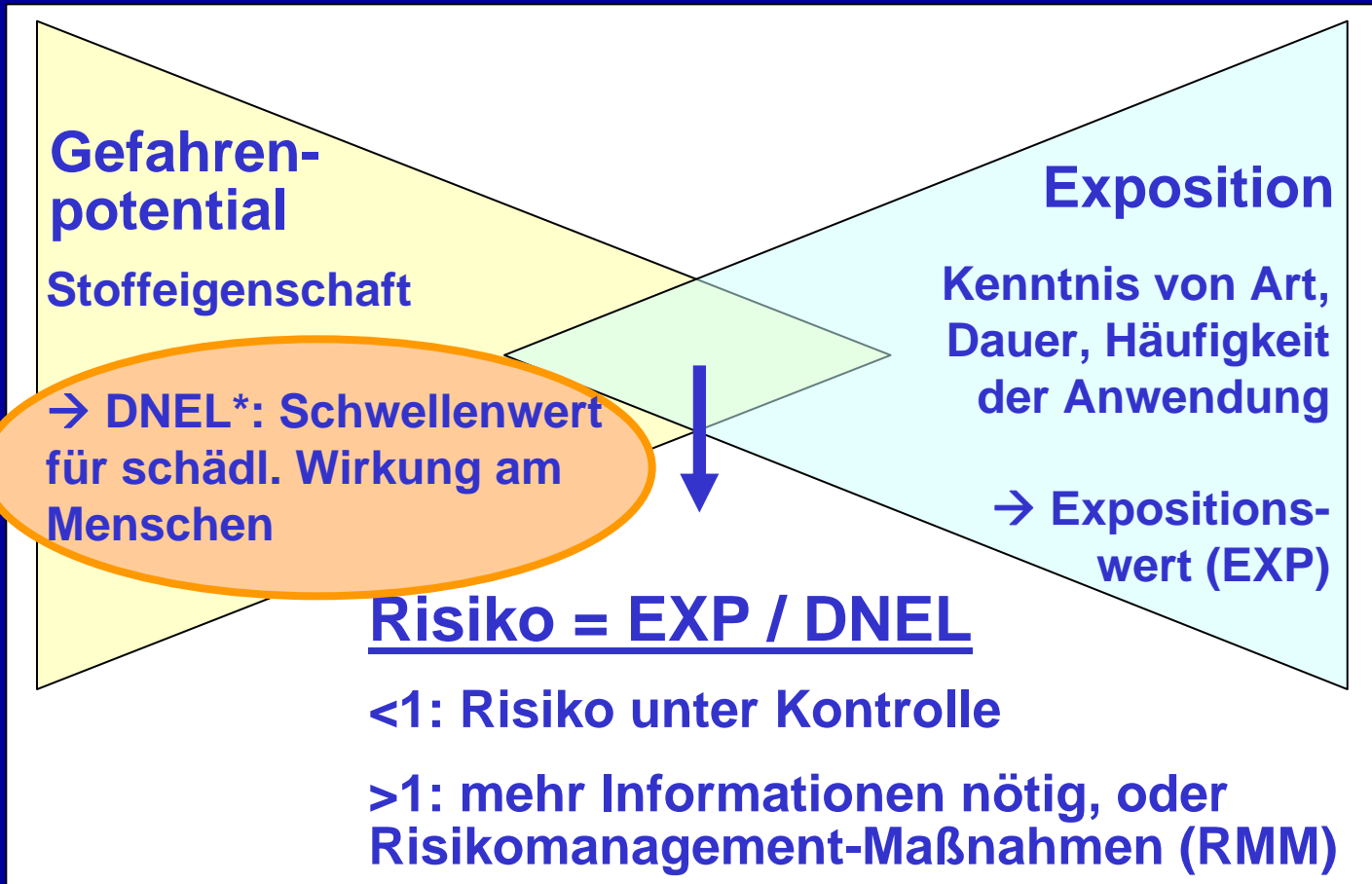


# Reduktion von Tierversuchen durch “Waiving” und “Threshold of Toxicological Concern”

Dr. Simone Hoffmann-Dörr  
22.11.2007

# REACH-Ziel:

Sichere Verwendung von Chemikalien ("ohne" Risiko)



\* Derived no effect level

„klassische“  
Grundlage:  
Tierversuch

# Wie viele zusätzliche Tiere werden für REACH benötigt? (Absicherung von 30000 Chemikalien)

- Dt. Tierschutzbund: **45 Mio.**
- DFG (Prof. G. Heldmaier): **10 Mio.**
- EU-Kommission: **3,9 Mio.**  
(bei Akzeptanz von Alternativmethoden → **2 - 2,6 Mio.**)

## Vergleich:

Alle Versuchstiere in D, 2005: 2,4 Mio.

