



Präklinische und klinische Validierung der kutanen Bioverfügbarkeit der hydrophilen Phase einer W/O-Emulsion

Preclinical and clinical characterization of the cutaneous bioavailability of the hydrophilic phase of a water-in-oil emulsion

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52

Johannes Wohlrab^{1, 2}, Claudia Richter³, Susanne Stauder¹

- (1) Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale)
- (2) Institut für angewandte Dermatopharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale)
- (3) Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Interaktionen zwischen dem Stratum corneum und den einzelnen Phasen eines Emulsionssystems sind von vielen Faktoren abhängig, insbesondere aber von der äußeren, kontinuierlichen Phase des Systems. Für W/O-Emulsionen gibt es, anders als zum Schicksal der lipophilen Phase, nur wenige Daten, die das Eindringen der wässrigen Phase in das Stratum corneum direkt untersucht haben.

Patienten und Methodik: Vor diesem Hintergrund wurden zwei vergleichbare W/O-Emulsionen präklinisch und klinisch an gesunder und artifiziell geschädigter Haut hinsichtlich der Interaktion der hydrophilen Phase validiert. Mittels Fluoreszenzuntersuchungen wurde die Verteilung der hydrophilen Phase nach epikutaner Applikation an ex vivo Humanhaut bildanalytisch quantifiziert und entsprechend der anatomischen Schichten die Verteilung analysiert. Zudem wurden in einer randomisierten, kontrollierten und Prüfer-verblindeten Studie die Wirkeffekte der Zubereitungen auf die Barrierefunktion im zeitlichen Verlauf ermittelt.

Ergebnisse: Die Ergebnisse machen deutlich, dass eine Substitution von Wasser durch eine W/O-Emulsion nur bedingt durch einen Zusatz hygroskopischer Substanzen (z. B. Urea) erreicht werden kann. Die Effekte lassen sich vor allem durch okklusive Wirkungen der lipophilen Phase erklären.

Schlussfolgerungen: Die Anwendung von W/O-Emulsionen ist deshalb insbesondere bei chronischen Barrierschäden zu empfehlen, da bei akut reduziertem Stratum corneum keine nachhaltigen Effekte zu erwarten sind.

Summary

Background: Interactions between the stratum corneum and individual phases of an emulsion system depend on various factors, but primarily on the outer continuous phase of the system. While there is plenty of data on the lipophilic phase, only very little data exists on the actual penetration of the hydrophilic phase of water-in-oil emulsions into the stratum corneum.

Patients and methods: Against this background, two comparable water-in-oil emulsions were preclinically and clinically investigated on healthy as well as on artificially damaged skin with regard to interactions of the hydrophilic phase. In preclinical studies, following epicutaneous application on ex vivo skin, the distribution of the hydrophilic phase was quantified using fluorescence tests and analyzed according to anatomic layers. Additionally, a randomized, controlled, investigator-blinded study investigated the effects of the preparations on the barrier function of healthy and artificially damaged skin over time.

Results: The results clearly show that water substitution using a water-in-oil emulsion can only partially be attained by the addition of hygroscopic substances (e. g. urea). These effects may primarily be explained by the occlusive properties of the lipophilic phase.

Conclusions: This, the use of water-in-oil emulsions may in particular be recommended for chronic barrier impairment, as long-lasting effects are not to be expected in acutely damaged skin.

Einleitung

Die physikalische Barriere der Epidermis wird durch flüssig-kristalline, lamellare Strukturen in Form von Membranen realisiert, die durch die besonderen physikochemischen Eigenschaften der Ceramide (anisotropischer Molekülcharakter) entstehen [1]. Dabei stellt sich die molekulare Ordnung (asymmetrische Bilayer) durch ein Wechselspiel zwischen den hydrophilen Kopfgruppen sowie lipophilen Alkylresten der Ceramide und einer hydrophilen Umgebungsphase (Wassermoleküle) spontan ein [2]. Die Eigenschaften der Membranen, die auch als morphologisches Äquivalent für die Barrierefunktion gelten, werden zudem durch weitere Moleküle wie Proteine, Fettsäuren, Cholesterol und Triglyceride bestimmt [3]. Die qualitative und quantitative Komposition dieser Moleküle bedingt wesentlich die Eigenschaften des Gesamtsystems und damit die Membranfluidität und -permeabilität [1]. Das Gesamtsystem wird heute als komplexes Membrannetzwerk mit inhomogener Ordnung im Sinne eines dynamischen Gleichgewichtszustandes verstanden.

Somit sind Wasser bzw. die Verteilung der hydrophilen Valenzen innerhalb des Systems essentiell für die molekulare Ordnung und damit für die Funktionalität der Barriere [4]. Als bedeutendes Wasserreservoir innerhalb des Stratum corneums (SC) fungieren die Korneozyten, deren äußere Hülle, der *cornified envelope*, den unkontrollierten Wassertransfer nach interzellulär verhindert [5]. Zudem wird das Wasser durch starke hygroskopische, also wasserbindende Kräfte im intrakorneozytären Kompartiment gehalten, was die Bezeichnung als „fixierte Wasserphase“ begründet. Dem steht der freie, transkorneale (auch transepidermale) Wasserfluss (auch Wasserverlust) gegenüber [6]. Bioaktives Wasser, welches unmittelbar die molekulare Ordnung der Membranstrukturen durch hydrophobe Wechselwirkungen induziert, wird als „mobilisierbare Wasserphase“ bezeichnet [7]. Der

Ausgleich von Defiziten des bioaktiven Wassers durch Verschiebung innerhalb des Systems stellt einen wesentlichen Funktionsbereich der physiologischen Abläufe des SC dar [8–10] (Abbildung 1).

