

CYTO projekt: Studie průniku cytostatik přes pokožku a orální epitel

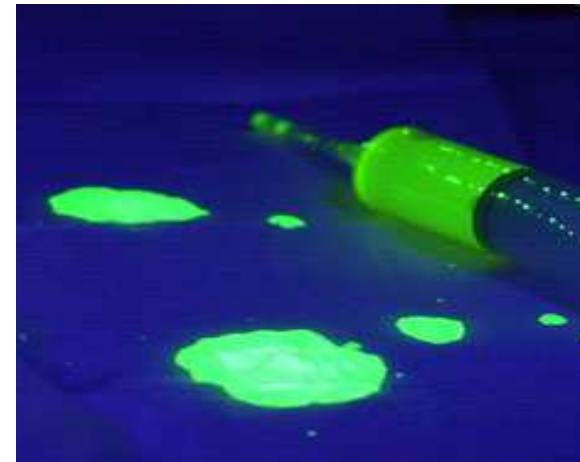
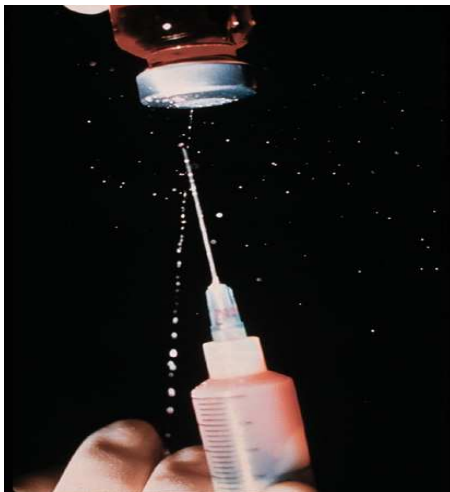
PharmDr. Doležalová, Mgr.Odráška, Mgr. Gorná,
Vejpustková, R., doc.Mgr.Bláha,Ph.D.

Ústavní lékárna, Masarykův onkologický ústav



Profesní manipulace s CL

- Potenciální riziko expozice a kontaminace
- Akutní toxicita
- Dlouhodobě: kancerogenita, mutagenita, teratogenita (první trimestr), hypersenzitivní reakce, endokrinní a imunní supresivní účinky



Cesty příjmu CL do organismu profesně exponovaného pracovníka

- Orální příjem
 - nedodržování hygienických standardů
 - mimořádné události
- Inhalace ve formě aerosolů či par
 - u CL stanoveny nízké hodnoty TP
 - omezená schopnost evaporace
- Dermální expozice
 - dlouho „podceňována“ zdůvodněním ochranné funkce pokožky (mikroorganismy, UV záření, škodlivé cizorodé látky chemické povahy)
 - nejvýznamnější (lidské ruce v kontaktu s CL při příjmu, ve skladu, v přípravě, při aplikaci)

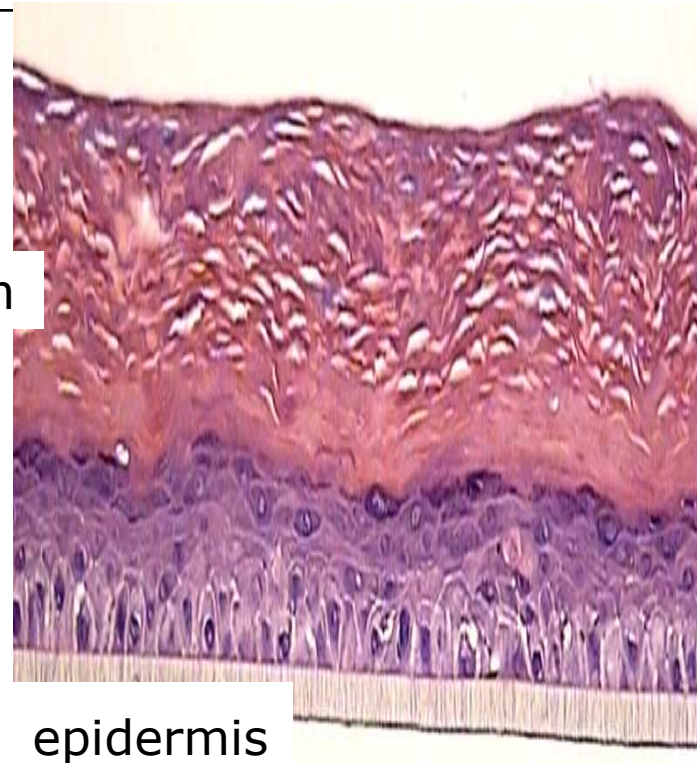
	Tlak páry (Pa)
Paklitaxel	0,024
Doxorubicin	0,002
Dakarbazin	0,004
Voda	2337
Ethanol	5851



