

Pilot-studie naar de farmacokinetiek van p-fenyleendiamine en zijn metabolieten na applicatie op de huid door middel van Raman spectroscopie.

Gepubliceerd: 17-08-2011 Laatste bijgewerkt: 28-04-2024

Door middel van dit in vivo onderzoek trachten wij op een non-invasieve manier inzicht te verkrijgen in de farmacokinetiek van PPD geapliceerd op de humane huid. Door inzichten te verkrijgen in penetratiesnelheid, penetratiediepte, verdeling over...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Overige aandoening
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, zonder invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON36061

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Pilot-studie naar farmacokinetiek van PPD d.m.v. Raman spectroscopie

Aandoening

- Overige aandoening
- Epidermale en dermale aandoeningen

Synoniemen aandoening

allergisch contact eczeem, contactallergie

Aandoening

Farmacokinetiek van de stof p-fenyleendiamine na applicatie op de huid.

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Universitair Medisch Centrum Groningen

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: farmacokinetiek, huidpenetratie, p-fenyleendiamine (PPD), Raman spectroscopie

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Experiment 1

1a: Bepalen van PPD penetratie in het stratum corneum als functie van applicatieduur en klaringstijd.

1b: Bepalen van PPD penetratie in de epidermis en dermis als functie van applicatieduur en klaringstijd.

Experiment 2:

Bepaling van de vorming van PPD-metabolisatieproducten MAPPD, DAPPD en BB na topicale applicatie van PPD.

Secundaire uitkomstmaten

n.v.t.

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Met een toenemend aantal vrouwen, maar ook mannen en steeds jongere kinderen die hun haar verven, stijgt de prevalentie van sensibilisatie en daarmee contactallergie voor p-fenyleendiamine (PPD).[1,2] Alhoewel de exacte

prevalentie niet bekend is, wordt in grote onderzoekscohorten de sensibilisatie voor PPD in de algemene bevolking geschat op 0,1 tot 2,3%. [3] Een minder vaak voorkomende, maar andere manier om voor PPD gesensibiliseerd te raken is het laten zetten van een tijdelijke hennatatoeage, contact met zwarte rubbermaterialen, of zelfs het gebruik van mascara waaraan PPD is toegevoegd. [2,4,5] Sensibilisatie komt ook voor in het kader van kruisreactiviteit met azo-kleurstoffen in kleding. [5-7] Een contact allergische reactie op PPD kan zeer heftige verlopen, zich uitend in roodheid, zwelling, blaren en korsten. In ernstige gevallen kan dit zelfs leiden tot een ziekenhuisopname.

Contactallergie is een overgevoeligheidsreactie van het vertraagde type, op kleinmoleculaire stoffen (haptenen). Ondanks de vele jaren bestaande herkenning van allergie voor PPD, is het immunologische mechanisme achter de sensibilisatie nog altijd niet compleet opgehelderd. [8,9] Er is b.v. geen humane in vivo farmacokinetische data (distributie, metabolisme, excretie) over PPD, na applicatie op de huid.

Vanuit in vitro experimenten is bekend dat PPD in een waterige omgeving en in contact met de huid gevoelig is voor sequentiële oxidatie en zelfconjugatie, resulterend in vorming van onstabiele, intermediaire producten zoals benzoquinonediimine, benzoquinone en het stabiele product Bandrowski's Base. [17-19] Een aantal van deze stoffen kan als mogelijk hapteen worden beschouwd [18] Er bestaat echter veel discussie over welk hapteen verantwoordelijk is in de sensibilisatie voor PPD. Daarnaast hebben verschillende onderzoeken aangetoond dat de humane huid (N-acetyltransferase 1) enzymen bevat die PPD acetyleren tot mono-acetyl PPD (MAPPD) en di-acetyl PPD (DAPPD) en dat deze acetylatie wordt gezien als detoxificatie-proces omdat MAPPD en DAPPD een verminderd tot afwezig potentieel hebben tot sensibilisatie. [20]

