

Symposium der GD-Fachgruppe Sicherheitsbewertung und Verkehrsfähigkeit:  
Hautsensibilisierung und -irritation – Regulatorische Anforderungen und  
Teststrategien

## In-vitro-Strategien zur Einschätzung der Hautsensibilisierung und -irritation durch chemische Stoffe

*Dr. Naveed Honarvar (1)*

*unter Mitarbeit von Susanne Noreen Kolle (1), Daniel Urbisch (2), Robert Landsiedel (1)*

*(1) BASF SEy, Ludwigshafen,*

*(2) BASF SE, Product Safety, Ludwigshafen*

Im Rahmen der europäischen Rechtsvorschrift zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) muss u.a. das Potential der Hautirritation und -sensibilisierung von Substanzen adressiert werden. Für beide Endpunkte gibt es eine Reihe In-vitro-Testmethoden, die mittlerweile als OECD-Richtlinie vorliegen.

In-vitro-Untersuchungen mit Hautäquivalenten, wie unter den OECD-Richtlinien Nr. 431 und 439 beschrieben, werden in Kombination eingesetzt, um das irritative bzw. das korrosive Potential von Substanzen zu untersuchen. Validierungsstudien zeigen eine hohe Korrelation zwischen In-vitro- und In-vivo-Ergebnissen.

Die Vorgänge, die zu einer Hautsensibilisierung führen, werden in einem „Adverse Outcome Pathway“ (AOP) beschrieben. Im Rahmen des AOP gibt es sog. Schlüsselereignisse („Key events“), die für die Initiation der Immunreaktion unablässig sind. Obwohl bis dato kein geeignetes In-vitro-Testsystem existiert, das das gesamte AOP der Hautsensibilisierung in vitro simuliert, gibt es Möglichkeiten, einzelne „keyevents“ in vitro zu testen: (i) Das „Direct Peptide Reactivity Assay“ (OECD 442C) analysiert die Proteinbindungseigenschaften der Testsubstanz. (ii) Die Aktivierung der dendritischen Zellen in der Haut wird in dem h-CLAT Assay (OECD 442E) simuliert. (iii) Eine Interaktion von sensibilisierenden Substanzen mit Keratinozyten führt zu deren Aktivierung, welche im Keratinosens<sup>TM</sup>/LuSens-Assay (OECD 442D) quantifiziert werden kann.

Eine von BASF vorgestellte Teststrategie beinhaltet die Durchführung aller o.a. Testsysteme in Kombination und eine anschließende Bewertung mittels des „2 out of 3 weight of evidence approach“. In einer umfassenden Studie konnte gezeigt werden, dass die „2 out of 3 weight of evidence approach“ eine bessere Vergleichbarkeit zu humanen Daten aufweist als die herkömmliche In-vivo-Alternative (Local Lymph Node Assay, LLNA). Des Weiteren konnten Analysen zeigen, dass diese Teststrategie auch metabolische und nicht metabolische Transformationen der Testsubstanzen berücksichtigt.

Die dargestellte In-vitro-Strategie kann die Stärke einer Sensibilisierung nicht bewerten. Neue Protokolle unter Berücksichtigung der Reaktionskinetik zeigen jedoch vielversprechende Ergebnisse, womit die Potenz einer Sensibilisierung in vitro gemessen werden kann.



Die aktuelle Version der Datenanforderung der ECHA bezüglich Hautirritation bzw.-sensibilisierung schreibt die In-vitro/in-chemico-Testung vor. Eine Testung in vivo wird erst dann nötig, wenn der Einsatz von In-vitro-Alternativen nicht anwendbar ist.

#### Referenzen

Kolle, Susanne N., et al. «Applicability of in vitro tests for skin irritation and corrosion to regulatory classification schemes: substantiating test strategies with data from routine studies.» *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 64.3 (2012): 402-414.

Ramirez, Tzutzy, et al. «LuSens: a keratinocyte based ARE reporter gene assay for use in integrated testing strategies for skin sensitization hazard identification.» *Toxicology in Vitro* 28.8 (2014): 1482-1497.

Bauch, Caroline, et al. «Putting the parts together: combining in vitro methods to test for skin sensitizing potentials.» *Regulatory toxicology and pharmacology* 63.3 (2012): 489-504.

Urbisch, Daniel, et al. «Assessing skin sensitization hazard in mice and men using non-animal test methods.» *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 71.2 (2015): 337-351.

Urbisch, Daniel, et al. «Assessment of Pre-and Pro-haptens Using Nonanimal Test Methods for Skin Sensitization.» *Chemical research in toxicology* 29.5 (2016): 901-913.

Sauer, Ursula G., et al. «Local tolerance testing under REACH: Accepted non-animal methods are not on equal footing with animal tests.» *Alternatives to laboratory animals: ATLA* 44.3 (2016): 281.

