

VITATOX 2021, 4. – 6. 10. 2021

# Metodika testování transdermální absorpce chemických látek in vitro

MUDr. Lenka Kotingová, Ph.D.  
Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta Hradec Králové  
Ústav preventivního lékařství

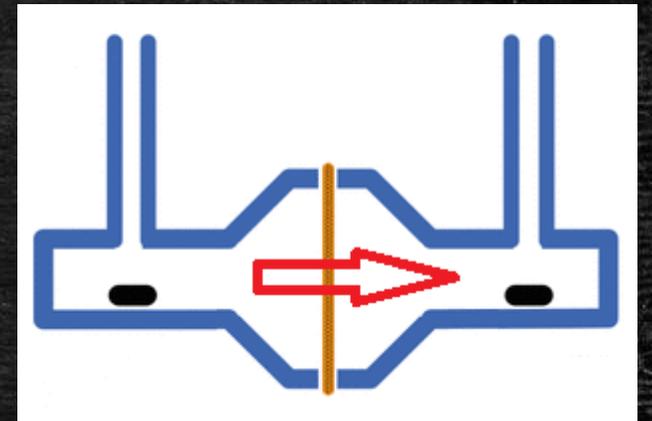
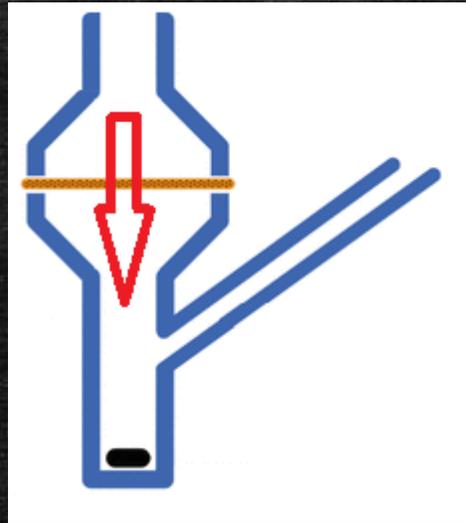
kotingoval@lfhk.cuni.cz



Projekt podpořen grantem TAČR  
TH03010279

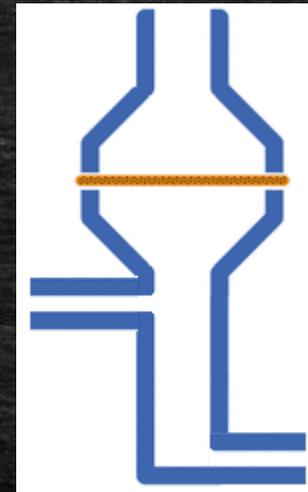
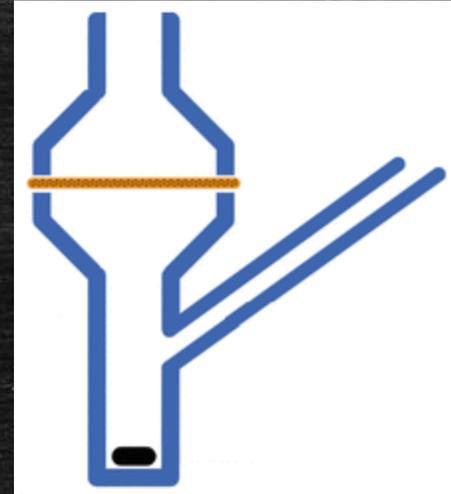
# Difúzní komůrky