Er bestaan verschillende methodes om inzicht te verkrijgen in dermale absorptie en kinetiek van een chemische stof. De meest relevante methode is een humane in vivo absorptiemeting, zoals in experimentele blootstellingstudies bij vrijwilligers. Logischerwijs zijn dit veelal invasieve experimenten, welke strak gereguleerd en beperkt mogelijk zijn. Naast de daarom ontwikkelde in vitro methodes, bestaan er een aantal minder invasieve in vivo methodes, zoals plasma- en excretiemetingen, microdialyse en *tapestripping*. [10] Elk van deze methodes heeft echter zijn specifieke beperkingen (b.v.. destructiviteit, gebrek aan accuratesse en/of ruimtelijke resolutie). Een geheel andere in vivo methode, de spectroscopie, biedt daarentegen een aantal voordelen; het is snel, niet-invasief en kan *real-time* gegevens verschaffen over penetratie van de chemische stof door de huid. In tegenstelling tot de Infrarood Spectroscopie (IS) welke alleen de buitenste laag van het stratum corneum bereikt, is de Confocale Raman Spectroscopie (CRS) geschikt om informatie te verkrijgen van de moleculaire huidstructuur tot de diepte van enkele honderden micrometers onder het huidoppervlak. [11]

Door middel van dit in vivo, non-invasieve onderzoek naar de farmacokinetiek van PPD na applicatie op de humane huid, trachten wij inzicht te verkrijgen in

en bij te dragen aan onderzoek naar etiologie van contactsensibilisatie voor PPD. Een beter inzicht zal in de toekomst mogelijk kunnen leiden tot het definiëren van personen met een verhoogd risico op en de vermindering, danwel vermijding van sensibilisatie voor PPD.

Confocale Raman Spectroscopie (CRM) is een elegante, non-invasieve methode welke gedetailleerde informatie over de moleculaire structuur en samenstelling van de huid te verschaft.[21] Ook maakt CRM het mogelijk moleculaire veranderingen in de huid na applicatie van topicale medicamenten te volgen.[21] In CRM wordt het monster verlicht door monochromatisch laserlicht. Dit licht reageert met de moleculen in het monster, welke dan in staat zijn intern te vibreren of te roteren om verschillende assen. Interactie tussen moleculen en het licht waarmee het wordt beschienen ('incident' licht), leidt tot verstrooiing van dit licht. Het grootste deel van het verstrooide licht wordt gevonden een golflengte gelijk aan dat van het 'incident' licht (elastisch- of Rayleigh-verstrooiing genoemd). Een klein van het verstrooide licht wordt echter gevonden op golflengtes langer dan dat van het 'incident' licht en wordt inelastische- of Raman-verstrooiing genoemd. Dit verstrooide licht bevat frequentieverschuivingen ten opzichte van het 'incident' licht, welke geassocieerd zijn met moleculaire vibraties binnen het molecuul. Elke frequentieverschuiving, welke kan worden opgenomen en vertaald door een optisch dispersief systeem naar een zogenaamd Raman- spectrum, is afhankelijk van atoommassa, chemische verbindingen en moleculaire structuur en interacties en is daarom zeer molecuulspecifiek. Daarom representeert een Raman-spectrum een vingerafdruk of 'fingerprint' waardoor een molecuul kan worden geïdentificeerd. [22] Door het vergelijken van spectra van 'blanco' huid (zonder PPD) met spectra van huid na topicale applicatie, kan PPD in de huid worden gedetecteerd. De diepte waarop PPD zich in de huid bevindt, kan worden bepaald m.b.v zogenaamde waterprofielen. Deze profielen correleren een van nature in humane huid aanwezige watergradiënt, aan de diepte van de huid.[22]

Doel van het onderzoek

Door middel van dit in vivo onderzoek trachten wij op een non-invasieve manier inzicht te verkrijgen in de farmacokinetiek van PPD geapliceerd op de humane huid. Door inzichten te verkrijgen in penetratiesnelheid, penetratiediepte, verdeling over de verschillende huidcomponenten (stratum corneum, epidermis, dermis) en metabolisering (omzetten van PPD in de trimeer Bandrowski's Base en/of de detoxificatieproducten mono-acetyl PPD en di-acetyl PPD) wordt getracht de immunologische weg van PPD te doorgronden.

