

Firmenseminar der Firma neubourg skin care GmbH & Co. KG, Greven:  
Reparatur der Hautbarriere durch Dermokosmetika auf der Basis innovativer  
Schaumtechnologien

## Die Bedeutung hautverwandter Lipide für die Reparatur der Hautbarriere

*Dr. Eckhard Hanisch*

*neubourg skin care GmbH & Co. KG, Greven*

Um auf Emulgatoren verzichten zu können und den schädigenden Auswascheffekt in der Hautbarriere durch Emulgatoren zu umgehen, wurde unter dem Markennamen DMS® (Derma-Membran-Struktur) eine spezielle Lipidmischung auf Basis hautverwandter Membranbestandteile entwickelt. Als Vorbild dienten Strukturen der natürlichen Schutzbarriereschichten der Haut. Durch DMS® ist eine Creme oder eine andere galenische Formulierung in der Lage, die pflegenden Lipide und Ceramide in die tiefen Hautschichten zu transportieren.

Mit SLM 2026 (Lipoid AG, Steinhausen/Schweiz) steht seit geraumer Zeit eine im Vergleich zu DMS® fast identische Lipidmischung zur Verfügung, die in einer Reihe von Schaum-Cremes von Allpresan® und Allpremed® zum Einsatz kommt. SLM 2026 enthält in absteigender Konzentration folgende Bestandteile (INCI): Aqua, Caprylic/Capric Triglycerides, Hydrogenated Phosphatidylcholine, Pentylene Glycol, Glycerin, Butyrospermum Parkii Butter, Squalane und Ceramide NP. SLM 2026 ist eine Basisformulierung mit hochreinem, hydriertem Sojaphosphatidylcholin für die Herstellung von Hautpflegeprodukten natürlichen Ursprungs. SLM 2026 besteht aus einem dreidimensionalen Netzwerk von Membranen, die in ihrer Struktur der Permeabilitätsbarriere in der Hornschicht ähneln.

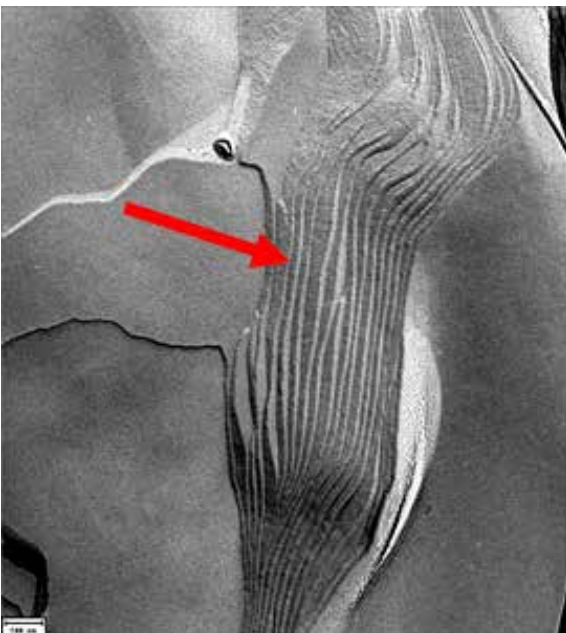


Abb. 1: Lamellare Strukturen einer Schaum-Creme mit hautverwandten Lipiden nach Gefrierbruch (Foto: Elmilab, Germering)

Nach Herstellung entsprechender Schaum-Creme-Präparate bestand Schritt 1 darin, die entsprechenden lamellaren Strukturen, die durch SLM 2026 gebildet werden sollten, nachzuweisen. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Schaum-Creme-Proben bei  $-197\text{ °C}$  zwischen Goldsandwichobjektträger gefriergetrocknet. Nach Transfer in die Gefrierätzeinheit wurde der Objektträger aufgebrochen. Hierbei entsteht ein Oberflächenrelief. Direkt danach erfolgte die Beschattung mit Schwermetall. Die entsprechenden elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden bei Elmilab, Germering, erstellt (Abb. 1, Seite 3).