EU-weit, 1999: 9,8 Mio.

# Welche Alternativen gibt es zum Tierversuch? (1)

REACH (Art. 47): „ [...] it is necessary to **replace**, **reduce** or **refine** testing on vertebrate animals.” → **3 R – Konzept**

## Replace:

- **Struktur-Wirkungs-Analyse (in silico-Methoden, (Q)SARs)**
- **In vitro-Methoden**

## Refine:

- **Subchronische (90-Tage-)Studie erweitern um Untersuchung der Reproduktionsorgane**
- **Akute orale Tox.: weitere Parameter außer Anzahl Todesfälle**





# Welche Alternativen gibt es zum Tierversuch? (2)

3 R – Konzept: **R**eplace, **R**educe, **R**efine

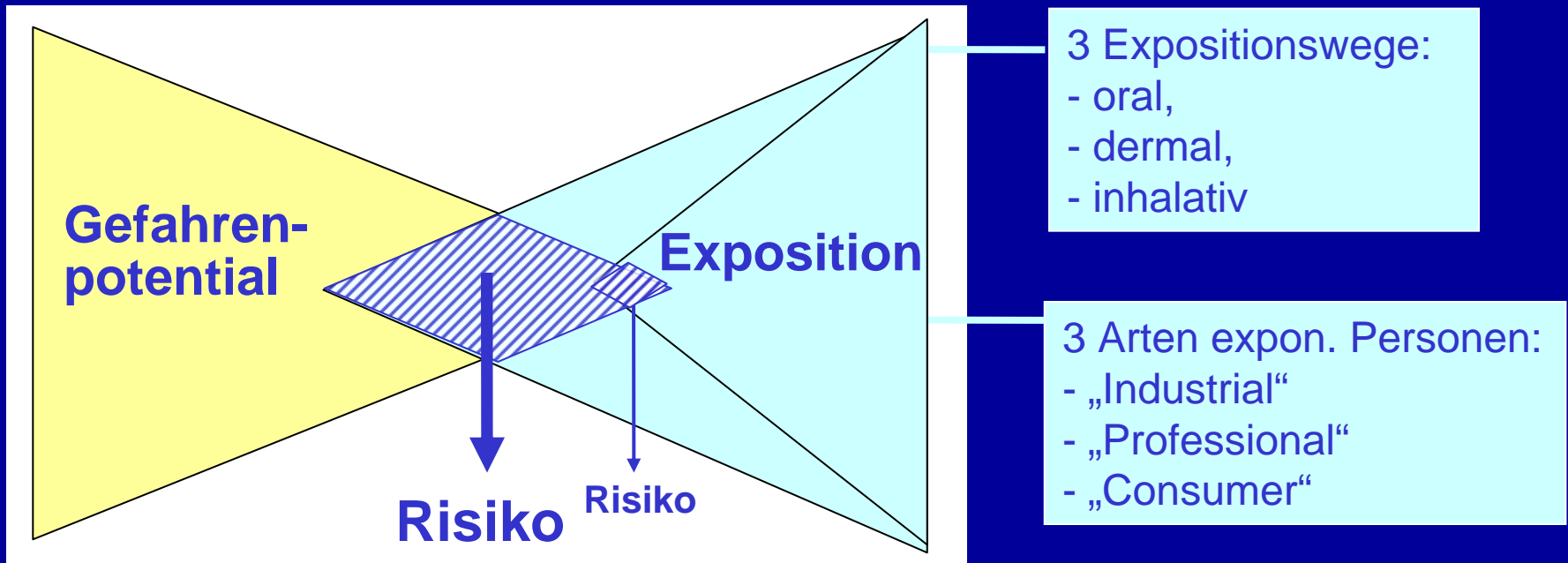
## Reduce:

- Konsolidierte Registrierung („OSOR“):  
Pflicht zur gemeinsamen Nutzung von Tierversuchsdaten
- „Read-across“
- „Waiving“ (Auslassen von Tests) ←
- Anwendung des TTC-Konzepts ←

