

Transport gentamycínu z hydrogélů do oka králíka pomocou ionoforézy

Raiskup-Wolf F.¹, Eljarrat-Binstock E.², Rehák M.³, Domb A.², Frucht-Pery J.⁴

¹Očná klinika, Fakultná nemocnica Univerzity Lipsko, Nemecko, prednosta prof. Dr. med. Peter Wiedemann

²Oddelenie Lekárskej Chémie a Prírodných Výrobov, Lekárska Fakulta, Hebrejská univerzita, Jeruzalem, Izrael, prednosta prof. Avi Domb, PhD.

³Oční klinika LF UP a FN, Olomouc, prednosta doc. MUDr. Jiří Řehák, CSc.

⁴Očná klinika, Fakultná nemocnica Hadassah, Jeruzalem, Izrael, prednosta prof. Jacob Pe'er, M.D.

Súhrn

Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť možnosti aplikácie gentamycín sulfátu do oka kráľíka bieleho pomocou ionoforézy s použitím hydrogélů z hydroxyetylmetakrylátu (HEMA) v zmesi s etylénglykoldimetakrylátom (EGDMA). Ďalej sme sledovali dosiahnuté koncentrácie gentamycínu v jednotlivých segmentoch oka kráľíka po aplikácii transkonjunktívnu a transsklerálnu ionoforézu. Pre ionoforézu bol použitý prístroj „Mini Ion“, vyvinutý na Hebrejskej univerzite v Jeruzaleme. Intenzita aplikovaného prúdu bola 0 mA až 1,5 mA v dĺžke trvania ionoforézy 30–120 sekúnd. Po jej aplikácii bola stanovená koncentrácia gentamycín sulfátu v rohovkách pokusných zvierat. Kontrolnej skupine zvierat bol gentamycín aplikovaný ako očné kvapky do spojivkového vaku. Aplikácia gentamycínu ionoforézou vedie k vyššej koncentrácii farmaka v rohovke ako pri klasickej aplikácii kvapiek do spojivkového vaku. Najvyššia koncentrácia liečiva v rohovkách bola dosiahnutá pri aplikácii po dobu 60 s a intenzite prúdu 1,5 mA. Štyri hodiny po aplikácii transsklerálnej a transkonjunktívnej ionoforézy bola nameraná najvyššia koncentrácia gentamycín sulfátu v sietnici a sklére kráľíkov, najnižšia koncentrácia bola dosiahnutá v sklovci.

Aplikácia gentamycín sulfátu do oka pomocou ionoforézy sa ukazuje ako sľubná metóda, ktorá vedie k vyššej koncentrácii liečiva než štandardná aplikácia kvapiek do spojivkového vaku a umožní jeho prienik aj do zadného segmentu oka.

Kľúčové slová: ionoforéza, hydrogél, gentamycín sulfát, hydroxyetylmetakrylát, koncentrácia liečiva v rohovke

Summary

Delivery of the Gentamicin to the Eye via Iontophoresis

The aim of this study was to evaluate the use of solid hydrogel as a probe for the drug delivery to the rabbit eye upon application of low current iontophoresis. Hydroxyethyl methacrylate (HEMA), cross-linked with

ethylenglycol dimethacrylate (EGDMA) were prepared to form solid hydrogels. The concentrations of gentamicin sulfate in different segments of rabbit eye after transconjunctival and transscleral iontophoresis were also studied. For iontophoresis we used a portable Mini Ion device (designed at Hebrew University of Jerusalem) and applied a current from 0 mA to 1.5 mA for pre-set period from 30 to 120 seconds and after application the concentrations of gentamicin in cornea were assayed. The rabbits in control group were treated with fortified gentamicin eye-drops (concentration 1.4 %). The highest concentration of gentamicin sulfate was reached after iontophoresis with current intensity of 1.5 mA applied for 60 s. High gentamicin concentration were found in the retina and in the sclera four hours after transscleral iontophoresis, the lowest concentration was obtained in vitreous.

