

Isoliert perfundiertes Rindereuter zur Untersuchung der dermalen Penetration und Resorption

Rolf D. Petersen¹ & Manfred Kietzman², ¹PharmaSol GmbH, ²Tierärztliche Hochschule Hannover

1. Bedeutung alternativer Testmodelle zur Vermeidung von in vivo Studien an Tier und Mensch

Kenntnisse über Absorption und dermale Penetration chemischer Substanzen nach Kontakt mit menschlicher Haut werden zwingend für pharmakologische und toxikologische Forschung benötigt. Aus ethischer Sicht sind in vivo Studien an Tier und Mensch, wenn möglich, zu vermeiden. Mit dem isoliert perfundierten Rindereuter steht ein leistungsfähiges und aussagekräftiges in vitro Modell zu diesem Zweck zur Verfügung [1]. Rindereuter fallen als unbehandelter Abfall in Schlachthäusern an.

2. Experimenteller Aufbau des Eutermodells

Das Euter als Mammagewebe repräsentiert idealtypisch eine Säugetierhaut, an der Barriereigenschaften der Hornschicht und der Stoffwechsel vergleichbar der lebenden Haut aufrecht erhalten werden können. Hierzu wird das Organ von frisch geschlachteten Kühen entnommen. Nach sofortigem Transport in das Labor werden die zu- und abführenden Blutgefäße kanüliert und mit einer oxygenierten Tyrodelösung (nach ihrem Erfinder *Maurice Vejux Tyrode* benannte physiologische Elektrolytlösung, die mit Sauerstoff angereichert wurde) perfundiert.

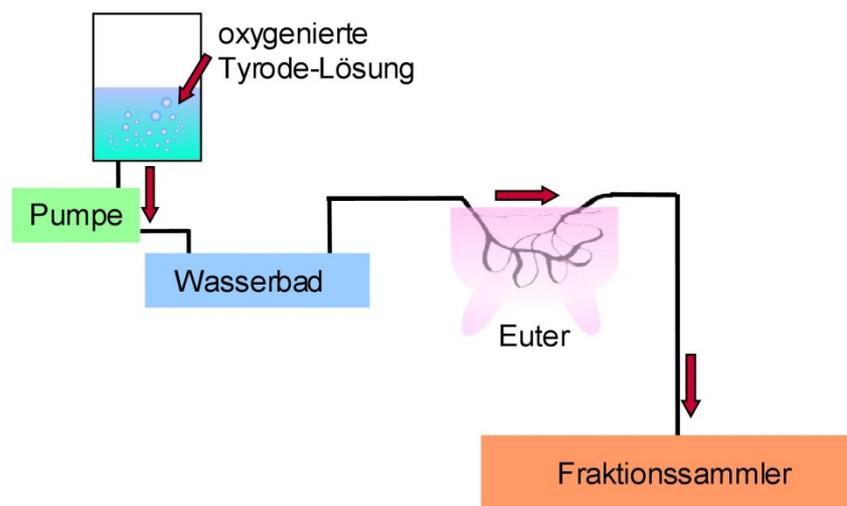


Abb. 1: isoliertes perfundiertes Rindereuter, schematische Darstellung des Testmodells (nach [2])

Ein kontrollierter Perfusatfluss erhält die Vitalität des Gewebes für 6 bis 8 Stunden und wird durch Bestimmung des Glucoseverbrauchs, der Lactatbildung und der

Lactatdehydragenasefreisetzung überwacht. Nach topischer Applikation der Testsubstanz kann zeitabhängig die Eindringtiefe in die Haut nach Biopsatentnahme bestimmt oder nach perkutaner Penetration das Zielmolekül im Perfusat qualifiziert werden. In einer Vielzahl von Studien hat diese in vitro Modell eine hohe Korrelation zur in vivo Situation gezeigt.

3. Perkutane Absorption von Betamethason in unterschiedlichen galenischen Darreichungsformen

Jeweils 2 g einer Betamethason-haltigen Lotion, Crème und Salbe wurden jeweils auf 100 cm² Euterhaut appliziert. Die Formulierungen enthielten jeweils 1,28 mg Betamethason-17.21-dipropionate. Zu bestimmten Zeiten nach der Applikation wurden Perfusatproben gesammelt und mittels HPLC analysiert. Weiterhin wurde durch künstliche Schädigung der Barrierefunktionen der Hornschicht mittels Aceton vor der Applikation der Testpräparate gezeigt, dass sich die Absorptionsrate des Glucocorticoids signifikant erhöht [3]. Tabelle 1 zeigt die absorbierten Gesamtmengen für die drei Formulierungen.