Vor diesem Hintergrund ist die quantitative Distribution von Wasser hinsichtlich der Bioverfügbarkeit in den Mikrokompartmenten des SC für die funktionelle Kapazität von zentraler Bedeutung [11, 12]. Die direkte oder indirekte Substitution von Wasser durch die epikutane Applikation galenischer Systeme gilt deshalb als Grundprinzip der Barriereprotektion [13]. Dabei ist quantitativ ein an die physikochemischen Grundbedingungen des Systems adaptiertes Maß der Wasserzufuhr der Schlüssel für eine effektive und langanhaltende Substitution [14]. Dazu haben sich allerdings unterschiedliche, zum Teil konkurrierende Strategien der Hydratisierung des SC etabliert. Die direkte Substitution einer Wasserphase durch Emulsionen (meist vom O/W-Typ) in Kombination mit hygroskopischen Substanzen (sogenannten humectants) in Form sogenannter Moisturizer, stellt dabei die gängigste Strategie dar. Darüber hinaus kann durch wasserundurchlässige äußere Phasen (z. B. Öle in W/O-Emulsionen) oder durch semipermeable Phasen (z. B. Phosphatidylcholinmembranen) ein okklusiver bzw. semiokklusiver Effekt vermittelt werden [15]. Da gängige Öle nicht oder nur sehr gering in das SC eindringen, wird diese Strategie auch als „äußere Okklusion“ bezeichnet [16, 17]. Demgegenüber interagieren präformierte Phosphatidylcholinmembranen sehr wohl mit dem SC, werden aber durch Phasenseparation nicht wesentlich in die natürlichen Membranen integriert, was zur Bezeichnung „innere Okklusion“ geführt hat [18]. Je nach galenischer Konzeption eines Präparates werden die beschriebenen Effekte ermöglicht und eine Hydratation des SC ggf. auch durch überlappende Prozesse realisiert.

Aus klinischer Sicht sind neben Aspekten der Verträglichkeit (auch nach wiederholter Applikation) vor allem der Umfang und die Dauer der hydrophilen Substitution von

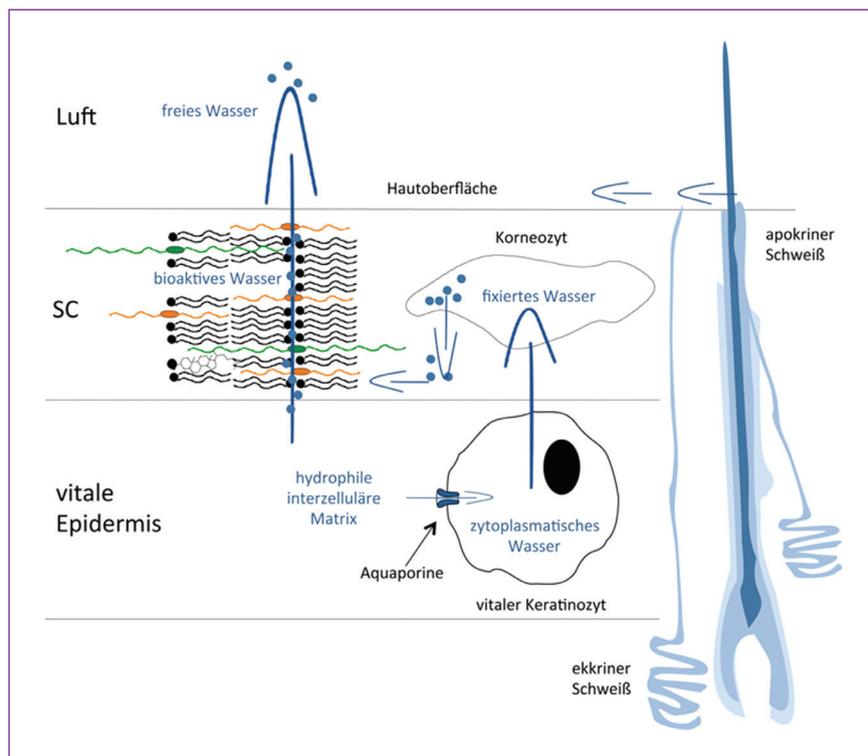


Abbildung 1 Schematische Darstellung der epidermalen Wasserphasen sowie deren physiologische Distribution innerhalb des Stratum corneum.

Bedeutung. Dabei ist die Ursache der Barrierefunktionsstörung bzw. die molekulare Zusammensetzung des SC von ausschlaggebender Bedeutung. Die Charakterisierung einer barriereprotektiven Zubereitung erfolgt deshalb meistens in klinischen Studien, in denen der Wassergehalt des Gesamtsystems mittels Corneometrie und die freie Wasserphase mittels Evaporimetrie (auch TEWAmetrie) ermittelt werden [19, 20]. Da beide Verfahren keine direkte Aussage über Änderungen der Wasserverteilung an den Membranen, also der „mobilisierbaren (bioaktiven) Wasserphase“ gestatten, kann diese auch nur indirekt beurteilt werden.

Aufgrund von klinischen Daten zur Eignung von entsprechenden Zubereitungen und der günstigeren Anwendungseigenschaften werden häufig für die allgemeine Anwendung O/W-Emulsionen für eine Substitution bevorzugt. Allerdings kommen bei Xerosis-Zuständen von Atopikern oder Psoriatikern wegen der deutlich höheren lipophilen Rückstandsrate auch häufig W/O-Präparationen zum Einsatz. Wasserfreie Systeme wie Salben (Vaselin, Melkfett oder Schmalze u. a.) sollten gemieden werden, da ihre Wirkung nur sehr kurzzeitig, also ineffektiv ist und bei wiederholter Anwendung durch die Okklusion ein indirekter Austrocknungseffekt auftreten kann. Für W/O-Präparationen ist bei Zugabe von hygroskopischen Substanzen zudem zu beachten, dass Wasser als Lösungsmittel fungiert, also in ausreichender Quantität und mit adaptiertem pH-Wert enthalten sein muss [21]. Dies

ist insbesondere für Urea-haltige Präparationen von großer Bedeutung und entscheidend für deren Verträglichkeit und Effektdynamik [22]. Auch das in der verwendeten Präparation eingesetzte Emulsionskonzept übt einen Einfluss auf die Permeabilität des SC für Wasser aus [23]. Bisher ist allerdings weitgehend unbekannt, in welchem Umfang die nichtkontinuierliche Wasserphase mit gelöster Urea in das SC diffundiert und in welchem Umfang hier mit einer Substitution des „bioaktiven“ Wassers zu rechnen ist [24].

