

## **5. Diskussion**

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der topischen Anwendung von Agmatinsulfat an Patienten mit atopischer Dermatitis im Rahmen einer klinischen Studie. Die atopische Dermatitis ist eine chronisch-entzündliche Hauterkrankung, die zum atopischen Formenkreis gezählt wird. Vererbt wird nur die genetische Krankheitsdisposition; durch endogene und/oder exogene Provokationsfaktoren kommt es zur Manifestation der Erkrankung. Charakteristisch ist die leicht reizbare, trockene Haut, auch im erscheinungsfreien Intervall. Diese klinische Eigenheit korrespondiert mit einer nachweisbar verringerten Wasserbindungskapazität, verminderter Hydratation sowie mit einer beeinträchtigten Barrierefunktion der Haut [41, 42, 43, 87]. Da in dieser klinischen Studie der Einfluss von topisch appliziertem Agmatin auf die Hydratation und die Barrierefunktion der Haut im Blickpunkt stand, wurde diese Patientengruppe im symptomfreien Intervall auserwählt. Es handelt sich hierbei um eine neuartige Therapieoption gegen trockene Haut, die erstmalig am Patienten angewendet wurde. Bisher existieren kaum Informationen in der Literatur hinsichtlich Agmatin und Haut.

### **5.1. Wirksamkeit**

Da experimentell an nativen Keratinozyten eine erhöhte Harnstoffproduktion nach Applikation von Agmatinsulfat nachgewiesen werden konnte [80], sind die durch klinische Anwendung am Patienten zu erzielenden Effekte von besonderem Interesse. Um einen Einfluss auf die Hydratation und Barrierefunktion der Haut zu untersuchen, wurden definierte Testareale auf den Unterarmen von 24 Patienten 21 Tage lang zweimal täglich mit den Prüfpräparaten behandelt und nach 7, 14 und 21 Tagen untersucht.

---

### **5.1.1. Ist nach topischer Applikation von Agmatinsulfat ein Einfluss auf die Hydratation und Barrierefunktion der Haut klinisch nachweisbar?**

Bei der Untersuchung der Hydratation und der Barrierefunktion der Haut fanden die Corneometrie und die Tewametrie Anwendung.

Die Corneometrie stellt eine etablierte und empfohlene nicht-invasive Methode zur Hautfeuchtigkeitsmessung dar [19, 66]. Bei Betrachtung der Wirkung der einzelnen Prüfpräparate gegenüber dem Hautzustand vor Therapiebeginn lässt sich eine signifikante Erhöhung der Hydratation der Hornschicht nach 7-tägiger Anwendung des Harnstoff 5% Monopräparates und der Harnstoff 5% + Agmatinsulfat 2% und Harnstoff 5% + Agmatinsulfat 5% Kombinationspräparate anhand signifikant erhöhter Corneometrie-Messwerte nachweisen. Diese bleibt bis zum Ende der Applikation am 21.Tag erhalten. Einen wesentlichen Einfluss auf den Feuchtigkeitshaushalt der Haut hat der sogenannte Natural Moisturizing Factor, dessen wichtiger Bestandteil der Harnstoff ist [24]. Dieser wird mittels der harnstoffhaltigen Präparate direkt topisch appliziert und entfaltet seine Wirkung hauptsächlich in der Hornschicht bzw. kann mittels des Agmatinsulfates im Keratinozyten der vitalen Epidermis neu synthetisiert werden. Harnstoff führt aufgrund einer Erhöhung der Wasserbindungskapazität zu einer Erhöhung der Hydratation der Hornschicht. Für harnstoffhaltige Präparate konnte schon in früheren Untersuchungen sowohl an gesunder als auch an trockener Haut eine Erhöhung der Corneometrie-Werte nachgewiesen werden [21, 25, 44, 46, 88, 89, 97].

