

# NAMs in der regulatorischen Toxikologie

-

## Status quo und Ausblick

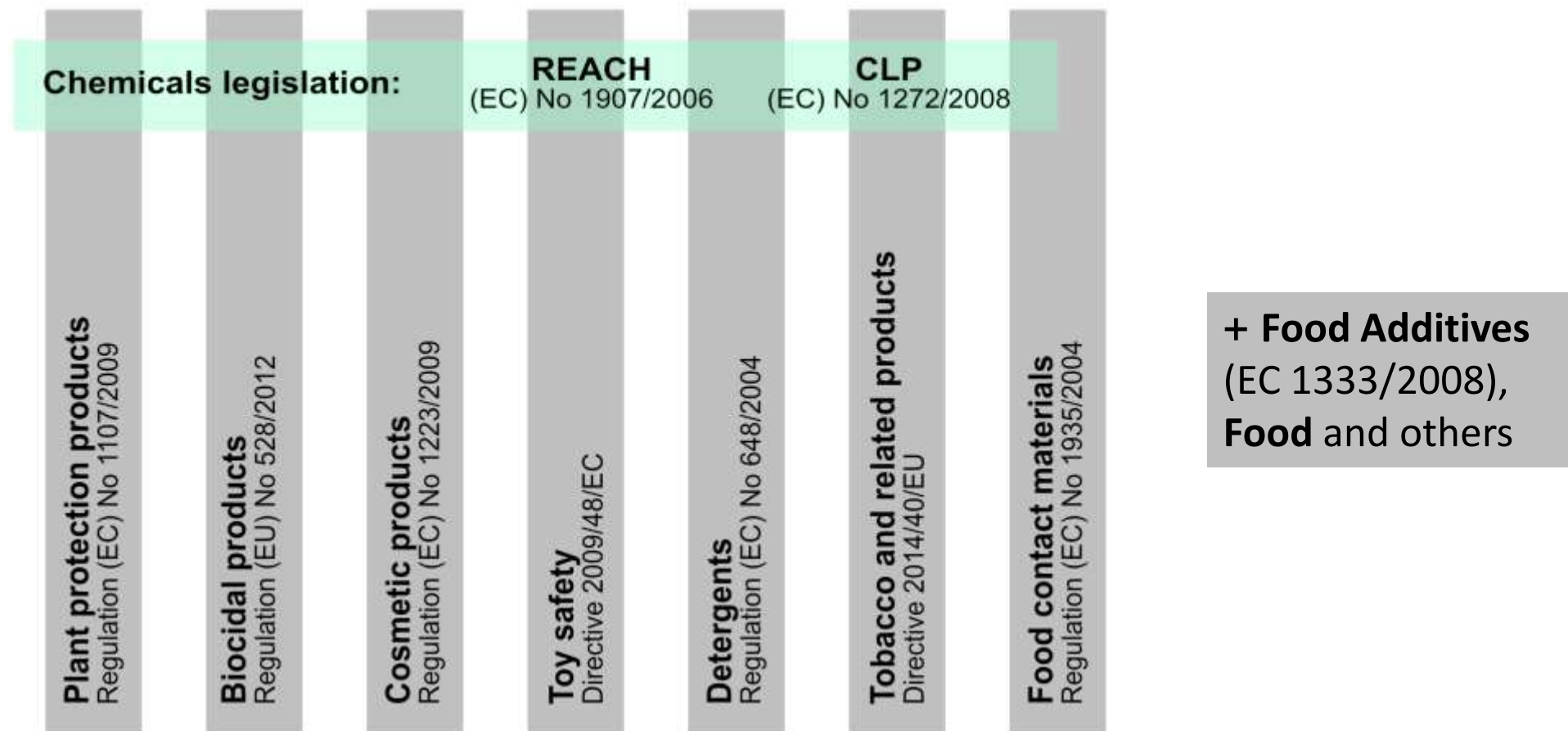


# Regulatorische Toxikologie

Weltweit derzeit  $\geq 350.000$  Chemikalien, Pestizide und Lebensmittelzusatzstoffe auf dem Markt  
+ ca. 2000/a...

Regulatorischer Anspruch: Von diesen Stoffen soll kein gesundheitliches Risiko ausgehen!

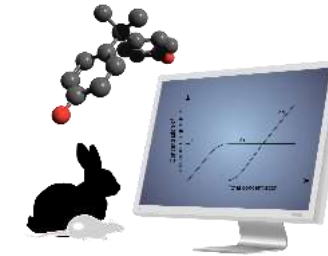
=> Toxikologische Bewertung in Abhängigkeit von der vorgesehenen Verwendung.



## Primäres Ziel: toxikologischer Gesundheitsschutz!

Die dafür herangezogenen Daten müssen

- klare Schlussfolgerungen bzgl. der potentiellen **Adversität in einem Organismus** erlauben,
- die Ermittlung von **Dosis-Wirkungsbeziehungen** ermöglichen,
- dem Anspruch der **Rechtssicherheit** genügen,
- auf **akzeptierten Tests** basieren
- und, zu guter Letzt, **vertrauenswürdig** sein (sowohl in Bezug auf Quelle, als auch hinsichtlich der Art und Verwendung).

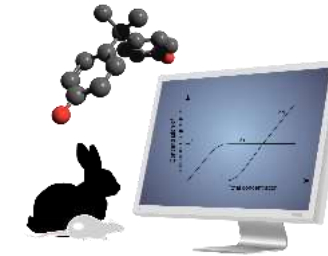


## Primäres Ziel: toxikologischer Gesundheitsschutz!

Die dafür herangezogenen Daten müssen

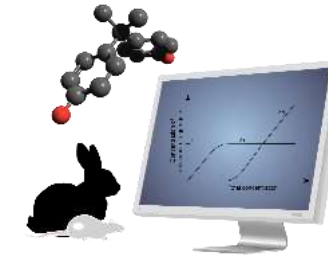
- klare Schlussfolgerungen bzgl. der potentiellen **Adversität in einem Organismus** erlauben,
- die Ermittlung von **Dosis-Wirkungsbeziehungen** ermöglichen,
- dem Anspruch der **Rechtssicherheit** genügen,
- auf **akzeptierten Tests** basieren
- und, zu guter Letzt, **vertrauenswürdig** sein (sowohl in Bezug auf Quelle, als auch hinsichtlich der Art und Verwendung).