# “Waiving” von toxikologischen Tests

- **Technisch nicht möglich** nach Annex XI (2) (z.B. hochreaktiv, oder leichtflüchtig, oder nicht radioaktiv markierbar)
- **Wissenschaftlich nicht sinnvoll** nach Annex XI (1) (z.B. „weight of evidence“: verschiedene, für sich betrachtet nicht ausreichende Informationen weisen auf gleichen Befund)
- Anforderungen in **Annex XI, 3 erfüllt**:  Expositionsszenarien, unter Berücksichtigung implementierter Risikominderungs-Maßnahmen  Expositions-basiertes „Waiving“
- Spezifische Anforderungen in **Annex VIII-X, Spalte 2, erfüllt**: PC-Eigenschaften (Unlöslichkeit), Ergebnisse anderer Tests, metabolische Verfügbarkeit,  Exposition 

# Prinzip: Expositions-basiertes “Waiving” (EBW)



## Berücksichtigen für EBW:

- Alle Expositionswege und –populationen
- Alle Schritte im Lebenszyklus
- Ggf. vorhandene Hazard-Daten (Risikobetrachtung)

# Welche humantox. Tests kann man “waiven”?

(Es gibt auch Optionen zum “Waiven” von Ökotox.-Tests)

Test (REACH, Annex VIII-X, Spalte 2 und Entwurf RIP 3.2-2 task IV)	Tierzahl	Tonnage (t/a), ab der Test benötigt wird
Akute dermale Toxizität	20	> 10
Akute inhalative Toxizität	20	> 10
Tox. nach wiederholter Gabe - 28-Tage-Test, - 90-Tage-Test	60 100	> 10 > 100
Reproduktionstoxizität - Screening test, - 2-Generationenstudie, - Entw.tox., 2. Spezies	100 3000 1000	> 10 > 100 > 1000

**Einspar-  
potential  
(>100 t/a):  
3300 Tiere  
pro Subst.**

→ EBW ermöglicht Einsparung von Tier-reichen Versuchen



# Zwei Vorgehensweisen für EBW:

## Qualitatives EBW:

Exposition kann **ausgeschlossen** werden für bestimmte Route(n) / bestimmte Personengruppe(n)  
(z.B. ausschließlich Industriearbeiter betroffen, diese nur über dermalen Kontakt → EBW für „Professionals“, „Consumer“ und für orale / inhalative Route „Industrials“)

## Quantitatives EBW:

**Stark eingeschränkte** Exposition (z.B. umfassende Risikominderungs-Maßnahmen für Industriearbeiter, nur gelegentlicher Umgang mit der Substanz, nur kurze Exposition zum Öffnen des Behälters...)  
→ **Expositionsszenario, Risikobetrachtung**

# Kritisch zu sehen am quantitativen EBW

## Begriffe im REACH-Text:

Was ist eine “nicht relevante“ / „nicht-signifikante“ / „unwahrscheinliche“ / „begrenzte“ Exposition?

## Risikoermittlung:

**Risiko = Exposition / Schwellenwert für toxische Wirkung**

Was wird der berechneten / gemessenen, geringen Exposition gegenübergestellt? Woher kommt der Schwellenwert, wenn nicht auf Basis eines Tierversuchs?

→ Lösung: TTC-Konzept

(RIP 3.2-2 Task IV und RIP 3.3-2 Appendix 8.1)