- Vertikální nebo horizontální



# Difúzní komůrky

- Vertikální nebo horizontální
- Statické nebo průtokové



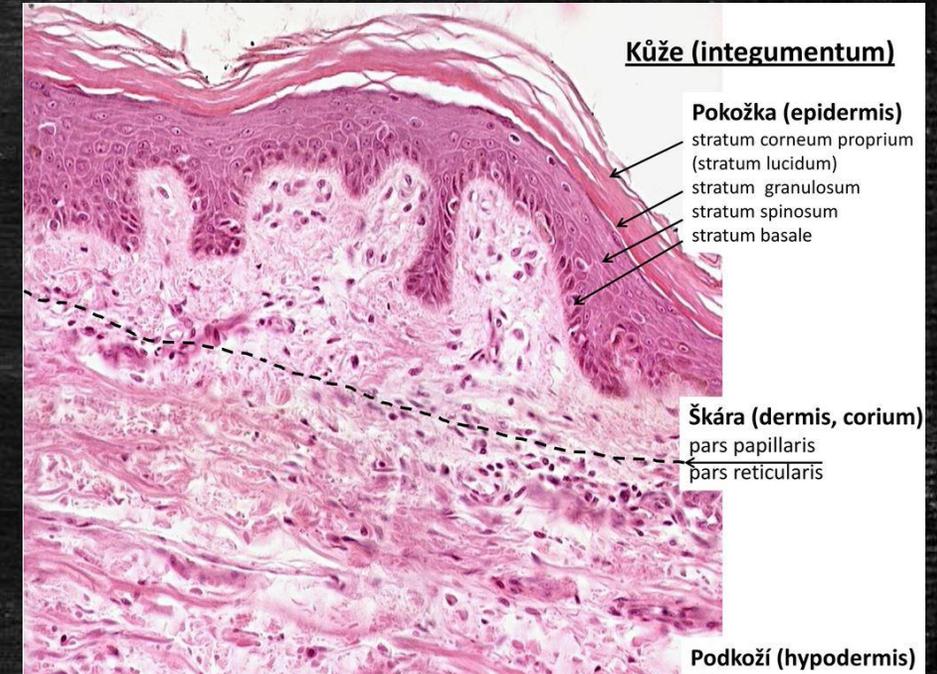
# Statická vertikální difúzní komůrka – Franz diffusion cell

---



# Penetrační membrána

- Lidská kůže
- Zvířecí kůže
- Uměle vytvořené membrány a modely



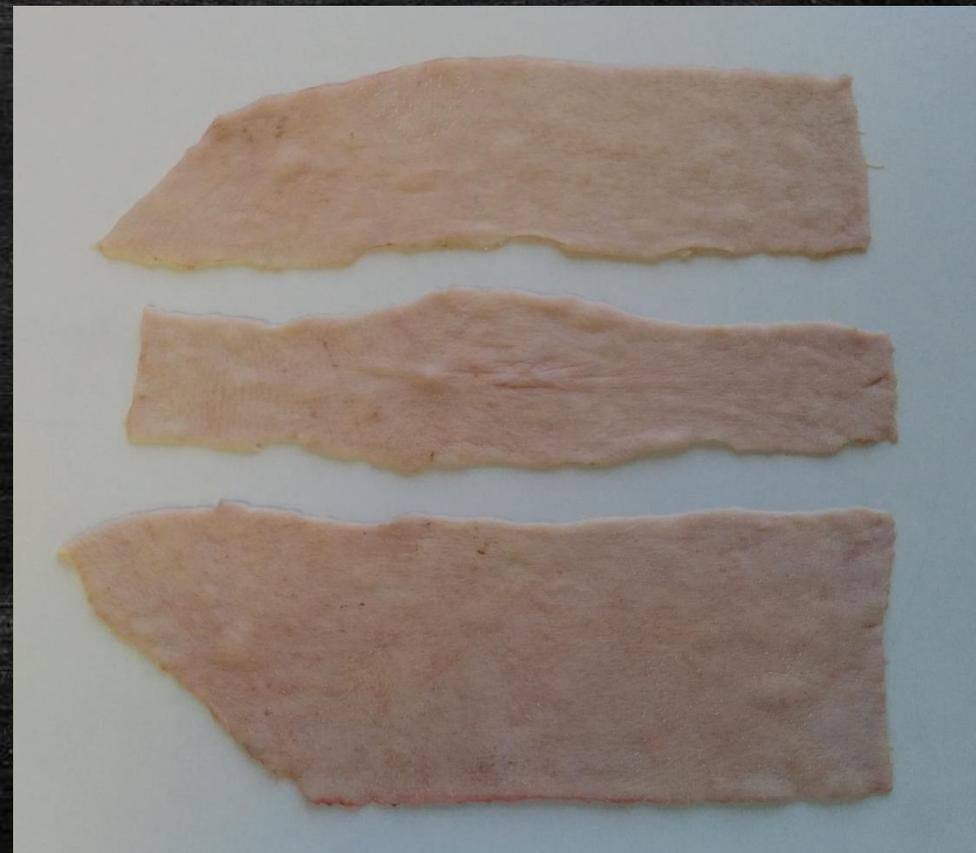
Zdroj: Internet

(<https://slideplayer.cz/slide/13062765/>)

