum unabhängig von ungestrippter und gestrippter Haut nach topischer Applikation von den Studienpräparaten 1 und 2 in den Visiten 3, 4, 5 und 6 gegenüber der Baseline (Visite 1) und Visite 2 drastisch an. Diese erhöhte Hydratation ist langwirkend bis Visite 6 zu verzeichnen. Demzufolge ist ein Beweis hinsichtlich der

Wirksamkeit der Studienpräparate 1 und 2 in der Corneometrie festzustellen. Es gibt keinen Beweis für einen Unterschied der Wirksamkeit von den Testpräparaten in ungestrippter und gestrippter Haut.



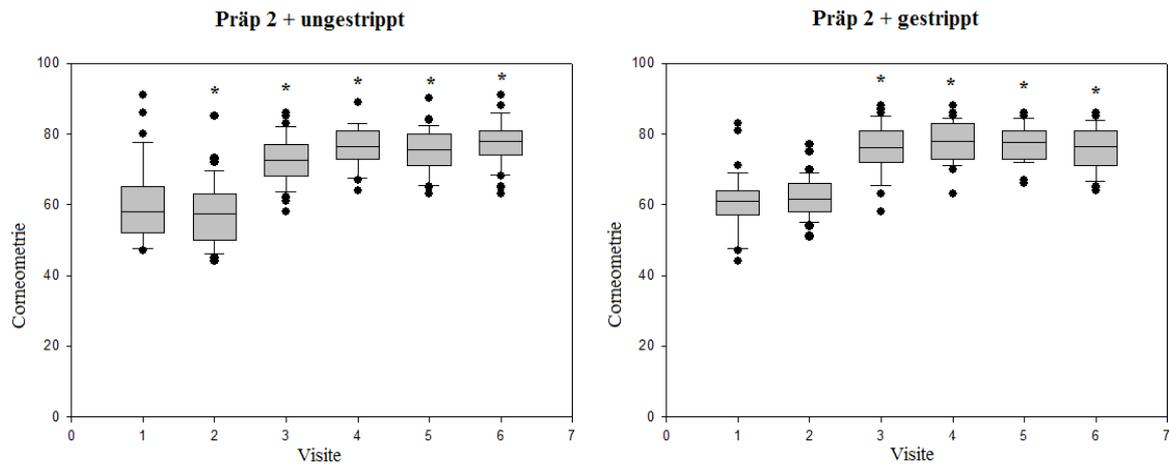


Abb. 9 a-f : Einfluss der Studienpräparate auf die Hydratation der Hornschicht im Vergleich zur Kontrolle mittels Comeometrie (Visitenverlauf)

* signifikanter Unterschied zur Hydratation des Stratum corneum, $p < 0,05$

Präparatbezogener Verlauf (Abbildung):

In der Visite 1 (Basismessung) ist in der Grafik kein signifikanter Unterschied der Hydratation des Stratum corneum zu erkennen. Indessen tritt nach dem Tape Stripping und ohne topische Anwendung der Studienpräparate in der Visite 2 ein statistisch charakteristischer Unterschied in der Hydratation der Hornschicht im Vergleich zwischen Studienpräparatfeld 1 ungestrippt und Studienpräparatfeld 1 gestrippt auf. Eine signifikante Differenz ist auch bei Studienpräparatsfeldern 2 ungestrippt und gestrippt festzustellen. Nach topischer Applikation der Studienpräparate 1 und 2 ist in den Visiten 3, 4, 5, 6 eine ausgeprägte Steigerung der Hydratation der Hornschicht gegenüber der Kontrolle zu verzeichnen, die bis zum Ende der Applikationsdauer anhält und quantitativ vergleichbar ist. Daher ist auch in diesem Verlauf die Wirksamkeit von den Studienpräparaten nachzuweisen. Jedoch liegt kein Beweis für einen Unterschied der Wirksamkeit der Studienpräparate in ungestrippter und gestrippter Haut vor.

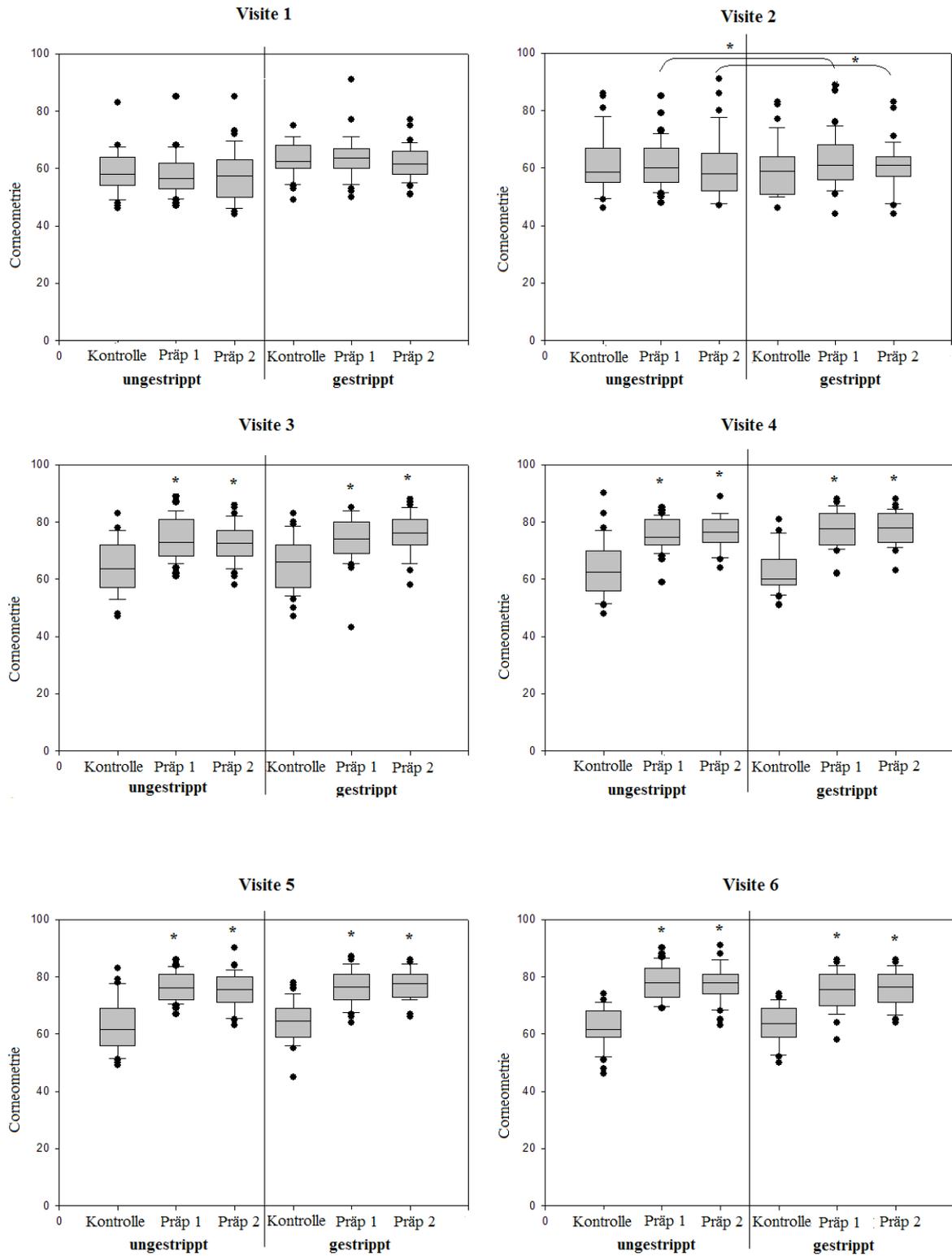


Abb. 10 a-f: Einfluss der Studienpräparate auf die Hydratation der Hornschicht im Vergleich zur Kontrolle mittels Corneometrie (präparatbezogener Verlauf)

* signifikanter Unterschied zur Hydratation des Stratum corneum, $p < 0,05$

4.2.2 Nachweis des Strippingeffektes

Anhand der Abbildungen ist zu erkennen, dass in der Corneometrie kein Nachweis für einen Strippingeffekt vorliegt.

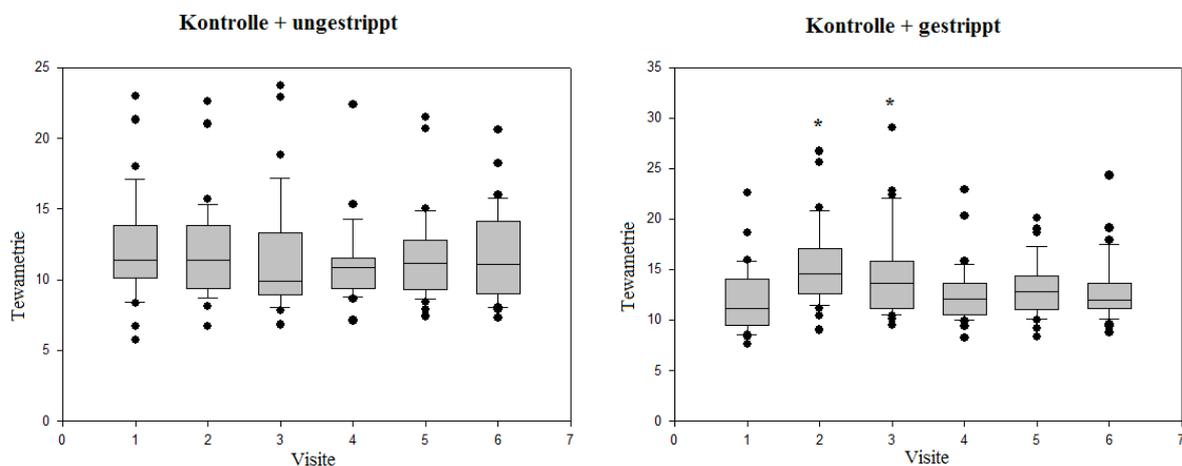
4.3 Tewametrie

4.3.1 Prüfung der Wirksamkeit der Studienpräparate 1 und 2

In der durchgeführten Studie gibt es in der Tewametrie keinen Beweis für die Wirksamkeit der Studienpräparate 1 und 2. Es zeigen sich jedoch Hinweise, dass der transepidermale Wasserverlust bei längerer Applikation absinkt. Aufgrund großer intra- und interindividuellen Schwankungen stellt dies, trotz der strengen Messkriterien, keine statisch relevante Wirkung dar.

4.3.2 Nachweis des Strippingeffektes

Im Gegensatz dazu liegt in der Tewametrie ein Beweis hinsichtlich des Strippingeffektes vor. Anhand der Grafiken im Visitenverlauf ist zu erkennen, dass die gestrippten Kontroll- und Studienpräparatsfelder 1 und 2 in den Visiten 2, 3 und teilweise 4 signifikante Steigerungen des transepidermalen Wasserverlustes aufweisen. Dies ist aufgrund des Strippingeffektes zu erklären. Während dessen besteht bei den ungestrippten Feldern kein charakteristischer Unterschied in der Tewametrie, außer bei dem Studienpräparat 1 ungestrippt in Visite 4, 5 und 6.