The delivery of gentamicin to the eye via iontophoresis with solid HEMA/EGDMA hydrogels seems to be promising method achieving high concentrations of the drug in the eye tissue.

Key words: iontophoresis, hydrogel, gentamicin sulfate, hydroxyethyl methacrylate, corneal concentration of the drug

Čes. a slov. Oftal., 62, 2006, No. 3, p. 175–181

ÚVOD

Hydrogély sú trojrozmerné siete hydrofilných polymérov, navzájom spojených kovalentnými väzbami a ďalšími slabšími silami typu vodíkových mostíkov. Tieto siete sú schopné vo svojej štruktúre absorbovať veľké množstvo vody. Podľa chemického zloženia sa hydrogély delia na polyakrylátové (napr. hydroxyetylmetakrylát) a polysacharidové (s obsahom dextranu alebo arabinogalaktanu). Vďaka výnimočným chemickým a fyzikálnym vlastnostiam hydrogélů sa tieto látky využívajú k príprave biomedicínských materiálov, ako sú napríklad kontaktné šošovky, masťové základy, a vehikulum k transportu rôznych farmak [1, 2, 8, 16, 24]. Základná zosťava kopolyméru hydrogélů sa dá upraviť za účelom ovplyvnenia jeho absorpčnej a difúznej charakteristiky [21].

Ionoforéza je neinvazívna metóda, pri ktorej elektrický prúd s nízkou intenzitou transportuje nabitú časticu (ióny) v smere jeho prúdenia [10]. Ionoforéza sa používa v rôznych odvetviach lekárskej praxe [11,12, 17], vrátane transkutánnej lokálnej anestézie [8], testu na cystickú fibrózu s transkutánnym podaním pilokarpínu [18], podávania vidarabínu pacientom s herpetickými infekciami [16] alebo gentamycínu pri bakteriálnom zápale stredného ucha [22]. V literatúre už bola popísaná transkorneálna a transkonjunktiválna ionoforéza rôznych liečiv [7, 13–15, 19, 20]. V porovnaní s tradičným spôsobom aplikácie liečiv subkonjunktiválne alebo intravenózne boli po použití ionoforézy namerané vyššie koncentrácie v rohovke, ako aj v komorovej tekutine pri nižšej incidencii lokálnych a celkových komplikácií [14, 15, 20]. Rovnako bolo dokázané, že týmto spôsobom aplikácie prenikajú farmaká aj do zadného segmentu oka, čo umožňuje liečbu napr. zadnej uveitídy alebo endoftalmitídy [3–6, 19, 23].

V minulosti bola pri týchto pokusoch použitá ionoforéza vodného roztoku liečiva, čo je technicky náročný proces, navyše je tento spôsob spojený s častým mechanickým poranením rohovky. V snahe obísť tieto nevýhody použili Grossmann [19]

a Frucht [14, 15] agarovú želatínu nasiaknutú liečivom. Táto želatína je ale veľmi krehká a zanecháva stopy agaru na povrchu oka.

Gentamycín je antibiotikum zo skupiny aminoglykozidov často používané pri liečbe očných ochorení, ako je napr.: bakteriálna keratitída, pooperačná alebo posttraumatická endoftalmitída. Vysoko hydrofilná štruktúra gentamycínu limituje jeho prestup cez biologické membrány a je takto zodpovedná za nízku biologickú dostupnosť tejto látky dominantne v zadnom segmente oka. Pre prestup gentamycínu do rohovky predstavuje významnú bariéru intaktný rohovkový epitel. Gentamycín je práve vďaka jeho nízkej molekulovej hmotnosti a iónovému náboju (kation) vhodný kandidát na aplikáciu pomocou ionoforézy [9].