Die lamellaren Strukturen sind auch nach Lagerung über 30 Monate stabil. Schritt 2 war die Verifizierung von Produktaussagen: So behaupteten wir, dass die entsprechenden Schaum-Cremes, die das SLM 2026-Gemisch enthalten, in der Lage sind, die Hautbarriere zu reparieren. Zum Beleg dieser Aussage wurden Untersuchungen in Zusammenarbeit mit Microscopy Services in Flintbek durchgeführt.

In einer doppel-blinden, intra-individuellen, randomisierten und Plazebo-kontrollierten Studie wurden 12 Nicht-Diabetiker (3 Männer und 9 Frauen im Alter von 32 bis 58 Jahren, Durchschnittsalter:  $44,1 \pm 10,7$  Jahre) mit sehr trockener bis rissiger Fußhaut ( $< 25$  E) auf die Wirkung von einem Verum-Präparat inklusive hautverwandter Lipide über einen Zeitraum von vier Wochen untersucht. Es wurden die Veränderungen hinsichtlich Hautfeuchtigkeit und transepidermaler Wasserverlust (TEWL) sowie als Maß für die Trockenheit der Hautbarriere mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) die Längen der intrazellulären Lipiddoppellagen und die qualitative und die quantitative Lipidzusammensetzung der Hautbarriere bestimmt. Für die beiden letztgenannten Untersuchungen wurden insgesamt 190 Proben, die jeweils unterhalb des Knöchels genommen wurden, statistisch analysiert.

Die Probanden cremten ihre Füße zweimal pro Tag über vier Wochen im Rechts-links-Vergleich verblindet entweder mit 1 g Verum oder 1 g Plazebo ein. Bei einer Fläche von etwa  $500\text{ cm}^2$  entspricht das einer Menge von  $0,5\text{ mg/cm}^2$  Verum bzw. Plazebo. Die Messungen und die Probennahmen fanden nach Akklimation (mindestens 20 Minuten bei  $21 \pm 1\text{ °C}$  und  $50 \pm 10\%$  Luftfeuchtigkeit mit unbekleidetem Fuß) an Tag 1, 15 und 29 statt. Der TEWL wurde nach 20-minütiger Akklimation nach den „Guidelines of TEWL measurements“ mit einem Tewameter TM 300 (Courage & Khazaka, Köln) bestimmt. Die Hautfeuchtigkeit wurde ebenfalls nach 20-minütiger Akklimation mit einem Corneometer CM 825 (Courage & Khazaka, Köln) nach der „EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration“ gemessen.

Proben für die TEM wurden erstellt und analysiert. Hiermit wurden die intrazellulären Lipiddoppellagenlängen als Maß für die Hauttrockenheit bestimmt. Die Lipide wurden folgendermaßen dargestellt: Zu Beginn der Lipidextraktion wurde ein Foto des Trägers mit den abgenommenen Korneozyten erstellt. Unter Verwendung der Bild J-Software ([www.nih.gov](http://www.nih.gov)) wurden die Korneozyten-Schichten gemessen und die Identifizierung der Probenoberfläche vorgenommen. Die Zahl der Zellschichten auf dem Träger wurde aus den TEM-Daten beurteilt, so dass die extrahierte Menge von Lipiden zu einer definierten kreisförmigen Trägeroberfläche ( $13\text{ mm}$  Durchmesser) und der Anzahl der Korneozyten-Schichten in Relation gesetzt werden konnte.

Nach Extraktion der Lipide aus dem Träger wurde eine „High Performance Dünnschicht-Chromatographie“ (HPTLC) durchgeführt. Für die chromatographische Analyse wurden Nano-Sil



20 Platten (10 cm x 10 cm, Macherey & Nagel, Düren) verwendet. Der verwendete Standard enthielt die Lipide Cholesterin, Ceramide EOS, NP und NH sowie freie Fettsäuren. Die Fettsäuremischung enthielt: (i) Palmitinsäure 25 %, (ii) Stearinsäure 25 %, (iii) Linolensäure 16,7 %, (iv) Linolsäure 16,7 % und (v) Öl Säure 16,7 %. Die fertigen HPTLC-Platten wurden densitometrisch gemessen und quantitativ analysiert.