Material und Methoden

Prüfpräparate

Als Prüfpräparate wurden zwei W/O-Emulsionen mit halbfester Konsistenz (lipophile Cremes) ohne (ALLERGIKA® Augenlidcreme, Allergika Pharma GmbH, Wolfratshausen, Deutschland) und mit 5 % Urea (ALLERGIKA® Lipolotio Urea 5 %, Allergika Pharma GmbH, Wolfratshausen, Deutschland) verwendet.

Markierung der Emulsionsphasen

Zur Markierung der Phasen wurden der hydrophile Fluoreszenzfarbstoff Carboxyfluorescein (CF) (MG 376,32) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) sowie der lipophile

Fluoreszenzfarbstoff Indocarbocyanin (DiI) (MG 933,87) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) verwendet [25]. Die Farbstoffe wurden 0,50%ig (CF) und 0,20%ig (DiI) in die jeweiligen Präparate homogen eingearbeitet.

Diffusionsversuche in der Franz-Diffusionszelle

Die Versuche wurden an exzidiert Humanhaut von Mammaryreduktionsplastiken durchgeführt. Jede zweite Hautprobe (Durchmesser von 20 mm) wurde zur Simulation eines Barrieredefekts vor Versuchsdurchführung durch 10faches Stripping (Tesa®, Beiersdorf, Hamburg, Deutschland; Größe 15×20 mm) manipuliert [26]. Dann wurden die Hautproben einzeln in einer Franz-Diffusionszelle bei 32°C mit jeweils 20 mg der entsprechenden Präparation über 300 min inkubiert. Anschließend wurden jeweils drei Biopsien mit einem Durchmesser von 6 mm entnommen und mittels Kryomikrotom 5 µm dicke vertikale Schnitte angefertigt und auf Objektträger (Superfrost, Fisher Scientific AG, Wohlen, Schweiz) aufgezogen. Diese wurden zur verbesserten Kernkontrastierung mit Diamidinphenylindol (DAPI) (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe) gegengefärbt und in einem Fluoreszenzmikroskop (Olympus IX-81; Exzitation: bandpass 572/23 nm, Emission: triple filter cube für DAPI/FITC/TxRed (U-MDAFITR); 20 x Objektiv LUCPlanFLN) fotografisch standardisiert dokumentiert.

Digitale Bildanalyse

Die fluoreszenzmikroskopischen Bilder wurden mittels quantitativer digitaler Bildanalyse hinsichtlich des vertikalen Verteilungsverhaltens des jeweiligen Farbstoffes analysiert. Dazu wurden je Bild sechs Messlinien definiert und die Intensität des Farbstoffs entsprechend der anatomischen Zuordnung der jeweiligen Hautschichten quantifiziert (ImageJ®, V1.49m, National Institutes of Health, USA). Für die erhaltenen Intensitätskurven wurde die Fläche unter der Kurve (AUC) als Maß für die Intensität berechnet und die Daten mittels Einwegvarianzanalyse bzw. Kruskal-Wallis-Test (Signifikanzniveau 5 %) ausgewertet. Zudem wurde zum Vergleich der Intensitätsverteilungskurven eine Korrelationsanalyse nach Kendall durchgeführt (XLStat V2014.5.02, Addinsoft, New York, USA).

Studiendesign zur klinischen Validierung

In einer prospektiven, monozentrischen, randomisierten, kontrollierten und Prüfer-verblindeten Studie wurde der Einfluss der beiden Prüfpräparate auf die Barrierefunktionalität gesunder und artifiziell, mittels Klebestreifen-Stripping (Blenderm® Breite 50 mm, 3M® Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland) geschädigter Haut im intraindividuellen Vergleich untersucht. Dazu wurden hautgesunde Probanden rekrutiert, die die Prüfpräparate je nach randomisierter Seite und Reihenfolge auf den volaren Unterarmen auf markierte Areale zweimal täglich applizierten. Als Ausschlusskriterien wurden läsionale Haut oder starke Behaarung an den volaren Unterarmen, Verwendung (topisch und systemisch) von Medikamenten (außer orale Kontrazeptiva), OTC-Produkten und Kosmetika (begrenzt auf die Testareale), bekannte Überempfindlichkeiten gegenüber einem der Inhaltsstoffe sowie bekannte Erkrankungen mit Bedeutung für die Barrierefunktion (atopische Dermatitis, Psoriasis, Diabetes mellitus usw.) definiert. Es lag ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vor (finales Votum vom 28.05.2014, Nr. 2014-29) und die Durchführung der Studie wurde entsprechend der Standards des ICH-GCP umgesetzt. Als Hauptzielparameter wurde der transepidermale Wasserverlust (TEWL) (Vapometer®, Delfin Technology AG, bergisch Gladbach, Deutschland) im zeitlichen Verlauf definiert. Als sekundäre Zielparameter wurden der Wassergehalt des Stratum corneum (Corneometer® CM 820, Courage & Khazaka, Köln, Deutschland) und die Häufigkeit unerwünschter Ereignisse erfasst. Bestimmt wurden die Parameter als Baseline-Werte vor Applikation sowie nach 3, 7 und 28 Tagen unter zweimal täglicher Applikation der Prüfpräparate. Die Messungen erfolgten jeweils 30 min nach letztmaliger kontrollierter Applikation im Prüfzentrum. Die Messbedingungen zur Akklimatisation der Probanden und der klimatischen Bedingungen in den Messräumen entsprachen den Guidelines der eingesetzten Methoden [27]. Es erfolgte eine doppelte Dateieingabe der Messwerte, eine graphische Darstellung der Daten in BoxPlots und Balkendiagrammen. Als biometrische Testverfahren (Signifikanzniveau 5 %) kamen für die Einzelvergleiche zwischen den Präparaten für die normalverteilten Daten der t-Test für unabhängige Stichproben sowie für die Analyse der Effekte der Einzelpräparate im zeitlichen Verlauf die Einwegvarianzanalyse mit Messwiederholung zum Einsatz (XLStat V2014.5.02, Addinsoft, New York, USA).