MATERIÁL A METÓDA

Uskutočnili sme 2 experimenty:

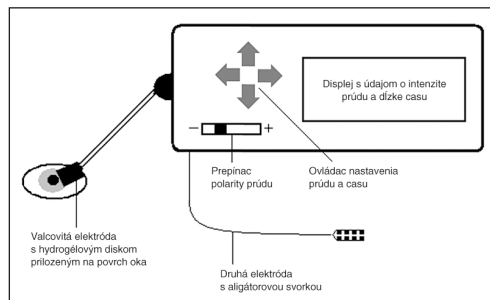
1. Stanovenie koncentrácie gentamycín sulfátu v rohovke králika aplikovaného ionoforézou s rôznou intenzitou prúdu a rôznou dĺžkou času jeho pôsobenia v porovnaní s konvenčnou aplikáciou očných kvapiek fortifikovaného gentamycínu do spojivkového vaku.
2. Porovnanie koncentrácie gentamycín sulfátu v rohovke, sietnici, sklére, sklovci a komorovej tekutine králika po aplikácii transkonjunktívnu a transsklerálnou ionoforézou.

Experiment č. 1: sledovanie prestupu gentamycínu do rohovky sme uskutočnili na 48 dospelých samcoch králikov plemena Novozélandský biely o hmotnosti v rozmedzí 2000 až 3000 g. Králiky boli chované pri stálej teplote a normálnom svetelnom režime, kŕmené štandardnou zmesou (150 g/ks/deň), voda bola podávaná ad libitum.

Použili sme ionoforetický prístroj „Mini Ion“ (obr. 1), ktorý bol vyvinutý v laboratóriu oddelenia lekárskej chémie a prírodných výrobkov (Lekárska fakulta, Hebrejská univerzita, Izrael) [14] a je chránený patentom izraelského patentového úradu. Tento prístroj je zložený z jednej valcovitej elektródy, do ktorej sa vkladá hydrogél nasýtený liečivom, z druhej elektródy, ktorá sa prikladá na ucho králika aligátorovou svorkou a z ovládacieho panelu. Na tomto paneli je možné nastaviť polaritu elektrického prúdu, jeho intenzitu v rozpätí 0,1 až 1,5 mA a čas aplikácie 10–120 sekúnd (schéma zariadenia je na obr. 2).



Obr. 1. Zariadenie „Mini Ion“ k ionoforetickej aplikácii liečiv



Obr. 2. Schéma zariadenia „Mini Ion“

Príprava hydroxyetylmetakrylátového (HEMA) disku: Hydrogély boli pripravené zo zmesi hydroxyetylmetakrylátu (HEMA, čistoty 97 %) s etylénglykoldimetakrylátom (EGDMA, čistoty 98 %), v pomere 98 % HEMA a 2 % EGDMA postupom popísaným v literatúre [9]. Zmes obsahujúca HEMA a EGDMA (v uvedenom pomere) bola zmiešaná s 2 ml deionizovanej vody pod prúdom dusíka a následne boli pridané iniciátori polymerizácie: 0,05 ml 2% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 0,05 ml 2% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ a 0,025 ml 2% $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$. Roztok bol ihneď premiešaný a naliaty do teflonových formičiek (výšky 5 mm, priemeru 6 mm) a ponechaný na polymerizáciu cez noc pri izbovej teplote v tme a v dusíkovej atmosfére. Výsledné disky boli ponorené do 500 ml vody a miešané 2 hodiny, a tým vyčistené od neaktivizovaných monomérov a katalyzátorov. Vyčistený hydrogél bol lyofilizovaný 24 hodín na výsledné špongiové valce, priemeru a výšky 5 mm. Pred použitím boli lyofilizované disky ponorené na 2 hodiny do 10% roztoku gentamycín sulfátu, následne osušené na filtračnom papieri a zvážené.

Zvieratá boli rozdelené do 6 skupín (tab. 1), v skupinách č. 1 až č. 4 bola aplikovaná ionoforéza s rôznou intenzitou prúdu a dĺžkou jeho pôsobenia. V skupine č. 5 bola aplikovaná na rohovku elektróda s hydrogélom bez zapnutia elektrického prúdu (0 mA/60 s, tzv. „mock ionoforéza“). Skupinu č. 6 tvorili zvieratá, ktorým bol gentamycín instilovaný do spojivkového vaku vo forme fortifikovaných očných kvapiek (s obsahom gentamycínu 15 mg/ml) každých 5 minút po dobu jednej hodiny.