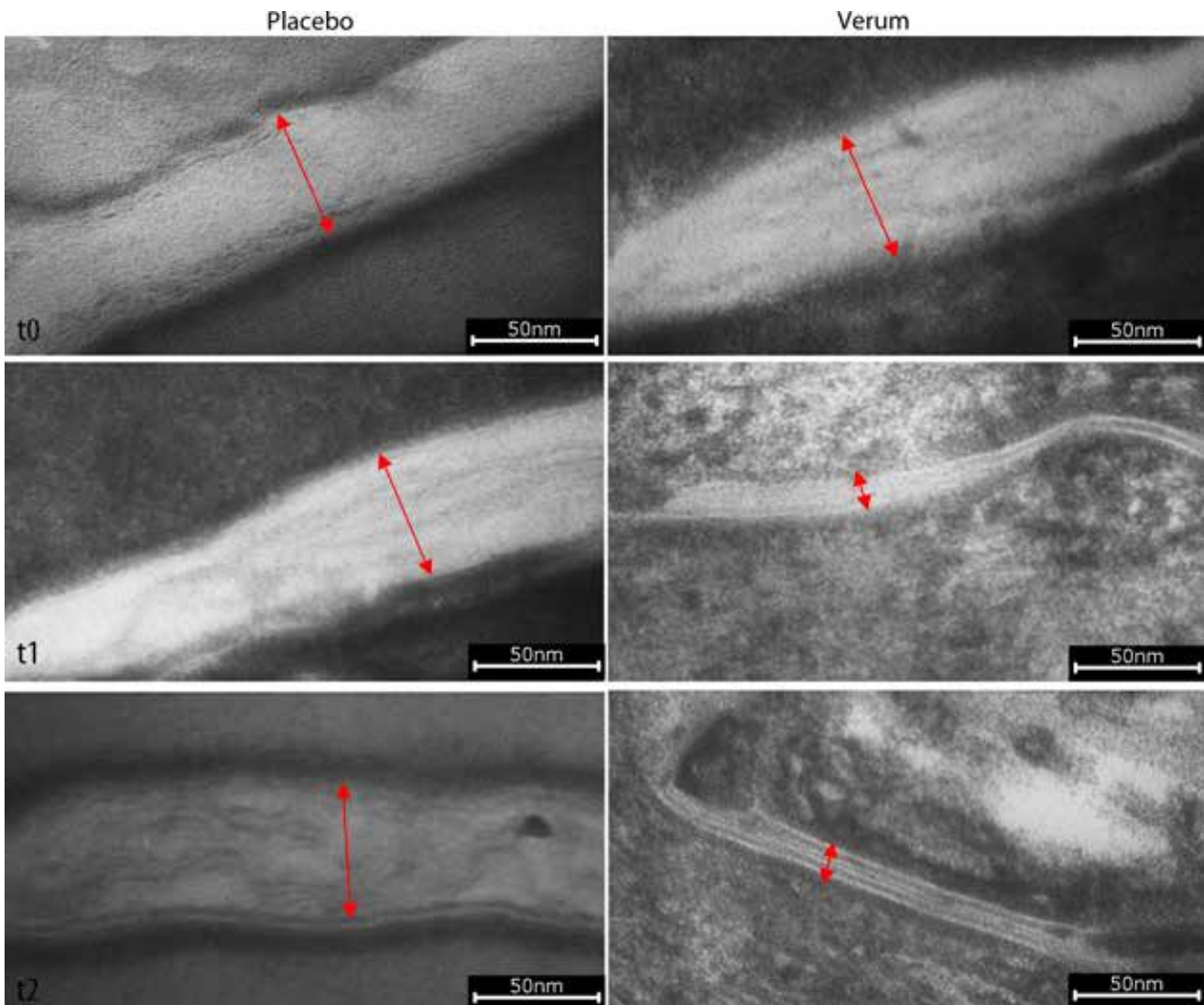


Abb. 2: TEM-Aufnahmen. t0 = zu Beginn der Studie, t1 = nach 2 Wochen, t2 = nach 4 Wochen. Linke Seite = Placebo, rechte Seite = Verum. Die roten Doppelpfeile markieren die Zell-Zell-Abstände. Auffällig ist, dass unter Placebo keine Veränderung in Hinsicht auf die Zell-Zell-Abstände erfolgt, wohingegen nach Behandlung mit Verum eine Normalisierung bereits nach 2 Wochen eintritt. Nach 4-wöchiger Behandlung mit Placebo sind lamellare Strukturen im Interzellularraum zu erkennen. Diese sind aber unstrukturiert und nur wenig parallel zueinander geordnet. Nach 4-wöchiger Behandlung mit Verum ist der Interzellularraum vollständig mit sauber strukturierten, parallel angeordneten lamellaren Strukturen gefüllt (Fotos: Microscopy Services, Flintbek).

Weder mit Verum noch mit Placebo konnte eine Veränderung des TEWL am Fuß festgestellt werden. Was zunächst wie ein systematischer Messfehler aussah, stellte sich auf Basis von mehreren weiteren Studien als häufiger Fall dar: Der TEWL lässt sich am Fuß in der Regel nur eingeschränkt messen. Nach zwei Wochen der Behandlung mit Verum hatte sich die

Hautfeuchtigkeit in der Fußhaut (bestimmt über die Hautkapazität) deutlich und signifikant erhöht, während die mit Plazebo-Schaum-Creme behandelten Füße erst nach vier Wochen signifikante Veränderungen der Hautfeuchtigkeit zeigten.

Die deutlichsten Unterschiede nach Behandlung mit Verum und Plazebo wurden im Transmissionselektronenmikroskop und der daraus folgenden semiquantitativen Analyse der interzellulären Lipidlamellen des Stratum corneum gesehen. Zu Beginn der Studie war die Organisation der interzellulären Lipidlamellen (ICLL) in beiden