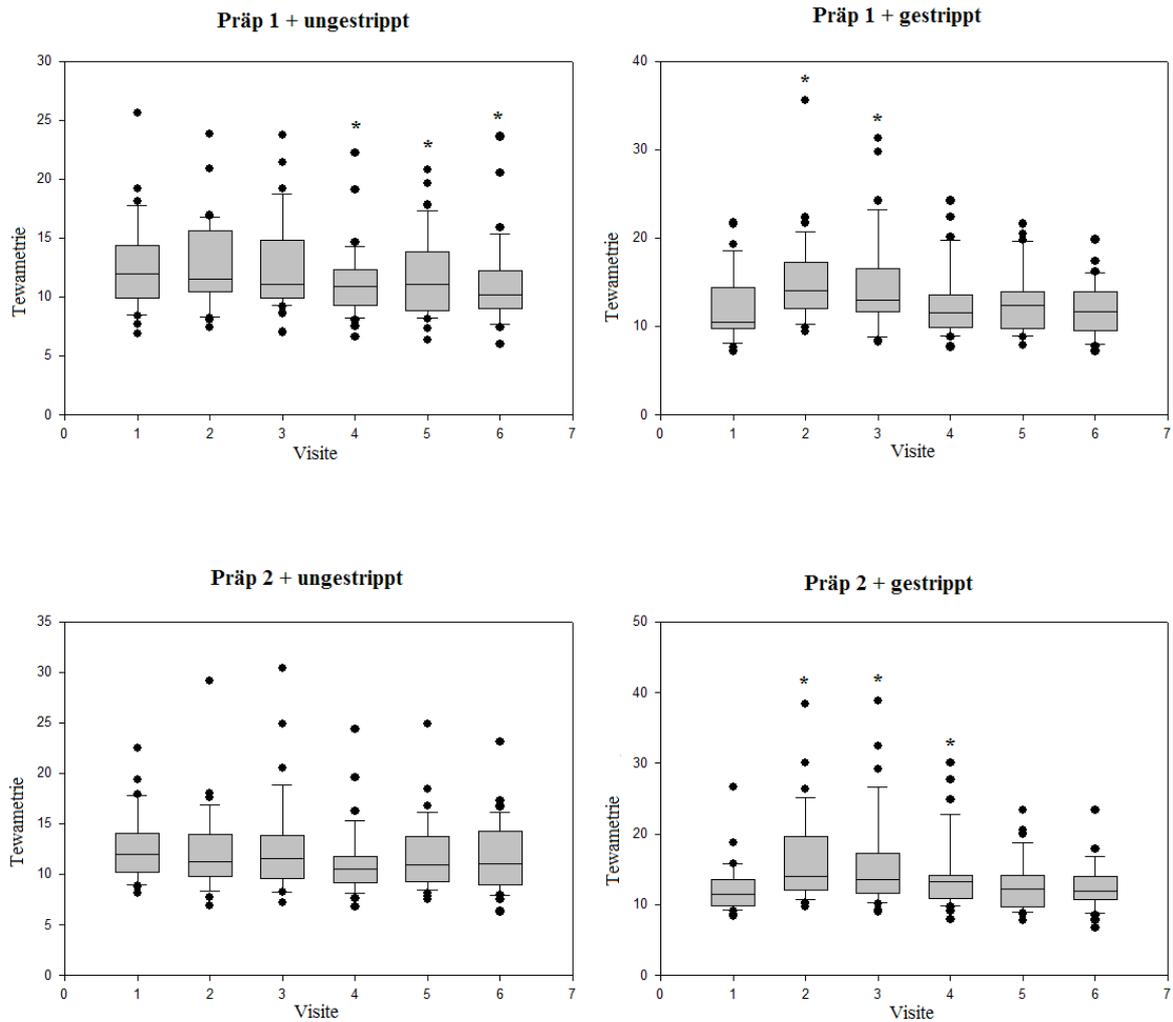
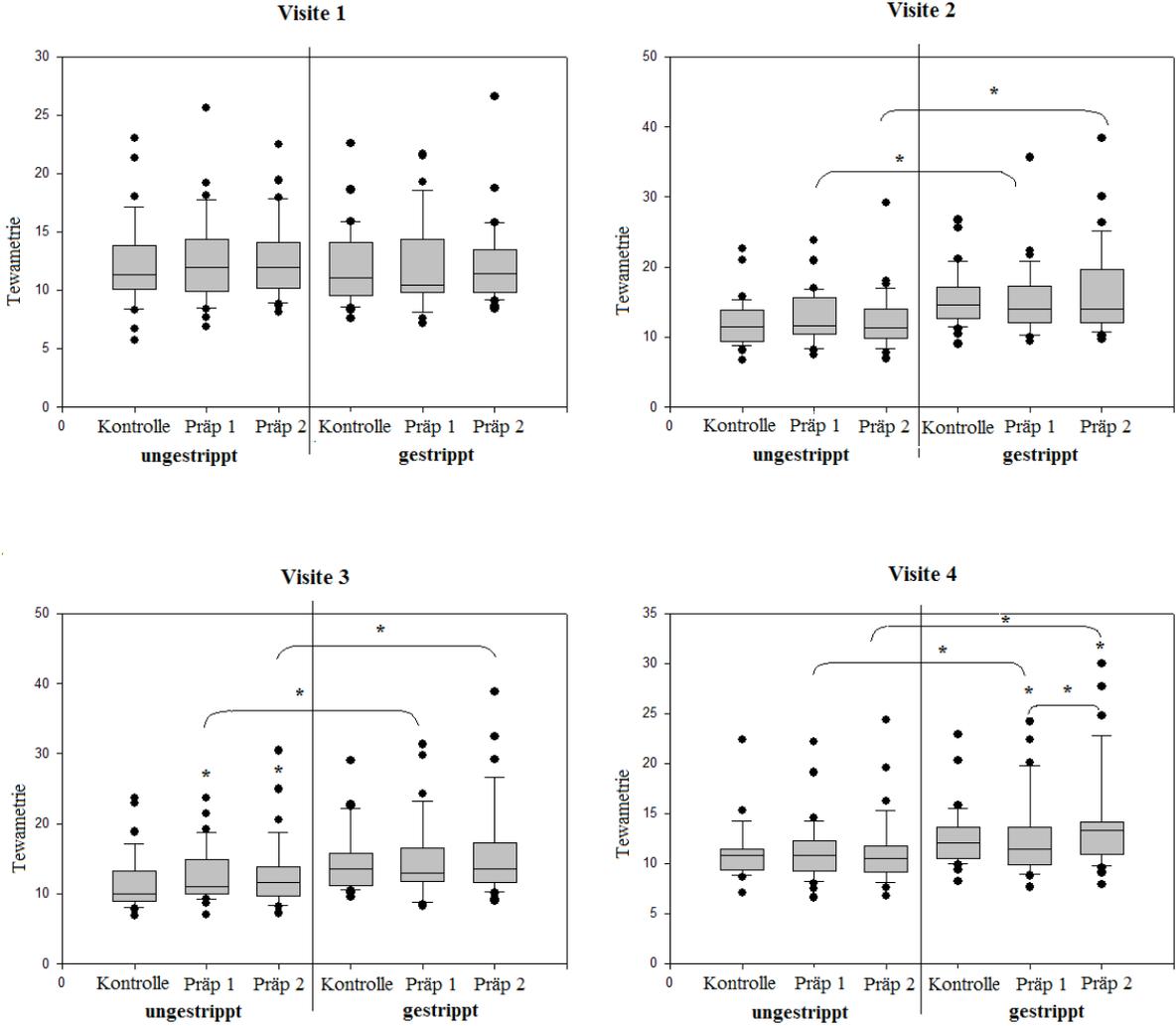


Abb. 11 a-f: Einfluss der Studienpräparate sowie Tape Stripping auf den transepidermalen Wasserverlust der Haut im Vergleich zur Kontrolle mittels Tewametrie (Visitenverlauf)

Im präparatbezogenen Verlauf ist in der Visite 1 (Basismessung) bei den Kontroll- und Studienpräparatfeldern 1 und 2 kein kennzeichnender Unterschied des TEWL festzustellen. Hingegen tritt nach dem Tape Stripping und ohne topische Applikation der Studienpräparate in der Visite 2 ein signifikanter Unterschied des transepidermalen Wasserverlustes einerseits zwischen Studienpräparat 1 ungestrippt und gestrippt und andererseits zwischen Studienpräparat 2 ungestrippt und gestrippt auf. Eine statistisch charakteristische Differenz des TEWL tritt in Visite 3 vergleichsweise wie in Visite 2 auf. Des Weiteren ist in der Visite 3 ein signifikanter Unterschied des TEWL-Parameters bei den ungestrippten Studienpräparatfeldern 1 und 2 gegenüber dem ungestrippten Kontrollfeld zu erkennen. In Visite 4, 5 und 6 gibt es zum einen einen charakteristischen Unterschied des TEWL vergleichend zwischen Studienpräparat 1 ungestrippt und gestrippt und zum anderen zwischen Studienpräparat 2 ungestrippt und gestrippt.

Es konnte einerseits zwischen den gestrippten Studienpräparatfeldern 1 und 2 und andererseits gegenüber der Kontrolle eine signifikante Ungleichheit des TEWL-Parameters wiederlegt werden. Ergänzend sind in Visite 5 und 6 zwischen den ungestrippten Studienpräparaten 1 und 2 sowie nur bei dem ungestrippten Studienpräparat 1 gegenüber der Kontrolle kennzeichnende Unterschiede des TEWL zu erwähnen.



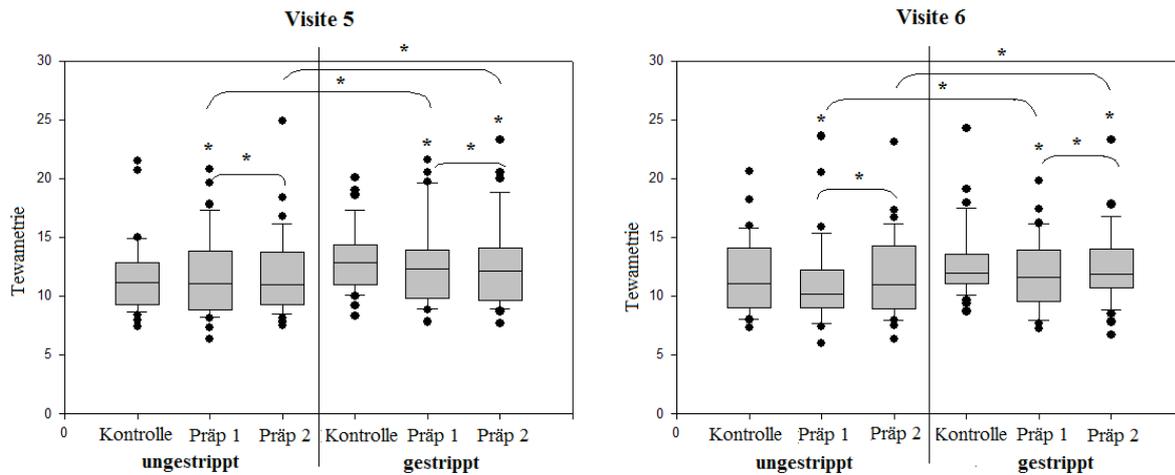


Abb. 12 a-f: Einfluss der Studienpräparate sowie Tape Stripping auf den transepidermalen Wasserverlust der Haut im Vergleich zur Kontrolle mittels Tewametrie (präparatbezogener Verlauf)

4.4 Vergleich Studienpräparate 1 und 2

In der Corneometrie sowie in der Tewametrie konnte kein Hinweis für einen Unterschied der Wirksamkeit von Studienpräparaten 1 und 2 gefunden werden.

4.5 Adverse und Serious Adverse Events

Es traten während der Durchführung der kosmetischen Studie bei keinem Probanden Adverse und Serious Adverse Events auf.

5 Diskussion

Die Grundhypothese dieser Dissertation ist, dass die bilayer-bildenden bipolaren Lipide nicht nur eine morphologische Integration erfahren, sondern physikochemische Effekte vermitteln, die es durch die Untersuchungen zu belegen galt.

Durch klinische Erfahrungen und Analysen mit bilayer-bildenden Lipiden in topischen Präparaten ließen sich barriereprotektive Effekte nachweisen.

Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz wurden sehr gut vertragen. Unerwünschte Ereignisse wie beispielsweise Unverträglichkeiten sind nicht aufgetreten. Eine neue Bewertung hinsichtlich des Nutzen-Risiko-Verhältnisses der Studienpräparate ist daher nicht notwendig.

5.1 Physikochemische Eigenschaften der SC Lipide - Lipidmodellsysteme

Um einen Einblick in die Struktur des SC zu bekommen, wurden verschiedene Modellvorstellungen über die Mikrostruktur des SC entwickelt. Deren Validierung steht heute zumeist immer noch aus und ist daher auch häufig Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen. Im folgenden Abschnitt soll der aktuelle Kenntnisstand zu diesem Thema reflektiert werden. Das SC ist eine faszinierende Struktur, welche zuerst leblos und trivial erscheint, doch in Wirklichkeit eine geradezu sagenhafte Komplexität und Feinheit aufweist (Marks, 2004; Grone, 2007). Das Verständnis von der Formation, der Struktur, der Beschaffenheit und der Reifung des SC ist in den letzten 30 Jahren enorm vorangeschritten (Harding, 2004).