Tab.1 Intenzita a dĺžka posobenia prúdu v jednotlivých skupinách experimentálnych zvierat

Skupina a počet zvierat	I. [8]	II. [8]	III. [8]	IV. [8]	V. kontrola [8]	VI. kontrola [8]
Intenzita prúdu [mA]	0,5 mA	0,5 mA	0,5 mA	1,5 mA	0mA	Gentamycín kvapky
Čas pôsobenia [s]	30 s	60 s	120 s	60 s	60 s	á 5 min, 1 hod

Pred vlastným experimentom boli zvieratá uspané intramuskulárnou injekciou zmesi ketamínu a xylozínu (i. m., 25 mg/kg a 2,5 mg/kg). Pred umiestnením elektródy na očné povrchu bolo oko lokálne znecitlivene kvapkami 0,4% be-

noxinátu (Localin[®], Dr. Fischer, Izrael). Hydrogélový disk z HEMA a EGDMA (pripravený vyššie uvedeným postupom) obsahujúci priemerné množstvo 26,10 mg gentamycín sulfátu bol vložený do valcovitej elektródy ionoforetického zariadenia a umiestnený na rohovku pokusného zvierata. Druhá elektróda bola pripojená na ucho králika aligátorovou svorkou. Aplikovaná bola ionoforéza s intenzitou prúdu 0–1,5 mA v dĺžke trvania 30–120 s (podľa príslušnej experimentálnej skupiny). Päť minút po ukončení ionoforézy boli zvieratá usmrtené intravenóznou injekciou letálnej dávky 2% pentobarbitálu, pričom rohovka bola excidovaná a preparát bol následne vymytý v 5 ml 0,9% roztoku NaCl, rozmixovaný a zvážený. Každá vzorka bola prenesená do centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 1,0 ml 0,01 M fosfátového pufru (pH 7,4). Vzorky boli v skúmavke inkubované 18 hodín pri 37 °C s osciláciou 100 otáčok za minútu a následne centrifugované pri 2000 otáčkach po dobu 10 min. V oddelenom supernatante bola stanovená koncentrácia gentamycín sulfátu pomocou polarizačného fluorescenčného immuno-assay TDx systémového analyzátora (Abbott Laboratoires).

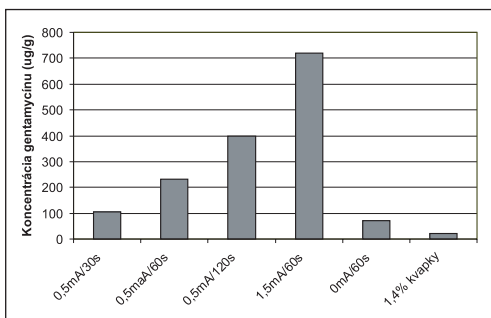
Experiment č. 2: zvieratá boli rozdelené na dve skupiny, v skupine č. 1 (n = 4) bola elektróda umiestnená na spojivku v oblasti pars plana, v skupine č. 2 (n = 4) bola elektróda umiestnená po odpreparovaní spojivkového laloku priamo na skléru v oblasti pars plana. Druhá elektróda bola opäť umiestnená aligátorovou svor-

kou na uchu králíka. Příprava zvířat, ich celková, ako aj lokálna anestézia bola rovnaká ako v experimente č. 1. Ionofóza hydrogélového disku (pripraveného podľa postupu v experimente č. 1) bola aplikovaná dvakrát za sebou na dvoch rozličných miestach v oblasti pars plana s intenzitou prúdu 1mA a dĺžkou pôsobenia 2 x 120 s. Zvieratá oboch skupín boli usmrtené štyri hodiny po ionofóze letálnou dávkou 2% pentobarbitálu. Po enukleácii očného bulbu bola aspirovaná komorová tekutina a obsah sklovcevej dutiny a excidovaná rohovka, skléra i sietnica. Koncentrácia gentamycín sulfátu bola stanovená v každej vzorke po jej rozmixovaní a zvážení identicky ako v experimente č. 1.