Behandlungsgruppen deutlich gestört (Abb. 2, Seite 5). Einige wenige Lipidlamellen konnten in den interzellulären Raum zwischen den Corneozyten im Stratum corneum gefunden werden. Nach zwei und vier Wochen konnte eine deutliche, signifikante Zunahme in der Anzahl von Lipidlamellen im interzellulären Raum beobachtet werden. Nach vier Wochen der Anwendung mit Verum Schaum-Creme war die Zahl der Interzellulärlipide im Vergleich zum Ausgangswert verdreifacht, so dass die mit der Verum-Schaumcreme behandelten Füße eine Hautbarriere zeigten, die der einer gesunden Haut entspricht.

Nach 2-wöchiger Behandlung mit Plazebo zeigten die interzellulären Lipidlamellen keine signifikanten Veränderungen. Nach 4-wöchiger Behandlung mit dem Plazebo hatte sich die Menge der Lipidlamellen gemessen am Ausgangswert verdoppelt. Nach zwei und vier Wochen Behandlung sind die Unterschiede zwischen Verum und Plazebo hochsignifikant. Im TEM kann man einen interessanten Unterschied zwischen gesunder und trockener Hautbarriere erkennen: In der trockenen Hautbarriere sind die Zell-Zell-Abstände deutlich größer als in der gesunden Haut. Offensichtlich verlieren die Zellen in der trockenen Hautbarriere mehr Wasser als die Zellen in der gesunden Hautbarriere, was dazu führt, dass die Zellen kleiner werden. Hierdurch müssen die Abstände zwischen den Zellen größer werden. Bei Behandlung mit Plazebo kommt es weder nach 2 noch nach 4 Wochen zu einer Änderung der Zell-Zell-Abstände. Bei Behandlung mit Verum sind die Zell-Zell-Abstände bereits nach 2 Wochen wieder normalisiert. Das spricht für einen deutlichen Qualitätsunterschied bezüglich der Regenerationsleistung von Verum und Plazebo (Abb. 3).