=> **Bevorzugung weniger integrativer und standardisierter Testsysteme.**



Primäres Ziel: toxikologischer Gesundheitsschutz!

Die dafür herangezogenen Daten müssen



- klare Schlussfolgerungen bzgl. der potentiellen Adversität in einem Organismus erlauben,

- die Ermittlung von Dosis-Wirkungsbeziehungen ermöglichen,

- dem Anspruch der Rechtssicherheit genügen,

- auf akzeptierten Tests basieren

- und, zu guter Letzt, vertrauenswürdig sein (sowohl in Bezug auf Quelle, als auch hinsichtlich der Art und Verwendung).

**Vorteile:**  
a) Etablierte Methoden,  
b) harmonisierter legislativer Rahmen,  
c) gewachsener Erfahrungsschatz,  
d) hohes Vertrauen in die Ergebnisse,  
e) wissenschaftlich-rechtliche Zuverlässigkeit.



=> Bevorzugung weniger integrativer und standardisierter Testsysteme.

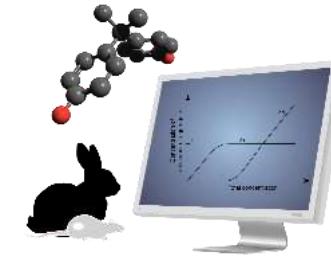
Primäres Ziel: toxikologischer Gesundheitsschutz!

Die dafür herangezogenen Daten müssen

- klare Einflussfaktoren bzgl. der potentiellen Adversität in einem Organismus erlauben,
- die Ermittlung von Dosis-Wirkungsbeziehungen ermöglichen, dem Anspruch der Rechtsprechung gerecht zu werden,
- auf akzeptierten Testverfahren basieren und ermöglichen, Verhaltenstoxizität, ED, Epigenetik....).
- und, zu guter Letzt vertrauenswürdig sein (sowohl in Bezug auf Quelle, als auch hinsichtlich der Art und Verwendung).

=> Bevorzugung weniger integrativer und standardisierter Testsysteme.

**Nachteile:**  
a) Kapazitätsprobleme: > 350.000 Substanzen, stetig steigend.  
b) Nicht alle Fragestellungen, stetig steigend adressierbar (z. B. Verunreinigungen, Mischungen, ggf. auftretende Niedrigdosiseffekte, Neuro- und Verhaltenstoxizität, ED, Epigenetik....).  
c) Etwaige Speziespezifitäten (Metabolismus/Mikrobiom).  
d) Ethik/gesellschaftliche Erwartungen.



# Regulatorische Toxizitätstestung - *Status Quo*



## Pestizide & Biozide:

Harmonisierte Testrichtlinien (OECD, EU),  
überwiegend *in vivo*, mechanistische Daten nur als  
“add-on”.



## Lebensmittelzusatzstoffe & Futtermittel:

Überwiegend *in vivo*, ergänzt durch PBTK-Modelle  
Und TTC-basierte Bewertungen

## Verbraucherprodukte & Kontaminanten:

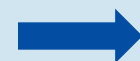
Durchwachsen (REACH, produktspezifische Regelungen, ALARA)

Sonderfälle: Kosmetika, Nanopartikel, EDCs, Mischungen ...



## REACH & CLP:

Harmonisierte Testrichtlinien, überwiegend *in vivo*,  
mechanistische Daten nur als “add-on”  
bzw. in Einzelfällen zur Begründung von “read  
across”.



## Gleichzeitig:

- Druck *in vivo* Tests zu reduzieren, z. T. mit politischen Terminsetzungen (2025, NL; 2035, US-EPA).
- Weiterentwicklung und Anwendung alternativer Testsysteme im akademischen Kontext.

# Risikobewertung – was und warum?

*“Dosis sola facit  
venenum!”*

(Nur die Dosis macht das  
Gift!)

Die Giftigkeit einer Substanz  
wird allein durch die Höhe  
der Exposition bestimmt!



Theophrastus von  
Hohenheim  
(Paracelsus)  
(1493-1541)

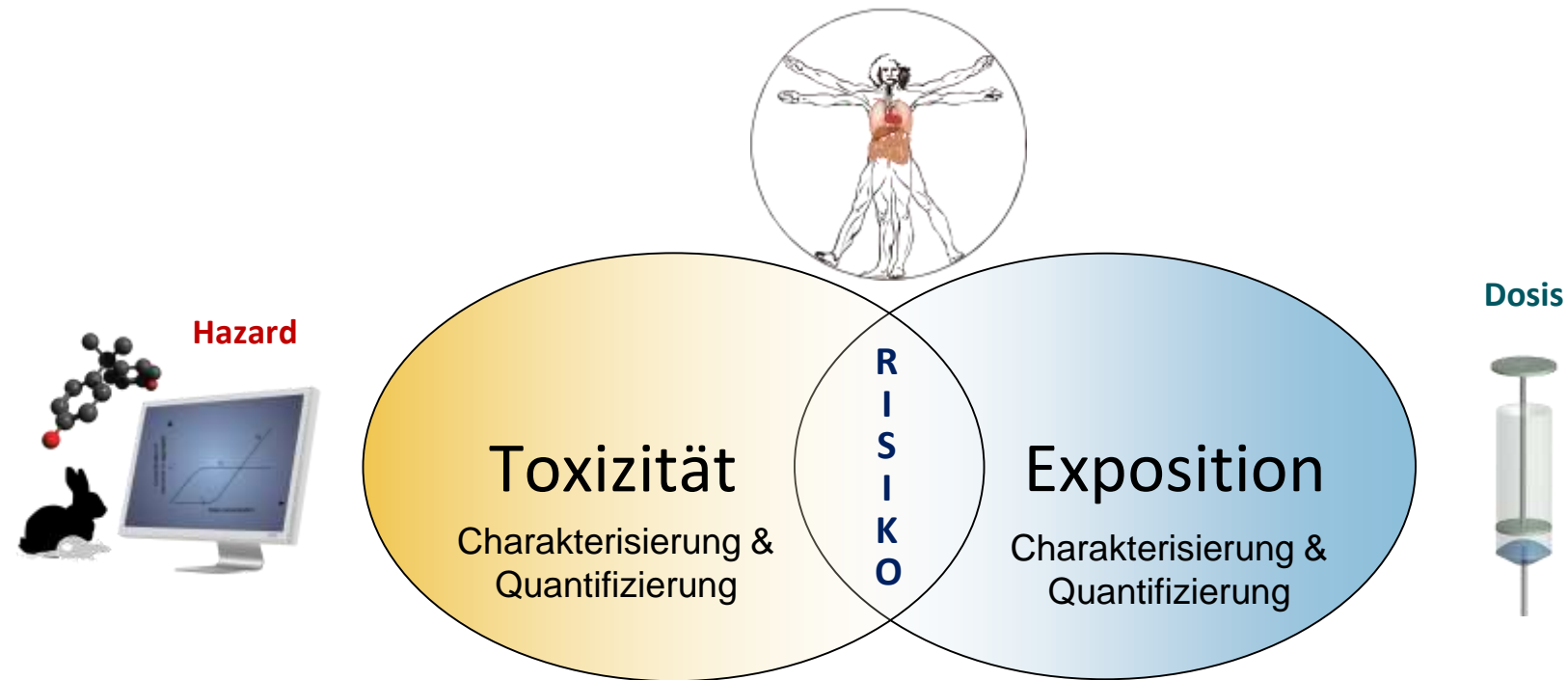
Anonymous copy of a  
portrait by Q. Massys,  
Louvre, Paris