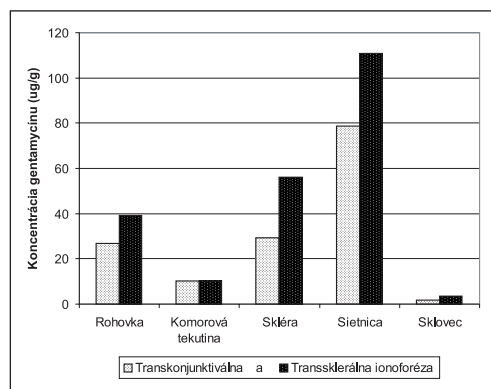
Vo všetkých experimentoch sme použili gentamycín sulfát od firmy Sigma (Montana, USA), všetky monoméry k príprave hydrogélu boli zakúpené od firmy Sigma (Rehovot-Izrael).

VÝSLEDKY

Experiment 1.: Koncentrácia gentamycín sulfátu v rohovke kráľíka bieleho (graf 1) po jeho aplikácii pomocou ionofózy (skupina 1–4) bola 5–35krát vyššia v porovnaní so skupinou č. 6, ktorej bol gentamycín podávaný vo forme očných kvapiek ($22,9 \pm 14,8 \mu\text{g/g}$). Tento rozdiel je štatisticky signifikantný (Chí-kvadrát test, $P < 0,05$). V kontrolnej ionoforetickej skupine (č. 5, 0 mA/60 s) bola nameraná koncentrácia gentamycínu $71,3 \pm 36,7 \mu\text{g/g}$. Zistené výsledky v skupine č. 1–3 ukazujú, že pri rovnakej intenzite prúdu ale dvojnásobnej dĺžke pôsobenia ionofózy koncentrácia liečiva v rohovke vzrastá lineárne. Dochádza teda k zdvojnásobovaniu jeho koncentrácie v rohovke. Najvyššia koncentrácia farmaka bola nameraná v skupine č. 4 (1,5 mA/ 60 s), teda u zvierat, ktoré podstúpili ionofózu s najvyššou intenzitou prúdu ($719,3 \pm 116 \mu\text{g/g}$ tkaniva). Intenzita prúdu sa teda zdá byť dôležitejším parametrom pre výslednú koncentráciu gentamycínu v rohovke kráľíka než dĺžka pôsobenia tohto prúdu pri ionofóze.



Graf 1. Koncentrácia gentamycínu v rohovke kráľíka po ionofóze s rôznou intenzitou prúdu a dĺžkou jeho pôsobenia a po aplikácii očných kvapiek



Graf 2. Koncentrácia gentamycín sulfátu v rôznych segmentoch oka po transkonjunktiválnej a transsklerálnej ionofóze

Experiment č. 2: koncentrácie gentamycín sulfátu 4 hodiny po ionofóreze farmaka transsklerálnou a transkonjunktiválnou cestou (graf 2) boli najvyššie po transsklerálnej aplikácii v sietnici ($110,8 \pm 55,9 \mu\text{g/g}$ tkaniva) a v sklére ($56,3 \pm 23,9 \mu\text{g/g}$). Nižšie koncentrácie sme namerali v rohovkách ($39,32 \pm 9,53 \mu\text{g/g}$) a ďalej v komorovej tekutine ($10,39 \pm 2,53 \mu\text{g/g}$). Najnižšie hodnoty boli zistené v sklovci ($3,65 \pm 2,81 \mu\text{g/g}$). Rozdiel medzi nameranými hodnotami po transkonjunktiválnej a transsklerálnej ionofóreze nie je štatisticky signifikantný (test Kruskal-Wallis).

