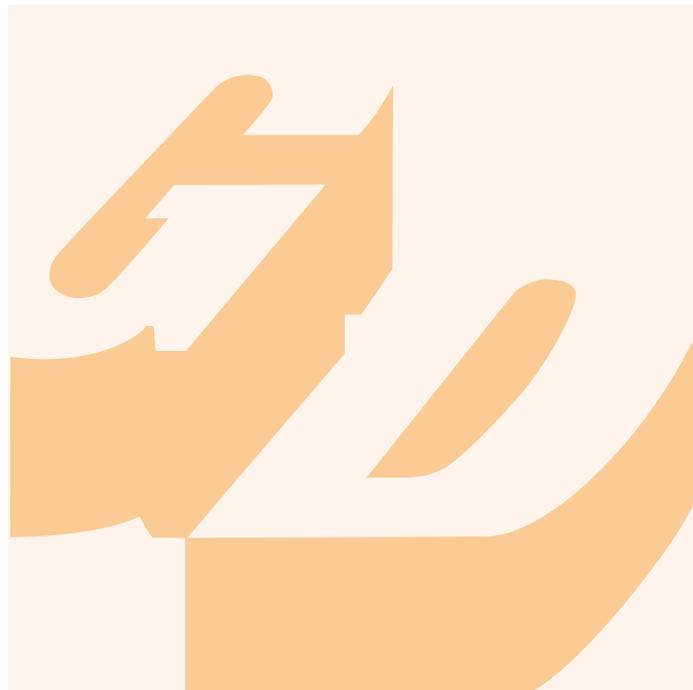


Vortragsszusammenfassungen

Symposium der GD-Fachgruppe
Dermatopharmakologie und -toxikologie



In-vitro-Krankheitsmodelle der Haut

Hauttumormodelle

*Priv.-Doz. Dr. med. Daniela Höller Obrigkeit,
Hautklinik der Medizinischen Fakultät der RWTH, Aachen*

In der Dermatopharmakologie und -toxikologie stehen verschiedene In-vitro-Modelle zur Testung zur Verfügung. Klassische Monozellkulturen erlauben die Untersuchung von Substanzen an einer Zellart. Hierbei können spezifische Stoffwechselforgänge im Detail untersucht werden. Ein Nachteil dieser Kulturen ist, dass Zell-Zell-Interaktionen zwischen den einzelnen Schichten der Haut nur schwer untersucht werden können. Gerade dieses Wechselspiel der Zellen hat aber einen Einfluss auf den Metabolismus von Substanzen. Aus diesem Grunde wurden verschiedene dreidimensionale In-vitro- Hautmodelle, aber auch Krankheitsmodelle wie Plattenepithelkarzinommodelle entwickelt. Diese können entweder in größeren Mengen von mehreren Spendern zu Screening-Untersuchungen hergestellt werden oder aber bei individuellen, patientenbezogenen Fragestellungen aus patienteneigenen Zellen angefertigt werden. Im Rahmen der EU-REACH Verordnung, die einen Verzicht auf Tiermodelle zur Testung von Kosmetika vorschreibt, wird derzeit vor allem der Cytochrom P450 Metabolismus in mehreren Hautmodellen charakterisiert.



Symposium der GD-Fachgruppe Dermatopharmakologie und -toxikologie:
In-vitro-Krankheitsmodelle der Haut

In-vitro-Modelle für angeborene Keratinisierungsstörungen

*Dr. Hans-Christian Hennies,
Cologne Center for Genomics,
Universität zu Köln, Köln*

Erbliche Keratinisierungsstörungen sind eine klinisch und genetisch heterogene Gruppe von Hauterkrankungen. Sie sind gekennzeichnet durch Störungen in der terminalen Differenzierung der Keratinozyten. Klinische Kennzeichen sind unter anderem eine ausgeprägte Keratose, mehr oder weniger intensive Schuppung der Haut, lokalisiert oder am gesamten Integument, und ein in der Regel mildes Erythem. Häufig wird eine schwere Störung der epidermalen Barrierefunktion beobachtet, die zu sekundären Merkmalen wie transepidermalem Wasserverlust und Gedeihstörungen, aber auch Allergien und Ekzemen führen kann.

Um die epidermale Barrierefunktion zu charakterisieren und Therapeutika zu testen, haben wir dreidimensionale Hautmodelle entwickelt, die die Epidermis bei kongenitaler Ichthyose, einer seltenen, aber schweren generalisierten Keratinisierungsstörung, imitieren. Das Modell besteht aus einem Dermis-Äquivalent und einem mehrschichtigen, verhornten Epidermis-Anteil mit einer Basalmembran-Zone und allen Keratinozytenschichten. Die Modelle werden mit Referenzsubstanzen für rekonstruierte Haut klassifiziert und können eingesetzt werden, um die Wirkungen neuer Therapeutika zu etablieren, die spezifisch für einzelne genetisch bedingte Störungen entwickelt werden. Unser Modell ist das erste künstliche Hautmodell, das für die Untersuchung von Störungen der Barrierefunktion geeignet ist, die durch eine monogene Erkrankung verursacht werden. Es zeichnet sich durch eine große Reproduzierbarkeit der Barriereigenschaften aus und kann für die Untersuchung der Effekte von Wirkstoffen und toxischen Substanzen auf die Hautbarriere eingesetzt werden.