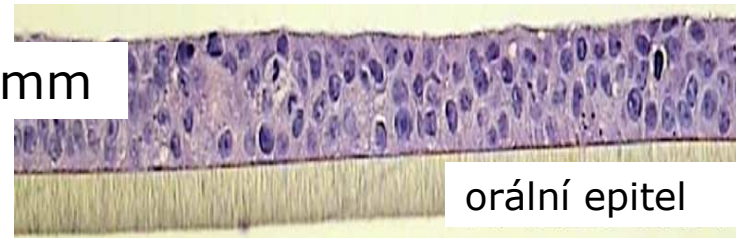
Schopnost látek pronikat přes kůži je možné ověřit

- in vivo na živém organismu lidském nebo zvířecím
- in vitro za pomoci odstraněné kůže
- in vitro na rekonstituovaných tkáních

0,3mm



0,1mm

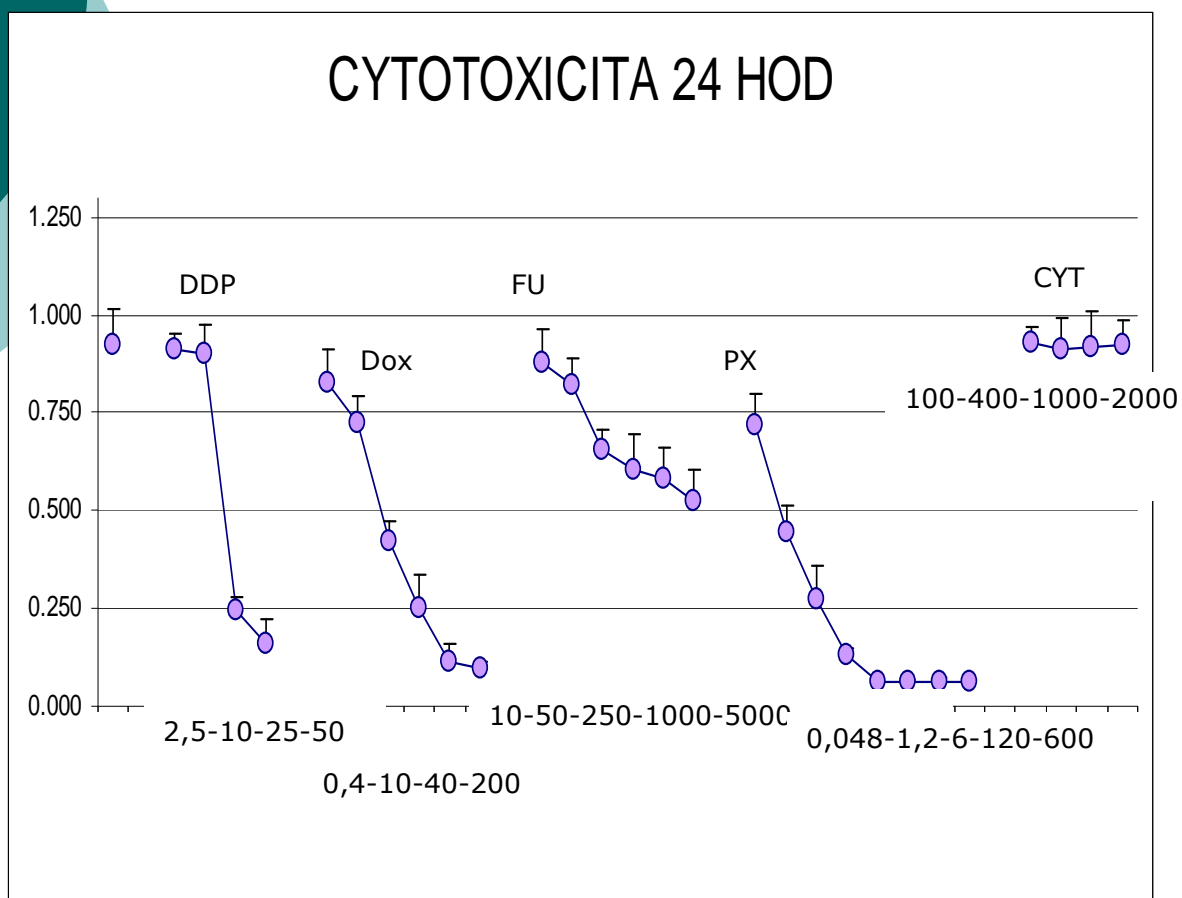




Studie cytotoxicity

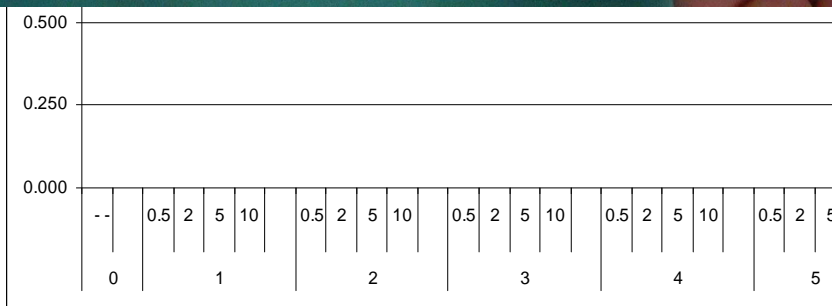
- Určení koncentrací pro vlastní studii
prostupnosti CL (DDP, Dox, FU, PX, CYT)
- Buněčná kultura HaCaT (lidské keratinocyty, vhodný model pro testování účinků na kožní buňky)
 - testovány různé koncentrace CL (100uL/jamku)
 - kultivace při 37°C po dobu 3, 6 a 24hod
- Viabilita hodnocena za použití metody příjmu
neutrální červeně do živých buněk (neutral red
uptake test)
 - stanovení EC50 (efekt u 50% buněk)

Studie cytotoxicity: vztah dávka-odpověď



CL	EC50 (µg/ml)
Cisplatina	18,06
Doxorubicin	8,98
Fluorouracil	>5000
Paklitaxel	0,06
Cyklofosfamid	>2000

ity: za 3 a 6hod





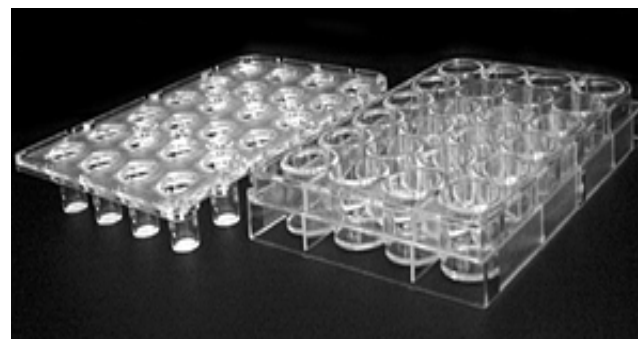
Studie cytotoxicity: závěr

- Pro studii prostupnosti CL přes rekonstituované kůže použijeme i vysoké koncentrace CL, které se běžně používají při přípravě
- Stanovení množství CL, které „projde“ přes tkáň bude provedeno po expoziční době 15, 30, 60, 120, 240 a 360min

Prostupnost CL přes kůži

- Komerčně dostupné rekonstituované modely lidské pokožky a orálního epitelu (SkinEthic, Francie)

www.skinethic.com



- Použité koncentrace:

1. zásobní

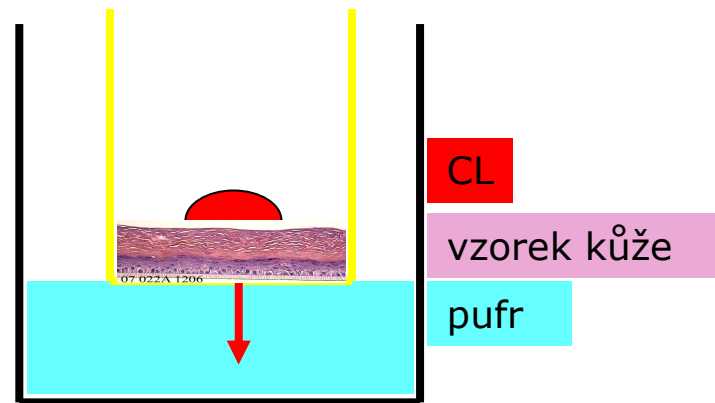
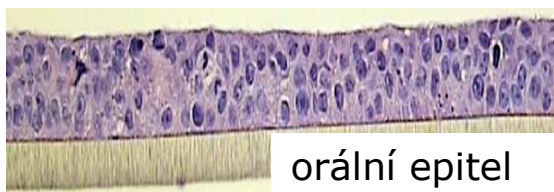
(FU 50mg/ml, CYT 20mg/ml, PX 6mg/ml, Dox 2mg/ml, DDP 0,5mg/ml)

2. 20x naředěná zásobní koncentrace

3. 100x naředěná zásobní koncentrace

Prostupnost CL přes kůži

- Aplikace testovaných látek na povrch tkáně (0,3cm²) a sledování prostupu do receptorového média
- Od každé koncentrace a látky vždy 2 opakování