Mit vielfältigen Methoden wurden die Anordnung und die Organisation des SC, insbesondere der interzellulären Lipidstrukturen des SC, untersucht. Im Jahr 1973 konnte durch die Anwendung von Gefrierbruchmikroskopie demonstriert werden, dass die Lipide des SC ein hochgeordnetes multilamellares System bilden, welches den Bereich zwischen den Korneozyten vollständig als interzelluläre Lipidmatrix ausfüllt (Breathnach et al., 1973). Diese interzellulären Lamellen konnten mit der vorher eingesetzten Transmissions-Elektronenmikroskopie nicht visualisiert werden. Ein weiterer Fortschritt konnte durch die Einführung von Rutheniumtetroxid (RuO_4) als Fixierungsagens (Madison et al., 1987) gezeigt werden, um die interzellulären Lipide elektromikroskopisch sichtbar zu machen.

Die interzellulären Lipidlamellen scheinen sich in einer trilamellaren Wiederholungseinheit mit einem sogenannten „broad-narrow-broad“ Aussehen zu gliedern. Madison et al. (1987)

erreichten die erste Visualisierung dieser „broad-narrow-broad-sequence“ der interzellulären Lipidlamellen des SC. Die beschriebenen Sequenzen erscheinen im mikroskopischen Bild in Form von alternierenden dunklen und hellen Banden unterschiedlicher Dicke, verursacht durch elektronendurchlässige und weniger durchlässige Zonen (Madison et al., 1987; Wertz und van der Bergh, 1998; Kessner et al., 2008).

Einige Studien werden hier aufgezeigt, die verschiedene theoretische Vorstellungen über die Lipidorganisation im Stratum corneum entwickelt haben. Die beschriebenen Modellsysteme der Lipidstruktur des SC bauen auf dem von Elias entworfenen Zwei-Kompartimenten-Modell auf. (Elias, 1983; Madison, 2003).

Das „Stacked Monolayer Model“ von Swartzendruber et al. veranschaulicht die lamellare Anordnung der interzellulären Lipidmatrix. Sie wird durch ein Überlappen der gestreckten Alkylketten der Ceramide und auch durch eine statistische Verteilung der Cholesterolemoleküle zwischen den einzelnen Schichten der Lipide charakterisiert. Die Anordnung der Lamellen im Elektronenmikroskop zeigt sich als Breit-Schmal-Breit-Abfolge (Swartzendruber et al., 1989).

Das von Forslind veröffentlichte „Domain Mosaic Model“ (Forslind, 1994) stellt die Lipidmatrix des SC als diskontinuierliches System dar. Die Lipide müssen für Diffusionsprozesse im flüssigkristallinen Zustand vorliegen. Durch die Dominanz langer Kohlenwasserstoffketten existieren gleichwohl kristalline und Gelphasen, die nicht die mechanischen Voraussetzungen an die Barriere erfüllen. Damit geht die Behauptung einher, dass die Bilayer innerhalb von Domänen ausgebildet werden, in denen ein Großteil der Lipide entsprechend ihrer Eigenschaften als kristalline oder Gelphasen vorliegen. Begrenzt werden diese Domänen von sogenannten „grain borders“, welche Lipide in flüssig kristallinem Zustand beinhalten. (Forslind, 1994).

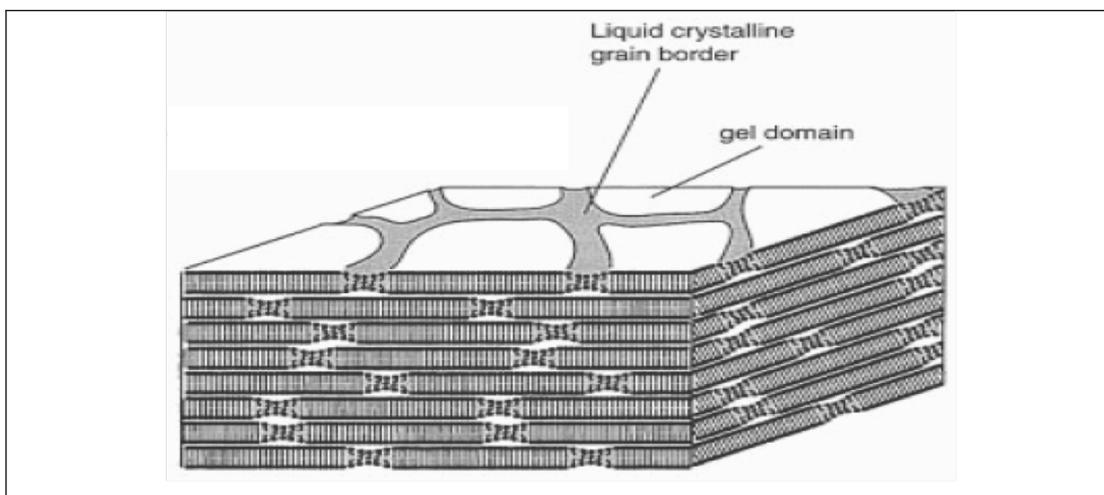


Abb. 13: Das „Domain Mosaic Model“ nach Forslind (1994)

Während die kristallinen und fluiden Areale im „Domain Mosaic Model“ nebeneinander in einer Schicht liegen, umfasst das „Sandwich Model“ (Bouwstra et al., 2000) eine Coexistenz von flüssiger und kristalliner Lipidphasen in getrennten Bereichen innerhalb einer dreischichtigen Einheit. In diesem Modell sind die Lipide in einer trilamellaren Grundstruktur organisiert: die fluide Lipidphase (schmale Schicht in der Mitte), bestehend aus den ungesättigten Seitenketten von CER[EOS] und Cholesterol, wird von zwei kristallinen Lipidstrukturen (breite Schichten) umgeben. Diese werden aus gesättigten Molekülteilen der Lipide gebildet. Bedingt durch die Lokalisation der fluiden Phase wird die Barrierefunktion der Haut nicht beeinträchtigt, da die Substanzen durch das SC zunächst die kristalline Region der Lipidlamellen passieren müssen (Bouwstra et al., 2001; Bouwstra et al., 2003; Kessner et al., 2008).

Eine andere Variante des Lipidmodellsystems wird von Norlén als „Single Gel-phase Model“ (Norlén, 2001) beschrieben und unterscheidet sich im Wesentlichen durch das Fehlen der Phasentrennung von früheren Modellen. Es wird postuliert, dass die Lipidmatrix aus einer einzigen zusammenhängenden, kohärenten lamellaren Gelstruktur aufgebaut ist (Norlén, 2001). Diese Lipidstruktur ist durch einen geringen Wassergehalt und einer geringen Beweglichkeit der Lipidketten charakterisiert. Eine geringe Wasserpermeabilität lässt sich aufgrund dicht gepackter, konstituierender Lipide erklären. Die erst genannten Modelle gehen von einer dominierten hairpin-Konformation der Ceramide (beide Alkylketten zeigen in eine Richtung) aus, während Norlén das Vorhandensein der full-extended Konformation (Alkylketten zeigen entgegengesetzte Richtung) in seine Ideen einbezieht.

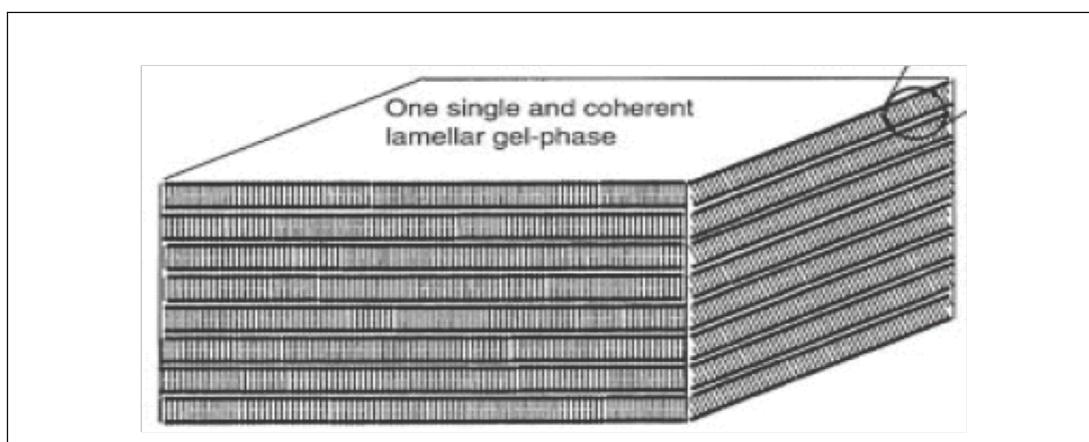


Abb. 14: Das „Single Gel-phase Model“ nach Norlén (2001)

Zusammenfassend ist zu sagen, dass alle Modellsysteme über die Anordnung der Lipidmatrix im SC kontrovers diskutiert werden. Keines der erwähnten Modelle konnte in Bezug auf die experimentellen Daten eindeutig verifiziert werden. Für keines der Modelle liegen Studien vor, die eine Umsetzung der vorgeschlagenen molekularen Anordnung auf die reale Lipidorganisation anerkennen.

Letztendlich konnten in den letzten Jahren viele neue Erkenntnisse bezüglich der Mikrostruktur des SC gewonnen werden. Ein besseres Verständnis über den Aufbau und die Organisation der SC Lipidmatrix ist eine Grundvoraussetzung, um die Barrierefunktion der Haut verstehen zu können. Ein größeres Wissen über die Lipidstruktur des SC ist für die Therapie bei einer Vielzahl von Hauterkrankungen, in welcher die Barrierefunktion beeinträchtigt ist, von großer Bedeutung. Um das Wissen über die Lipidorganisation zu vertiefen, sollte weiterhin intensiv auf diesem Gebiet geforscht werden (Hill und Wertz, 2003; Kessner et al., 2008).

Die durch Kiselev und Kessner gewonnenen Einblicke in die Struktur des SC erweitern die Diskussion über die bestehenden Modellvorstellungen sowie die Organisation der Lipidmatrix selbst. Basierend auf den neuen Erkenntnissen in der SC Lipidmodellmatrix wurde ein unabhängiges Modell, das „armature reinforcement“ Modell, entwickelt. Die CER[AP] in *ful-extended* Konformation stellt die Grundlage für den engen Kontakt zwischen zwei benachbarten Lipidschichten dar, wobei die Verbindung nur aufgrund der geringen intermembranären Hydratation zustande kommen kann. Die *ful-extended* Konformation der vorliegenden Ceramide geht bei Wasserüberschuss im intermembranären Raum, der größer geworden ist, verloren und verändert sich in die *hairpin*-Konformation. Der enge Kontakt zwischen den Layern besteht nicht mehr (Kiselev et al., 2005; Kiselev, 2007; Kessner et al., 2008).