# Lidská kůže



# Kůže zvířecí – prasečí



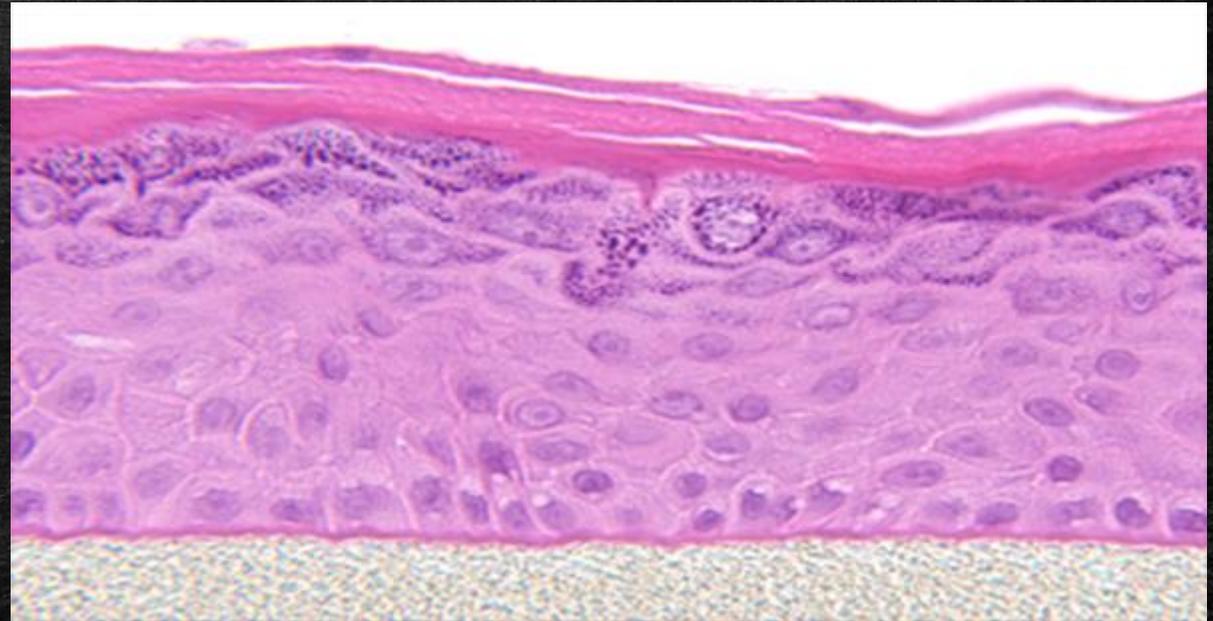
# Kůže zvířecí – prasečí





# Umělé membrány

- Zcela umělé (Strat-M)
- Modely kůže



Model EpiDerm (MatTek)

# Kontrola kvality kůže

---

- Před testem
  - Před zamontováním do komůrky vizuální kontrola (okem, lupou, pohled proti světlu, osychání)
  - Po zamontování do komůrky přístrojová kontrola (TEWL, TER)
- V průběhu testu
- Po testu