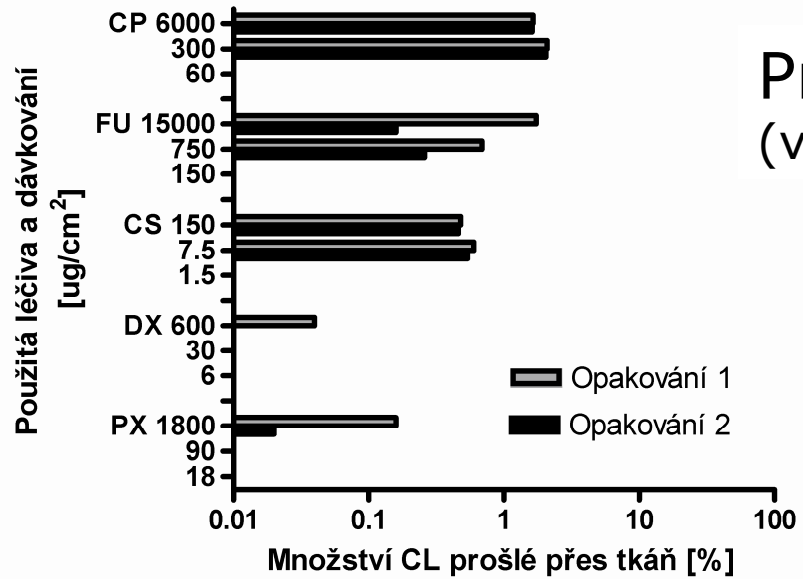


Prostupnost CL přes kůži

- Hodnoceno pomocí Acquity UPLC Systém WATERS

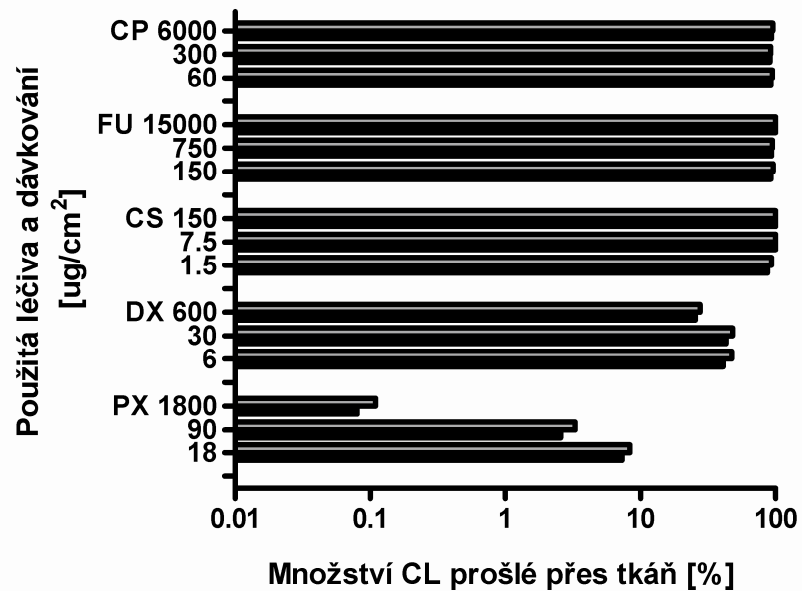


EPIDERMIS