ellen Vergleich untersucht. Dazu wurden hautgesunde Probanden rekrutiert, die die Prüfpräparate je nach randomisierter Seite und Reihenfolge auf den volaren Unterarmen auf markierte Areale zweimal täglich applizierten. Als Ausschlusskriterien wurden läsionale Haut oder starke Behaarung an den volaren Unterarmen, Verwendung (topisch und systemisch) von Medikamenten (außer orale Kontrazeptiva), OTC-Produkten und Kosmetika (begrenzt auf die Testareale), bekannte Überempfindlichkeiten gegenüber einem der Inhaltsstoffe sowie bekannte Erkrankungen mit Bedeutung für die Barrierefunktion (atopische Dermatitis, Psoriasis, Diabetes mellitus usw.) definiert. Es lag ein positives Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vor (finales Votum vom 28.05.2014, Nr. 2014-29) und die Durchführung der Studie wurde entsprechend der Standards des ICH-GCP umgesetzt. Als Hauptzielparameter wurde der transepidermale Wasserverlust (TEWL) (Vapometer®, Delfin Technology AG, bergisch Gladbach, Deutschland) im zeitlichen Verlauf definiert. Als sekundäre Zielparameter wurden der Wassergehalt des Stratum corneum (Corneometer® CM 820, Courage & Khazaka, Köln, Deutschland) und die Häufigkeit unerwünschter Ereignisse erfasst. Bestimmt wurden die Parameter als Baseline-Werte vor Applikation sowie nach 3, 7 und 28 Tagen unter zweimal täglicher Applikation der Prüfpräparate. Die Messungen erfolgten jeweils 30 min nach letztmaliger kontrollierter Applikation im Prüfzentrum. Die Messbedingungen zur Akklimatisation der Probanden und der klimatischen Bedingungen in den Messräumen entsprachen den Guidelines der eingesetzten Methoden [27]. Es erfolgte eine doppelte Dateieingabe der Messwerte, eine graphische Darstellung der Daten in BoxPlots und Balkendiagrammen. Als biometrische Testverfahren (Signifikanzniveau 5 %) kamen für die Einzelvergleiche zwischen den Präparaten für die normalverteilten Daten der t-Test für unabhängige Stichproben sowie für die Analyse der Effekte der Einzelpräparate im zeitlichen Verlauf die Einwegvarianzanalyse mit Messwiederholung zum Einsatz (XLStat V2014.5.02, Addinsoft, New York, USA).

Ergebnisse

Diffusionsversuche

Die digitale Analyse der Fluoreszenzbilder zeigte bei Markierung der wässrigen Phase deutliche Unterschiede zwischen der Urea-haltigen (Abbildung 2a) und der Urea-freien (Abbildung 2a) Präparation. Der absolute Anteil des Wassergehaltes lag ohne Urea-Zusatz bei intaktem SC bei weniger als der Hälfte im Vergleich zur Urea-haltigen Präparation. Der Unterschied verdoppelt sich zudem bei geschädigtem SC. Bei der Urea-haltigen Präparation wird