Im Gegensatz dazu führen das Vehikel und die Agmatinsulfat 2% und Agmatinsulfat 5% Monopräparate zu keiner signifikanten Erhöhung des Feuchtigkeitsgehaltes der Hornschicht. Die Konzentrationen von 2% bzw. 5% Agmatinsulfat scheinen allein nicht ausreichend, um eine genügend hohe Harnstoffmenge zu synthetisieren, dass sich dies in einer signifikanten Erhöhung der Corneometrie-Werte niederschlägt. Eine Rolle spielt hier sicherlich die Frage nach Menge und Aktivität der Agmatinase in der Haut. Untersuchungen zur Expression der Agmatinase in menschlichem Gewebe ergaben, dass sich relativ geringe Mengen an mRNA in der Haut befinden [50]. Eine Induktion der Expression konnte an menschlichen Hepatozyten durch eine Hepatitis-B-Virus Infektion nachgewiesen werden [50]. Im Gegensatz zu Bakterien und Pflanzen

---

wurde an Ratten Hepatozyten gezeigt, dass Agmatin nur zu einem kleinen Teil (10% der aufgenommenen Agmatinmenge) von der Agmatinase zu Harnstoff und Putrescin umgesetzt wird [7]. Eine Steigerung der Aktivität des Enzyms ist jedoch möglich, wie es anhand der Makrophagen Agmatinase und LPS nachgewiesen wurde [81]. Im Rahmen von inflammatorischen Vorgängen konnte eine gleichsinnige Regulation der Agmatinase und der iNOS gezeigt werden. Die erhöhte Aktivität der Agmatinase führt zu einem Abfall des Agmatin Gehaltes in der Zelle, wodurch eine Hemmung der iNOS durch das Agmatinaldehyd verhindert wird [81]. Durch eine erhöhte Aktivität der Agmatinase in entzündeter Haut wäre eine stärkere Wirkung hinsichtlich der Harnstoffproduktion denkbar. Ebenso wäre es interessant, ob eine antiinflammatorische Wirkung durch Hemmung der iNOS klinisch nachweisbar ist.

Für das Vehikel selbst werden zwar keine signifikanten Erhöhungen der Corneometrie-Werte errechnet, es lässt sich aber eine Tendenz in diese Richtung erkennen (mögliche Eigenwirkung des Vehikels). Bei Betrachtung der Prüfpräparate gegenüber dem Vehikel ist auffällig, dass allein für das Harnstoff 5% + Agmatinsulfat 5% Kombinationspräparat bereits ab dem 7.Tag eine signifikante Erhöhung der Hydratation der Hornschicht nachweisbar ist. Dies kann als Bestätigung für eine tatsächliche Wirkung von Agmatin hinsichtlich der Steigerung der endogenen Harnstoffsynthese in vitaler humaner Haut angesehen werden. Die synergistische Wirkung des applizierten Harnstoffs und des Agmatins scheinen sich hierbei zu addieren, da der Harnstoff bzw. das Agmatin allein nach 7 Tagen keine signifikante Erhöhung der Hydratation bewirken. Eine entsprechende Konzentration des Agmatins von 5% ist wahrscheinlich mindestens nötig, da eine Kombination mit Agmatinsulfat 2% noch zu keiner signifikanten Steigerung der Hautfeuchtigkeit führt. Zusätzlich könnte die Wirkung des Agmatins aufgrund der bekannten penetrationsfördernden Eigenschaft des Harnstoffs verstärkt werden. Zwischen der ab dem 14.Tag gegenüber dem Vehikel gezeigten signifikanten Hydratationssteigerung des Harnstoff 5% Monopräparates und des Harnstoff 5% + Agmatinsulfat 5% Kombinationspräparates kann kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Hier wären weitergehende Untersuchungen mit einer größeren Anzahl an Patienten und einer höheren Konzentration an Agmatin von Interesse.