In-vitro-Infektionsmodelle für lokalisierte Kandidosen

*Dr. Günther Weindl,
Institut für Pharmazie,
Freie Universität Berlin, Berlin*

Die mikrobiologische Grundlagenforschung benötigt geeignete Modellsysteme, um infektionsbiologische Fragestellungen in sinnvoller Weise bearbeiten zu können. Aufgrund der Komplexität der Mechanismen werden in den meisten Studien Tierversuche eingesetzt. Neben ethischen Bedenken lassen sich Tiermodelle nicht immer auf Infektionen beim Menschen übertragen. Dies gilt insbesondere für *Candida*-Spezies. Deshalb sind realitätsnahe In-vitro-Modelle zur Untersuchung relevanter physiologischer Abläufe wünschenswert.

Eine mögliche Alternative, gerade für lokalisierte Infektionen, bieten Modelle auf der Basis von in-vitro-rekonstituiertem humanem Epithel oder rekonstituierter humaner Epidermis (RHE). In den letzten Jahren wurden diese Modellsysteme erfolgreich zur Evaluierung der Wirksamkeit topischer Antiinfektiva, zur Charakterisierung von fungalen Virulenzfaktoren und zur Beschreibung der Immunantwort bei lokalisierten *Candida albicans*-Infektionen eingesetzt. Frühe Arbeiten konzentrierten sich auf den Einfluss genetischer Manipulation in *C. albicans* auf Pathogenität und epitheliale Zytokinmuster. Erst kürzlich wurden diese Modelle um weitere infektionsrelevante Immunzellen wie Lymphozyten, polymorphkernige Leukozyten, Mastzellen oder dendritische Zellen erweitert, um deren Einfluss auf den Infektionslauf und die Interaktion zwischen Hautbarrieren und akzessorischen Immunzellen zu charakterisieren. Diese Studien ermöglichen uns Einblicke in die komplexen Mechanismen, durch die angeborene und erworbene Immunantworten ausgelöst werden und Faktoren zu identifizieren, die zur erhöhten Anfälligkeit für *Candida*-Infektionen in Patienten beitragen.

Obgleich Ergebnisse dieser Modelle nicht ohne Weiteres auf In-vivo-Infektionen übertragen werden können, reflektieren die vorhandenen Systeme immer besser die physiologische Situation in vivo und sind deshalb eine geeignete Methode, die Abläufe unter kontrollierten experimentellen Bedingungen zu simulieren. Ferner können solche Modellsysteme auch für Infektionen mit anderen Pilzen oder auch Bakterien eingesetzt werden.



Wundheilungsmodell

*Dr. Sarah Küchler,
Institut für Pharmazie,
Freie Universität Berlin, Berlin*

Zahlreiche In-vitro-Modelle zur Untersuchung von Wundheilungsprozessen der Haut sind bereits publiziert. Dabei wird die Haut mittels Skalpell, Biopsien oder mithilfe von flüssigem Stickstoff geschädigt. Diese Methoden gewährleisten allerdings keine absolute Reproduzierbarkeit der induzierten Wunde. Um diese zu erhöhen, wurde bei einem neu entwickelten In-vitro-Modell die Wunde mittels CO₂-Laser an einem rekonstruierten Vollhautmodell gesetzt. Die Eignung dieses Modells für Wundheilungsversuche wurde mittels topischer Applikation von Opioiden untersucht, für die in den letzten Jahren bereits wundheilungsfördernde Eigenschaften in vitro und in vivo nachgewiesen wurden.

Bei der Wundinduktion durch einen CO₂-Laser wurde darauf geachtet, dass die Epidermis fast vollständig zerstört, die Dermis jedoch unbeschädigt blieb. Im Anschluss an die Methodenetablierung wurde zur Untersuchung des Einflusses von Opioiden stellvertretend Morphin (in Lösung oder aufgeladen auf ein nanopartikuläres Trägersystem) auf die Wunde appliziert. Nach vier Tagen wurde der Fortschritt des Heilungsprozesses durch Haematoxylin-Eosin Färbung untersucht.

Die histologische Auswertung ergab, dass die Migration und Proliferation von Keratinozyten durch Morphin induziert wurde. Der Wundgrund wurde fast vollständig mit einer neu gebildeten Epithelschicht überzogen. Eine semiquantitative Auswertung ergab eine statistisch signifikant dickere Epidermisschicht im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen.

Somit konnten mithilfe des neu etablierten Wundheilungsmodells positive Effekte von topisch appliziertem Morphin nachgewiesen werden und damit zum Teil kontrovers diskutierte Ergebnisse zu Gunsten der wundheilungsfördernden Eigenschaften des Morphins reproduziert werden.