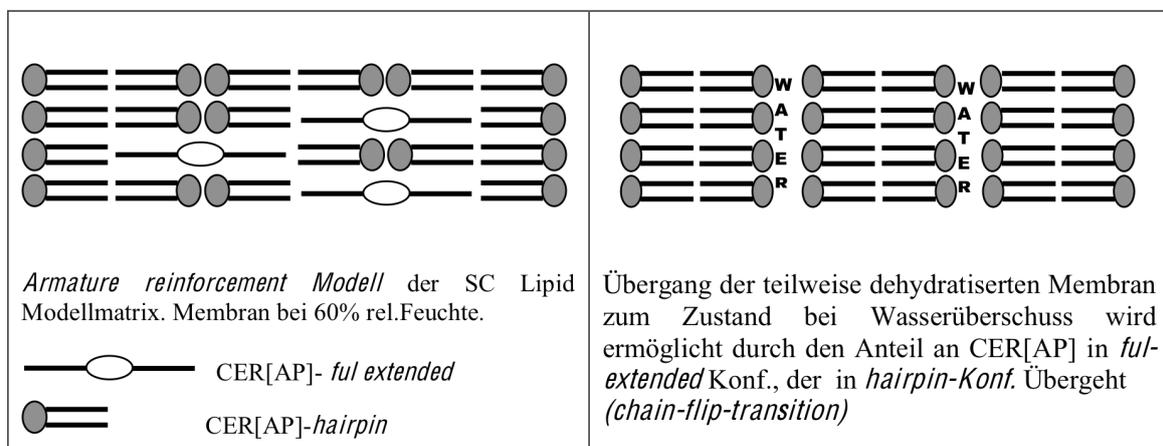


Abb. 15: „Armature reinforcement“ Modell der SC Lipid Modellmatrix nach Kiselev (2007) und modifiziert nach Kessner (2008)

Aktuell basiert dieses Modell nur auf einer relativ geringen Datenmenge. Aus diesem Grund muss das vorliegende Modell durch weitere Untersuchungen an modifizierten SC Lipidsystemen erweitert und verifiziert werden.

5.2 Welchen qualitativen und quantitativen Effekt üben die beiden Testpräparate auf die epidermale Barrierefunktion aus?

Um einen Substitutionseffekt der topisch-applizierten Prüfpräparate hinsichtlich der epidermalen Barrierefunktion nach morphologischer Reduktion des Stratum corneum durch Tape Stripping an gesunden Probanden nachzuweisen, stand die Messung der Barrierefunktion und Hydratation der Hornschicht mit Hilfe der Tewametrie und Corneometrie im Blickpunkt dieser klinischen Studie.

Aufgrund der Ergebnislage und der praktischen Durchführung der Studie hat sich gezeigt, dass die gewählte Methodik geeignet ist. Grundsätzlich lässt sich sagen, dass die gewünschten Zielparameter gemäß den Leitlinien, welche bereits definiert wurden, befähigt sind, eine Auskunft über die epidermale Barrierefunktion zu geben (Berardesca und EEMCO Group, 1997; Rogiers und EEMCO Group, 2001).

Um die Effekte der Präparate zu verstehen, ist die Diskussion, welche genauen Effekte durch die Messmethoden erfasst werden, von großer Bedeutung. Für die Tewametrie gilt, dass hierbei der Anteil der freien Wasserphasen (das Wasser, was aus der vitalen Epidermis durch das System hindurch an die Umwelt abgegeben wird) gemessen wird und demzufolge eine indirekte Messung vorliegt. Somit wird ein besonderer Teilaspekt des internen Wasserhaushaltes des Stratum corneum erfasst. An dieser Stelle sind die Ergebnisse nicht aussagekräftig. Es lässt sich tendenziell ein absinkender transepidermaler Wasserverlust bei längerer Applikation verzeichnen, jedoch keine abschließende Bewertung gestalten. Dies liegt nicht nur an der Sensitivität der Messmethode, die deutlich höher ist als die der Corneometrie, sondern auch an der Besonderheit, dass hier die freien Wasserphasen gemessen und bestimmt werden. Weitere Ursachen lassen sich darauf zurückführen, dass die relativ kleine Anzahl an Probanden sowie die intra- und interindividuellen Schwankungen Auswirkungen auf die Statistik der Tewametrie haben können.

Im Gegensatz zur Tewametrie, misst die Corneometrie den Wassergehalt des Gesamtsystems, ohne dass hierbei verschiedene Phasen des Wassers unterschieden werden. Wie bereits unter

Material und Methoden dargestellt wurde, erfolgt aufgrund von Leitfähigkeit und Impedanz eine entsprechende Messung und gibt Auskunft über den Wassergehalt des Stratum corneum. Anhand der Ergebnisse kann gesagt werden, dass die Studienpräparate in besonderer Weise den Wassergehalt des Stratum corneum steigern und damit die Grundlage für die Reorganisation der Lipidmatrix bilden. Im Gegensatz hierzu zeigen die Daten des transepidermalen Wasserflusses ein sehr unregelmäßiges Bild.

Hinsichtlich der Dauer des Substitutionseffektes ist zu erwähnen, dass ein Effekt von einer Applikation zur nächsten nicht interpretiert wurde. Stattdessen war es hier entscheidend, einen Langzeiteffekt über die anberaumte Studienzeit zu erzielen. So wird deutlich, dass die Derma-Membran-Struktur®-enthaltenden Studienpräparate die Dauer des Effektes verlängern. Dabei wird aus klinischer Sicht deutlich, dass es eben nicht entscheidend ist, kurzfristig, messbare quantitativ hochwertige Barriersubstitutionseffekte zu erzielen, sondern dass eine deutlich größere praktische Bedeutung in der mittel -und langfristigen Effektivität liegt.

Die zweimal täglich durchgeführten Applikationen führten hierbei zu einer Aufrechterhaltung eines Substitutionseffektes. Anhand der Corneometrie konnte nachgewiesen werden, dass der Wassergehalt bei gesunder Haut um circa 10 % bis 20 % angehoben wurden ist.

Dagegen konnte jedoch kein Effekt mit der Tewametrie belegt werden. Aufgrund der strengen Messkriterien kann dieser Effekt aufgrund der intra- und interindividuellen Schwankungen zwar praktisch relevant, jedoch nicht statistisch belegt werden. Es gibt hin und wieder Hinweise, dass der TEWL bei längerer Applikation absinkt, aber man kann daraus keine Wirksamkeit ableiten. Würde man 100 gesunde Probanden untersuchen, hätte man ein relevantes und statistisches Ergebnis. Aus praktischer Sicht ist dies mit Zurückhaltung zu bewerten.

In der Corneometrie konnte eine Steigerung des Wassergehaltes durch Applikation der Studienpräparate im SC erzielt werden. Gleichzeitig wurde eine Verbesserung der Barrierefunktionalität gesehen. Ob damit tatsächlich eine Barriere zu gewinnen ist, lässt sich nur schwierig beurteilen.

Für die Durchführung der Studie wurden ausschließlich gesunde Probanden ausgewählt. Grundsätzlich ist bei denen davon auszugehen, dass sie ein Lipidspektrum aufweisen, welches der Normalität entspricht und daher über eine völlig normale Barrierefunktion verfügen. Gleichzeitig stellte sich die Frage, warum die Studie nicht an Probanden mit erkrankter Haut,

wie zum Beispiel Patienten mit atopischer Dermatitis, durchgeführt wurden ist. Dazu muss gesagt werden, dass bei Atopikern die Haut nicht immer gleich erkrankt ist, und es daher intra- und interindividuelle Schwankungen gibt. Die Grundfragen der Wirksamkeit von Prüfpräparaten an atopischen Patienten können nur schwierig beantwortet werden, da die Struktur des SC bei diesen sehr inhomogen ist. Atopiker weisen einen unterschiedlichen Wassergehalt sowie ein verschiedenes Lipidspektrum auf. Die biologische Variante unter Atopikern ist sehr unterschiedlich und sehr groß. Daher ist es wichtig, eine sehr hohe Fallzahl von Probanden mit atopischer Dermatitis zu rekrutieren, zumal jeder in einem anderen Stadium der Erkrankung ist und einen abweichenden Expositionsdruck mit vielen Einflussfaktoren hat. Gerade diese Umstände stellen ein Problem dar. Aus diesem Grund war es sinnvoll, eine solche Studie an einer standardisierten Population durchzuführen. Ein weiterer Nachteil tritt auf, wenn bei Atopikern ausschließlich Wasser hinzugeführt wird. Dadurch kann sich die Barriere aufgrund der geringen Anzahl an Lipiden im SC nicht organisieren. Darum wählt man eine Kombination, in der Lipide und Wasser in einer Form vorhanden sind, wie zum Beispiel die hier verwendete Studiencreme Physiogel® A.I.

Durch Tape Stripping konnte eine morphologische Reduktion des SC erzielt werden, bei funktionell und strukturell normaler Barrierefunktion. So konnte bei den gesunden Probanden mit den verwendeten Studienpräparaten barriereprotektive Effekte nachgewiesen werden.

Um bei Probanden mit erkrankter Haut, wie bei Atopikern, einen solchen Substitutionseffekt unter Verwendung von Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz zu belegen, wurde nachfolgend die ATOPA-Studie durch Eberlein et al. (2008) durchgeführt. Die Effektivität dieser Studie konnte durch eine anhaltende Reduktion des TEWL nach Applikation dieser Studiencreme an einer Haut mit beeinträchtigter Barrierefunktion nachgewiesen werden. In der ATOPA-Studie wurden von einer großen Anzahl von Patienten mit leichter bis mittelschwerer Neurodermitis Daten zur Wirksamkeit, Sicherheit und Akzeptanz unter alltäglichen Bedingungen ermittelt (Eberlein et al., 2008). Die vorliegende Studie vergleicht mit einer kleineren Anzahl von Probanden.

Eine weitere vergleichbare Studie von Brüning et al. (2002) belegt auch, dass die Verwendung von Physiogel® A.I. Creme einen bedeutenden Stellenwert für die topische Behandlung von Patienten mit trockener Haut und die mit diesem Hautzustand einhergehenden Dermatosen hat. Grund dafür ist die Verminderung der Defizite von essentiellen Lipiden durch die lokale Applikation von hautähnlichen Lipiden (Brüning et al., 2002).

Ziel aller Autoren ist es, eine suffiziente Basistherapie zu entwickeln, vor allem bei Atopikern, aber auch bei anderen chronischen Barrierestörungen und einen lang andauernden und gleichbleibenden Effekt („Steady-State-Effect“) zu erreichen. Ein anderer Aspekt wird von Loden et al. und Gloor et al. beschrieben. Deren dargestellten Ergebnisse zeigen, dass hohe Harnstoffkonzentrationen hohe Effekte bringen, aber sehr kurzfristige Wirkungen vermitteln (Loden, 1996; Loden et al., 1999; Gloor et al., 2002). Darum sollten die kurzfristig gemessenen Spitzeneffekte in den Hintergrund treten.

Harnstoffhaltige Präparate haben multiple Effekte an der Haut. Ihre wichtigste Eigenschaft ist ihr hydratisierendes, schnell wirkendes Potential. Die Anwendung von Moisturizers in der Behandlung von trockener Haut ist ein wichtiger Aspekt in der dermatologischen Therapie. Der Zweck der Applikationen von den Moisturizer Cremes ist die Verbesserung der Barrierefunktion und die Erhöhung der Hydratation in der Hornschicht (Gloor et al., 2002). Dies gilt auch bei den vorliegenden Prüfpräparaten.

In den vergangenen Studien konnte mit harnstoffhaltigen Testpräparaten sowohl an gesunder Haut als auch an trockener Haut eine signifikante Erhöhung der Hydratation in der Corneometrie nachgewiesen werden (Serup, 1992; Lodén, 1996).

Wie bei Hagenströmer und Kollegen gezeigt werden konnte, hat die geringe Konzentration von Harnstoff (4 %) keinen Einfluss auf die epidermale Barriere. Die Ursache hierfür könnte eine zu geringe Konzentration der Wirkstoffe für den barriereverbessernden Effekt sein oder in der Verfahrensweise liegen (Hagenströmer et al., 2001).

Der kurz- und schnellwirkende Effekt des Moisturizers Harnstoff und der langwirkende und gleichbleibende Effekt der lamellären Systeme (DMS®) erwarten die Entwicklung eines Vehikelsystems aus diesen beiden Präparaten. Allerdings stellt es sich galenisch gesehen als problematisch dar. Dies gilt vor allem für Harnstoff bezüglich der Stabilität als auch die Handhabung bei der Einarbeitung in verschiedene Vehikelsysteme (Wohlrab, 2005).