DISKUSIA

Aplikácia gentamycínu do spojivkového vaku formou očných kvapiek je spojená s nízkou biologickou dostupnosťou farmaka. Významnú bariéru pre silne hydrofilné molekuly gentamycínu predstavuje predovšetkým rohovkový epitel, ďalším limitujúcim činiteľom je rýchle vyplavenie kvapiek liečiva zo spojivkového vaku. Podľa niektorých prác je viac ako 90 % množstva takto aplikovaného gentamycínu vyplavené zo spojivkového vaku v priebehu 2 minút [14]. To vedie k nutnosti aplikácie takzvaných fortifikovaných foriem očných kvapiek (koncentrácia 0,8–2,0 % gentamycínu, oproti klasickým 0,3 %). Ďalej je nutné zvýšiť frekvenciu aplikácie kvapiek, pri niektorých diagnózach (napr. rohovkový vred) na počiatku ochorenia i každých 15 minút. Pre pacientov je takáto liečba zaťažujúca, obzvlášť zle tolerovaná je nočná aplikácia, ktorá často ústi až do spánkovej deprivácie. Aplikácia liečiv do oka pomocou ionofórezy bola v literatúre opísaná už opakovane [3, 6, 13, 14, 19]. Gentamycín je vhodný kandidát pre takúto formu podávania vďaka jeho nízkej molekulovej hmotnosti a pozitívnemu náboju molekuly (katión). Frucht vo svojich experimentoch dospel k zisteniu, že ionoforetická aplikácia gentamycín sulfátu vedie k vyššej koncentrácii v rohovke králikov, než aplikácia vo forme kvapiek alebo subkonjunktiválnej injekcie [14, 15]. Jeho experimenty boli zamerané na farmakokinetiku gentamycínu po ionoforetickej aplikácii, pričom dospel k záveru, že koncentrácia gentamycínu v rohovke dosahuje svoje maximum bezprostredne po ukončení ionofórezy. Tieto výsledky korelujú s výsledkami, ku ktorým dospel Grossman [19] a podobne aj Fischman [13], ktorí použili vo svojich experimentoch nízke intenzity prúdu (0,2–0,75 mA), ale dlhú expozíciu ionofórezy (10 minút). Navyše použili ako nosič farmaka agarový gél, ktorý je ale veľmi krehký a jeho mechanické vlastnosti nevyhovujú pre použitie k ionofóreze na očnom povrchu.

V našich experimentoch sme sa zamerali na porovnanie koncentrácie gentamycín sulfátu pri rôznej intenzite prúdu a rôznej dĺžke trvania ionofórezy v porovnaní s klasickou aplikáciou formou kvapiek do spojivkového vaku. Bez ohľadu na intenzitu prúdu a dĺžku aplikácie sme podobne ako citovaní autori [13, 19] namerali v rohovke po ionofóreze vyššie koncentrácie gentamycín sulfátu ako po jeho aplikácii formou kvapiek do spojivkového vaku. Naše výsledky ukazujú, že pri rovnakej intenzite prúdu, ale dvojnásobnej dĺžke pôsobenia ionofórezy, koncentrácia liečiva v rohovke vzrastá lineárne. Dochádza teda k zdvojnásobovaniu koncentrácie gentamycínu v rohovke. Najvyššia koncentrácia farmaka bola nameraná u zvierat, ktoré podstúpili ionofórezu s najvyššou intenzitou prúdu (skupina č. 4, 1,5 mA, 60 s). Intenzita aplikovaného prúdu sa teda javí byť dôležitejším parametrom pre výslednú koncentráciu gentamycínu v rohovke králika než dĺžka pôsobenia tohto prúdu pri ionofóreze.

Hydrogély z HEMA v zmesi s 2 % EGDMA sú vzhľadom na ich priaznivejšie mechanické a fyzikálne vlastnosti vhodnejšie k použitiu pre ionoforézu na očnom povrchu než Grossmanom a Fischerom [13,19] používaná agarová želatína. Porovnanie rôznych pomerov HEMA a EGDMA v zmesi je predmetom nášho ďalšieho skúmania.

