

Presse-Information

Press release • Information de presse

Kontakt/Contact:

Dr. Kathrin Rübberdt
Tel. ++49 (0) 69 / 75 64 - 2 77
Fax ++49 (0) 69 / 75 64 - 2 72
e-Mail: presse@dechema.de

Pressegespräch anlässlich des Symposiums "Skin in Vitro" 9. Juni 2010, DECHEMA-Haus, Frankfurt am Main

Statement

Dr. Albrecht Poth

Harlan Cytotest Cell Research GmbH, Roßdorf

Über Harlan Cytotest Cell Research GmbH

Harlan Cytotest Cell Research GmbH (Harlan CCR) ist ein Auftragsforschungsunternehmen für die Arbeitsgebiete genetische Toxikologie, Alternative Toxikologie und Zellbiologie. Die Unternehmensgeschichte reicht bis in die frühen achtziger Jahre zurück, wobei sich das Unternehmen als „start-up“ aus der Technischen Universität Darmstadt ausgründete, sich als Cytotest Cell Research GmbH & Co KG weiterentwickelte und heute als operativer Teil des global tätigen Unternehmens Harlan Laboratories mit Sitz in USA fungiert. Seit 1989 ist der Sitz des Instituts in Rossdorf im Landkreis Darmstadt-Dieburg und verfügt derzeit über etwa 100 Mitarbeiter. Die Studien werden nach international anerkannten Prüfmethode durchgeführt und zur Erfüllung der gesetzlichen Anforderungen an die Sicherheit für Mensch und Umwelt. Harlan CCR führt diese Untersuchungen im Auftrag für die pharmazeutische, chemische, kosmetische und Medizinprodukte Industrie durch.

Sichtweise der Anwender auf das Thema Skin in Vitro

Die Alternative Toxikologie, die das Prinzip der 3R („Replace, Reduce, Refine“) einschließt, versucht mittels tierversuchsfreier Prüfmethode eine Vorhersage zu möglichen nachteiligen Effekten beim Menschen zu machen. Dies schließt die akute Toxizität, einschließlich der akut systemischen Toxizität, der Haut- und Augenreizung, der Sensibilisierung, aber auch die komplexeren Endpunkte, wie die systemische Toxizität nach wiederholter Gabe, die Reprotoxizität, sowie die Kanzerogenität mit ein. Für kosmetische Rohstoffe gilt seit März 2009 ein Verbot zur Durchführung von Tierversuchen für alle Endpunkte der akuten Toxizität und ab März 2013 voraussichtlich auch für die oben genannten komplexen Endpunkte. Auch die REACH-Chemikalien-Verordnung weist explizit darauf hin, dass Tierversuche nur dann durchgeführt werden sollen, wenn mit alternativen Methoden keine ausreichenden Aussagen zur Sicherheit des Menschen getroffen werden

können. Zur Bewertung aller genannten toxikologischen Endpunkte stehen in vitro-Modelle zur Verfügung, von denen allerdings nur wenige eine Validierung durchlaufen haben und für die somit eine europäische bzw. OECD-Richtlinie existiert. Hautzellen, isolierte Kadaverhaut bzw. Hautäquivalente werden zur Untersuchung von unterschiedlichen toxikologischen Endpunkten bei Harlan CCR eingesetzt.

Zur Ermittlung der Anfangsdosis innerhalb der akut systemischen Toxizitätsstudie können unter anderem normale primäre humane Keratinozyten (NHK) eingesetzt. Als biochemischer Endpunkt der Zelltoxizität wird Neutralrot, als Vitalfarbstoff, eingesetzt. Mit der ermittelten IC50 (Konzentration bei der 50% der Zellen geschädigt sind) wird die mögliche Anfangsdosis für die akut systemische Toxizität festgelegt. Durch diese Vorgehensweise kann die Zahl der Versuchstiere um die Hälfte reduziert werden. Diese Vorgehensweise wird bei der Zulassung von Chemikalien im Rahmen von REACH angewendet bzw. zur Bewertung der akut systemischen Toxizität für kosmetische Rohstoffe, für die seit März 2009 ein Tierversuchverbot für diesen toxikologischen Endpunkt existiert.