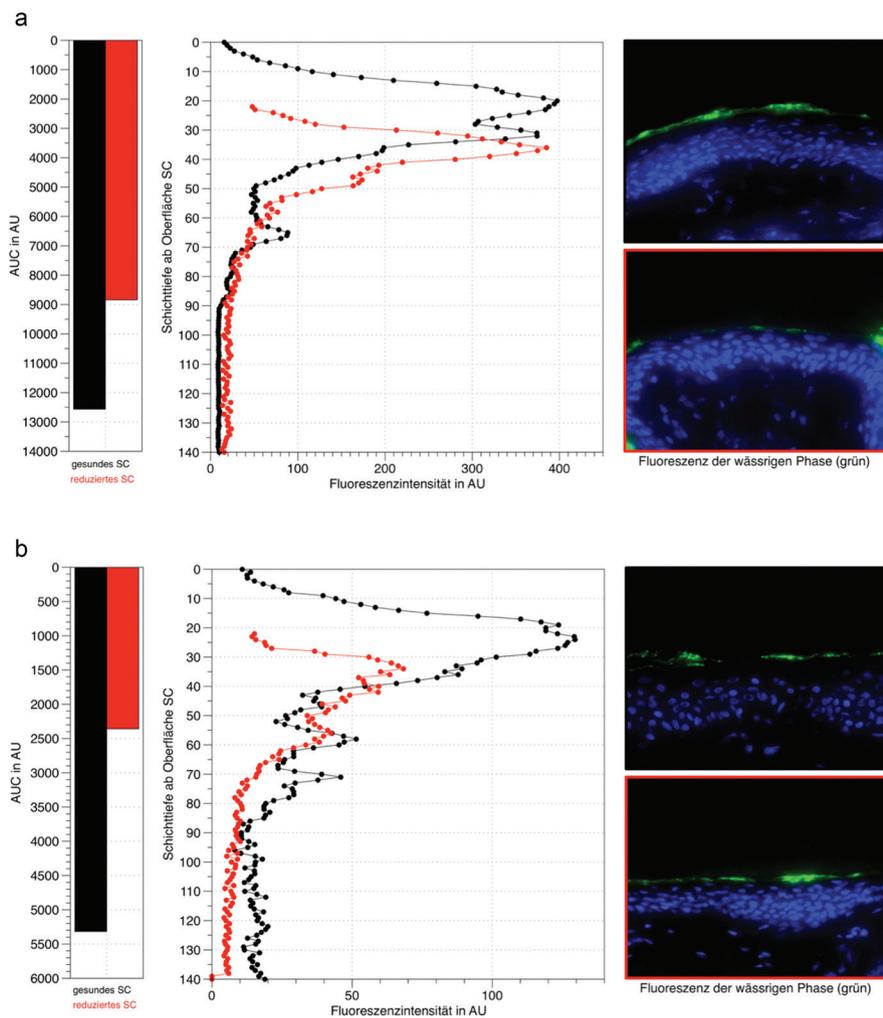


Abbildung 2 Digitale Bildanalyse fluoreszenzmikroskopischer Bilder der hydrophilen Phase einer Urea-haltigen (a) und einer Urea-freien (b) W/O-Emulsion mit Darstellung der Fluoreszenzintensität sowie der Fläche unter der Kurve (AUC), schwarz = gesundes Stratum corneum, rot = reduziertes Stratum corneum.

die Wasserbindungskapazität des Gesamtsystems lediglich durch die SC-Dicke bestimmt, während bei der Urea-freien Präparation durch die Reduktion des SC eine deutliche Minderung des Wassergehaltes resultiert. Für die Verteilung der lipophilen Phase lässt sich zwar durch Reduktion des SC ebenfalls ein verminderter Gehalt nachweisen, dieser ist aber weitgehend unabhängig vom Urea-Zusatz der Präparation.

Klinische Studie

Für die Studie wurden insgesamt 27 Probanden (davon 20 weiblich) mit einem mittleren Alter von 30 Jahren (min. 19, max. 64 Jahre) rekrutiert. Unerwünschte Ereignisse traten nicht auf. Alle Probanden beendeten die Studie planmäßig.

Die Daten zeigen für den Hauptzielparameter sowohl bei intaktem, als auch bei geschädigtem SC bei Verwendung der Urea-haltigen Präparation keine konsistenten Effekte auf die

Barriere (Abbildungen 3, 4). Hingegen zeigte sich bei der Präparation ohne Urea-Zusatz mit zunehmender Anwendungsdauer eine Zunahme des TEWL, die bei geschädigtem SC in dieser Form nicht nachweisbar war. Anders hingegen zeigte sich in der Corneometrie bei beiden Präparationen, unabhängig vom SC-Zustand, eine deutliche und regelmäßige Zunahme des Wassergehaltes in Abhängigkeit von der Applikationsdauer (Abbildungen 5, 6).

Diskussion

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass anders als bei O/W-Emulsionen die Bioverfügbarkeit der hydrophilen Phase einer W/O-Emulsion nur sekundär von hygroskopischen Zusätzen abhängt. Vielmehr bestimmen offensichtlich okklusive Phänomene der äußeren kontinuierlichen Phase die Freisetzung und Bindung des Wassers innerhalb des SC, wengleich auch Zusätze zur Wasserbindung die Effekte ergänzen können.

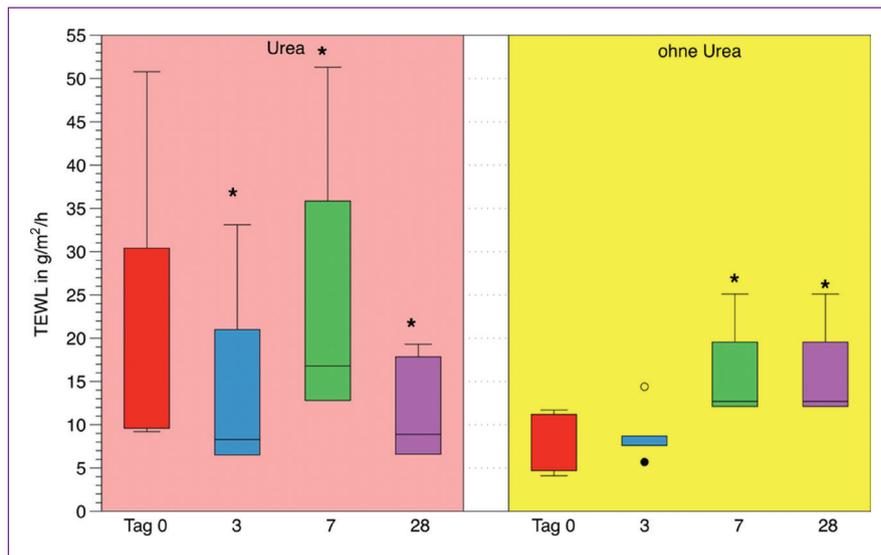


Abbildung 3 Evaporimetrie an gesunder Haut; TEWL = transepidermaler Wasserverlust; * = statistisch signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zu Baseline (Tag 0); ANOVA mit Messwiederholung.