Die untersuchten Prüfpräparate haben quantitativ sowie qualitativ einen Effekt auf die epidermale Barrierefunktion. Dabei ist für die klinische Relevanz des Effektes nicht nur ausschlaggebend, dass eine Barriereprotektion grundsätzlich nachweisbar ist, sondern wie rasch sie eintritt, in welchem Ausmaß und wie lange sie anhält. Von großer Bedeutung ist bei Atopikern die Wiederherstellung der Barriere. Sie reduziert das Risiko, dass exogene Noxen die Entzündung mit Fokus auf die atopische Dermatitis immer wieder auslösen. Im Bezug auf die atopische Dermatitis ist es klinisch relevant, vor allem einen rasch einsetzenden und für eine gewisse Zeit anhaltenden Effekt hinsichtlich der Barriereprotektion zu erreichen. Das

Ziel wäre, eine Barriereprotektion über 24 Stunden zu verwirklichen. Leider ist dies nicht realistisch. Es muss vielmehr ein gewisses Zeitmass berücksichtigt werden, um die Funktionalität dieser Schicht in einer regulierten Barriere zu erreichen.

Zur Verbesserung der Ergebnisse lässt sich insgesamt folgendes anführen. Bezüglich der Tewametrie hätte aus biometrischer Sicht eine größere Population ein relevantes Ergebnis hervor gebracht. Im Hinblick auf die Dauer der Studie wäre ein längerer Anwendungszeitraum vorteilhaft gewesen, um einen Substitutionseffekt in der Tewametrie zu belegen. Auch der finanzielle Rahmen sowie ethische Gesichtspunkte spielen für die Durchführung einer solchen Studie eine entscheidende Rolle.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass bei der klinischen Anwendung eine Barriereprotektion erreicht werden kann. Es sollte jedoch der Substitutionseffekt nicht quantitativ hoch sein, sondern sich qualitativ durch seine Langfristigkeit auszeichnen.

Allein die Zufuhr von Wasser in schwer barrieregeschädigter Haut kann natürlich nur begrenzt einen funktionellen Effekt haben. Die Barrierefunktionalität wird im Wesentlichen durch die Organisation der Lipidbilayer hervorgerufen. Liegt eine Dermatoze mit verminderten Lipiden vor, zeigt die Substitution von Moisturizing Creme mit Harnstoff keinen therapeutischen Effekt. Der Vorteil der DMS® liegt in ihrer Zusammensetzung. Wenn dieses Gesamtsystem mit seinen bilayer-bildenden Lipiden und Wasser zugeführt wird, erzielt es einen langfristigen, nicht hohen Substitutionseffekt. Dies ist in der klinischen Praxis relevant.

5.3 Strategien zur Barriersubstitution durch Applikation epikutaner Systeme oder Präparate

Die vorliegende Studie und die bisherigen Untersuchungen zeigen, dass die substituierten Bilayerlipide in Form von Membransystemen und Liposomen die physikochemischen Voraussetzungen für die Integration in die physiologischen Membranstrukturen erfüllen (Kirjavainen et al., 1996, Wohlrab et al., 2010). Die molekulare Interaktion der topisch applizierten Lipide mit dem Stratum corneum und ihr Einfluss auf die Lipide der intercorneozystischen Lipidmatrix, welche vorwiegend in Membranen organisiert sind, ist eine höchst komplexe Methode (Sheu et al., 1999; Wohlrab et al., 2010).

Wie die Studie von Wohlrab et al. (2010) gezeigt hat, besteht aufgrund von physikochemischen Eigenschaften der SC Lipide die Möglichkeit, dass sich bipolare Lipide

integrieren können. Zwar sind die genauen molekularen Abläufe der Interaktion noch weitgehend unklar, jedoch ist zweifellos, dass die interzelluläre Lipidzusammensetzung und -ordnung des SC diese Interaktion maßgeblich bestimmt. In dieser Studie wird das Schicksal topisch applizierter, biokompatibler Phosphatidylcholine entsprechend verwendeter Emulgatoren vergleichend zu lamellären Zubereitungen, die emulgatorfrei sind, in Abhängigkeit der Phasenorganisation, untersucht. Anhand von Fluoreszenzmarkierung der applizierten Lipide konnte deren Penetrationsverhalten in humaner ex vivo Haut untersucht werden. Gleichzeitig wurde ein Vergleich zwischen intakten und definiert geschädigten Verhältnissen der epidermalen Barriere vorgenommen. Durch Manipulation der thermischen Penetrationsbedingungen wurde der Einfluss der Phasenübergangstemperatur der SC-Membranen untersucht und durch artifizielles Wässern der Hautproben nach der Penetration der wash out effect quantifiziert verglichen. Anhand von beeindruckenden, fluoreszenzmikroskopischen Bildern (Abb. 16 a-b) konnte deutlich gezeigt werden, dass das phospholipid-membranhaltige Präparat nahezu ausschließlich eine Fluoreszenz im SC als Ausdruck einer intensiven Interaktion verursacht hat. Insbesondere Phosphatidylcholine, welche bipolare Lipide darstellen, zeigen intradermale Verteilungsmuster, die auf eine besonders intensive Interaktion mit den physiologischen Membranen hinweisen (Wohlrab et al., 2010).

Anhand dieser Studie konnte durch die Substitution von bipolaren Lipiden ein Nachweis von Effekten gezeigt werden. Es wurden vornehmlich bilayer-bildende Lipide und nur ein geringer Anteil von Wasser substituiert.

Durch klinisch messbare Daten konnte demonstriert werden, dass eine Phasenseparation innerhalb des SC stattfindet. Membranabschnitte als Phosphatidylcholine stellen sich im System isoliert dar und verbinden sich nicht mit den Membranen, sondern liegen dort als Bruchstücke vor. Daher besetzen sie physikochemisch eine neutrale Zone und halten den Durchgang des Wassers auf. Ohne viel Wasser zu substituieren, kommt es plötzlich zu einem deutlichen Anstieg des Wassergehaltes im System (endogenes Wasser). Das ist der Beweis dafür, dass das System zumindest funktionell, was man mit dem SC Lipiden appliziert, in irgendeiner Weise interagieren muss. Dieses Phänomen bezeichnet man als „interne Okklusion“. Dies ist ein schonender, qualitativ nicht so ausgeprägter, aber dafür ein langfristiger Effekt. Wenn man eine O/W-Emulsion aufträgt, wird eine wasserundurchlässige Fettschicht, also eine oberflächliche Okklusion erzeugt.

In den vorliegenden Ergebnissen dieser Dissertationsschrift konnte ebenfalls ein Substitutionseffekt durch Anstieg des Wassergehaltes mittels Corneometrie im SC nachgewiesen werden. Somit bestätigt sich, dass auch bei gesunden Probanden eine interne Okklusion stattgefunden hat. Der Effekt ist jedoch nicht so stark ausgeprägt, weil sich trotzdem ein Gleichgewicht des Wasserflusses einstellt. In der Tewametrie wurde eine geringe Reduktion des TEWL über eine längere Applikationszeit vermerkt. Gleichwohl konnte dieses Ergebnis keine statistische Relevanz nachweisen. Begründet wird dies mit dem Studienkonzept und vor allem mit der zu geringen Anzahl von Probanden.



Abb. 16 a-b: Fluoreszenz-mikroskopische Demonstration der Verteilung von einer epikutan-applizierten lipophilen Phase innerhalb der Hautschichten unter Verwendung von DiI-markierten Lipiden (rot), mit und ohne Auflage von einem phase-vergleichendem Abbild der vitalen Epidermis (a=DMS, b=PEG 20 Stearat)

5.4 Gibt es einen Nachweis, dass Tape Stripping in dieser Studie einen Effekt auf die epidermale Barriere auslöst?

An gesunden Probanden wurde mit Hilfe von Tape Stripping eine morphologische Reduktion des SC vorgenommen und damit die Barrierefunktion verändert. Diese Technik wird seit Jahrzehnten in der Dermatologie sowie Pharmakologie angewendet, um die SC Masse sowie Dicke zu messen und die Barrierefunktion sowie die Physiologie der Hornschicht zu analysieren (Choi et al., 2003).

In der vorliegenden Studie kann in der Tewametrie ein Beweis des Strippingeffektes festgestellt werden. Vor allem nach dem Tape Stripping bewirkt es bei allen gestrippten Hautarealen an den vorderen Ober- bzw. Unterarmen der Probanden eine signifikante Erhöhung des transepidermalen Wasserverlustes.

Vergleichend mit einer anderen Studie von Frödin und Skogh wurde an 10 Probanden über 15 Tage die Rate der Evaporation nach dem Strippen eines Testareals mit Klebeband untersucht. Es konnte eine deutliche Erhöhung des TEWL nach dem Tape Stripping festgestellt werden, die sich jedoch an den ersten drei Tagen rasch zurückentwickelte (Frödin und Skogh, 1984).

In der Corneometrie gibt es in der vorliegenden Studie keinen Hinweis auf einen Strippingeffekt. Der Gesamtwassergehalt befindet sich zu 90 % in dem unteren Bereich des SC (Stratum compactum) und nur ein geringer Teil im oberen Bereich des SC (Stratum disjunction) und ist somit nicht aussagekräftig messbar.

Die Wasserdurchlässigkeit des Systems als Maß der Barrierefunktionalität lässt sich mit der Tewametrie messen und ist somit sensitiver.

Es steht auch zur Diskussion, ob Tape Stripping für die Corneometrie eine geeignete Methode für den Nachweis eines Effektes auf die epidermale Barriere ist. Das Corneometer ist beispielsweise sehr empfindlich für Veränderungen vorkommend in extrem trockener Haut wie bei atopischer Dermatitis. Ihre Messungseigenschaften unterstützen den extrem niedrigen Stand der Hydratation, der größtenteils aus gebundenem Wasser zusammengesetzt ist wie z.B. im pathologischen SC bekannt ist (Hashimoto-Kumasaka et al., 1993). Derartiges pathologisches SC ist durch eine verminderte Fähigkeit Wasser zu binden charakterisiert und weist demzufolge einen niedrigeren Wassergehalt auf (Werner, 1986).

Zusätzlich beeinflussen andere verschiedene Faktoren den Grad der Barrierschädigung sowie die Regeneration der epidermalen Barrierefunktion und die Menge der abgetragenen Hornschicht. Derartige Faktoren sind Temperatur, Tageszeit, Intensität und Methodik der

Druckanwendung, Geschlecht und Alter, klinische Veränderungen der Barriere, Hautfurchen und das Material des verwendeten Tapes. Die Einflüsse sollten begrenzt sein, wenn Tape Stripping ausgeführt wird (Breternitz et al., 2007). Diese Einflussfaktoren wurden in der vorliegenden Studie limitiert.

Wie auch hier die vorgestellten Daten sehr schön nachweisen, gab es eine klare reproduzierbare Störung der Barrierefunktionalität, die eine gute standardisierte Grundlage für solche klinischen Untersuchungen darstellt.

5.5 Lassen sich zwischen den beiden Testpräparaten relevante Unterschiede nachweisen?

Zwischen den beiden Studienpräparaten lassen sich keine Unterschiede in dem Substitutionseffekt bezüglich der Barrierefunktionalität bei der Tewametrie und der Corneometrie nachweisen. Beide Prüfpräparate enthalten Derma-Membran-Strukturen®, die im Ergebnis einheitlich eine sichtbare Erhöhung des Hydratationszustandes der Hornschicht in der Corneometrie aufzeigen. Jedoch liegt bei beiden kein Beweis in der Tewametrie vor.

