

**Testung von Parabenen auf sensibilisierendes und zytotoxisches Potential im loose-fit coculture-based sensitization assay (LCSA)**

Anna Sonnenburg, Maximilian Schreiner\*  
Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin  
\*Bundeswehrkrankenhaus Berlin, Abteilung I

Parabene sind Ester der *p*-Hydroxybenzoesäure und werden als Konservierungsmittel in Kosmetik- und Pflegeprodukten eingesetzt. Epidemiologische Daten zeigen, daß Parabene Kontaktallergien auslösen können. Der 7. Zusatz zur EU Kosmetikdirektive verbietet ab 2013 in Europa die Markteinführung von Kosmetikprodukten, die im Tierversuch getestet wurden. Zur Erhebung quantitativer Daten bezüglich des kontaktsensibilisierenden Potentials der Parabene sind diese daher im *loose-fit coculture-based sensitization assay* (LCSA) getestet worden.<sup>1</sup>

Der LCSA besteht aus einer Kokultur primärer humaner Keratinozyten und in der Kultur aus mononukleären Zellen des peripheren Blutes (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) generierten Zellen, die morphologisch und funktionell den dendritischen Zellen ähneln (*dendritic cell-related cells*, DC-rc). Die Aktivierung dendritischer Zellen ist ein wichtiger Schritt in der Sensibilisierungsphase bei der Pathogenese einer allergischen Kontaktdermatitis. Aktivierte dendritische Zellen exprimieren CD86, welches im LCSA mit Hilfe der Durchflußzytometrie auf DC-rc bestimmt werden kann.<sup>2</sup>

Die Parabene mit eher kurzen Seitenketten wurden auf diese Weise als schwache Sensibilisierer eingestuft. Ab einer Seitenkettenlänge von vier Kohlenstoffatomen nahm das sensibilisierende Potential deutlich zu. Für die drei am häufigsten in Körperpflegeprodukten eingesetzten und daher auch in Patch-Tests enthaltenen Parabene, nämlich Methyl-, Ethyl- und Propylparaben (sowie das Isomer Isopropylparaben), stimmten demnach die Ergebnisse mit Literaturdaten aus epidemiologischen Studien überein.

Die wenigen klinischen Daten zu länger-kettigen Paraben stellen diese als nicht oder nur sehr schwach sensibilisierend dar. Begründet wird dies mit der Metabolisierung der Parabene durch Esterasen in der Haut und der daraus resultierenden geringen Konzentration der Muttersubstanzen in tieferen Hautschichten, die nur ca. 1 % der Ursprungskonzentration ausmacht. Das Hauptspaltprodukt, die *p*-Hydroxybenzoesäure, gilt selbst als nicht sensibilisierend. Cashman und Warshaw stellen fest, daß kurzkettige Parabene von Esterasen in Keratinozyten gespalten werden, während länger-kettige Parabene erst durch Esterasen im subcutanen Gewebe metabolisiert werden.<sup>3</sup> Dies könnte erklären, warum im LCSA trotz der Anwesenheit der meta-

bolisch aktiven Keratinozyten, länger-kettige Parabene als stärkere Sensibilisierer eingestuft werden, als kurzkettige. Möglicherweise findet zwar eine Metabolisierung der Parabene mit kurzen Seitenketten durch Keratinozyten-Esterasen statt, aber keine der länger-kettigen.

Pentylparaben stellte sich im LCSA als das Paraben mit der größten sensibilisierenden Potenz dar. Es war außerdem das am stärksten zytotoxische. Pentylparaben ist aufgrund seiner langen Alkylkette sehr lipophil, was ihm eine leichte Penetration durch die Plasmamembran von Zellen ermöglicht, was zu einem erhöhten Auftreten von Gefahr-signalen durch geschädigte Zellen führen könnte. McFadden und Basketter haben gezeigt, daß Substanzen mit stark sensibilisierender Wirkung oft auch irritativ wirken, und daß durch die Beschädigung von Zellen eine unspezifische Zytokinsekretion ausgelöst werden kann, die als Gefahr-signal dient, wodurch die Aktivierung der an der Sensibilisierung beteiligten Zellen vorangetrieben wird.<sup>4</sup> Es erscheint möglich, daß im Falle von Pentylparaben eine solche Überaktivierung der DC-rc im LCSA stattfindet.

**Fazit**

Der LCSA lieferte auch mit dieser Substanzgruppe recht robuste Ergebnisse. Diskrepanzen zu klinisch-epidemiologischen Daten können mit der naturgemäß in einem *in vitro*-Assay nicht ganz korrekt abgebildeten *in vivo*-Situation erklärt werden. Es konnte jedoch auch gezeigt werden, daß der LCSA durchaus in der Lage ist, die Situation *in vivo* nachzubilden, wenn die Testsubstanzen durch Enzyme in Keratinozyten metabolisiert werden, wie etwa die kurzkettigen Parabene, oder Gefahr-signale induzieren können, wie Pentylparaben.

(1) Sonnenburg, A. (2011) *Untersuchungen zur kontaktsensibilisierenden Wirkung von Konservierungsmitteln und topischen Antibiotika im LCSA (loose-fit coculture-based sensitization assay) und Ansätze zur Weiterentwicklung der Methode*. Masterarbeit im Rahmen des Masterstudienganges Toxikologie

(2) Schreiner M, Peiser M, Briechele D, Stahlmann R, Zuberbier T, Wanner R (2007) *A loose-fit coculture of activated keratinocytes and dendritic cell-related cells for prediction of sensitizing potential*. Allergy 62:1419-1428.

(3) Cashman AL, Warshaw EM (2005) *Parabens: a review of epidemiology, structure, allergenicity, and hormonal properties*. Dermatitis 16:57-66.

(4) McFadden JP, Basketter DA (2000) *Contact allergy, irritancy and 'danger'*. Contact Dermatitis 42:123-127.