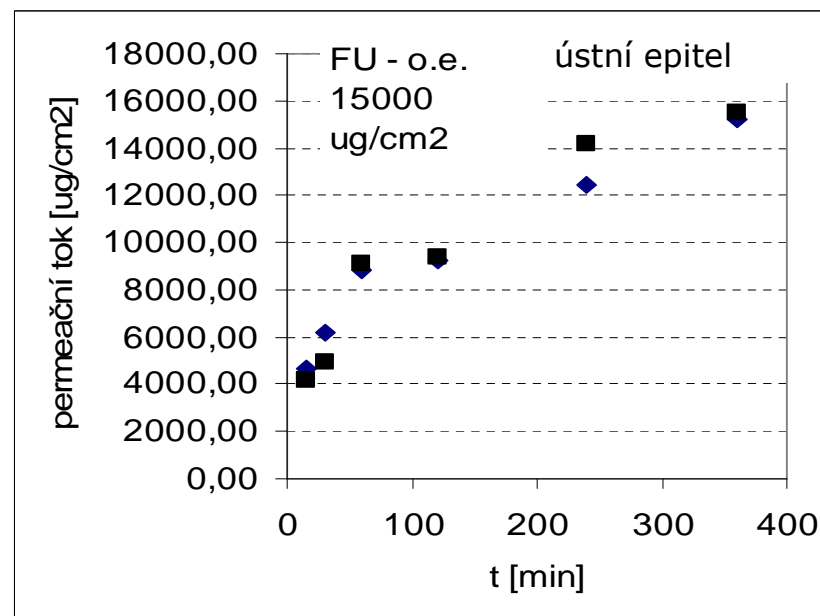
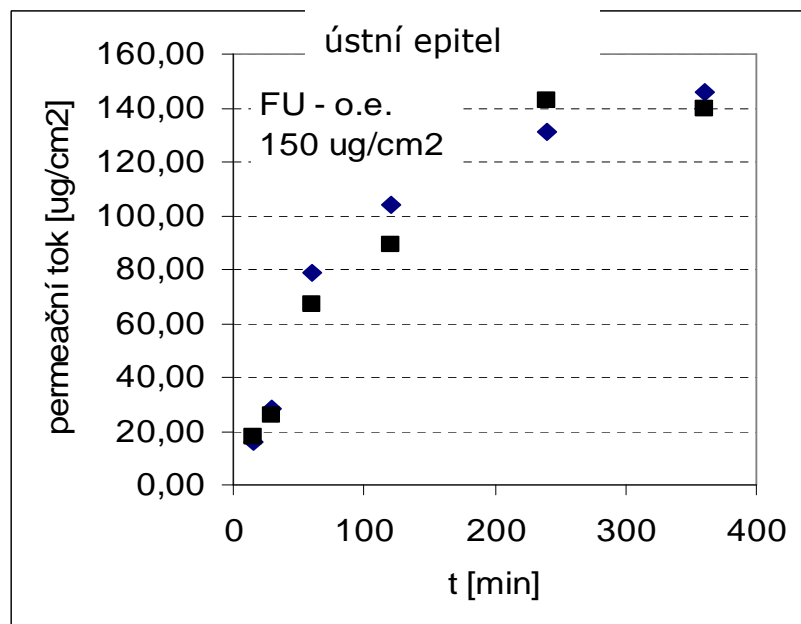
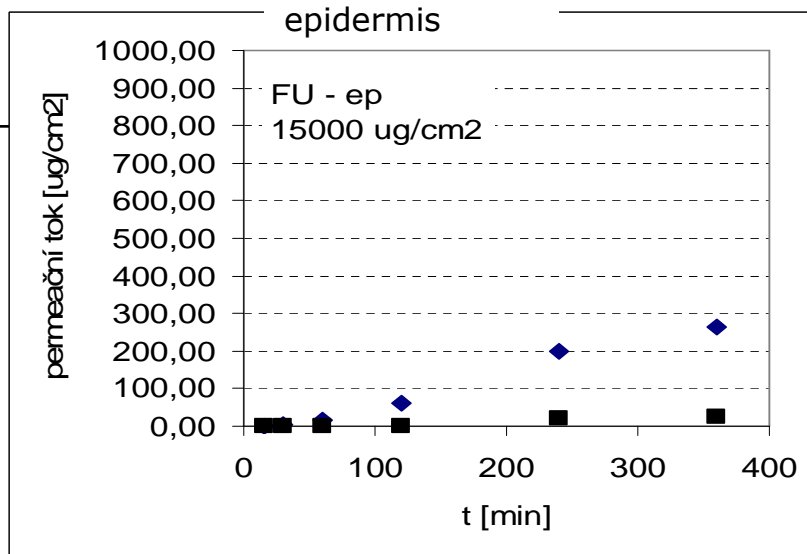
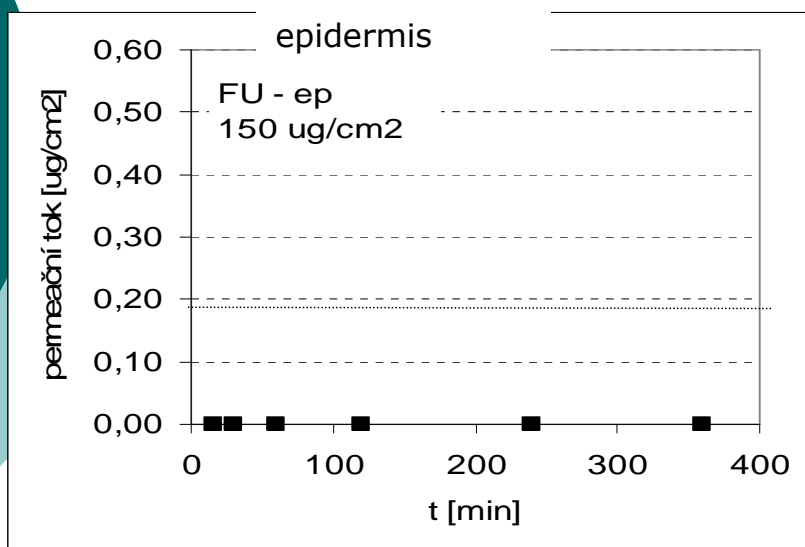