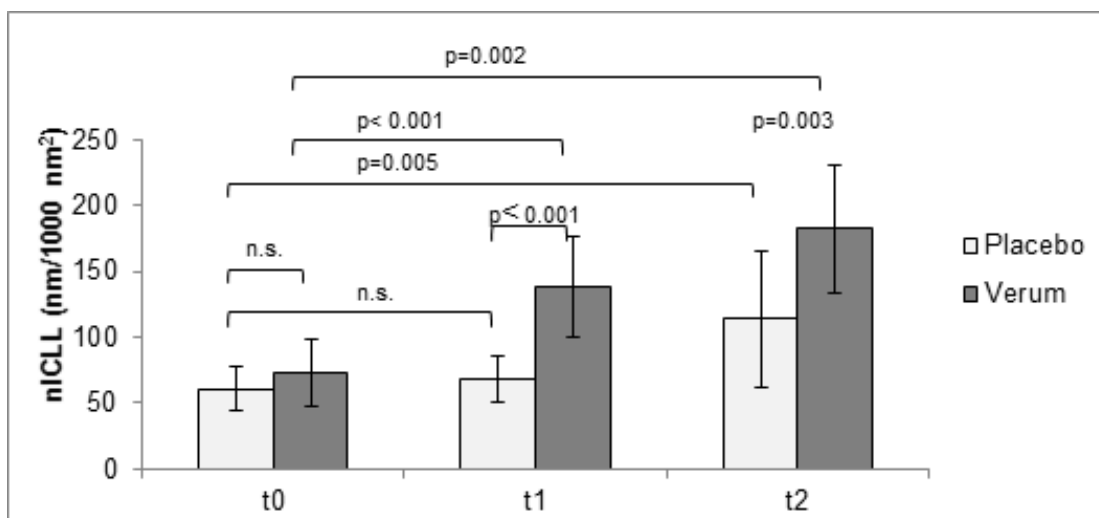


Abb. 3: Die normalisierten interzellulären Lipiddoppellagenlängen (nICLL) bestimmt aus der Summe der TEM-Aufnahmen. Längen > 180 nm/1.000 nm<sup>2</sup> entsprechen einer Situation in einer gesunden Hautbarriere. Nach vierwöchiger Behandlung mit Verum liegt auf Basis der Lipiddoppellagenlängen eine gesunde Hautsituation vor,



die in Abb. 2 durch TEM-Aufnahmen bestätigt wird. In einer identischen Studie (s.u.) an Diabetikern konnte gezeigt werden, dass nach 8-wöchiger Behandlung mit Verum oder Plazebo Werte  $> 180 \text{ nm}/1.000 \text{ nm}^2$  erreicht wurden. Damit lag in beiden Fällen eine gesunde und regenerierte Haut vor. Dies ist in sofern interessant, als das Plazebo keine Feuchthaltefaktoren enthält. Somit sind diese für eine Hautreparatur nicht notwendig, aber hilfreich, da sie offensichtlich die Reparaturprozesse beschleunigen. Offensichtlich wird die Hautbarriere primär durch Lipide (optimalerweise hautverwandte Lipide) repariert, so dass die Feuchtigkeit in der Hautbarriere zurückgehalten wird.

Nach zwei und vier Wochen Behandlung mit Verum stieg der Gehalt an Gesamtlipiden signifikant im Vergleich zu den Ausgangswerten an, während nach Anwendung des Plazebos keine Änderungen beobachtet werden konnten. Der höhere Gehalt an Gesamtlipiden mit Verum ist vor allem auf einen deutlich höheren Ceramid NP Gehalt (Abb. 4), sowie einen höheren Gehalt an freien Fettsäuren und an Gesamt-Ceramiden zurückzuführen (nicht gezeigt).