# Kontrola membrány před testem

TEWL

Transepidermal water loss

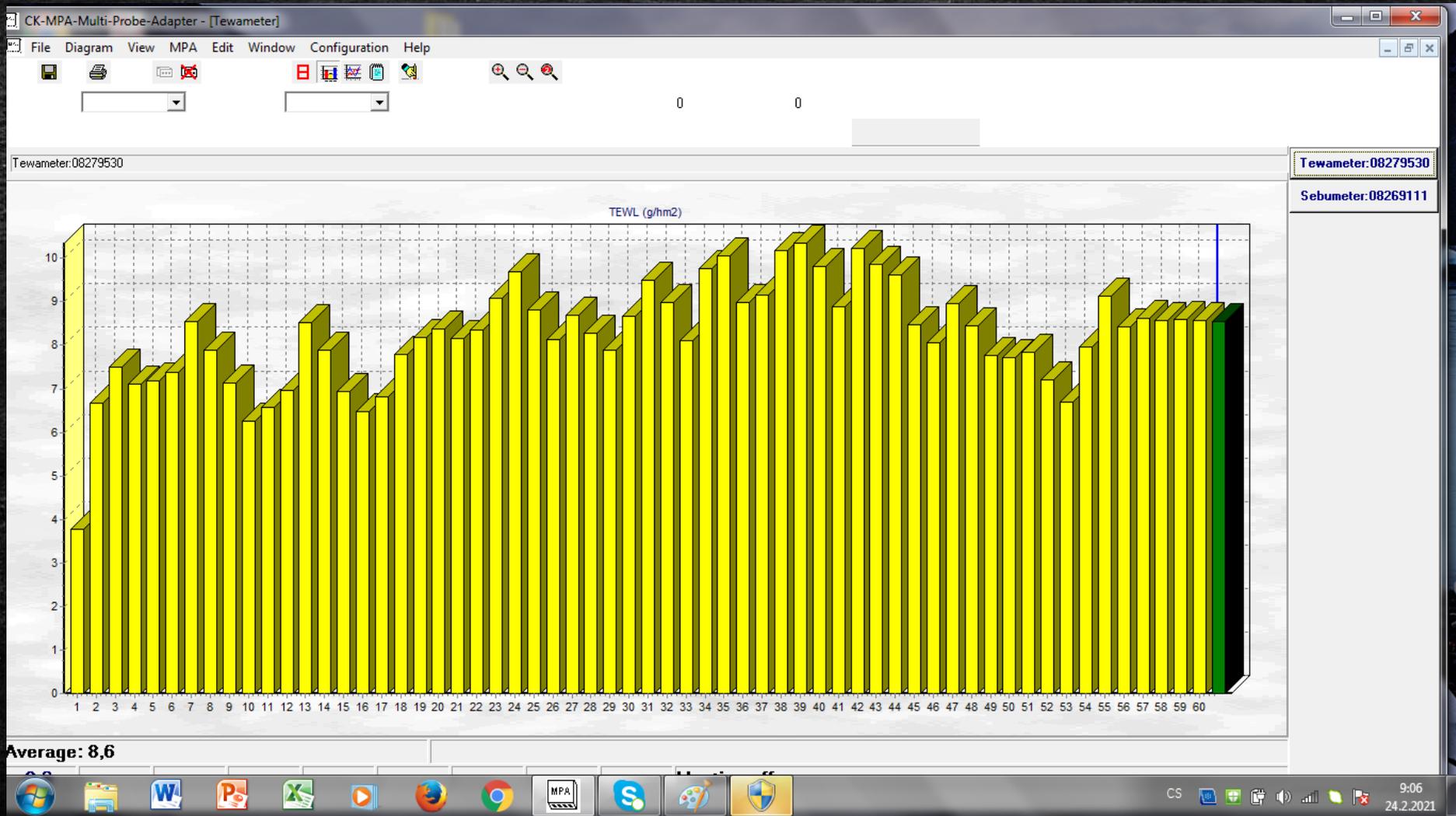


TER

Transcutaneous electrical resistance



# TEWL



# Kontrola kvality kůže

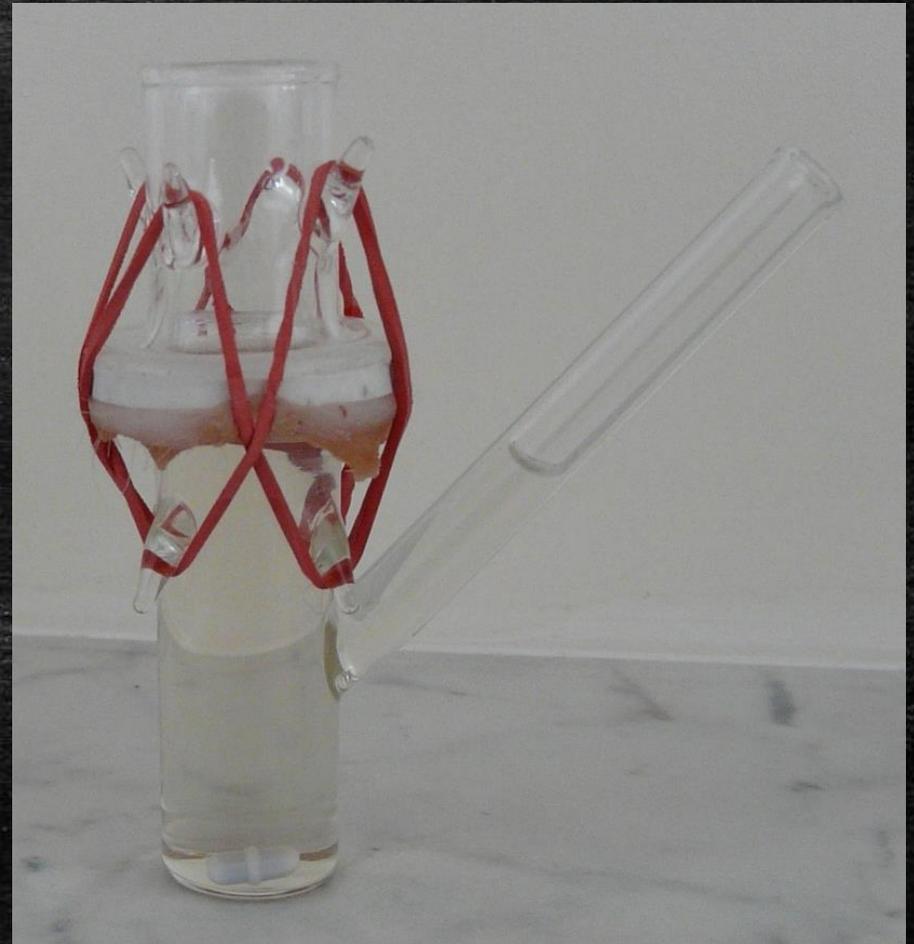
---

- Před testem
  - Před zamontováním do komůrky vizuální kontrola (okem, lupou, pohled proti světlu, osychání)
  - Po zamontování do komůrky přístrojová kontrola (TEWL, TER)
  - Test pomocí jiné chemické látky (tritiovaná voda, metylenová modř)
- V průběhu testu