Quelle: BfR, Fachgruppe Presse- und Öffentlichkeitsarbeit

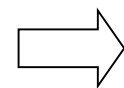


# Risikobewertung – was und warum?



Welche Wirkung hat der Wirkstoff bzw. das Mittel?

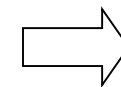
Ab welcher Konzentration kann eine Wirkung eintreten?



Toxikol. Referenzwerte  
(ADI, ARfD, AOEL)

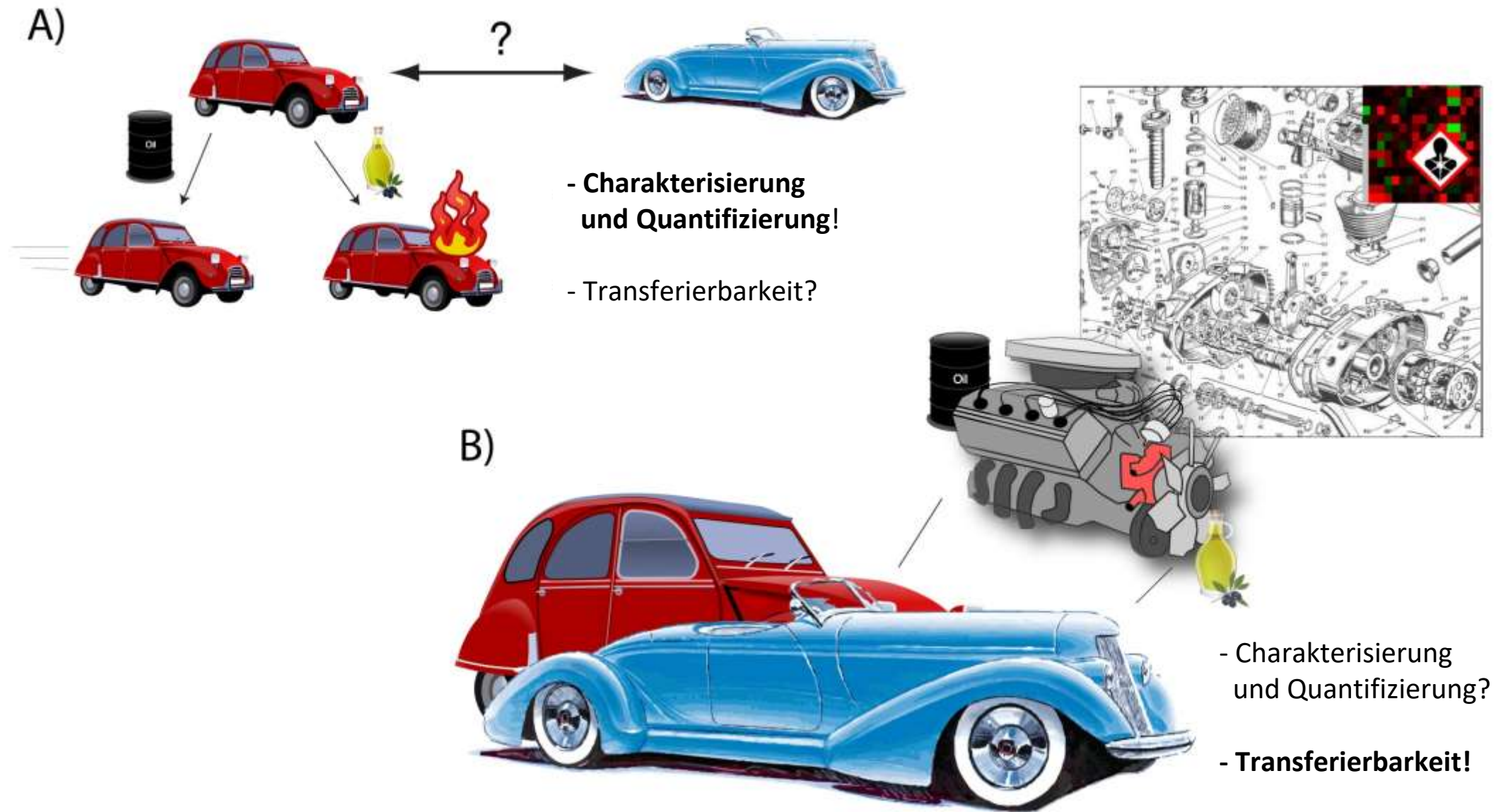
Wie hoch ist die Exposition für Anwender ....?