Das Physiogel® A.I. Sonnencreme weist im Gegensatz zu Physiogel® A.I. Creme Lichtschutzfilter wie die Mikropigmente Titandioxid und Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine auf (Bennat und Müller-Goymann, 2000). Titandioxid, ein physikalischer Blocker, kommt in fast jedem Sonnenschutzmittel vor und kann wegen des hohen Brechungsindex das UV-Licht reflektieren bzw. streuen und absorbieren. Dieses effiziente, lichtbeständige, metallische Oxid wird zu Nanopartikeln verarbeitet, die ein größeres Absorptionsprofil in UVB, aber auch UVA sowie sichtbare Stufen mit nahezu geringfügigen Irritationen und Sensibilisierungspotential aufweisen. Aufgrund ihrer geringen Partikelgröße sind sie für das menschliche Auge auf der Haut transparent und auch besser zu verarbeiten. Damit wird zugleich die kosmetische Akzeptanz des Produktes aufgewertet. Bedenklich ist dagegen die mögliche systemische Absorption der Nanopartikel. Trotzdem stellt dies kein Risiko für die menschliche Haut oder Gesundheit dar (Atoniou et al., 2008; Nohynek et al., 2007). Mit Hilfe der lichtmikroskopischen Auswertung ist Titandioxid ausschließlich an der äußersten Oberfläche des SC zu finden, während es in den tieferen Schichten des SC, der Epidermis und der Dermis nicht nachzuweisen ist (Schulz et al., 2002). Ebenfalls ist Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, ein chemisch, öllöslicher, absorbierender Stoff, welcher in Physiogel® A.I. Sonnencreme enthalten ist, der

Hochintensitäts-UV-Strahlen mit Anregung in einen höheren Energiezustand absorbiert und die Haut vor UVA und UVB schützt. Dieser UV-Filter kann erfolgreich eingesetzt werden, da er eine hohe Photostabilität und breitbandfilternde Kapazität aufweist, sowie die Photostabilität anderer UV-Filter erhöht. Aus diesem Grund ist Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine ein leistungsstarker Lichtschutzfilter, um eine optimale Wirksamkeit von Sonnencremes zu gewährleisten (Chatelain und Gabard, 2001; Atoniou et al., 2002).

Durch die Zugabe von physikalischen Sonnenschutzfaktoren wurde die Messung in einem stärkeren Ausmaß behindert als erwartet. So kann nicht ausgeschlossen werden, dass Physiogel® A.I. Sonnencreme mit seinen UV-Partikeln Rückstände auf der Haut entstehen lässt, da es eine nicht penetrable Phase enthält und somit die Messungen der Tewametrie und Corneometrie beeinflusst. In Bezug darauf lässt sich in der Corneometrie nicht eindeutig eruieren, ob der gemessene Wert des Wassergehaltes zur Hornschicht des Probanden oder zur Zusammensetzung des Physiogel® A.I. Sonnencreme gehört. Trotzdem ist davon auszugehen, dass beide Studienpräparate aufgrund ihrer Derma-Membran-Struktur® eine gleiche barriereprotektive Wirkung entfalten. Da die Messmethoden, die zur Zeit zur Verfügung stehen, sehr bedingt oder eingeschränkt zu gebrauchen sind, ist es nicht möglich die Ergebnisse unmittelbar zu vergleichen. Letztendlich fehlt damit der Beweis. Daraus ist zu schlussfolgern, dass Messmethoden entwickelt werden sollten, die diesen Beweis erbringen können.

Von großer Bedeutung ist jedoch, dass das Physiogel® A.I. Sonnencreme mit einer anderen kosmetischen Indikation den gleichen Barriereeffekt wie Physiogel® A.I. Creme erfüllt. Es geht dabei nicht um die Sonnenschutzkomponente oder zu testen, ob dieses ein effektives Sonnenschutzmittel darstellt. Es geht vielmehr darum, dass die Zubereitung mit dem Sonnenschutzadditivum den gleichen Barriereeffekt vermittelt wie Physiogel® A.I. Creme. Dieser Vorteil ist ganz entscheidend bei Atopikern, da diese eine gestörte Barrierefunktion haben und aufgrund dessen eine Barriereprotektion benötigen. Die Möglichkeit eines zusätzlichen Sonnenschutzes ist besonders für Patienten mit atopischer Dermatitis geeignet und auch von großem Nutzen.

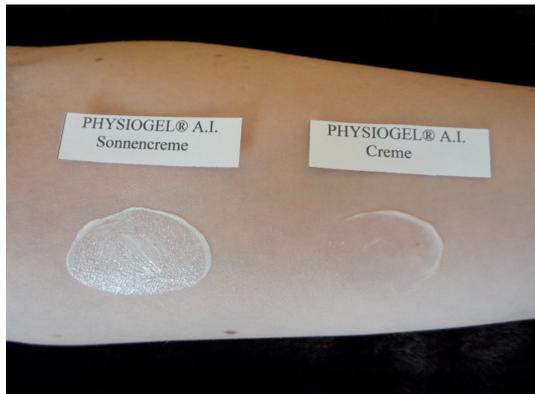


Abb. 17: Vergleich Applikation Physiogel® A.I. Sonnencreme (links) und Creme (rechts) an einem gesunden Probanden

In aller Bescheidenheit möchte ich betonen, dass auf der Grundlage dieser Ergebnisse die beiden Studienpräparate anschließend für die atopische Haut auf dem Markt weiter entwickelt wurden.

6 Zusammenfassung

Das Stratum corneum stellt ein multilamellar organisiertes System dar, welches aus mehreren Lagen abgeflachter Korneozyten, die nach außen hin durch den cornified envelope umhüllt und in einer interzellulären Lipidmatrix eingebettet sind. Die Hauptpenetrationsbarriere des menschlichen Organismus wird in dieser Schicht vermittelt. Eine wesentliche Besonderheit des Stratum corneum ist die außergewöhnliche Lipidzusammensetzung. Deren Hauptbestandteil, den Ceramiden, wird die größte Bedeutung zugeschrieben. Um über die physikalischen Eigenschaften und Interaktionen der neun Ceramidspezies Rückschlüsse auf die Ausbildung der Barriereeigenschaften ziehen zu können, ist zunächst deren physikochemische Charakterisierung notwendig (Kessner et al., 2008).

Veränderungen in der Lipidzusammensetzung und in der epidermalen Differenzierung führen zu einer gestörten Hautbarriere, was das Eindringen von umweltbedingten Allergenen, immunologische Reaktion und Entzündung in der atopischen Dermatitis zulässt (Jensen und Proksch, 2009).

Im Rahmen dieser Dissertationsschrift wurden zwei Studienpräparate hinsichtlich des Substitutionseffektes auf die epidermale Barrierefunktion nach morphologischer Reduktion des Stratum corneum durch Tape Stripping an gesunden Probanden getestet. Anhand von etablierten Methoden wie die Tewametrie und Corneometrie stand die Messung der Barrierefunktionalität und Hydratation des Stratum corneum im Vordergrund. Die Ergebnisse zeigen, dass die gewählte Methodik geeignet ist, um einen Substitutionseffekt an der epidermalen Barriere nachzuweisen.

Die Testpräparate stellen mit ihren Eigenschaften und Zusammensetzungen ein Vehikelsystem mit neuartiger Galenik in der Therapie der Dermatologie dar. Aufgrund eines neuartigen High-Tech-Herstellungsverfahrens weisen diese Studienpräparate lamellare Strukturen auf, die als Derma-Membran-Struktur® bekannt ist und als morphologisches Äquivalent der Barrierefunktion der Hornschicht angesehen werden kann. Bedingt durch dieses technische Verfahren kann bei der Herstellung der Bilayersysteme auf künstliche Stoffe verzichtet und somit eine hohe Verträglichkeit erzielt werden.

Es kann festgestellt werden, dass die zwei untersuchten Testpräparate eine Substitution der Barrierefunktionalität realisieren. Der besondere Vorteil gegenüber bisher verwendeten Standardvehikelsystemen liegt darin, dass eine mittel- und langfristige Effektivität des Dermamembransystems zu erkennen ist.

Physiogel® A.I. Creme mit und ohne Lichtschutz sind sehr gut verträglich und als Basistherapie und auch als medikamentöse, intermittierende Anwendung für Probanden mit gesunder und erkrankter Haut geeignet (Brüning et. al., 2002).

Die Anwendung beider Testpräparate stellt einen wichtigen und bewährten Teil des therapeutischen Konzepts für die Therapie einer Vielzahl von verschiedenen chronischen Dermatosen dar.

Weiterführende Untersuchungen mit der Kombination aus dem schnellwirkenden Moisturizer Harnstoff und den langwirkenden Bilayersystemen, eine größere Probandenzahl sowie eine längere Therapiedauer wären von großem Interesse, besonders für Patienten mit trockener Haut.

7 Literaturverzeichnis

Abraham W, Wertz PW, Landmann L, Downing DT (1987) Stratum corneum lipid liposomes. Calcium induced transformation into lamellar sheets. *J Invest Dermatol* 88:212-214

Armen RS, Uitto OD, Feller SE (1998) Phospholipid component volumes: determination and application to bilayer structure calculations. *Biophys J* 75:734-44

Atoniou C, Kosmadaki MG, Stratigos AJ, Katsambas, AD (2008) Sunscreen-what's important to know. *JEADV* 22:1110-1119

Barel AO, Clarys P (1995) Study of the stratum corneum barrier function by transepidermal water loss measurements: comparison between two commercial instruments: Evaporimeter and Tewameter. *Skin Pharmacol* 8:186-95

Barry BW (1987) Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J Control Rel* 6:85-97

Bennat C, Müller-Goymann CC (2000) Skin penetration and stabilization of formulations containing microfine titanium dioxide as physical UV filter. *Int J Cosmet Sci* 22(4):271-238

Berbis P, Hesse S, Privat Y (1990) Essential fatty acids and the skin. *Allerg Immunol* 22:225-231

Berardesca E, European Group for Efficacy Measurements on Cosmetics and Other Topical Products (EEMCO) (1997) EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Research and Technology* 3:126-132

Blank IH (1952) Factors which influence the water content of the stratum corneum. *J Invest Dermatol* 18:433-440

Blank IH (1953) Further observations of factors which influence the water content of the stratum corneum. *J Invest Dermatol* 21:259-271

Bouwstra JA, Dubbelaar FE, Gooris GS, Ponc M (2000) The lipid organisation in the skin barrier. *Acta Derm Venereol Suppl* 208:23-30

Bouwstra JA, Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS, Ponc M (2003) Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Prog Lipid Res.* 42:1-36

Bouwstra J, Pilgram G, Gooris G, Koerten H, Ponc M (2001) New aspects of the skin barrier organization. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol (Suppl)* 1:52-62

Breathnach AS, Goodman T, Stolinski C, Gross M (1973) Freeze-fracture replication of cells of stratum corneum of human epidermis. *J Anat* 114:65-81

Breternitz M, Flach M, Prässler J, Elsner P, Fluhr JW (2007) Acute barrier disruption by adhesive tapes is influenced by pressure, time and anatomical location: integrity and

cohesion assessed by sequential tape stripping. A randomized, controlled study. *Br J Dermatol* 156(2):231-40

Bringezu F, Dobner B, Brezesinski G (2002) Generic phase behavior of branched-chain phospholipid monolayers. *Chemistry* 8:3203-10

Brüning H, Knaußmann HG, Rütter TH, Ude P (2002) Ergebnisse einer klinischen Anwendungsbeobachtung bei Patienten mit Neurodermatitis. *Derm* 8:355-358

Chatelain E, Gabard B (2001) Photostabilization of Butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzon) and Ethylhexyl methoxycinnamate by Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (Tinosorb S), a new UV broadband filter. *Photochem Photobiol* 74(3):401-406

Choi MJ, Zhai H, Löffler H, Dreher F, Maibach HI (2003) Effect of tape stripping on percutaneous penetration and topical vaccination. *Exog Dermatol* 2:262-269

Coderch L, López O, de la Maza A, Parra JL (2003) Ceramides and skin function. *Am J Clin Dermatol* 4(2):107-28

Colina C, Flores A, Castillo C, Garrido MR, Israel A, DiPolo R, Benaim G (2005) Ceramide-1-P induces Ca²⁺ mobilization in Jurkat T-cells by elevation of Ins (1,4,5)-P₃ and activation of a store-operated calcium channel. *Biochem Biophys Research Comm* 336:54-60

http://www.dermotopics.de/german/ausgabe_1_01_d/dmscreme0101_d.htm

Di Nardo A, Wertz P, Giannetti A, Seidenari S (1998) Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 78:27-3

Eberlein B, Eicke C, Reinhardt HW, Ring J (2008) Adjuvant treatment of atopic eczema: assesment of an emollient containing N-palmitoylethanolamine (ATOPA study). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 22:73-82

Egbaria K, Weiner N (1990) Liposomes as a topical drug delivery system. *Adv Drug Delivery Reviews* 5:287-300