  - Přidání jiné chemické látky ( $^3\text{H}$  sukrosa, látky se  $^{14}\text{C}$ )
- Po testu
  - Test pomocí jiné chemické látky
  - Vyřazení příliš vysokých výsledků

# Příprava komůrky

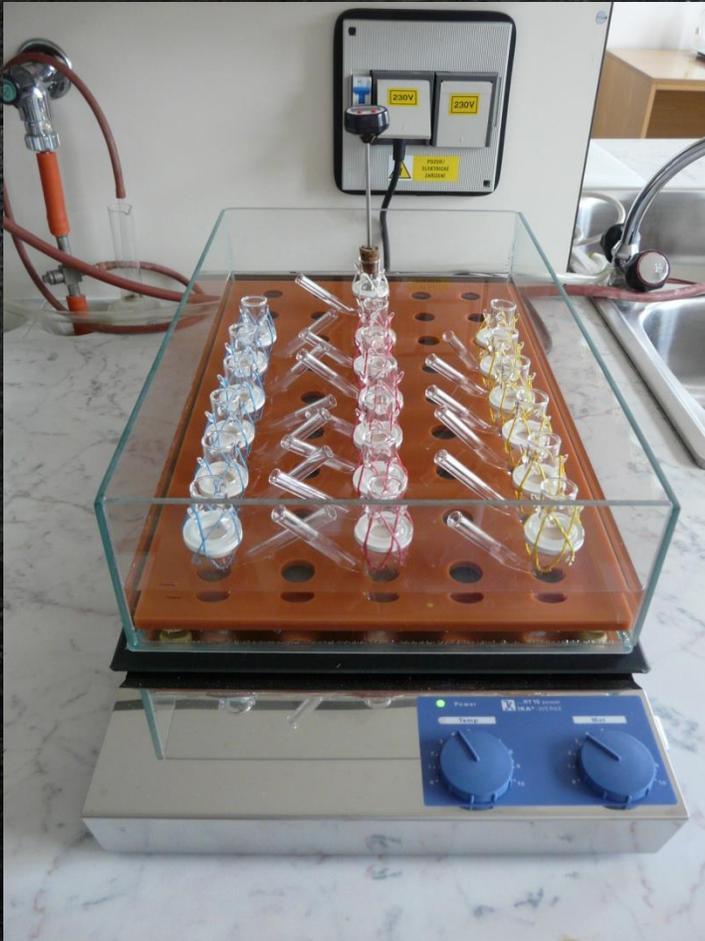
---

- Receptorová tekutina
- Míchadlo nebo průtok RT



# Temperace a míchání

## Aplikace testované látky



# Odběr receptorové tekutiny

- Kontinuální u průtokové komůrky
- Manuálně v předem definovaných intervalech





# Analýza receptorové tekutiny

---

- Radiačně značené látky – scintilátor
- Neznačené látky – různé metody (HPLC)