Wieviel von der Substanz in Frage kommt beim Verbraucher maximal an?



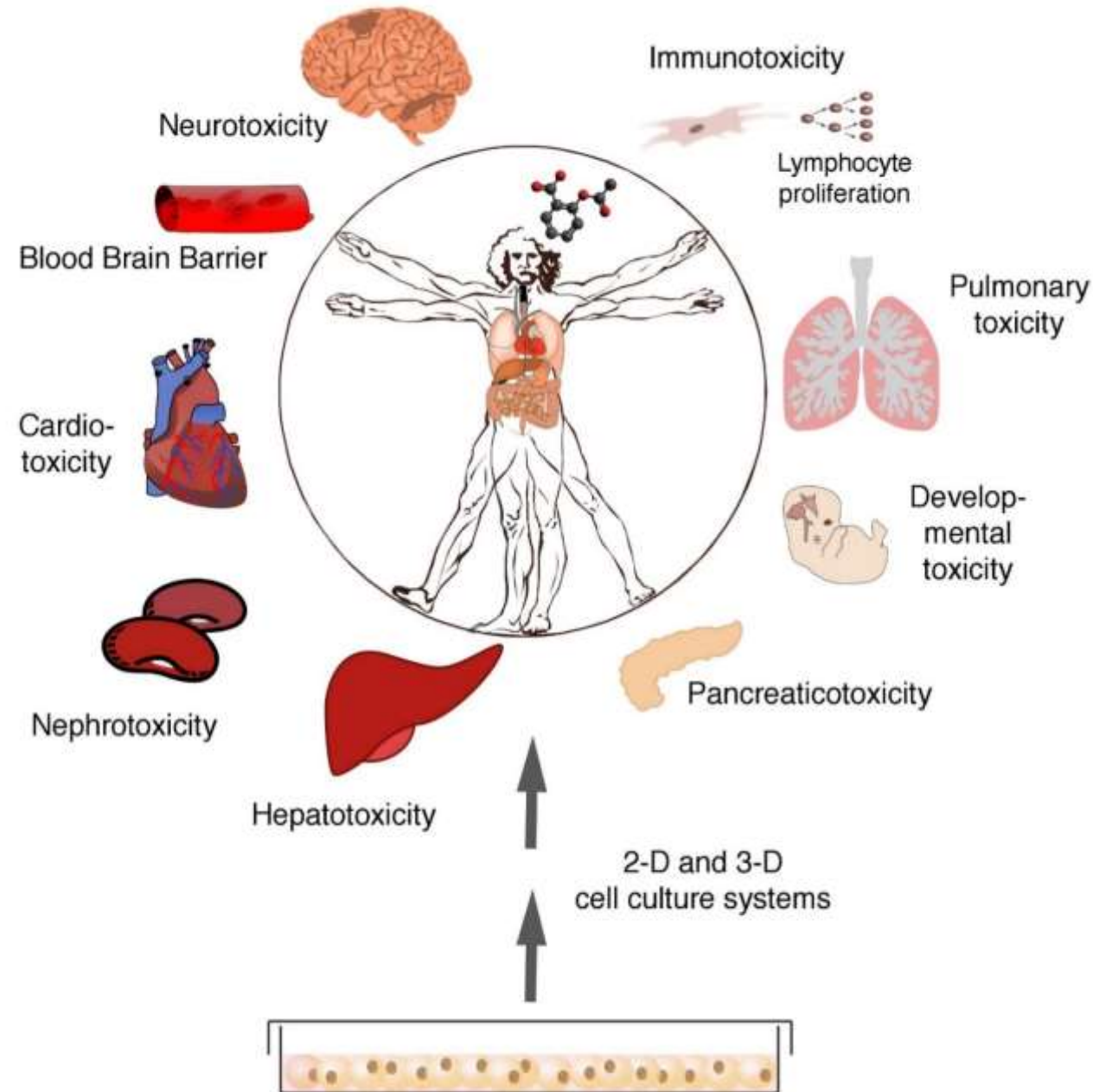
Meßdaten, Modelle, Schätzungen

# Toxizität und NAMs



Adapted from Tralau & Luch, Arch. Toxicol. 2015, 89: 819-21

# Herausforderung Charakterisierung und Quantifizierbarkeit



## Assays für $\geq 600$ (molekulare)

### Endpunkte:

- Molekular & biochemische Assays
- Zelllinien
- Primärzellen
- Komplexere Systeme

### Außerdem:

- *in silico* Ansätze und Modelle,
- Organoide Systeme und
- erweiterte *in vivo* Daten.