Prostupnost CL po 6hodinách
(vztah dávky a permeovaného množství CL)

Ústní epitel



Kinetika prostupu - Fluorouracil



Prostupnost CL přes kůži

- Přes pokožku prostoupilo po 6 hod 1-2 % aplikované dávky
- Přes ústní epitel téměř 100 %!!
- Nejvíce invazivní cyklofosfamid, fluorouracil
- U cisplatiny, doxorubicinu a paklitaxelu jsou hodnoty řádově 10x - 100x nižší

- Po aplikaci více koncentrovaných roztoků projevy vážných poškození tkáně v důsledku cytotoxického působení

CL	Dávka [mg/cm ²]	Čas průniku [min]		Permeovaná množství* [ug/cm ²]	
		Orální epitel	Epidermis	Orální epitel	Epidermis
Cyklofosfamid	6	<15	120	5700	99
Fluorouracil	15	<15	<15	15000	140
Cisplatina	0.3	<15	60	19	0.04
Doxorubicin	0.6	<15	120	160	0.13
Paklitaxel	2	60	<15	1.4	1.3

Shrnutí I.



- Všechna zkoušená CL pronikají přes epitel i pokožku!!
- Průnik CL přes tkáň je velmi rychlý (do 15min)
- Potvrzení ochranné funkce pokožky



Shrnutí II.

- Zamezit dermálnímu kontaktu s CL – bezprahové působení, i 1molekula může vyvolat nádorové bujení!!!
- Dodržování striktní hygieny na všech pracovištích
- Vyeliminovat mimovolné kontakty rukou s očima, ústy, nosem
- Hygiena rukou (před jídlem, pitím), smrkání, slzení, zívání, kašláni, čočky,...
- Adekvátní OOPP (zamezit nechráněnému kontaktu s kontaminovaným materiálem, LČ, exkrementy,...)
- Organizace práce (PC, telefon)

Děkuji za pozornost



**Dotazy a náměty zasílejte na:
dolezalova@mou.cz**