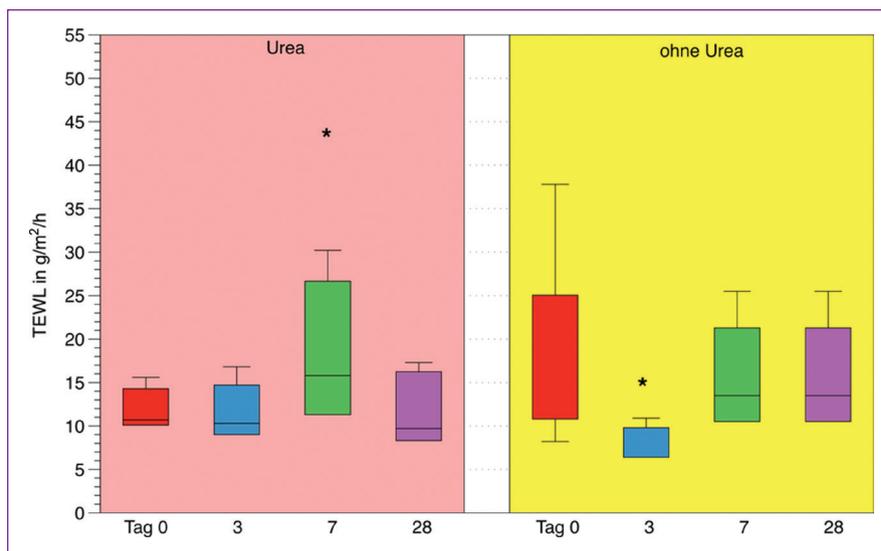


Abbildung 4 Evaporimetrie an artifiziiell geschädigter Haut; TEWL = transepidermaler Wasserverlust; * = statistisch signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zu Baseline (Tag 0); ANOVA mit Messwiederholung.

Die vorliegenden Daten der Fluoreszenzuntersuchungen und der Corneometrie zeigen, dass Urea in moderater Konzentration von 5 %-Masseanteil die Gesamthydratation des Systems zwar wesentlich anhebt, dies aber offensichtlich keinen bestimmenden Einfluss auf die freie Wasserphase des transepidermalen Wasserflusses (Evaporimetrie) hat. Eine Erklärung für diese Phänomene könnte in der Verteilung der lipophilen Phase der W/O-Systeme und der damit verbundenen okklusiven Effekte liegen. Die Fluoreszenzdiffusion zeigt hier eine weitgehend unabhängige Verteilung von Urea-Zusatz bzw. Schädigung des SC. Dies spricht insbesondere im dynamischen Kontext für eine Retention sowohl des endogenen Wassers, als auch anteilig der hydrophilen Präparatephase

durch die hydrophobe Retentionsschicht nach Applikation. Die Ergebnisse der Evaporimetrie ohne Verwendung von Urea weisen einen erhöhten transepidermalen Wasserfluss zumindest bei intaktem SC auf. Dies könnte der Abdunstung der durch die Okklusion gestauten Wasserphase nach Disturbation des lipophilen Films entsprechen. Dieses Phänomen, welches letztlich kumulativ zum Wasserentzug führt, wird populärwissenschaftlich auch als „Labello-Effekt“ bezeichnet, da durch die Anwendung okklusiver Lippenstifte (die früher häufiger verwendet wurden) nach anfänglicher indirekter Hydratation durch Okklusion rasch ein Trockenheitsgefühl entsteht, welches ein tachyphylaktisches Anwenden des Lippenstiftes zur Folge hat. Diese Befunde decken

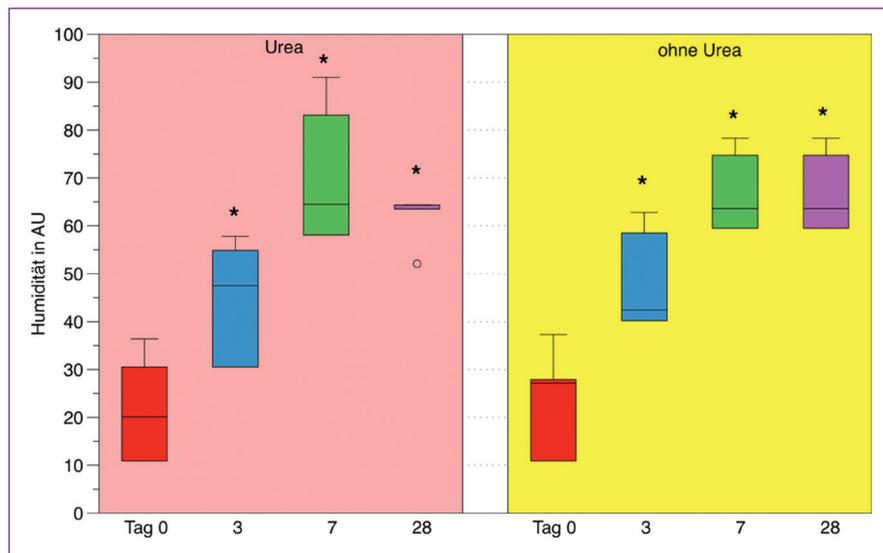


Abbildung 5 Corneometrie an gesunder Haut; Humidität = Wassergehalt des Stratum corneums, AU = arbiträre Einheiten, * = statistisch signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zu Baseline (Tag 0); ANOVA mit Messwiederholung.

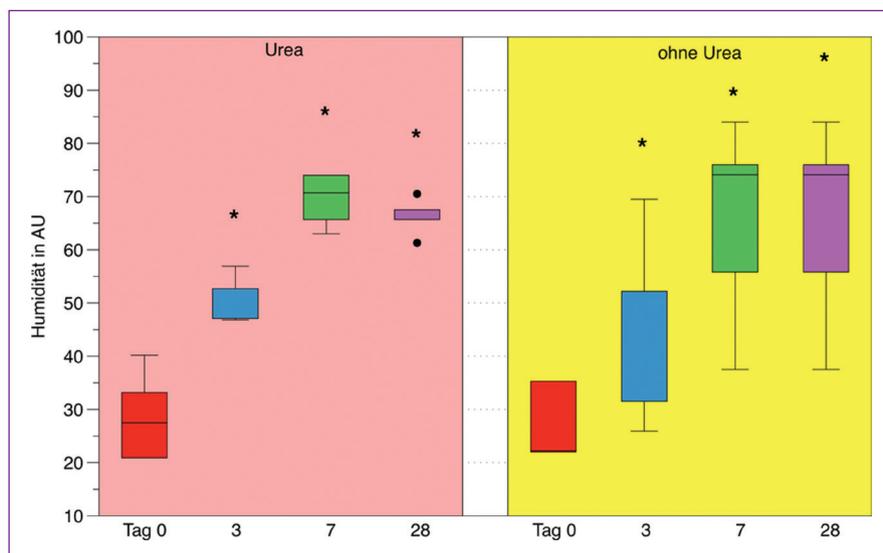


Abbildung 6 Corneometrie an künstlich geschädigter Haut; Humidität = Wassergehalt des Stratum corneums, AU = arbiträre Einheiten, * = statistisch signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) zu Baseline (Tag 0); ANOVA mit Messwiederholung.