### ⇒ a) Kinetik und Stoffwechsel?

- externe/interne Dosis
- Dosis Zielorgan
- Stoffwechsel Zielorgan

### b) Übersetzung in Adversität?

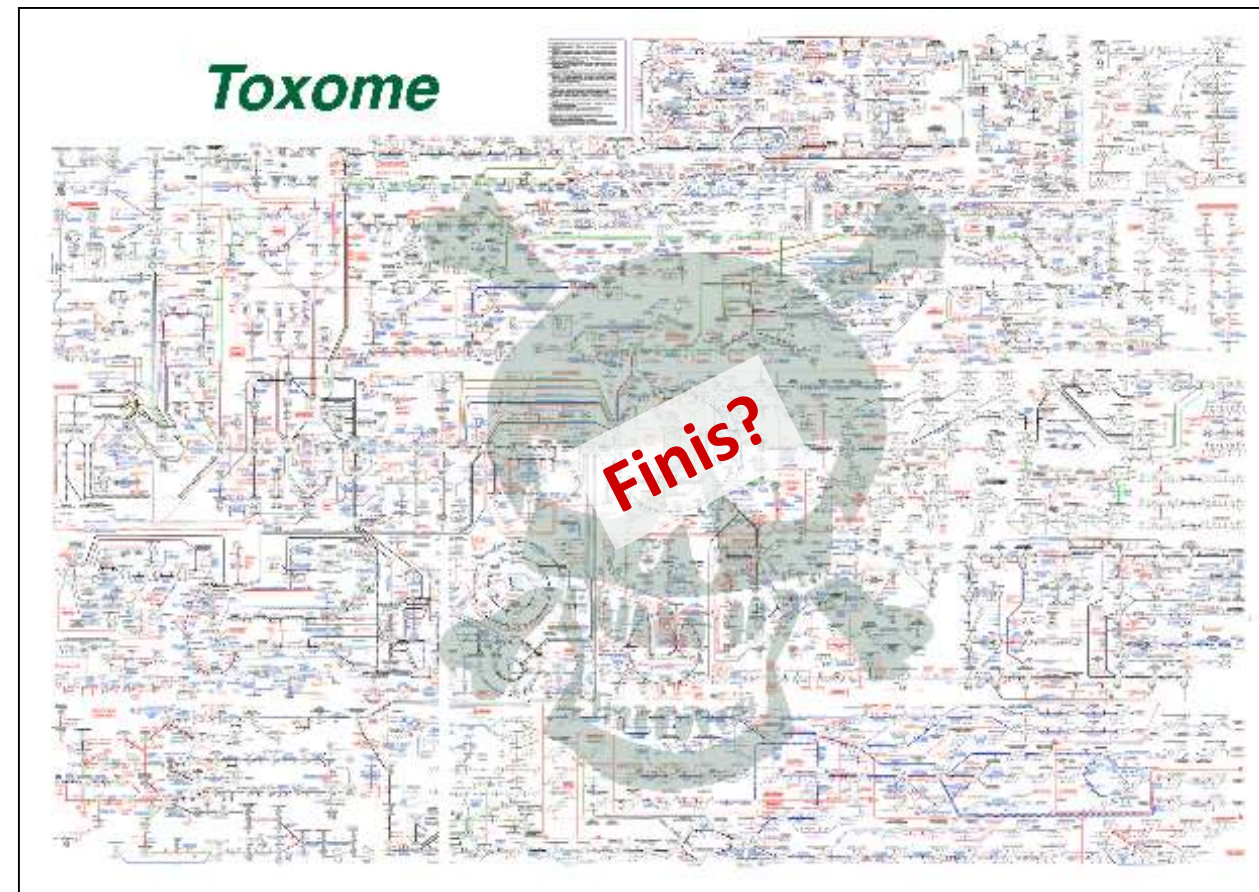
- Effekt Zielorgan
- Effekt Organismus

Adapted from Tralau & Luch, TiPS 2012, 33: 353-64

## Quo vadis?

---

Um NAMs regulatorisch gleichwertig zu “klassischen” Endpunkten einzusetzen wäre die Kenntnis des gesamten Toxoms notwendig, also der Gesamtheit aller toxikologisch relevanten Stoffwechselwege, inklusive aller Kinetiken.

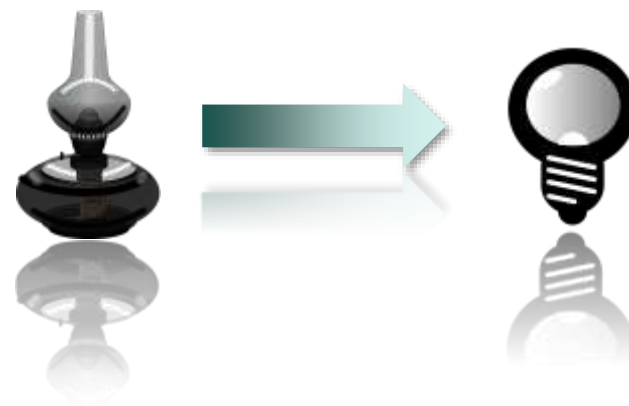


# Was können mechanistische Daten leisten?

---

## Mechanistische Daten können

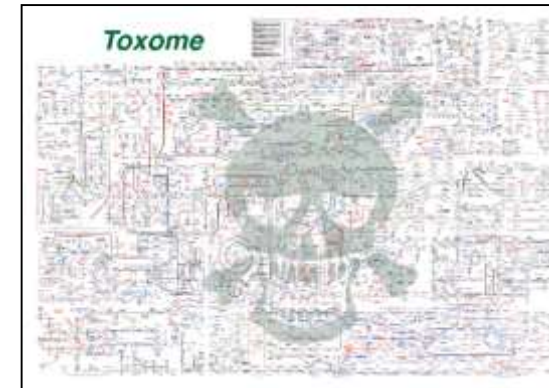
- Zielmoleküle und –stoffwechselwege identifizieren,
- das Potential für entsprechende Wechselwirkungen quantifizieren,
- ggf. Substanzen ohne Effekt aufzeigen,
- Biomarker identifizieren,
- genutzt werden um integrative modulare Testsysteme zu entwerfen,
- i. d. Regel zwar nicht vergleichbar integrativ sein wie *in vivo*-Daten,
- durchaus aber genutzt werden auch komplexere adverse Zusammenhänge “auszulesen”.



# Reduktion der Komplexität

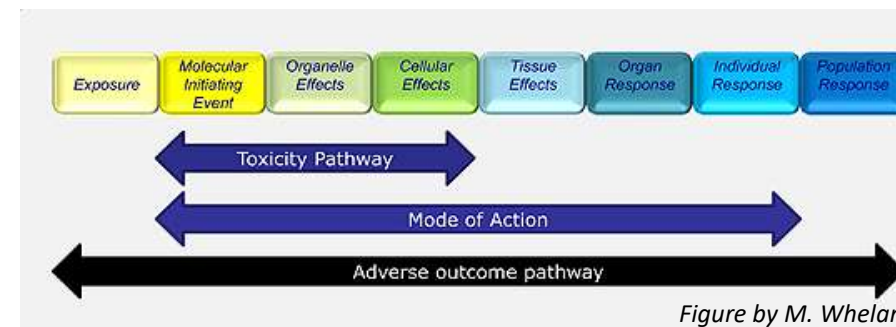
## “Relevant Pathways of Toxicological Concern”

*Entity of pathways with the potential for adversity, the network of which leads to the “toxome”*



## “Adverse Outcome Pathways”

*Identification of endpoint-specific events & signalling cascades suitable to define adverse outcome*



## Per Definitionem

Ankley *et al.*, Environ. Toxicol. Chem. 2010, 29: 730-41; Villeneuve *et al.*, Toxicol. Sci. 2014, 142: 312-20

- informativ,
- nicht chemikalienspezifisch,
- integrativ hinsichtlich der der Adversität zu Grunde liegenden Prozesse (*in silico*, *in vitro* und *in vivo*),
- modular und erweiterbar.

