

set



Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen

Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen

Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt am Main
www.stiftung-set.de

Projekt

Neue Genotoxizitätsprüfungen am Phenion[®]-Vollhautmodell

Dr. Kerstin Reisinger
Phenion GmbH & Co. KG

September 2007 – August 2008

The logo for 'set' consists of the lowercase letters 'set' in a bold, sans-serif font. Below the letters are two vertical bars of horizontal lines. The left bar is blue and the right bar is pink. The lines in both bars are of varying lengths, creating a stepped effect.

Stiftung zur Förderung
der Erforschung von
Ersatz- und
Ergänzungsmethoden
zur Einschränkung von
Tierversuchen

Neue Genotoxizitätsprüfungen am Phenion®-Vollhautmodell

In-vitro-Genotoxizitätsprüfungen waren die ersten regulatorisch anerkannten tierversuchsfreien Alternativmethoden und sind seit langem im Einsatz. Sie verfügen allerdings über eine ungenügende Spezifität. So können DNS-schädigende Substanzen sehr gut (zu ca. 89%) als Mutagene identifiziert werden, aber ca. 75% der unbedenklichen Stoffe werden fälschlicherweise auch als Mutagene ausgelesen. Den erhaltenen *In-vitro*-Ergebnissen kann somit nicht vollends vertraut werden und zusätzliche *In-vivo*-Versuche müssen durchgeführt werden, um Befunde zu untermauern oder zu widerlegen.

Entsprechende Tierversuche untersagt der Gesetzgeber ab 2009 für die Abschätzung des genotoxischen Potentials von kosmetischen Inhaltsstoffen. Zudem wird durch die Änderung des Chemikalienrechtes eine Neubewertung von ca. 30.000 Altstoffen nötig. Viele dieser vor 1981 vermarkteten Substanzen müssen somit auch auf ihr genotoxisches Potential geprüft werden. Um Tierversuche zu vermeiden, erfordern beide Umstände dringend die Entwicklung neuer *In-vitro*-Methoden zur Genotoxizitätsprüfung mit verbesserter Vorhersagekraft,.

Die geringe Vorhersagekraft der Tests scheint zum einen dadurch verursacht zu sein, dass die entsprechenden Daten weniger an humanen Zellen erhoben werden. Vielmehr basieren entsprechende Testsysteme auf Bakterien-, Hamster-, Maus- oder Rattenzellkulturen. Zudem werden die verwendeten Zellen in einfachen Testsystemen kultiviert, so genannten Monolayer-Kulturen, die die Ausbildung charakteristischer Zelleigenschaften nicht ausreichend erlauben. Mit Hilfe der im Projekt zu entwickelnden neuen Verfahren soll diesen Umständen Rechnung getragen werden, indem mit einem seit Januar 2006 kommerziell erhältlichen Vollhautmodell zwei Genotoxizitätsprüfungen entwickelt werden sollen. Das Phenion®-Vollhautmodell erlaubt die wiederholte topische Applikation von Testsubstanzen, spiegelt die Barrierefunktion der nativen Haut wieder, die der Monolayer Kultur fehlt, und verfügt über den humanen hautspezifischen Fremdstoffmetabolismus.

Mit diesem *in-vivo*-nahen Testsystem soll zum einen ein Mikrokern-Test entwickelt werden, für dessen *In-vitro*-Variante mit Zelllinien bereits ein Entwurf für eine OECD-Richtlinie erarbeitet wurde. Er erlaubt die Detektion permanenter Schädigungen wie Chromosomendoppelstrangbrüchen oder Fehlverteilungen von Chromosomen während der Zellteilung. Zum anderen soll ein Protokoll für den Comet-Assay erarbeitet werden, einem sensitiven Indikator-Assay mit weit verbreiteter Anwendung, der eine ganze Reihe an DNS-Schädigungen detektiert, die transienten Charakter haben können. Empfehlungen zu methodischen Standards sind bereits von internationalen Expertengruppen veröffentlicht worden. Da beide Test unterschiedliche Arten an DNS-Schädigungen detektieren und gleichzeitig die Erhebung von Daten mit größerer biologischer Relevanz erlauben, könnten die neuen Verfahren die bestehenden *In-vitro*-Testbatterien sinnvoll ergänzen und bei erfolgreichem Projektverlauf zur Verminderung und idealerweise sogar zum völligen Verzicht auf Tierversuche führen.

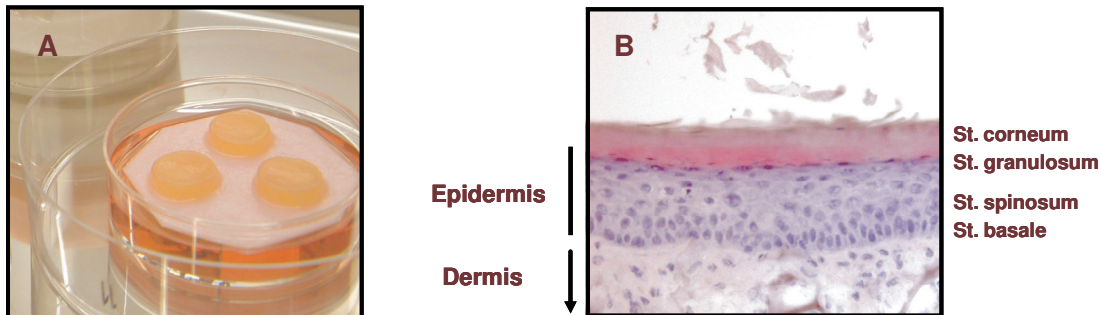


Abbildung: (A) Kultur des Phenion®-Vollhautmodells an der so genannten Luft-Flüssigkeit-Grenzfläche, die die Verhornung der obersten Haut-/Modellschichten erlaubt. (B) Querschnitt durch eine Hautmodell, das die charakteristische Schichtung nativer humaner Haut zeigt: Oberhaut (*Epidermis*) und Unterhaut (*Dermis*), letztere ist nur in Teilen abgebildet. Die Epidermis des Hautmodells ist vergleichbar der nativen humaner Haut durch vier Schichten charakterisiert: Hornschicht (*Stratum corneum*, Bildung erst mit Kontakt zur Luft möglich), *St. granulosum*, *St. spinosum*, und *St. Basale*.

Ausführende Institution:

Phenion GmbH & Co. KG
Merowinger Platz 1a
40225 Düsseldorf

Projektleiter:

Dr. Kerstin Reisinger

Stand Dezember 2008