Als we door middel van dit pilot-onderzoek inzicht verkrijgen in de farmacokinetiek van PPD in de humane huid bij vrijwilligers, kunnen we in de toekomst mogelijke verschillen detecteren tussen farmacokinetiek in gezonde vrijwilligers en de farmacokinetiek bij PPD gesensibiliseerde patiënten. Uiteindelijk zou dit kunnen bijdragen tot het definiëren van personen met een verhoogd risico en de vermindering, danwel vermijding van sensibilisatie voor

PPD.

Voorts bestaan er verschillende concepten voor het mechanisme van T-cel activatie door PPD. Het haptene-eiwit concept stelt dat PPD een pro-haptene vertegenwoordigt welke na penetratie door de huid wordt gemodificeerd, om vervolgens door antigeenpresenterende cellen te worden aangeboden aan naïeve T-cellen.[17] Een ander concept stelt dat PPD rechtstreeks, middels een reversibele, niet covalente binding aan een MHC-klasse-II-molecuul (*major histocompatibility complex*), zonder verdere modificatie, in staat is de proliferatie van T-cellen te stimuleren.[18] Dit PPD-eiwit complex lijkt een additioneel antigeensignaal voor T-cellen van allergische patiënten te vertegenwoordigen. Geavanceerde technieken in de Raman microscopie kunnen het mogelijk maken om binding van moleculen aan reeds in de huid aanwezige eiwitten zichtbaar te maken. Dit is een mogelijk vervolgonderzoek voor de toekomst.

Onderzoeksopzet

Experiment 1: penetratie en klaring van PPD

a: Stratum corneum (SC) penetratie als functie van applicatieduur en klaringstijd

b: Diepere penetratie (epidermis (ED)/dermis) als functie van applicatieduur en klaringstijd

Product: 1% PPD in vaseline

Applicatie: bedekt middels een 'Finn-chamber' (pleister waarin op een vierkantje de te testen stof is aangebracht)

Plaats: volaire zijde onderarm (3 plaatsen per onderarm, gebruik linker en rechter onderarm)

Vrijwilligers: 6 (om voldoende betrouwbare metingen te verkrijgen)

Benodigd: meting van SC dikte (zgn. waterprofiel; nodig ter relatie van de PPD penetratie om zo de diepte te kunnen bepalen)

meting PPD profiel ('fingerprint profile') over de gehele SC dikte

Experiment 1a:

Meetduren:

Voor elke plek is zowel een waterprofiel (SC dikte) benodigd, als een PPD profiel. Vanwege biologische variatie, worden er 10 metingen herhaald per meetplek.

Waterprofielen worden gemeten -4 tot 40 micrometer in 4 micrometer stapjes in 1s/frame (+/- 24s/profiel)

Fingerprintprofielen kunnen worden gemeten in 0 tot 24 micrometer in 2 micrometer stapjes in 6s/frame (+/- 91s/profiel)

Totale tijdsduur voor 10 herhalingen (inclusief overhead tijd): 26 min.

Tijdsschema:

Gebaseerd op een totale tijdsduur van iets onder de 30 minuten per meetplek, is

er een scenario opgesteld om zo goed en efficiënt mogelijk alle tijdstippen te kunnen meten. (Gebaseerd op een exploratief experiment, is het niet te verwachten dat er nog veel PPD te detecteren is na 6 uren of later. Indien noodzakelijk kan worden geverifieerd of PPD nog steeds detecteerbaar is 6 uren na een 30min. applicatie. Als dit zo is, kunnen de experimenten worden uitgebreid.)

Metingen

Applicatie tijd T = 0 T = 1 hr T = 2 hrs T = 4 hrs T = 6 hrs T = 12 hrs T = 24 hrs
5 min. X X X X
30 min. X X X X
2 hrs. X X X X X X X
48 hrs. X

Met bovenstaand schema, kan een volledige serie worden gemeten in 3 dagen, voor 2 vrijwilligers. Dit zal 3 keer moeten worden herhaald om een meer betrouwbaar aantal proefpersonen te testen (totaal 6).