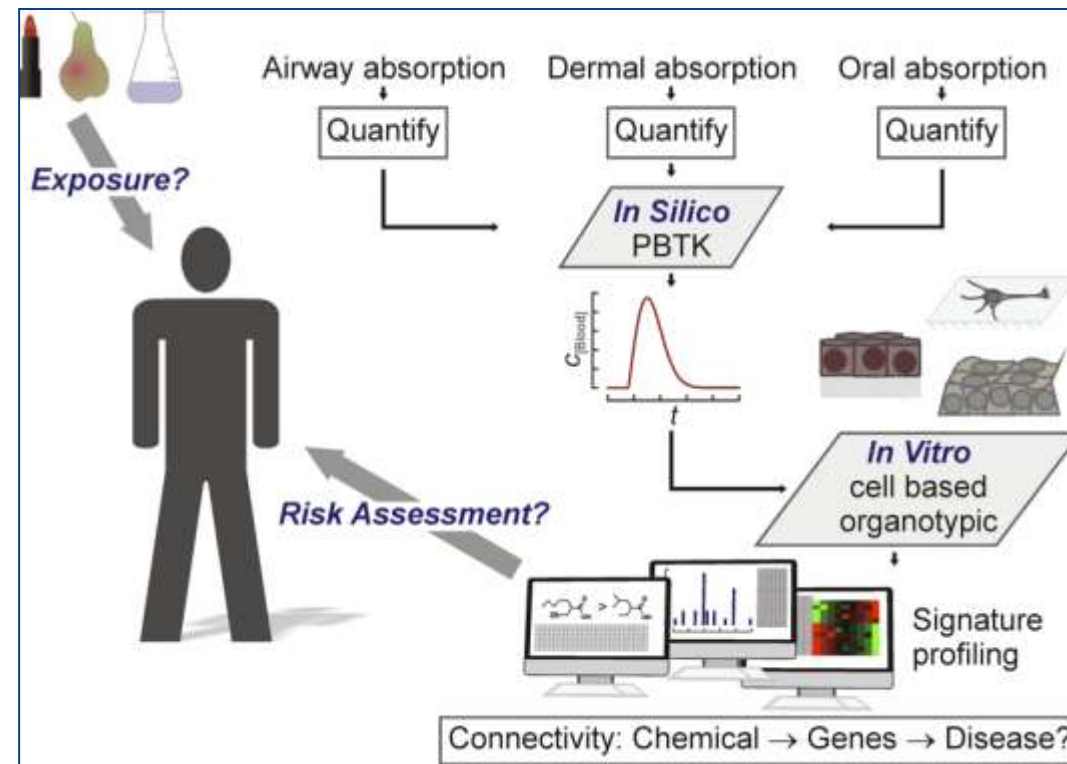
## In der Praxis

- eine Sammlung verschiedener Stoffwechselwege, Signalkaskaden und Mechanismen,
- einfach gehalten,
- damit häufig nur mehr oder weniger universell für einen bestimmten Endpunkt und
- häufig nur nach weiterer Validierung und Integrierung nutzbar.

## Für regulatorische Nutzbarkeit

- erforderlicher Bezug zu einem relevanten Endpunkt,
- Beschreibung über “key events” (KEs) hinaus und Vernetzung mit anderen AOPs,
- idealerweise “advers integrative“ KEs und Möglichkeit zur Quantifizierung der Effekte (qAOPs).

# Idealziel: der Toxtest-Dummy



Tralau et al., EHP 2012, 120: 1498-94

**Wissenschaftlich können “state of the art”-NAMs (*in silico*, *in vitro*, “omics”...) Aspekte von Organtoxizität und, mit Einschränkungen, auch chronischer Toxizität adressieren.** Bei komplexeren Endpunkten bestehen aber häufig **Einschränkungen hinsichtlich Stabilität und Komplexität** sowie in Bezug zur Extrapolierbarkeit von *in vitro* zu *in vivo*.

**Nicht leistbar** ist die **1:1-Ableitung akzeptierter gesundheitlicher Referenzwerte**. Bisherige Anwendungen bedienen daher in der Regel Cut-Off Kriterien oder qualitative Einordnungen. Eine weitere mögliche Lösung wäre die Verwendung probabilistischer Ansätze.