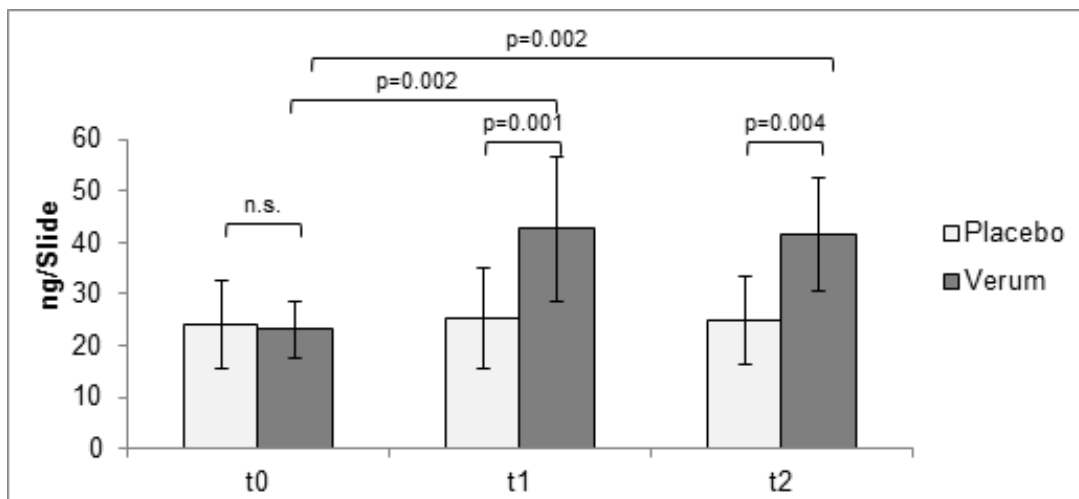


Abb. 4: Darstellung von Ceramid NP (= Ceramid 3). Nach Behandlung mit Plazebo ergibt sich keine Änderung der Ceramid NP-Menge. Nach Behandlung mit Verum ergibt sich schon nach 2 Wochen ein maximaler und signifikanter Anstieg des Ceramid NP-Gehaltes. Da Ceramid NP im Verum enthalten ist (und nicht im Plazebo) scheint der Anstieg des Ceramid NP-Gehaltes logisch mit der Behandlung durch das Verum verknüpft zu sein. Parallel zu Ceramid NP wurde auch das Vorhandensein von den Ceramiden EOS und NH untersucht. Dabei ergaben sich völlig identische Ergebnisse wie für Ceramid NP. Dies ist insofern interessant, als das die Ceramide EOS und NH weder im Plazebo noch im Verum vorhanden sind. Es sieht demnach so aus, als wenn durch die Behandlung der Hautbarriere mit dem Verum in der Hautbarriere Bedingungen geschaffen würden, die zur „Selbstwiederherstellung“ der Hautbarriere beitragen. Anders können die erhöhten Ceramid EOS- und NH-Gehalte nach Behandlung mit dem Verum nicht erklärt werden. Das wirft außerdem die Frage auf, ob das nachgewiesene Ceramid NP nach Behandlung mit Verum vollständig auf die Behandlung mit Verum zurückzuführen ist, oder ob nicht ein Teil auf die „Selbstwiederherstellung“ der Hautbarriere zurückgeht.

Diese Studie wurde mit identischem Design über einen Zeitraum von acht Wochen mit weitestgehend identischen Ergebnissen an Diabetikern mit trockener bis rissiger Fußhaut durchgeführt. Dies ist in so weit bemerkenswert, als dass diabetische Haut biochemisch und strukturell eine Reihe von Unterschieden gegenüber nicht-diabetischer Haut aufweist. Generell

kann festgehalten werden, dass Schaum-Creme-Präparationen, die hautverwandte Lipide enthalten, tatsächlich in der Lage sind, die Hautbarriere von Nicht-Diabetikern und Diabetikern zu reparieren.

### Literatur

1. Dähnhardt D, Dähnhardt-Pfeiffer S, Schulte-Walter J, Neubourg T, Hanisch E, Schmetz C, Breuer M, Fölster-Holst R. The influence of two different foam creams on skin barrier repair of foot xerosis. A prospective, double blind, randomized, placebo controlled intra-individual study. *Skin Pharm Physiol* 2016; 29(5):266-272
2. Schulte-Walter J, Dähnhardt D, Dähnhardt-Pfeiffer S, Segger D, Westphal D, Hanisch E, Neubourg T, Spraul M. Trockene Fußhaut bei Diabetikern. Doppel-blinde, randomisierte und Plazebo-gesteuerte Studie zeigt: In nur 4 Wochen kann die Lipidbarriere der Fußhaut auf den Stand gesunder Haut gebracht werden. 2017 (In Vorbereitung)