Experiment 1b:

Gebaseerd op een exploratief experiment wordt er een kleine hoeveelheid PPD verwacht in de levende epidermis na 2 uren - of langere- applicatie. Om de diepte van penetratie, dieper dan de SC, te bepalen, wordt de signaalcollectietijd aanzienlijk langer dan in experiment 1a.

Dus, deze penetratie zal eerst d.m.v. verkennende experimenten moeten worden bepaald; wat gedaan kan worden in een halve meetdag.

Verkendend experiment 1b:

Tijdsduur: 0,5 dag.

Vrijwilligers: 2

Na 48 uur applicatie (dan wordt de diepste penetratie verkregen; dit is tevens de applicatieduur die gebruikt wordt bij een diagnostische plakproef)

- bepaling waterprofielen (ter bepaling SC dikte)
- meting van diepe fingerprint profielen van PPD (0-40 micrometer en dieper, in 4 micrometer stapjes) met lange meettijd van 20s per punt, resulterend in ~3,5 min. per profiel.
- De metingen worden maar een aantal keren herhaald, omdat afhankelijk van deze uitkomsten een gedetailleerd experiment kan worden opgezet.

Experiment 2: Bepalen van de vorming van MAPPD, DAPPD, BB.

- Eerst moeten Raman spectra (fingerprint profielen) van MAPPD, DAPPD en BB worden bepaald.
- Deze experimenten vereisen een hoge kwaliteitsspectra (= lange meetduur) om te metabolisatie-producten te kunnen bepalen.
- Verkennende experimenten zijn nodig om te bepalen of MAPPD, DAPPD en/of BB überhaupt te detecteren zijn en hoelang de meetduur moet zijn om de hoeveelheden voldoende te kunnen kwantificeren.

Inschatting van belasting en risico

De belasting voor de proefpersonen in dit pilot-onderzoek zal bestaan uit:

- Voorafgaand aan deelname: anamnestic uitsluiten van allergie voor PPD, actieve huidziekte onderarmen en mogelijk zwangerschap, d.m.v. vragenlijst meegestuurd met informatiebrief. Tevens anamnese tijdens een eerste afspraak (30 min.) en inspectie van de onderarmen naar evt. actieve huidziekte en uitleg zelf bereiden en aanbrengen PPD pleister.
- Drie achtereenvolgende meetdagen, volgens een zo optimaal mogelijk schema. Dag 1 gedurende 6,5uur, dag 2 gedurende 5,5uur en dag 3 gedurende 4,5 uur (inclusief pauzes).
- De metingen vinden plaats in het Erasmus Medisch Centrum te Rotterdam.
- De daadwerkelijke belasting bestaat uit het appliceren van een aantal 'patchtests' (pleister met daarin 1%PPD in vaseline) gedurende respectievelijk 5min, 30 min, 2uur en 48 uur. Na verwijdering van de patchtest wordt de huid schoongemaakt dmv een tissue, waarna de CRM meting kan beginnen.
- Voor 1 meting (applicatie 2uur, meting T=12), zal de patchtest thuis geplakt en verwijderd moeten worden door de proefpersoon zelf. De proefpersonen zullen duidelijk worden geïnstrueerd.
- Ten tijde van het dragen van de 48uurs patchtest, wordt de proefpersoon verzocht de onderarm droog te houden.
- Tijdens de meting legt de proefpersoon de arm op een 'glasplaatje' en rust daarbij met de elleboog en hand op speciaal uitgeruste steunen. Tijdens de 10 herhaalde metingen van elk ong. 90 seconden, wordt de proefpersoon verzocht zijn/haar arm zo stil mogelijk te houden. Tussen de metingen kan de proefpersoon ontspannen en zij/haar arm bewegen. De metingen zijn pijn- en risicoloos.
- Voor verkennend experiment 1b zullen op de onderzoeker en de spectroscopist metingen worden uitgevoerd na 48uurs applicatie. Tijdsduur: 0,5 dag.
- Voor verkennend experiment 2 zal bij het verkrijgen van spectra van de PPD-metabolieten getracht worden deze metabolieten in de huid terug te vinden na applicatie van de PPD patchtest. Proefpersoon: onderzoeker. Tijdsduur: 0,5 dag.