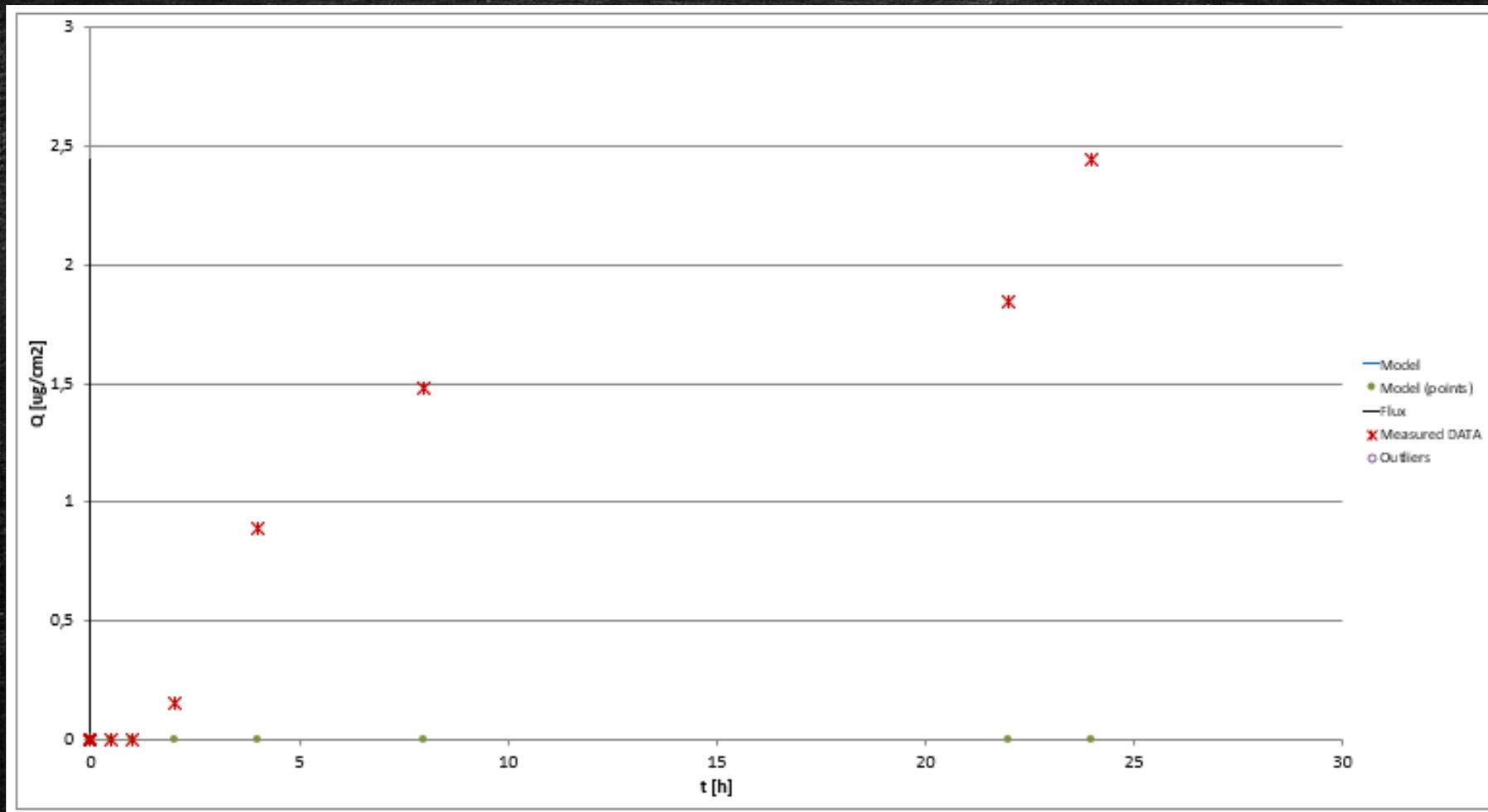


# Výpočet fluxu a lag time

**Absorpce kofeinu ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) v RT v čase (h):**

FDC	0,5	1	2	4	8	12	22	24
1	0,155	0,747	3,092	5,045	5,888	6,175	3,984	4,938
2	0,410	0,963	2,286	5,197	3,735	4,073	7,434	5,441
3	0,155	1,287	5,385	4,931	8,093	8,344	7,360	11,121
4	0,000	0,155	0,436	2,152	4,219	4,212	4,999	3,203
5	0,000	0,155	0,361	1,123	1,465	1,379	1,871	1,568
6	0,000	0,155	0,442	1,232	2,580	2,917	2,786	2,960
7	0,000	0,155	0,902	1,707	2,236	3,501	4,905	6,690
8	0,000	0,000	0,155	0,890	1,477	3,251	1,846	2,440

# Výpočet fluxu a lag time



## Iteration tool for estimation of Flux and Lag time.

DATA		MODEL
t	Q	Q
0	0	0
0,5	0	0,0103860317
1	0	0,069031207
2	0,15060773	0,250110183
4	0,66852623	0,750319171
6	1,4366363	1,54062081
8	2,3917681	2,13010864
10	2,24011288	2,141173771
12	0	0
14	0	0
16	0	0
18	0	0
20	0	0
22	0	0
24	0	0
26	0	0
28	0	0
30	0	0
32	0	0
34	0	0
36	0	0
38	0	0
40	0	0
42	0	0
44	0	0
46	0	0
48	0	0
50	0	0
52	0	0
54	0	0
56	0	0
58	0	0
60	0	0
62	0	0
64	0	0
66	0	0
68	0	0
70	0	0
72	0	0
74	0	0
76	0	0
78	0	0
80	0	0
82	0	0
84	0	0
86	0	0
88	0	0
90	0	0
92	0	0
94	0	0
96	0	0
98	0	0
100	0	0

### SETUP

**X axis**

Quantity: t (time)

Unit: xUnit

**Y axis**

Quantity: Q

Unit: ug/cm2

Maximum iteration time [s]:

Show or hide the Flux line in the chart

Press Ctrl+q to  /  the selected data point as an outlier in the DATA list.