Pri porovnaní transsklerálnej a transkonjunktiválnej ionoforézy s intenzitou prúdu 1 mA a dĺžkou jej pôsobenia dvakrát 120 s sme po 4 hodinách od aplikácie namerali najvyššiu koncentráciu gentamycínu v sietnici, a to pri oboch spôsoboch aplikácie. Nižšie koncentrácie boli namerané v rohovke, komorovej tekutine a najnižšie v sklovci pokusných zvierat. Tieto rozdiely by mohli byť vysvetlené tým, že po 4 hodinách od ionoforézy koncentrácia farmaka v rohovke a komorovej tekutine už klesá, zatiaľ čo v sklovci ešte nedosiahla svojho maxima. Táto hypotéza je podporená aj výsledkami, ktoré publikoval Grossman [19], keď zistil najvyššiu koncentráciu liečiva v sklovci až po 16 hodinách, zatiaľ čo v rohovke už 2 hodiny po aplikácii ionoforézy. Nesignifikantný rozdiel v koncentrácii gentamycínu po aplikácii transkonjunktiválnou a transsklerálnou cestou ukazuje, že pre dosiahnutie vysokej koncentrácie liečiva k liečbe afekcií zadného segmentu nie je nutné odstránenie spojivky. Pre zistenie presnej dynamiky koncentrácií gentamycínu v rôznych segmentoch oka je potrebné uskutočniť ešte ďalšie experimenty. Určite by bolo zaujímavé porovnanie rozličných intenzít prúdu ako aj dĺžky ich aplikácie.

ZÁVER

Z našich výsledkov vyplýva, že ionoforéza gentamycínu s použitím zariadenia „Mini Ion“ a HEMA hydrogélových diskov je perspektívna metóda liečby nielen ochorení rohovky, ale aj afekcií zadného segmentu oka. Táto metóda umožňuje dosiahnuť vyššiu koncentráciu liečiva v rohovke než pri intenzívnej aplikácii fortifikovaných gentamycínových očných kvapiek, pričom použitie HEMA hydrogélových diskov je pre ionoforézu na očnom povrchu výrazne vhodnejšie než doposiaľ skúšané agarové gély. Na výšku rohovkovej koncentrácie vplýva predovšetkým intenzita aplikovaného prúdu, dĺžka jeho aplikácie má na túto koncentráciu menší vplyv.

LITERATÚRA

1. **Alvarez-Figueroa, M.J., Blanco-Mendez, J.:** Transdermal delivery of methotrexate: iontophoretic delivery from hydrogels and passive delivery from microemulsion. *J. Int. Pharm.*, 215, 2001: 57–65.
2. **Banga, A.K., Chien, Y.W.:** Hydrogel-based iontophoretic delivery device for transdermal delivery of peptide/protein drugs. *Pharm. Res.*, 10, 1993: 697–702.
3. **Barza, M., Peckman, C., Baum, J.:** Transscleral iontophoresis of cefazolin, ticarcillin and gentamicin in the rabbit. *Ophthalmol.*, 93, 1986: 133–139.
4. **Barza, M., Peckman, C., Baum, J.:** Transscleral iontophoresis of gentamicin in monkeys. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 28, 1987: 1033–1036.
5. **Barza, M., Peckman, C., Baum, J.:** Transscleral iontophoresis as an adjunctive treatment for experimental endophthalmitis. *Arch. Ophthalmol.*, 105, 1987: 1418–1425.
6. **Behar-Cohen, F.F., El Aouni, A., Gautier, S., et.al.:** Transscleral Coulomb-controlled iontophoresis of methylprednisolone into the rabbit eye: influence of duration of treatment, current intensity and drug concentration on ocular tissue and fluid levels. *Exp. Eye Res.*, 74, 2002: 51–59.