---

Der TEWL, gemessen mit Hilfe der Tewametrie, gilt als Maß für die Barrierefunktion der Hornschicht. Für keines der verwendeten Prüfpräparate kann eine signifikante Reduktion des TEWL nachgewiesen werden. Dies steht zumindest für Harnstoff im Gegensatz zu anderen Studien, wo eine Reduktion des TEWL sowohl an gesunder als auch an trockener Haut nachgewiesen wurde [21, 45]. Jedoch gibt es auch Untersuchungen an trockener Haut, wo eine Reduktion des TEWL erst bei einer Konzentration von Harnstoff 10% auftrat [88], oder wo ebenfalls nur eine Tendenz für Harnstoff 5% in Richtung niedrigere TEWL-Werte aufgezeigt wurde [44], bzw. wo für Harnstoff 4% keine signifikanten TEWL-Veränderungen gemessen wurden [25]. Die Ursache hierfür ist in einer für den barriereverbessernden Effekt möglicherweise zu geringen Konzentration der Wirkstoffe aber auch in der Methodik zu suchen. Die Tewametrie ist eine wichtige nicht-invasive und auch empfohlene Methode zur Einschätzung der Barrierefunktion der Haut [3, 65]. Sie ist einerseits gekennzeichnet durch eine hohe Sensitivität, andererseits ist eine ungewollte Beeinflussung der Messungen aufgrund einer Vielzahl von Einflussfaktoren (z.B. Umgebungsfaktoren [79], Menstruationszyklus [28], Händigkeit bei Messungen am Unterarm [91], mangelnde Ernährung an essentiellen Fettsäuren [10, 49]) möglich [25]. Bei der relativ kleinen Anzahl an Patienten kann dies erhebliche Auswirkungen für die statistische Auswertung haben. Die bei der Tewametrie gemessene Menge an austretendem Wasser besteht zum einen aus verdunstendem Wasserdampf (Menge abhängig vom Zustand der Hautbarriere) und zum anderen aus der Schweißsekretion. Da die Schweißsekretion die TEWL-Werte hinsichtlich der Rückschlüsse auf den Funktionszustand der epidermalen Barriere verfälschen würde, muss darauf geachtet werden, dass eine Schweißsekretion möglichst vermieden wird. Dies wurde umgesetzt, indem die Studie gemäß der Leitlinie für die Tewametrie "EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in Cosmetic Sciences" [79] durchgeführt wurde. Hierdurch kann das Schwitzen aufgrund körperlicher und thermischer Stimuli vermieden werden. Jedoch ist es kaum möglich, die Schweißsekretion aufgrund emotionaler Stimuli zu beeinflussen. Dass dies einen wesentlichen Störfaktor darstellen kann, konnte in einer Untersuchung anhand vergleichender TEWL-Messungen mit und ohne anticholinergem Hemmung der Schweißdrüsen gezeigt werden [70]. Exakte TEWL

Messungen müssten nach einer anticholinergen Hemmung der Schweißdrüsen durchgeführt werden [70].

## **5.2. Dosisfindung**

### **5.2.1. Bei welcher Konzentration von Agmatinsulfat können diese Effekte aufgezeigt werden?**

Zwischen den beiden Monopräparaten mit 2% bzw. 5% Agmatin lässt sich kein Unterschied in der Wirksamkeit feststellen. Beide Konzentrationen sind nicht ausreichend für eine nachweisbare Erhöhung des Hydratationszustandes der Hornschicht.

In Kombination mit Harnstoff 5% hat Agmatin 5% Vorteile gegenüber Agmatin 2%. Hier lässt sich gegenüber dem Vehikel nachweisen, dass es als einzigstes Prüfpräparat bereits nach 7 Tagen zu einer signifikanten Verbesserung der Hautfeuchte führt.

Aufgrund der geringen Verfügbarkeit sowie der hohen Kosten des Agmatinsulfates wurden für diese Pilotstudie Präparate mit relativ geringen Konzentrationen von 2% bzw. 5% Agmatinsulfat gewählt. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass höhere Konzentrationen an Agmatinsulfat zu einer verstärkten Steigerung der intrakeratinozytären Harnstoffsynthese und somit zu einem deutlicheren Effekt führen.

## **5.3. Wirkdauer**

Um zu prüfen, ob und wie lange die Wirkung der Prüfpräparate über den Applikationszeitraum hinaus anhält, wurde die Applikation auf den Unterarmen nach 21 Tagen beendet und die Testareale nach 24, 48 sowie 72 Stunden weiterhin untersucht.