# NAMs – regulatorische Nutzbarkeit (Status Quo/potentiell)

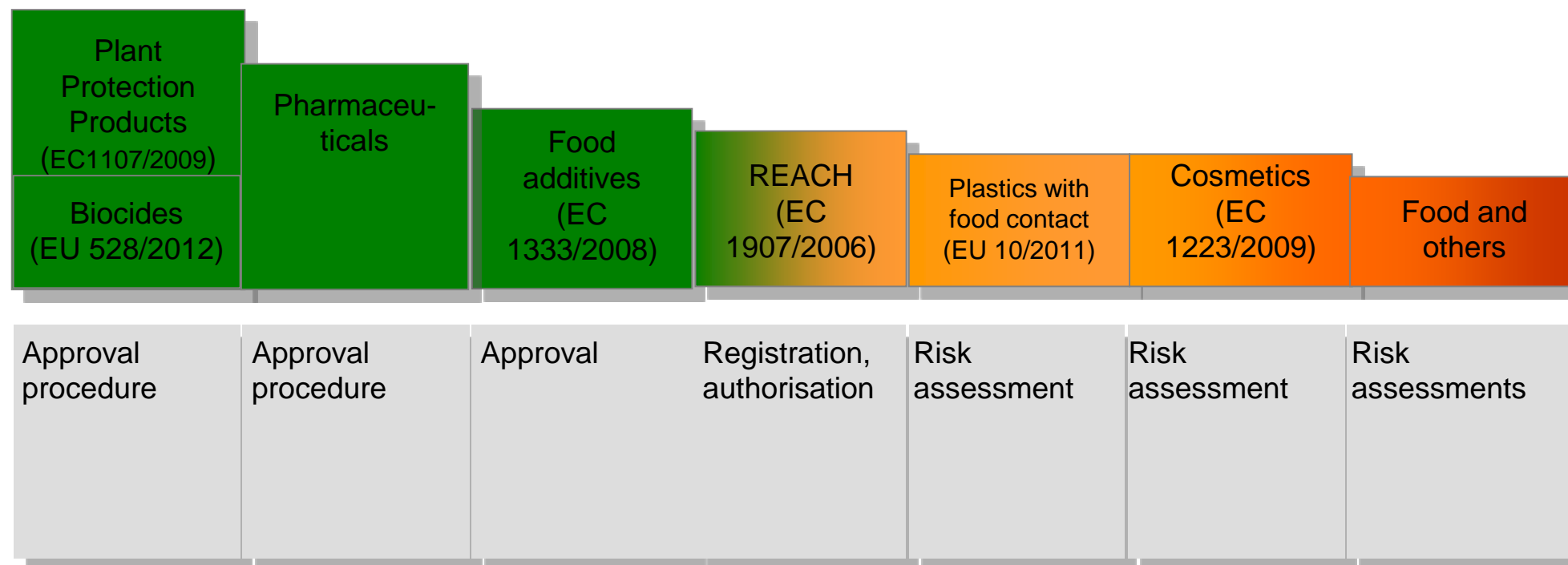
---

- Biomarkeridentifikation
- Begründung von “read across”
- Hazardscreening & -identifizierung sowie Priorisierung von Substanzen
- Ausschluß & Einschränkung von Risiken/weiterer Testung (z. B. Genotoxizität, Hautätzung)
- Einstufung (z. B. Hautätzung und -reizung)
- Als Bestandteil von Teststrategien (z. B. “tier 1 for endocrine disruption”)
- Aspekte bestimmter Organtoxizitäten (z. B. 3D-Hautmodelle)
- Genotoxizitätsvorhersagen und –alerts *in silico*
- Modellierung kinetischer Aspekte und interner Exposition (*in vivo* & *in vitro*)
- Komplexe Endpunkte, ganz oder in Teilen (z. B. Sensibilisierung, Immunotox, Neurotox)

# NAMs – legale Hürden

Regulatorischer Hintergrund:

Die toxikologische Betrachtung von Stoffen und Chemikalien erfolgt in fest umrissenen rechtlichen „Silos“ mit klar vorgegebenen Anforderungen bezüglich Datentiefe und Testanforderungen.