### MODEL OUTPUT

$y = A(1 - e^{-Bx})^n$

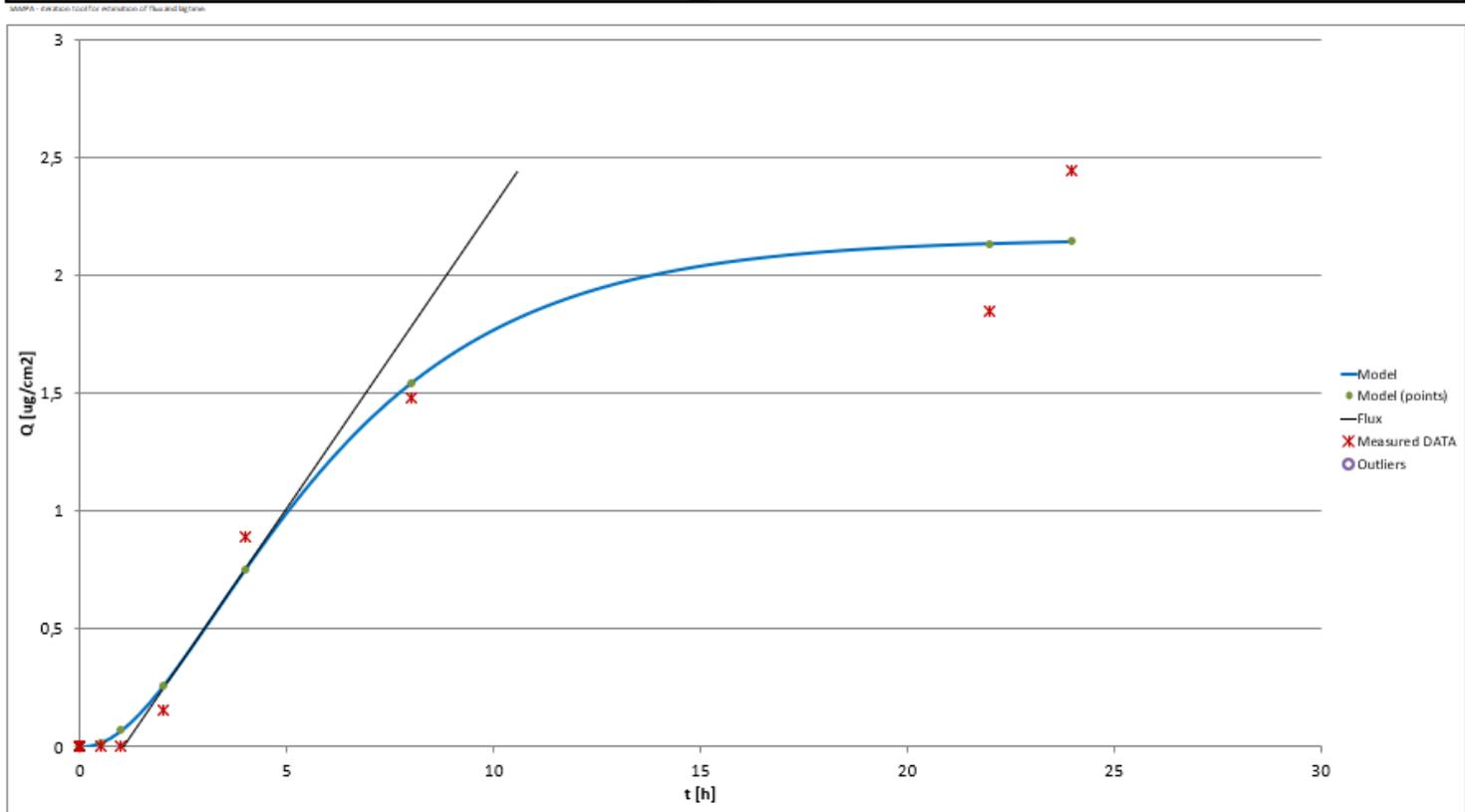
The identified parameters of the model.

A:	2,153749455	ug/cm2
B:	0,248426246	h <sup>-1</sup>
n:	2,27201607	

Preprocessing - Number of steps of data averaging:   
 Number of iteration steps:

The sum of least squares:

**Flux**   **Lag Time**  h



# SAMPA 1.3

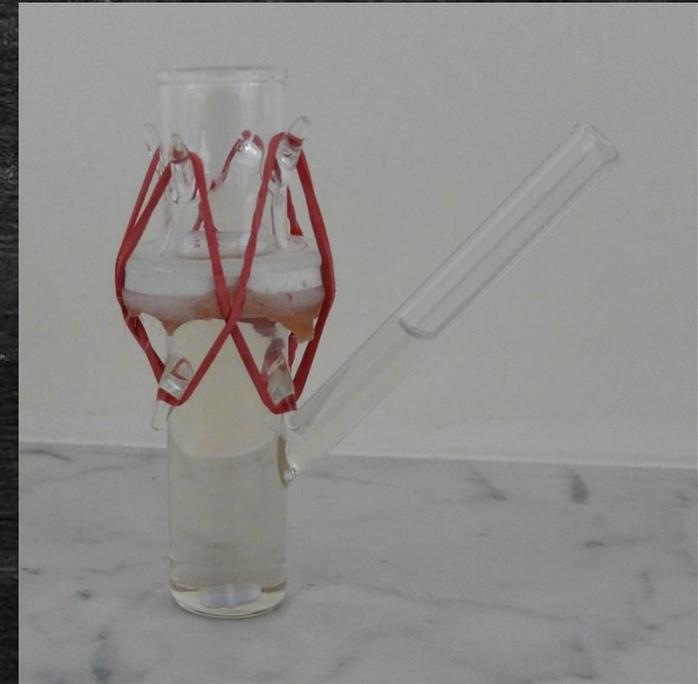
Bezrouk A.: SAMPA: A free software tool for skin and membrane permeation data analysis. Toxicol in vitro 2017 (44) 361-371.

# Další možnosti hodnocení

---

- Analýza vrstev kůže
  - Stěr z povrchu kůže
  - Stratum corneum – stripování
  - Odloučení epidermis
  - Dermis





---

Děkuji za pozornost.

Dotazy

---