Tab. 1: Gesamtmenge Betamethason-17.21-dipropionat im Perfusat nach Applikation in unterschiedlichen Darreichungsformen

Testpräparat	Unbehandelte Euterhaut	Aceton-vorbehandelte Euterhaut
Salbe	1323 ± 321ng	2733 ± 366ng
Creme	1078 ± 858ng	1892 ± 619ng
Lotion	767 ± 173ng	991 ± 99ng

Die folgenden graphischen Darstellungen zeigen die absorbierte Menge des Glucocorticoids (kumuliert) als Funktion der Zeit nach jeweiliger Applikation (Abb 2). Die Salbe zeigt dabei die schnellste Absorption (Plateau nach ca. 180min. erreicht) und auch die höchste absorbierte Menge (Abb 2 - links). Die Creme zeigt die am stärksten verzögerte Absorption, liegt aber in der abschließenden Gesamtmenge nach 240 min oberhalb der Lotion. Die Entfernung des schützenden Lipidfilms des stratum corneums (Behandlung mit Aceton) führt zur Absorptionssteigerung für alle drei Formulierungen (Abb 2 - rechts). Die Ergebnisse der Studie verdeutlichen die Bedeutung galenischer Formulierungen für die Glucocorticoid-Absorption der Haut sowie den Einfluss der Intaktheit der Hautbarriere des Stratum corneums. Vergleichbare Ergebnisse hinsichtlich der biologischen Äquivalenz topisch applizierten Glucocorticoids wurden mittels der Tesaabriss-Methode (Tape stripping) an menschlicher Haut gefunden [4].

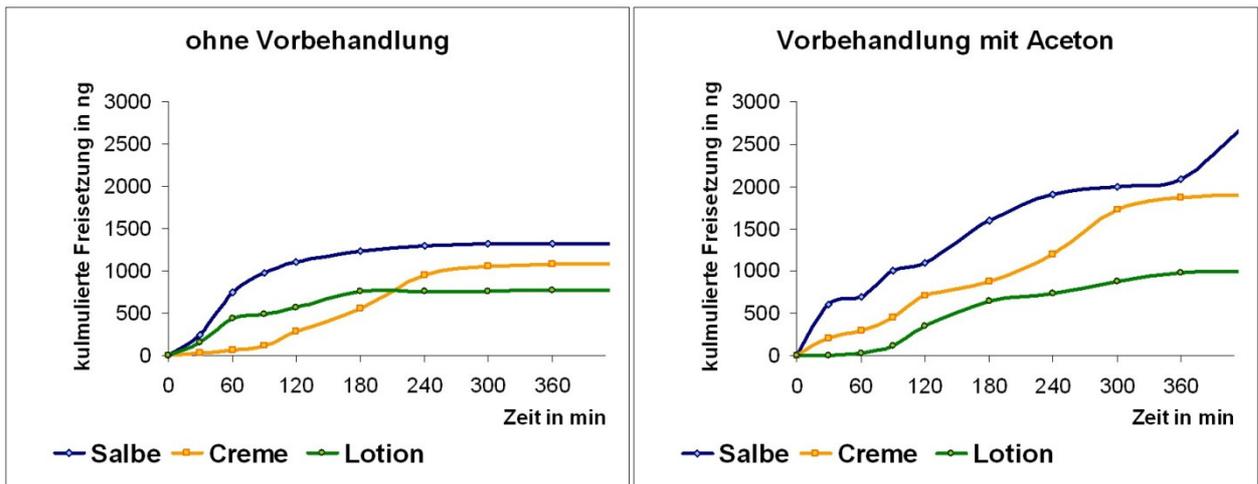


Abb. 2: Kumulierte Freisetzungskurven von Betamethason-17.21-dipropionat als Funktion der Zeit, jeweils appliziert auf 100 cm² Euterhaut, links aufgetragen auf unbehandelte Haut, rechts: aufgetragen auf mit Aceton vorbehandelte Haut

4. Literatur

1. Kietzmann, M., et al., *The isolated perfused bovine udder as an in vitro model of percutaneous drug absorption. Skin viability and percutaneous absorption of dexamethasone, benzoyl peroxide, and etofenamate.* J Pharmacol Toxicol Methods, 1993. **30**(2): p. 75-84.
2. Kietzmann, M. and W. Löscher, *Die Verwendung von Schlachttierorganen zur Prüfung von Arzneimitteln: Eignung des Rindereuters zur Untersuchung von hautwirksamen Stoffen.* Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1993. **2**: p. 54-57.
3. Kietzmann, M. and B. Blume, *Percutaneous Absorption of Betamethasone from Different Formulations Using the Isolated Perfused Bovine Udder.* In Vitro Toxicol., 1997. **10**(1): p. 11-15.
4. Pershing, L.K., et al., *Variability and correlation of chromameter and tape-stripping methods with the visual skin blanching assay in the quantitative assessment of topical 0.05% betamethasone dipropionate bioavailability in humans.* International Journal of Pharmaceutics, 1992. **86**(2-3): p. 201-210.