7. **Behar-Cohen, F.F., Parel, J.M., Pouliquen Y., et.al.:** Iontophoresis of dexamethasone in the treatment of endotoxin-induced-uveitis in rats. *Exp. Eye Res*, 65, 1997: 533–545.
8. **Bridger, M.W.M., Keene, M., Graham, J.M., et al.:** A device for iontophoretic anesthesia of the tympanic membrane. *J. Med. Eng. Tech.*, 6, 1982: 62–64.
9. **Eljarrat-Binstock, E., Raiskup, F., Frucht-Pery, J., et.al.:** Hydrogel probe for iontophoresis drug delivery to the eye. *J. Biomater. Sci. Polymer. Edn.*, 15, 2004: 397–413.
10. **Erlanger, G.:** Iontophoresis, a scientific and practical tool in ophthalmology. *Ophthalmologica.*, 128, 1954: 232–246.
11. **Fang, J.Y., Hsu, L.R., Huang, Y.B., et al.:** Evaluation of transdermal iontophoresis of enoxacin from polymer formulation in vitro skin permeation and in vivo microdialysis using Wistar rat as an animal model. *Int. J. Pharm.*, 108, 1999: 137–149.
12. **Fang, J.Y., Sung, K.C., Wang J.J., et al.:** The effects of iontophoresis and electroporation on transdermal delivery of buprenorphine from solution and hydrogels. *J. Pharm. Pharmacol.*, 54, 2002: 1329–1337.
13. **Fishman, P.H., Jay, W.M., Rissing, J.P., et.al.:** Iontophoresis of gentamicin into aphakic rabbit eyes. Sustained vitreal levels. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 25, 1984: 343–345.
14. **Frucht-Pery, J., Goren, D., Solomon, A., et al.:** The distribution of gentamicin in the rabbit cornea following iontophoresis to the central cornea. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, 15, 1999: 251–256.
15. **Frucht-Pery, J., Solomon, A., Doron, R., et al.:** Efficacy of iontophoresis in the rat cornea. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 234, 1996: 765–769.
16. **Gangarosa, L., Hill, J.M., Thompson, B.L., et al.:** Iontophoresis of vidarabine monophosphate for herpes-oralabialis. *J. Infect.Dis.*, 154, 1986: 930–934.
17. **Gangarosa, L., Park, N.:** Practical considerations in iontophoresis of fluoride for desensitizing dentine. *J. Prosthet. Dent.*, 19, 1978: 73–78.
18. **Gibson, L.E., Cooke, R.E.:** A test for concentration of electrolytes in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics*, 23, 1959: 545–549.
19. **Grossman, R., Chu, D.F., Lee, D.A.:** Regional ocular gentamicin levels after transcorneal and transscleral iontophoresis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 31, 1990: 909–916.
20. **Hughes, L., Maurice, D.M.:** A fresh look at iontophoresis. *Arch. Ophthalmol.*, 102, 1984: 1825–1829.
21. **Kim, S.W., Bae, Y.H., Okano, T.:** Hydrogels: swelling, drug loading, and release. *Pharm. Res.* 9, 1992: 283–290.
22. **King, D.M., Estrem, S.A.:** Gentamicin iontophoresis in the treatment of bacterial otitis externa in the guinea pig model. *Laryngoscope*, 100, 1990: 1112–1115.
23. **Lam, T.T., Edward, D.P.,Zhu X.A., et.al.:** Transscleral iontophoresis of dexamethasone. *Arch. Ophthalmol.*, 107, 1989: 1368–1371.
24. **Michailova, V., Titeva, S., Kotsilkova, E., et al.:** Influence of hydrogel structure on the processes of water penetration and drug release from mixed hydroxypropylmethyl cellulose/thermally pregelatinized waxy maize starch hydrophilic matrices. *Int. J. Pharm.* 222, 2001: 7–17.

*Dr. Frederik Raiskup-Wolf
Boderitzer Str. 81
012 17 Dresden
Germany*

e-mail: Frederik.Raiskup-Wolf@uniklinikum-dresden.cz