# TTC- Konzept (Threshold of Toxicological Concern)

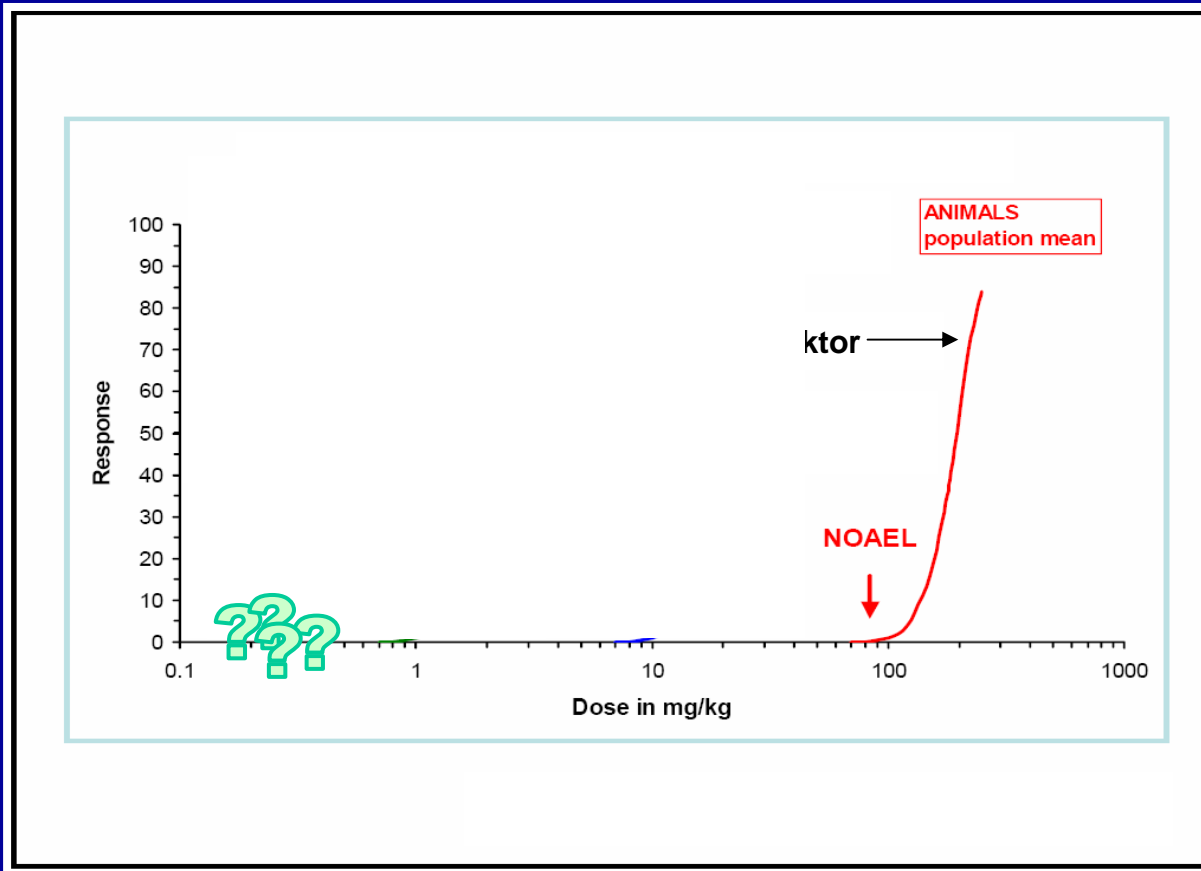
## Definition: Threshold (= Schwellenwert)

Ein Schwellenwert ist als **diejenige Dosis** definiert, bei der oder unterhalb derer **keine toxikologisch relevanten Effekte** mehr erkennbar sind.

Beispiele: DNEL (Mensch), NOAEL (Tierversuch)

# Wie bestimmt man einen Schwellenwert?

## “Klassischer” Ansatz: Tierversuch



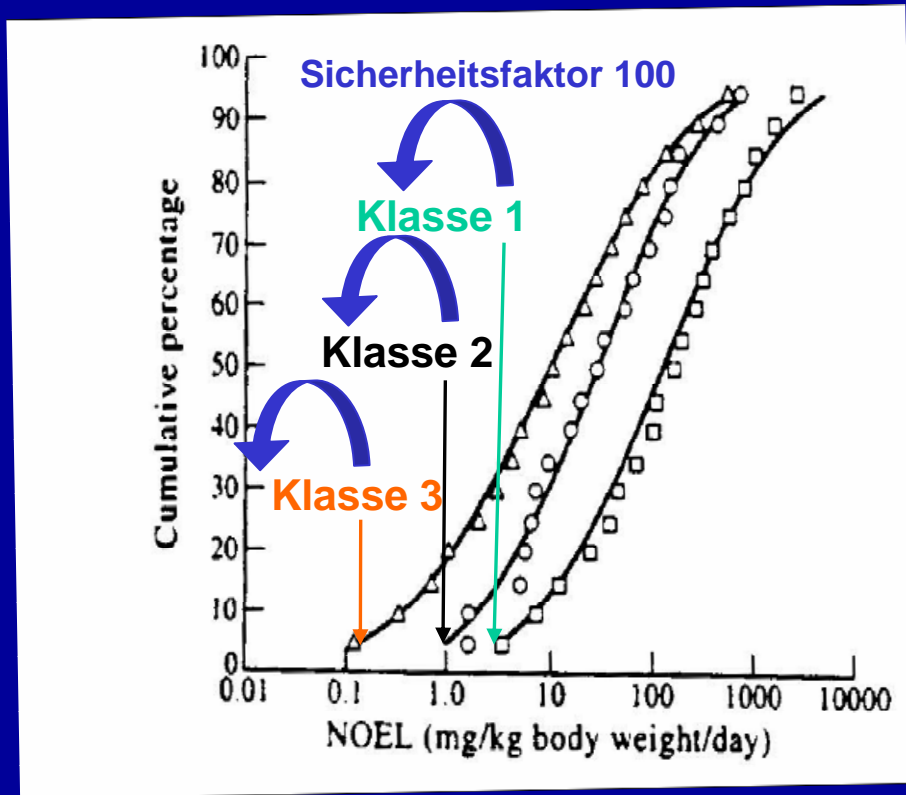
Gibt es einen Schwellenwert, der so niedrig ist, dass man ein Gefährdungspotenzial für den Menschen ausschließen kann, unabhängig von der Substanz?