sich mit Daten aus früheren Untersuchungen, bei denen eine Funktionseinschränkung des SC bei gesteigerter Hydratation unter Okklusion beobachtet wurde [17]. Auch wenn die Ursachen für diese Zusammenhänge vielschichtig sind, scheinen sowohl eine funktionelle Delipidisierung des SC bzw. eine Umordnung der Ceramidkonfiguration (chain flip transition) wesentliche Bedeutung zu haben [28, 29]. Allerdings ist die praktische Relevanz dieser Effekte auf die Barrierefunktion in klinischen Untersuchungen nicht regelmäßig am gesunden SC nachzuweisen, wird aber bei geschädigtem SC besonders deutlich [16]. Darüber hinaus ist unstrittig, dass der Lipidgehalt des SC einen Einfluss auf die elektrische Impedanz des Systems ausübt, damit also die Corneometrie-Messwerte

beeinflusst [30]. Diese Zusammenhänge werden auch in der Pharmakotherapie genutzt, um topisch applizierte Wirkstoffe in höherer Konzentration in die Haut penetrieren zu lassen [3].

Insgesamt zeigen die vorliegenden Daten, dass die wässrige Phase einer W/O-Präparation die Hydratation des SC steigern kann, aber nicht vordergründig abhängig von einer zusätzlichen Substitution hygroskopischer Kräfte innerhalb des Systems sind. Die nachweisbaren Effekte bezüglich der direkten Wassersubstitution sind kurzzeitig. Bemerkenswert ist, dass trotz der Steigerung der Hydratation der transepidermale Wasserfluss keine relevanten Änderungen zeigt. Allerdings ist die hier untersuchte Population zu klein und

die Effekte zeigen trotz intraindividuelle Vergleiche eine erhebliche Streuung, sodass eine abschließende Bewertung anhand der vorliegenden Daten nicht erfolgen kann. Dennoch wird im Spannungsfeld mit den aufgeführten Referenzen deutlich, dass die Eigenwirkung des Vehikels von W/O-Präparationen im klinischen Einsatz berücksichtigt werden muss und im Rahmen der Basistherapie bei Erkrankungen mit Barrierestörungen gezielt genutzt werden kann. Dabei sollte beachtet werden, dass eine maßvolle Addition von hygroskopischen Substanzen insgesamt nützlich erscheint für die Substitution der Barrierefunktion, insbesondere bei reduziertem SC. Offensichtlich bestimmen aber die okklusiven Effekte der kontinuierlichen äußeren Phase einer W/O-Emulsion die Wirkung vordergründig, sodass die Anwendung insbesondere für Hautzustände mit Hyperortho- oder Hyperparakeratose zu empfehlen ist.

Fazit

Die Effekte einer W/O-Emulsion werden vordergründig durch Okklusionsphänomene der äußeren lipophilen Phase vermittelt. Dennoch wird die innere hydrophile Phase anteilig bioaktiv, wobei hygroskopische Zusätze eine geringere Bedeutung besitzen als bei O/W-Emulsionen und nur in niedrigen Konzentrationen Verwendung finden sollten. Der Einsatz von wirkstofffreien W/O-Emulsionen im Kontext der Pflgeherapie empfiehlt sich vor allem bei Hautzuständen mit einer Hyperkeratose, die typischerweise bei Psoriasis und chronischen Ekzemen auftreten.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich bei Frau Sylke Faßhauer und Frau Claudia Bruhne für die technische Assistenz bei den Diffusionsversuchen sowie bei Frau Andrea Stennett für das Management zur Durchführung der klinischen Studie.

Interessenkonflikt

Die Finanzierung der Diffusionsversuche erfolgte durch das An-Institut für angewandte Dermatopharmazie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg e.V. Die klinischen Untersuchungen wurden vom Sponsor (Allergika GmbH, Wolfratshausen, Deutschland) vollumfänglich finanziert. J. Wohlrab gibt an, Honorare für Beratung und/oder Vorträge und/oder Sponsoring für wissenschaftliche Projekte und/oder klinische Studien von folgenden Firmen erhalten zu haben: Abbott, Abbvie, Agfa, Aicuris, Allergika, Almirall, Amgen, Astellas, Biogen-Idec, Bombastus, Dermapharm, Ei, Evolva, Evonik, Galderma, Grünenthal, GSK, Janssen-Cilag, Jenapharm, Leo, L'Oréal, Mavena, Mibe, MSD, Novaliq, Novartis, Pfizer, Pohl-Boskamp, Reddys, Riemser, Skino-mics, Widmer, Wolff erhalten zu haben.