Für die Untersuchung der ätzenden Wirkung von chemischen Substanzen bzw. Formulierungen werden zwei validierte Methoden angewendet für die sowohl eine EU- als auch eine OECD-Richtlinie existiert. Je nach Prüfmethode werden isolierte Rattenhaut (OECD 430) bzw. humane Hautequivalente (OECD 431) eingesetzt. Als „read-out“ dient die Messung des transkutanen elektrischen Widerstandes bzw. die Bestimmung der Überlebensfähigkeit der Hautzellen mittels eines biochemischen Markers.

Zur Untersuchung der dermalen Irritation von chemischen Substanzen und Formulierungen können drei validierte Hautmodelle, Epidermismodelle, eingesetzt werden, die in einer EU Richtlinie zusammengefasst sind. Eine OECD-Richtlinie, die diese drei Hautmodelle einschließt, ist kurz vor der Veröffentlichung. Wie bei der Ätzwirkung wird auch hier die Überlebensfähigkeit der Hautzellen mittels eines biochemischen Markers bestimmt. Die Modelle können als vollwertiger Ersatz für den bisher eingesetzten Kaninchentest angesehen werden. Diese Alternativmethode wird für chemische Substanzen, kosmetische Rohstoffe und Formulierungen angewendet.

Diese Epidermismodelle können auch für andere Fragestellungen eingesetzt werden. Im Moment wird überprüft, ob diese Modelle herangezogen werden können, um eine Vorhersage zum möglichen genotoxischen Potential von chemischen Substanzen bzw. kosmetischen Rohstoffen machen zu können.

Diese Epidermismodelle werden bei Harlan CCR für die genannten toxikologischen Endpunkte angewendet. Bevor diese Systeme in der Routine eingesetzt werden können muss eine interne Validierung erfolgen, die mit in den Richtlinien genannten

Referenzsubstanzen durchgeführt wird. Erst nach erfolgreicher Validierung wird das System dann in der Routine eingesetzt. Wichtig ist es mit Herstellern zusammenzuarbeiten, die eine gleichbleibende gute Qualität der Hautäquivalente sicherstellen können, Grundvoraussetzung für robuste und zuverlässige Resultate. Auch der Transport vom Hersteller zum durchführenden Labor ist von Bedeutung. Längere Transportzeiten können zu einem maßgebenden Qualitätsverlust führen.

Humane Vollhautmodelle werden im Moment in der Routine bei Harlan-CCR nicht eingesetzt. Solche Modelle befinden sich noch in der Entwicklung und werden nur für „Screening“-Zwecke eingesetzt.

Für die Bestimmung der dermalen Penetration sind zwei OECD-Richtlinien (OECD 427 und 428) maßgebend. Die eine beschreibt die Bestimmung der dermalen Penetration im Tierversuch, die andere die Möglichkeit mittels isolierter Kadaverhaut. Bei Harlan CCR wird die in vitro-Variante routinemäßig angewendet, die mit isolierter Haut der Ratte, des Schweins bzw. des Menschen arbeitet. Mittels geeigneter analytischer Nachweismethoden wird die Menge an Substanz bestimmt, die durch die Haut penetriert bzw. die in der Haut verbleibt. Die in vitro-Methode wird im chemischen, pharmazeutischen und kosmetischen Bereich eingesetzt und deren Ergebnisse zur Risikobewertung herangezogen.

Harlan CCR arbeitet mit Wissenschaftlern und Vertretern von Industrie, Behörden und Tierschutzorganisationen zusammen, um neue Anwendungsgebiete zu identifizieren, zu entwickeln und zu validieren, die zur Reduktion oder zum Ersatz von Tierversuchen beitragen und aber auch darüber hinaus, die regulatorische Akzeptanz von Alternativmethoden bei der Bewertung der Produktesicherheit zu beschleunigen.