---

### **5.3.1. Ist die Wirkung des Agmatins nach Beendigung der Applikation anhaltend?**

24 Stunden nach Beendigung der Applikation ist für keines der Prüfpräparate ein Effekt mehr nachweisbar. Die Wirkdauer des Agmatinsulfates liegt somit wahrscheinlich unter 24 Stunden. Dies deckt sich auch mit der Erkenntnis, dass bei topischer Harnstoffsubstitution Effekte hinsichtlich der Hydratation bereits nach einigen Stunden verschwinden [90, 97]. Für Untersuchungen der Wirkdauer des Agmatinsulfates sind daher kürzere Intervalle im Bereich von Stunden nach Absetzen der Therapie sinnvoll.

Es ist jedoch auch möglich, dass die endogene Harnstoffsynthese über 24 Stunden hinaus anhält, jedoch allein nicht ausreichend ist für signifikant erhöhte Messwerte.

### **5.4. Verträglichkeit**

Für die Beurteilung der Verträglichkeit wurden alle Prüfpräparate bis zu 72 Stunden lang mittels Testpflaster auf den Rücken der Patienten appliziert. Nach 24, 48 und 72-stündiger Applikation erfolgte jeweils eine Einschätzung der Testareale anhand des Visuellen Klinischen Scores sowie eine Bestimmung der Hautröte mit Hilfe der Erythrometrie. Zusätzlich wurden während der gesamten Studienzeit aufgetretene Adverse Events dokumentiert.

#### **5.4.1. Wie werden topische agmatinhaltige Präparate von Patienten mit atopischer Dermatitis vertragen?**

Die Erythrometrie ist eine geeignete nicht-invasive Messmethode, um irritative Hautreaktionen und Gefäßreaktionen anhand auftretender Hautröte zu bestimmen [17]. Für kein Prüfpräparat kann eine signifikante Zunahme der Hautröte bei bis zu 72-stündiger Applikation nachgewiesen werden. Daraus ergibt sich kein Hinweis für eine toxisch-irritative Reaktion oder auch vaskuläre Effekte des Agmatins bei topischer Applikation. Dies bestätigen auch die Ergebnisse des Visuellen Klinischen Scores. Vereinzelt aufgetretene Reaktionen wurden durchweg mit 1

(Schuppung, sehr schwaches Erythem) bewertet und traten sowohl bei den Prüfpräparaten als auch auf den leeren Kontrollfeldern auf. Das einmalige Auftreten eines Visuellen Klinischen Scores von 2 bei einem Testareal, wo das Vehikel aufgetragen wurde, ist wahrscheinlich auf eine gleichzeitige Follikulitis zurückzuführen. Bei dieser Art der Verträglichkeitsprüfung muss man bedenken, dass zum einen die Haut der Patienten mit atopischer Dermatitis von vornherein oftmals empfindlich reagiert und zum anderen eine bis zu 72 Stunden lange Applikation unter Okklusivbedingungen eine weitaus extremere Belastung für die Haut darstellt, als es in der Praxis zu erwarten ist. Insgesamt decken sich die Ergebnisse mit vorangegangenen Untersuchungen des Agmatins am Modell der Chorioallantoismembran des Hühnereies, wo keinerlei Beeinflussung der Perfusion gezeigt werden konnte und die keine Hinweise auf eine akute Toxizität bei topischer Anwendung lieferten [80].

Während der 21-tägigen Behandlungsphase wurden die topischen Präparationen von allen Patienten gut toleriert. Einige Patienten berichteten über eine vorübergehende leichte Rötung und aufgetretene Papeln auf Testarealen die mit dem Vehikel, dem Harnstoff 5% Monopräparat bzw. dem Harnstoff 5% + Agmatinsulfat 5% Kombinationspräparat behandelt wurden. Diese Reaktionen sind wahrscheinlich auf den Harnstoff zurückzuführen, dessen irritative Wirkung bekannt ist. Für das Agmatinsulfat fanden sich keine Anzeichen einer Unverträglichkeit.