Elias PM (1991) Epidermal barrier function: intercellular lamellar lipid structures, origin, composition and metabolism. *J Contr Release* 15:199-208

Elias PM (1983) Epidermal lipids, barrier function and desquamation. *J Invest Dermatol* 80:44-49

Elias PM (1981) Lipids and the epidermal permeability barrier. *Arch Dermatol Res* 270:95-97

Elias PM (2005) Stratum corneum Defensive Function: An Integrated View. *J Invest Dermatol* 125:183-200

Farwanah H, Raith K, Reinhard H, Neubert H (2005) Ceramide profiles of the uninvolved skin in atopic dermatitis and psoriasis are comparable to those of healthy skin. *Arch Dermatol Res* 296:514-521

- Forslind B (1994) A domain mosaic model of the skin barrier. *Acta Derm Venereol* 74:1-6.
- Fritsch P: *Aufbau und Funktion der Haut*. 3. Aufl. Dermatologie. Springer, Innsbruck, (1990)
- Frödin T, Skogh M (1984) Measurement of transepidermal water loss using an evaporimeter to follow the restitution of the barrier layer of human epidermis after stripping the stratum corneum. *Acta Derm Venereol* 64(6):537-40
- Gloor M (2004) How do dermatological vehicles influence the horny layer? *Skin Pharmacol Physiol* 17(6):267-73
- Gloor M, Fluhr J, Lehmann L, Gehring W, Thieroff-Ekerdt, R (2002) Do urea/ammonium lactate combinations achieve better skin protection and hydration than either component alone. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 15:35-43
- Gloor M, Gehring W (2003) Eigenwirkungen von Emulsionen auf die Hornschichtbarriere und -hydratation. *Hautarzt* 54(4):324-330
- Gray MG, White RJ and DSc (1978) Glycosphingolipids and Ceramides in Human and Pig Epidermis. *J Invest Dermatol* 70:336-341
- Grayson S, Elias PM (1982) Isolation and lipid biochemical characterization of stratum corneum membrane complexes: Implications for the cutaneous permeability barrier. *J Invest Dermatol* 78:128-135
- Grone D (2007) *Untersuchung zur transdermalen Pharmokokinetik: Transdermale Penetration topisch applizierter Fluoreszenzfarbstoffe mit und ohne Einwirkung von wassergefilterter Infrarot-A-Strahlung*. Medizinische Fakultät der Charité Universitätsmedizin Berlin: Dissertationsschrift
- Hagenströmer L, Nyrén M, Emtestam, L (2001) Do urea and sodium chloride together increase the efficacy of moisturisers for atopic dermatitis skin? A comparative, double-blind and randomised study. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14:27-33
- Hamanaka S, Hara M, Nishio H, Otsuka F, Suzuki A, Uchida Y (2002) Human epidermal glucosylceramides are major precursors of stratum corneum ceramides. *J Invest Dermatol* 119:416-423
- Harding CR (2004) The Stratum corneum: structure and function in health and disease. *Dermatol Therapy* Vol 17:6-15
- Hashimoto-Kumasaka K, Takahashi K, Tagami H (1993) Electrical measurement of the water content of the stratum corneum in vivo and in vitro under various conditions: comparison between skin surface hygrometer and corneometer in evaluation of the skin surface hydration state. *Acta Derm Venereol* 73(5):335-9
- Henz BM, Auböck J: *Dermatologie und Venerologie*. 2. Aufl. de Gruyter, Berlin (1998)
- Hill JR, Wertz PW (2003) Molecular models of the intercellular lipid lamellae from epidermal stratum corneum. *Biochim Biophys Acta* 1616:121-126

- Imokawa G, Abe A, Jin K, Higaki Y, Kawashima M, Hidano A (1991) Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: An etiologic factor in atopic dry skin. *Invest Dermatol* 96:523-526
- Jensen JM, Proksch E (2009) The skin's barrier. *G Ital Dermatol Venereol* 144(6): 689-700
- Junqueira LCU, Carneiro J, Kelley RO: *Histologie*. 5. Aufl. Springer Verlag, Berlin, (2002)
- Kessner D, Kiselev MA, Hauss T, Dante S, Wartewig S, Neubert RH (2008) Localisation of partially deuterated cholesterol in quaternary SC lipid model membranes: a neutron diffraction study. *Eur Biophys J* 37:1051-7
- Kessner D, Ruettinger A, Kiselev MA, Wartewig S, Neubert RHH (2008) Properties of Ceramides and their impact on the stratum corneum structure – A Review – Part 2: Stratum Corneum Lipid Model Systems. *Skin Pharmacol and Physiol* 21:58-74
- Kirjavainen M, Urtti A, Jääskeläinen I, Suhonen TM, Paronen P, Valjakka-Koskela R, Kiesvaara J, Mönkkönen J (1996) Interaction of liposomes with human skin in vitro--the influence of lipid composition and structure. *Biochim Biophys Acta* 1304:179-189
- Kiselev MA (2007) Conformation of ceramide 6 molecules and chain-flip transitions in lipid matrix of the outermost layer of skin - stratum corneum. *Crystallography* 52:572-576
- Kiselev MA, Ryabova NYu, Balagurov AM, Dante S, Hauss T, Zbytovska J, Wartewig S, Neubert RHH (2005) New insights into structure and hydration of SC lipid model membranes by neutron diffraction. *Euro Biophys J* 34:1030-1040
- Lampe MA, Burlingame AL, Whitney J, Williams ML, Brown BE, Roitman E, Elias PM (1983) Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *J Lipid Res* 24:120-126
- Lampe MA, Williams ML, Elias PM (1983) Human epidermal lipids: Characterization and modulations during differentiation. *J Lipid Res* 24:131-132
- Landmann L (1991) Die Permeabilitätsbarriere der Haut. *Pharmazie in unserer Zeit* 20:155-163
- Lautenschläger H (2002) Universelle Basiscremes mit Membran-Struktur für Hautpflege, Hautschutz und Dermatika. *Österreichische Apothekerzeitung* 56:679
- Lautenschläger H (2003) Starke Wirkung-Phospholipide in Kosmetika. *Kosmetik International* 38-40
- Lodén M (1996) Urea-containing moisturizers influence barrier properties of normal skin. *Arch Dermatol Res* 288:103-107
- Lodén M, Andersson AC, Lindberg M (1999) Improvement in skin barrier function in patients with atopic dermatitis after treatment with a moisturizing creme (Canoderm ®). *British Journal of Dermatology* 140:264-267

- Long SA, Wertz PW, Strauss JS, Downing DT (1985) Human stratum corneum polar lipids and desquamation. *Arch Dermatol Res* 277:284-287
- Macheleidt O, Kaiser HW, Sandhoff K (2002) Deficiency of epidermal protein-bound ω -hydroxyceramides in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 119:166-173
- Madison, KC: Barrier Function of the Skin (2003) “La Raison d’Etre” of the Epidermis. *J Invest Dermatol* 121:231–241
- Madison KC, Swartzendruber DC, Wertz PW, Downing DT (1987) Presence of intact intercellular lipid lamellae in the upper layers of the stratum corneum. *J Invest Dermatol.* 88:714-718
- Marekov L, Steinert PM (1998) Ceramides are bound to structural proteins of the human foreskin epidermal cornified cell envelope. *J Biol Chem* 273:17763–11770
- Marks R (2004) The Stratum Corneum Barrier: The Final Frontier. *J Nutr* 134:2017-2021
- Marty JP (2002) NMF and cosmetology of cutaneous hydration. *Ann Dermatol Venerol* 129:131-6
- Meguro S, Arai Y, Masukawa Y, Uie K (2000) Relationship between covalently bound ceramides and transepidermal water loss. *Arch Dermatol Res* 292:463-468
- Melnik BC: Biochemie und Pathobiochemie des epidermalen Lipidstoffwechsels. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag (1990)
- Mizushima H, Fukasawa J, Suzuki T (1996) Phase behaviour of artificial stratum corneum lipids containing a synthetic pseudo-ceramide: a study of the function of cholesterol. *J Lipid Res* 37:361-367
- Moll I: Unsere dynamische Haut. Dermatologie. 6. Aufl. Thieme Verlag, Stuttgart, (2005)
- Motta S, Monti M, Sesana S, Caputo R, Carelli S, Ghidoni R (1993) Ceramide composition of the psoriatic scale. *Biochim Biophys Acta* 1182:147-151
- Motta S, Monti M, Sesana S, Melessi L, Ghidoni R, Caputo R (1994) Abnormality of water barrier function in psoriasis. Role of ceramide fractions. *Arch Dermatol* 130:452-456
- Nemes Z, Steinert PM (1999) Bricks and Motars of the epidermal barrier. *Exp Mol Med.* 31:5-19
- Neubert RHH, Wohlrab WA, Marsch WCh: Dermatopharmazie: Vehikel-Wirkstoffe-Pharmakologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart (2001)
- Niedner R, Ziegenmeyer: Dermatika – Therapeutischer Einsatz, Pharmakologie und Pharmazie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1992)
- Nohynek GJ, Lademann J, Ribaud C, Roberts MS (2007) Grey goo on the skin? Nanotechnology, cosmetic and sunscreen safety. *Crit Rev Toxicol* 37(3):251-277

- Norlen L (2001) Skin barrier structure and function: the single gel phase model. *J Invest Dermatol* 117:830-6
- O`goshi K, Serup J (2005) Inter-instrumental variation of skin capacitance measured with the corneometer. *Skin Research and Technology* 11:107-109
- Paige DG, Morse-Fisher N, Harper JI (1994) Quantification of stratum corneum ceramides and lipid envelope ceramides in the hereditary ichthyosis. *Br J Dermatol* 131:23-27
- Paschold C (2005) Die Veränderung der Lipidzusammensetzung in humanem Stratum corneum nach Induktion eines Hardening-Phänomens. Medizinische Fakultät Friedrich-Schiller-Universität, Dissertationsschrift
- Pittermann W (2007) Perkutane Absorption: Nachweis und Modelle. *Skin Care Forum* 43, scf-online.com
- Ponec M, Weerheim A, Lankhorst P, Wertz P (2003) New acylceramide in native and reconstructed epidermis. *J Invest Dermatol* 120:581-588
- Rawlings AV, Harding CR (2004) Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 17:43-48
- Robson KJ, Stewart ME, Michelsen S, Lazo ND, Downing DT (1994) 6-Hydroxy-4-sphingene in human epidermal ceramides. *J Lipid Res* 35:2060-2068
- Rogiers V, EEMCO Group (2001) EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences. *Skin Pharmacol Appl Physiol* 14:117-128
- Schaefer H, Redelmeier TE: *Skin Barrier – Principles of Percutaneous Absorption*. Basel, Freiburg, Paris, London, New York, New Delhi, Bangkok, Singapore, Tokyo, Sydney. Karger Verlag, 1996
- Schlippe M, Ständer M (2003) Anwendung einer Crème mit membranbildenden Lipiden bei Patienten mit atopischer Dermatitis. *Haut* 17:33-35
- Schneider IM, Wohlrab W (1997) Fettsäuren und Epidermis. *Hautarzt* 48:303-310
- Schöffling U (2002) “Hightech” und “Bio” Cremetopf. *DERMAforum* 6:20
- Schulz J, Hohenberg H, Pflucker F, Gärtner E, Will T, Pfeiffer S, Wepf R, Wendel V, Gers-Barlag H, Wittern KP (2002) Distribution of sunscreens on skin. *Adv Drug Deliv Rev* 54:157-163
- Schürer NY, Plewig G, Elias PM (1991) Stratum corneum lipid function. *Dermatologica* 183:77-94
- Serup J (1992) A double-blind comparison of two creams containing urea as the active ingredient. Assessment of efficacy and side-effects by non-invasive techniques and a clinical scoring scheme. *Acta Derm Venereol Suppl* 177:34-43

Sheu HM, Chao SC, Wong TW, Yu-Yun Lee J, Tsai JC (1999) Human skin surface lipid film: an ultrastructural study and interaction with corneocytes and intercellular lipid lamellae of the stratum corneum. *Br J Dermatol* 140:385-91

Steigleder GK: Taschenatlas der Dermatologie. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, 1987