De risico's:

- Enige irritatie en jeuk ter plekke van de patchtest. Ter minimalisering van deze klachten worden hypoallergene pleisters gebruikt. Eventuele irritatie/jeuk verdwijnt spontaan na het verwijderen van de patch en is te vergelijken met jeuk bij dragen van een normale pleister.
- Uiterst klein risico ($\leq 0,3\%$, in 10-jaars review) op actieve sensibilisatie voor PPD. Anamnestic gaan wij ervan uit dat de participerende proefpersonen geen allergie voor PPD hebben. Dit kan betekenen dat ze nooit eerder zijn blootgesteld aan PPD en daardoor nooit gesensibiliseerd hebben kunnen worden óf dat ze wel zijn blootgesteld (zeer waarschijnlijk, b.v. door kleurstoffen in kleding), maar tolerant zijn voor PPD en dus geen allergie ontwikkelen.

De Raman Spectroscopie is een unieke methode om humaan, in vivo de farmokinetiek van PPD te bestuderen, zonder invasieve metingen.[21] Kennis omtrent de penetratie, distributie en metabolisatie van PPD is noodzakelijk om het tot nu toe onbekende mechanisme van sensibilisatie te ontrafelen. Wanneer meer bekend is over de manier waarop de sensibilisatie plaatsvindt, kan mogelijk op het gebied van preventie, alsook op het gebied van behandeling worden ingesprongen. Dit zou in de toekomst kunnen bijdragen aan een verlaging van de prevalentie van allergisch contacteczeem voor PPD in de algemene bevolking kunnen. In het licht van deze belangen, achten wij de kleine, te verwaarlozen risico's aanvaardbaar. Bovendien wordt de applicatie van een 1% PPD plakproef, benodigd voor dit onderzoek, ook in het kader van alledaagse diagnostiek naar sensibilisatie toegepast op een groot aantal patiënten van de dermatologie.[12] PPD is opgenomen in de Europese Standaardreeks (een reeks van verschillende, veel voorkomende contactallergenen) welke is samengesteld na uitgebreide consideratie en herhaaldelijke evaluatie, door de European Society of Contact Dermatitis.[13] Een allergeen wordt in zodanige concentratie getest dat een zo hoog mogelijk aantal gensensibiliseerde personen wordt gedetecteerd, maar waarbij de kans op actieve sensibilisatie zo laag mogelijk is.[14] Wetenschappelijk studies tonen aan dat het patch testen met PPD op individuen die nog niet gesensibiliseerd zijn, of met maar een eenmalige postieve reactie, geen actieve sensibilisatie veroorzaken en uitgevoerd kunnen worden met minimaal risico.[14,15] Bovendien, is de dosis waaraan de proefpersonen worden blootgesteld (in zowel reguliere patchtest als deze pilot-studie), vele malen lager dan b.v. in het gebruik van haarverf.[16]

Dit pilot-onderzoek heeft als doel een beeld te krijgen van de farmacokinetiek van PPD in de huid. M.b.v. deze 6 proefpersonen kan een duidelijk beeld verkregen worden. Daaruit kan voor de toekomst een protocol (optimale applicatieduur en follow-up metingen) worden afgeleid voor b.v. het testen van meer gezonde vrijwilligers en/of patiënten, welke dan veel minder tijdsintensief zal zijn.

Contactpersonen

Publiek

Universitair Medisch Centrum Groningen

Hanzeplein 1
9713 GZ
NL

Wetenschappelijk

Universitair Medisch Centrum Groningen

Hanzeplein 1
9713 GZ
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

volwassene
wilsbekwaam

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Anamnese van allergisch contact eczeem voor PPD
actief eczeem of huidziekte op de volaire zijde van de onderarm.
Wilsonbekwaamheid
Zwangerschap

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, zonder invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blinding:	Open / niet geblindeerd
Controle:	Actieve controle groep
Doel:	Behandeling / therapie

Deelname

Nederland	
Status:	Werving gestopt
(Verwachte) startdatum:	24-11-2011
Aantal proefpersonen:	6
Type:	Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Datum:	17-08-2011
Soort:	Eerste indiening
Toetsingscommissie:	METC Universitair Medisch Centrum Groningen (Groningen)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register

CCMO

ID

NL36149.042.11