**DNEL = NOAEL / Sicherheitsfaktor**

# Entwicklung des TTC- Konzepts

## 900 Substanzen:

- Einteilung in 3 Klassen nach Cramer (Voraus.: nicht mutagen)
- Ermittlung der Schwellenwerte aus Tierversuchen
- Auftragung der Verteilung der Schwellenwerte



Niedrigster NOEL (mg/kg/Tag)	TTC (µg/kg/Tag)	TTC (µg/Person/d)
3.0	30	1800
0.91	9	540
0.15	1.5	90

Sicherheitsfaktor 100 (indicated by a blue arrow pointing from 0.15 to 1.5)  
 60 kg Körpergewicht (indicated by a blue arrow pointing from 1.5 to 90)

Quellen: Cramer et al (1978), Munro et al (1990, 1996), Kroes et al (2004)

# TTC- Konzept (Threshold of Toxicological Concern)

## Threshold of toxicological concern (TTC):

**Konzentration**, unterhalb derer eine generelle **toxikologische Unbedenklichkeit** angenommen wird, auch wenn keine bzw. nur geringe stoffspezifische Informationen zur Toxikologie vorliegen.

# TTC, speziell zu betrachtende Substanzen

## Gentoxische Kanzerogene:

TTC = **0.15 µg/Tag** (akzeptiertes Risiko von 1:10<sup>6</sup>)  
(→ entspr. z.B. 1.5 Zigaretten oder 65 km Autofahrt\*)

**Kein TTC für hochpotente Kanzerogene** (Aflatoxine, N-Nitroso-Verbindungen, Azoxy-Verbindungen)

## Ausnahmen (kein TTC möglich):

- **Proteine** (Hypersensitivität / Intoleranz)
- **Organophosphate** (Neurotoxizität)
- **Bioakkumulierende Substanzen** (z.B. Schwermetalle)

\*Quelle: <http://www.physics.ohio-state.edu/~aubrecht/APSnuclear.html>

# Grenzen des TTC-Konzepts

Datenbasis für TTC sind Studien mit oraler Aufnahme

Auf dermale Aufnahme übertragbar?

→ dermale Aufnahme i.d.R. wesentlich geringer

→ Metabolische Kapazität der Haut < Leber

→ Leber produziert zusätzliche Metabolite zur Haut

Fazit: zusätzlicher **Sicherheitsfaktor** bei **dermaler Aufnahme**

**Lokale Effekte** (z.B. Irritation) werden nicht berücksichtigt



# Zusammenfassung

Aus ethischen Gründen sollten alle **Alternativen ausgeschöpft** werden, bevor ein Tierversuch für REACH erwogen wird.

REACH ermöglicht „Waiving“ (Auslassen) Tier-reicher Tests, insbesondere bei fehlender / nicht-relevanter Exposition (**Expositions-basiertes „Waiving“**).

Der Einsatz eines auf Basis der Struktur ermittelten **TTC ermöglicht Risikobewertung** im Fall geringer Expositionen, ohne dass ein Tierversuch durchgeführt werden muss.

**cognis**



we know how