Korrespondenzanschrift

Prof. Dr. med. Johannes Wohlrab
Universitätsklinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Ernst-Grube-Straße 40
06097 Halle (Saale)
E-Mail: johannes.wohlab@medizin.uni-halle.de

Literatur

- 1 McIntosh TJ. Organization of skin stratum corneum extracellular lamellae: diffraction evidence for asymmetric distribution of cholesterol. *Biophysical journal* 2003; 85: 1675–81.
- 2 Wartewig S, Neubert RH. Properties of ceramides and their impact on the stratum corneum structure: a review. Part 1: ceramides. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20: 220–9.
- 3 Feingold KR. Thematic review series: skin lipids. The role of epidermal lipids in cutaneous permeability barrier homeostasis. *J Lipid Res* 2007; 48: 2531–46.
- 4 Kasting GB, Barai ND. Equilibrium water sorption in human stratum corneum. *J Pharm Sci* 2003; 92: 1624–31.
- 5 Norlen L. Stratum corneum keratin structure, function and formation – a comprehensive review. *Int J Cosmet Sci* 2006; 28: 397–425.
- 6 Alonso A, Meirelles NC, Yushmanov VE et al. Water increases the fluidity of intercellular membranes of stratum corneum: correlation with water permeability, elastic, and electrical resistance properties. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1058–63.
- 7 Blank IH, Moloney J, Emslie AG et al. The diffusion of water across the stratum corneum as a function of its water content. *J Invest Dermatol* 1984; 82: 188–94.
- 8 Boireau-Adamezyk E, Baillet-Guffroy A, Stamatias GN. Mobility of water molecules in the stratum corneum: effects of age and chronic exposure to the environment. *J Invest Dermatol* 2014; 134: 2046–9.
- 9 Kasting GB, Barai ND, Wang TF et al. Mobility of water in human stratum corneum. *J Pharm Sci* 2003; 92: 2326–40.
- 10 Vavasour I, Kitson N, MacKay A. What's water got to do with it? A nuclear magnetic resonance study of molecular motion in pig stratum corneum. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1998; 3: 101–4.
- 11 Katagiri C, Sato J, Nomura J et al. Changes in environmental humidity affect the water-holding property of the stratum corneum and its free amino acid content, and the expression of filaggrin in the epidermis of hairless mice. *J Dermatol Sci* 2003; 31: 29–35.
- 12 Watkinson A, Harding C, Moore A et al. Water modulation of stratum corneum chymotryptic enzyme activity and desquamation. *Arch Dermatol Res* 2001; 293: 470–6.
- 13 Schwindt DA, Wilhelm KP, Maibach HI. Water diffusion characteristics of human stratum corneum at different anatomical sites in vivo. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 385–9.
- 14 Elias PM, Feingold KR. Lipids and the epidermal water barrier: metabolism, regulation, and pathophysiology. *Semin Dermatol* 1992; 11: 176–82.

15	Sparr E, Millecamps D, Isoir M et al. Controlling the hydration of the skin through the application of occluding barrier creams. <i>J R Soc Interface</i> 2013; 10: 20120788.	1
16	Jungersted JM, Hogh JK, Hellgren LI et al. Skin barrier response to occlusion of healthy and irritated skin: differences in trans-epidermal water loss, erythema and stratum corneum lipids. <i>Contact Dermatitis</i> 2010; 63: 313–9.	2
17	Fluhr JW, Lazzerini S, Distante F et al. Effects of prolonged occlusion on stratum corneum barrier function and water holding capacity. <i>Skin Pharmacol Appl Skin Physiol</i> 1999; 12: 193–8.	3
18	Wohlrab J, Klapperstuck T, Reinhardt HW et al. Interaction of epicutaneously applied lipids with stratum corneum depends on the presence of either emulsifiers or hydrogenated phosphatidylcholine. <i>Skin Pharmacol Physiol</i> 2010; 23: 298–305.	4
19	Johnsen GK, Haugsnes AB, Martinsen OG et al. Stratum corneum in vivo water content from TEWL-measurements. <i>Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc</i> 2008; 3166–9.	5
20	Crowther JM, Sieg A, Blenkiron P et al. Measuring the effects of topical moisturizers on changes in stratum corneum thickness, water gradients and hydration in vivo. <i>Br J Dermatol</i> 2008; 159: 567–77.	6
21	Hachem JP, Crumrine D, Fluhr J et al. pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and stratum corneum integrity/cohesion. <i>J Invest Dermatol</i> 2003; 121: 345–53.	7
22	Pan M, Heinecke G, Bernardo S et al. Urea: a comprehensive review of the clinical literature. <i>Dermatol Online J</i> 2013; 19: 20392.	8
23	Lee SW, Tettey KE, Yarovoy Y et al. Effects of anionic surfactants on the water permeability of a model stratum corneum lipid membrane. <i>Langmuir</i> 2014; 30: 220–6.	9
24	Horsch W, Bertram D, Finke I et al. Zur Freisetzung von Harnstoff aus L/W- und W/L-Emulsions-Salben. <i>Pharmazie</i> 1984; 39: 281.	10
25	Verma DD, Verma S, Blume G et al. Particle size of liposomes influences dermal delivery of substances into skin. <i>Int J Pharm</i> 2003; 258: 141–51.	11
26	Dickel H, Bruckner TM, Erdmann SM et al. The “strip” patch test: results of a multicentre study towards a standardization. <i>Arch Dermatol Res</i> 2004; 296: 212–9.	12
27	Rogiers V, Group E. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. <i>Skin Pharmacol Appl Skin Physiol</i> 2001; 14: 117–28.	13
28	Berardesca E, Herbst R, Maibach H. Plastic occlusion stress test as a model to investigate the effects of skin delipidization on the stratum corneum water holding capacity in vivo. <i>Dermatology</i> 1993; 187: 91–4.	14
29	Norlen L, Nicander I, Lundh Rozell B et al. Inter- and intra-individual differences in human stratum corneum lipid content related to physical parameters of skin barrier function in vivo. <i>J Invest Dermatol</i> 1999; 112: 72–7.	15
30	Nicander I, Norlen L, Forslind B et al. Lipid content and electrical impedance. <i>Curr Probl Dermatol</i> 1998; 26: 165–76.	16
		17
		18
		19
		20
		21
		22
		23
		24
		25
		26
		27
		28
		29
		30
		31
		32
		33
		34
		35
		36
		37
		38
		39
		40
		41
		42
		43
		44
		45
		46
		47
		48
		49
		50
		51
		52