Steinert PM, Marekov LN (1995) The protein elafin, filaggrin, keratin intermediate filaments, loricin, and small proline-rich proteins 1 and 2 are isodipeptide cross-linked components of the human epidermal cornified cell envelope. *J Biol Chem* 270:17702-17711

Swartzendruber DC, Wertz PW, Kitko DJ, Madison KC, Downing DT (1989) Molecular-Models of the Intercellular Lipid Lamellae in Mammalian Stratum-Corneum. *J Investig Dermatol* 92:251-257

Welsch U: Sobatta Lehrbuch Histologie: Zytologie, Histologie, Mikroskopische Anatomie. Urban und Fischer, München, 2006

Werner Y (1986) The water content of the stratum corneum in patients with atopic dermatitis. Measurement with the Corneometer CM 420. *Acta Derm Venereol* 66(4):281-284

Wertz PW (2000) Lipids and barrier function of the skin. *Acta Derma Venereol Suppl* 208:7-11

Wertz PW (1996a) The nature of the epidermal barrier: biochemical aspects. *Adv Drug Delivery Rev* 18:283-294

Wertz PW, Downing DT (1983) Ceramides of pig epidermis: structure determination. *J Lipid Res* 24:759-765

Wertz PW, Swartzendruber DC, Madison KC, Downing DT (1987) Composition and morphology of epidermal cyst lipids. *J Invest Dermatol* 89:419-425

Wertz PW, van den Bergh B (1998) The physical, chemical and functional properties of lipids in the skin and other biological barriers. *Chem Phys Lipids* 91:85-96

Wohlrab J: Adjuvante Therapie der Atopischen Dermatitis. Shaker Verlag, Aachen, 2005

Wohlrab J (2006) Basistherapie der Psoriasis vulgaris. *Hautarzt* 57:661-665

Wohlrab J (1996) Der Einfluß der liposomaler Lipide auf das Proliferationsverhalten humaner Keratinozyten. Markus Hänsel-Hohenhausen Verlag, Engelsbach, Frankfurt, St. Peter Port. Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Dissertationschrift

Wohlrab J, Klapperstück Th, Reinhardt HW, Albrecht M (2010) Interaction of epicutaneously-applied lipids with Stratum corneum depends on the presence of either emulsifiers or hydrogenated phosphatidylcholine. *Skin Pharmacol Physiol* 23:298:30

Yarosh DB (2001) Liposomes in investigative dermatology. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 17:203-212

Zienicke H: Hautfeuchtigkeit (Transepidermaler Wasserverlust) Meßmethoden und Abhängigkeit vom Waschverfahren. In: Braun-Falco O, Korting HC (Hrsg): Hautreinigung mit Syndets. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1990, S. 137-147

1. Das Stratum corneum der menschlichen Epidermis ist bekanntlich aus drei Hauptkomponenten aufgebaut: dem Korneozyten, der interzellulären Lipidmatrix und dem „cornified envelope“.
2. Aufgrund der besonderen physiokochemischen Struktur der Lipidphase, die im wesentlichen Ceramide enthält, wird eine Barrierefunktion in dieser Schicht vermittelt.
3. Bei einer Vielzahl von chronischen, entzündlichen Dermatosen ist die Barrierefunktion beeinträchtigt, was für das Auslösen und die Aktivität der Erkrankung von großer Bedeutung ist.
4. Zur Substitution dieses funktionellen Barrieredefizits werden in der Kosmetologie und Dermatologie häufig sogenannte Basistherapeutika eingesetzt, die eine Wasser- sowie Fettphase substituieren können und häufig auch noch wasserbindende Substanzen enthalten.
5. Eine der am häufigsten verwendeten Substanzen ist Harnstoff. Als wichtiger Bestandteil des Natural Moisturizing Factor im Stratum corneum dient Harnstoff der Regulation des Feuchtigkeitshaushaltes sowie der Barrierefunktion der Hornschicht.
6. In der vorliegenden Studie wurde in einem randomisierten, doppelblinden, intra-individuellen Parallelseitenvergleich bei 30 gesunden Probanden (nach Zustimmung der Ethikkommission und schriftlichen Einverständnis der Probanden) die Wirksamkeit auf die Hydratation und Barrierefunktion des Stratum corneum von bilayer-bildenden Lipiden in Form des Physiogels® A.I. mit und ohne Sonnenschutzzusatz nach topischer Applikation untersucht. Die Prüfsubstanzen wurden zweimal täglich über fünf Tage topisch appliziert.
7. Als Grundstrategie der Systeme werden sogenannte Standardvehikel eingesetzt, die im wesentlichen pharmazeutisch dem System einer Öl/Wasser-Emulsion bzw. einer Öl/Wasser-Creme entsprechen.

8. In der topischen Anwendung ergeben sich durch den notwendigen Gehalt an Emulgatoren irritative Komplikationen, die insbesondere auf chronisch, entzündeter und sensitiver Haut eine besondere praktische Relevanz erhalten.
9. Neuere Bestrebungen gehen vor allem in die Richtung der Entwicklung emulgatorarmer oder emulgatorfreier Systeme (sogenannte selbstemulgierende Systeme), da sie zum einen eine bessere Verträglichkeit auch auf sensitiver Haut erwarten lassen und zum anderen die physiokochemischen Gegebenheiten der natürlichen Barriere nachahmen.
10. In letzter Zeit wurden auf der Basis von Soja-Phosphatidylcholinen die bipolare Eigenschaften, also membranbildende Eigenschaften besitzen, liposomale- und Bilayersysteme entwickelt, die weitgehend den Anforderungen der klinischen Besonderheiten entsprechen.
11. Das Hauptziel der Studie war, an einem Beispiel eines solchen modernen Vehikels mit selbstemulgierten Eigenschaften, die Effektivität an einer Modellpopulation zu belegen.
12. Dazu wurden als etablierte Verfahren die Tewametrie und Corneometrie verwendet, um die Barrierefunktionalität mit nicht-invasiven, validen Methoden zu erfassen. Als Zielparameter wurden die Hydratation der Hornschicht und der transepidermale Wasserverlust herangezogen.
13. Zur Untersuchung von Barrieredefekten eignet sich das Tape Stripping. Dies ist eine minimal-invasiv, ethisch und klinisch vertretbare Methode, um eine morphologische Reduktion der Barrierefunktionalität der Hornschicht zu erreichen.
14. Ziel war es, das Ausmaß und den Zeitablauf der Barriersubstitution zu erfassen.
15. Die Probanden wurden an den Visiten 1, 2, 3, 4, 5 und 6 (fünf Tage) mit den genannten Methoden untersucht. Hinweise für eine Unverträglichkeit im Sinne einer Irritation oder einer erkennbaren allergischen Reaktion ergaben sich nicht.

16. Die Ergebnisse zeigen, dass die Methode geeignet ist, um die gewählten Zielparameter bewerten zu können. In der Corneometrie konnte die Wirksamkeit der beiden Prüfpräparate bewiesen werden, indem sie in besonderer Weise den Wassergehalt des Stratum corneum steigern und damit eine Grundlage für die Reorganisation der Lipidmatrix bieten. Im Gegensatz zur Tewametrie ließ sich hinsichtlich der Wirksamkeit der beiden Prüfsubstanzen aufgrund der Sensitivität und der intra- bzw. interindividuellen Schwankungen kein Beweis belegen.
17. Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das untersuchte Derma-Membran-System® eine Substitution der Barrierefunktionalität realisiert. Der Mechanismus dieser Wirksamkeit lässt sich im wesentlichen auf das Phänomen der „inneren Okklusion“ zurückführen. Als besonders praktisch relevant wird bei zweimal täglicher Applikation ein über den gesamten Studienzeitraum zu beobachtender Steady-State-Effect, also ein gleichbleibender Barriersubstitutionseffekt.
18. Insgesamt zeigten die vorliegenden Daten, dass das untersuchte Bilayersystem sehr gut geeignet ist, die Barriere insbesondere auf barrieregeschädigter Haut zu substituieren. Die besonderen Vorteile gegenüber den bisherigen Strategien oder Standardvehikelsystemen sind vor allem in der mittel- und langfristigen Effektivität des Systems zu sehen.
19. Die Zukunft wird durch weitere klinische Studien und Entwicklungen derartiger Systeme zeigen, ob diese Vorteile, die sich abzeichnen und die physikochemisch gut begründbar sind, auch in der Pharmakotherapie eine breite Anwendung finden.

Franziska Herrmann
Leipziger Straße 8, 06108 Halle

Mobil: 0157/ 735 169 10
E-Mail: franziherrmi@web.de

Lebenslauf

Beruflicher Werdegang

Seit Mai 2009 Ärztin in Weiterbildung im Fachbereich Innere
Medizin I, Kardiologie, Martha - Maria
Krankenhaus Halle/Dörlau

Promotion:

Seit Juli 2005 *Thema:*
„Klinische Studie zur Validierung der barriere-
protektiven Wirksamkeit bipolarer Lipide“
bei Prof. Dr. med. Johannes Wohlrab

Studium

Juni 2008 Staatsexamen

Oktober 2001 –
Juni 2008 Studium der Humanmedizin,
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Praktisches Jahr

Februar 2007 -
Januar 2008 Klinik für Innere Medizin – Kardiologie
Martha-Maria Krankenhaus Halle/Dörlau

Klinik für Chirurgie
Spitalregion Fürstentum Toggenburg Wil (Schweiz)

Wahlfach: Klinik für Anästhesiologie
Martha-Maria Krankenhaus Halle/Dörlau

Franziska Herrmann
Leipziger Straße 8, 06108 Halle

Mobil: 0157/ 735 169 10
E-Mail: franziherrmi@web.de

Famulaturen:

September 2006	Klinik für Unfallchirurgie Martha-Maria Krankenhaus Halle – Dölau
März 2006 – April 2006	Klinik für Anästhesiologie St. Bartholomew's Hospital, London (Großbritannien)
Februar 2006	Gemeinschaftspraxis für Orthopädie Dr. Thoma, Dr. Wuthe und Dr. Decker Fachärzte für Orthopädie
August 2005 - September 2005	Innere Medizin, Diabetologie Gemeinschaftspraxis Dres. Kaufer Facharzt für Innere Medizin und Facharzt für Allgemeinmedizin
Februar 2005 – März 2005	Innere Medizin, Zentrale Notaufnahme Martin - Luther – Universitätsklinik Halle/Kröllwitz

Studienbegleitende Tätigkeiten:

Januar 2005 – Januar 2007	Studentische Aushilfskraft Urologie, Martin-Luther-Universitätsklinik
Oktober 2001 – Dezember 2004	Studentische Aushilfskraft Gynäkologie, Martin-Luther-Universitätsklinik
2000 - 2008	Videothek Cinebank Halle/Saale

Praktikum

Oktober 2000 – Juni 2001	Pflegerische Hilfskraft Gynäkologie, Martin-Luther-Universitätsklinik
-----------------------------	--

Franziska Herrmann
Leipziger Straße 8, 06108 Halle

Mobil: 0157/ 735 169 10
E-Mail: franziherrmi@web.de

Schulabschluss

Juli 2000 Allgemeine Hochschulreife

Auslandsaufenthalt:

Januar 1998 –
Juli 1998 Austauschschülerin
Shoreline Highschool, Seattle (USA)

Schulbildung:

September 1994 -
Juli 2000 Sportgymnasium Halle/Saale

September 1991 -
Juli 1994 Landesgymnasium
Latina-August-Herman-Francke-Schule Halle/Saale

September 1987 -
Juli 1991 Polytechnische Oberschule Halle-Neustadt

Fremdsprachen

Gute Englischkenntnisse in Wort und Schrift
Grundkenntnisse: Russisch und Latein

Führerschein

Klasse 3
Eigener PKW vorhanden

15. Januar 2012

Ich, Franziska Herrmann, erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Halle/Saale zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „Klinische Studie zur Validierung der barriere-protaktiven Wirksamkeit bipolarer Lipide“ in der Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie unter der Leitung von Prof. Dr. med. J. Wohlrab ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Halle/Saale, 16. November 2010

Franziska Herrmann