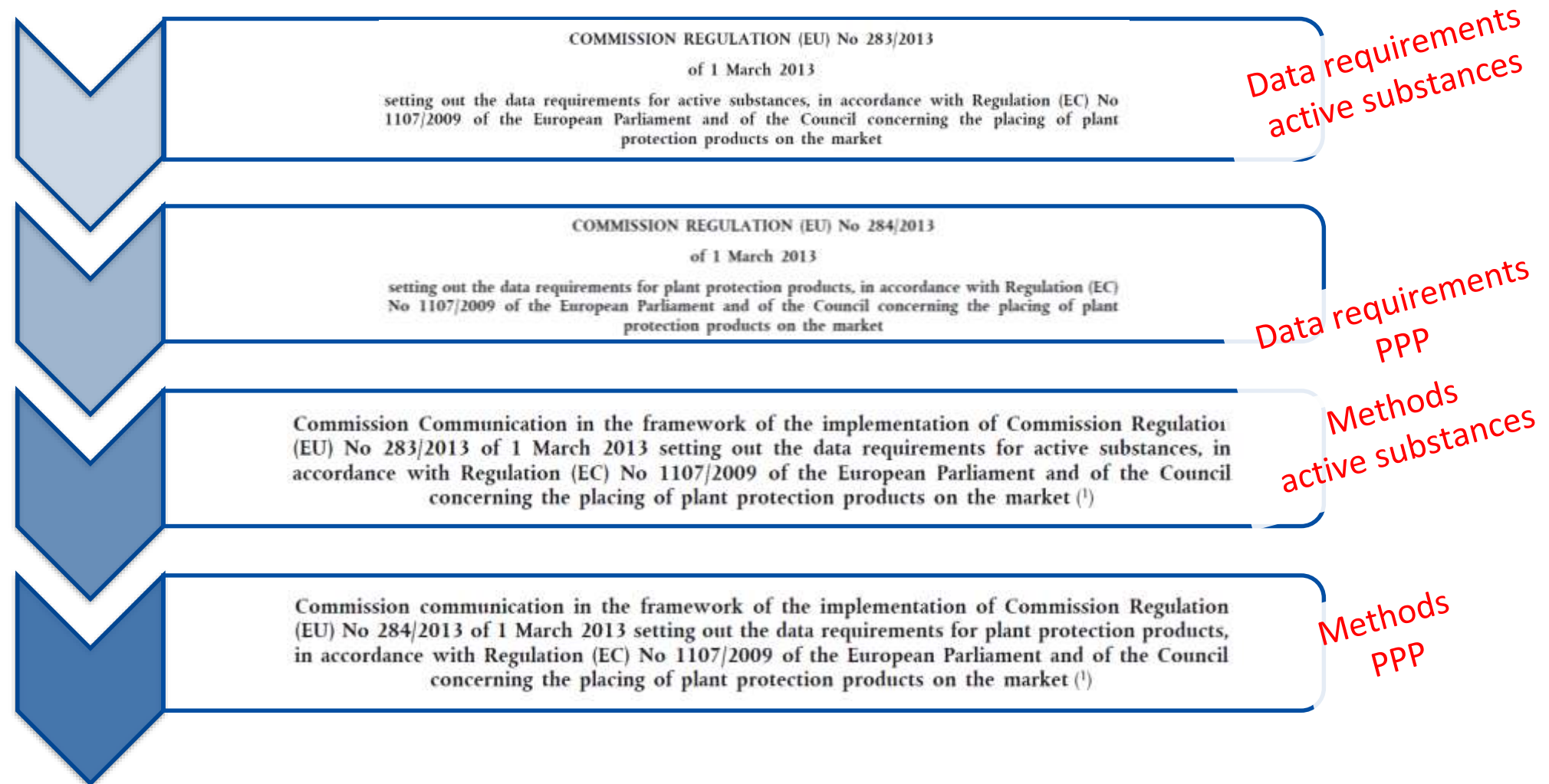
Courtesy of P. M. Stölting

# NAMs – legale Hürden, Beispiel Pflanzenschutz

---



# NAMs – legale Hürden, Beispiel Pflanzenschutz



**Bisher lassen diese Anforderungen eine Verwendung von NAMs nur sehr eingeschränkt zu!**  
Die notwendigen Änderungen sind aufgrund des internationalen Rahmens (DE, EU, OECD, GHS, ...) in der Abstimmung komplex und zeitaufwändig.

=> Aussicht auf Erfolg nur bei entsprechender Stimmigkeit und Vorarbeit.

# NAMs – regulatorischer Ausblick

---

## (Regulatorische) Akzeptanz

- **Wissenschaftliche Einsetzbarkeit & Validierung ≠ Akzeptanz!** Akzeptanz ist das Vertrauen in die Methode und das daraus resultierende Gefühl für ihre Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit. => verblindete “proof-of-concept”-Studien & Adressierung von “skill-gaps”.

## Adversität & Plastizität

- Notwendigkeit zelluläre und molekulare “readouts” in **skalierbare oder probabilistische Aussagen** zu überführen.
- **Adversität in Teilen neu zu denken** (Biomarker vs. Histopathologie).
- Identifizierung des **sensitivsten Endpunktes/AOPs?**
- Wie mit **Plastizität** umgehen? Biomarker für den ‘**point-of-no-return**’?
- Bessere Korrelation *in vitro/in vivo*.

## Testsysteme

- “Fit-for-purpose”, hinreichend komplex und validierbar!

## Validierung

- Überdenken – „performance“-basierte Ansätze, validieren wir gegen die richtigen “Goldstandards”?

# NAMs – regulatorischer Ausblick

---

## (Regulatorische) Akzeptanz

- **Wissenschaftliche Einsetzbarkeit & Validierung ≠ Akzeptanz!** Akzeptanz ist das Vertrauen in die Methode und das daraus resultierende Gefühl für ihre Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit. => verblindete “proof-of-concept”-Studien & Adressierung von “skill-gaps”.

## Adversität & Plastizität

- Notwendigkeit zelluläre und molekulare “readouts” in **skalierbare oder probabilistische Aussagen** zu überführen.
- **Adversität in Teilen neu zu denken** (Biomarker vs. Histopathologie).
- Identifizierung des **sensitivsten Endpunktes/AOPs?**
- Wie mit **Plastizität** umgehen? Biomarker für den ‘**point-of-no-return**’?
- Bessere Korrelation *in vitro/in vivo*.

## Testsysteme

- “Fit-for-purpose”, hinreichend komplex und validierbar!

## Validierung

- Überdenken – „performance“-basierte Ansätze, validieren wir gegen die richtigen “Goldstandards”?

# “Fields of action“

- **Aktive** Unterstützung der **Entwicklung & Anwendung NAM-basierter Ansätze**. Diesbezügliche Förderung des Austausches zwischen Regulatoren, akademischer Forschung und Industrie.
- **Fokus** auf das **was benötigt wird** und **was realistisch leistbar ist**.
- Praktische und konzeptionelle **Arbeiten zur Identifizierung und Anwendung NAM-basierter Marker und Konzepte**. Etablierung relevanter **Marker für Adversität vs. Plastizität bzw. molekularem Hintergrund**. Ausloten **deterministischer vs. probabilischer Herangehensweisen**.
- Systematische **(Re-)Evaluierung der Leistungsfähigkeit bestehender Tests** im Vergleich zum NAM-basierten State of the Art **als Entscheidungsgrundlage** für Methodenauswahl und Weiterentwicklung.
- Durchführung von **Fallstudien** und Hinterfragen möglicher **“Goldstandard“-Bias**.
- Entwicklung **“performance“-basierter Validierungskonzepte**.
- **Methodenoffene Endpunktdefinition/Definition molekularer Endpunkte!**

# “Fields of action“

- **Aktive Unterstützung der Entwicklung & Anwendung NAM-basierter Ansätze.** Diesbezügliche Förderung des Austausches zwischen Regulatoren, akademischer Forschung und Industrie.
- **Fokus auf das was benötigt wird und was realistisch leistbar ist.**
- Praktische und konzeptionelle **Arbeiten zur Identifizierung und Validierung NAM-basierter Marker und Konzepte.** Etablierung relevanter Marker für **Adversität vs. Plastizität bzw. molekularem Hintergrund.** Ausloten **deterministischer vs. probabilistischer Herangehensweisen.**
- Systematische **(Re-)Evaluierung der Leistungsfähigkeit bestehender Tests** im Vergleich zum NAM-basierten State of the Art als Entscheidungsgrundlage für **Methodenauswahl und-Weiterentwicklung.**
- Durchführung von **Fallstudien** und Hinterfragen möglicher **“Goldstandard“-Bias.**
- Entwicklung **“performance“-basierter Validierungskonzepte.**
- **Methodenoffene Endpunktdefinition/Definition molekularer Endpunkte!**

**Regulatorische Forschung!**

⇒ a) Kinetik und Stoffwechsel?

- externe/interne Dosis
- Dosis Zielorgan
- Stoffwechsel Zielorgan

b) Übersetzung in Adversität?

- Effekt Zielorgan
- Effekt Organismus





Consumer health protection to go  
**BfR2GO – the BfR Science Magazine**

[bfr.bund.de/en/science\\_magazine\\_bfr2go.html](http://bfr.bund.de/en/science_magazine_bfr2go.html)

Follow us

-  @bfrde | @bfren | @Bf3R\_centre
-  @bfrde
-  [youtube.com/@bfr\\_bund](https://www.youtube.com/@bfr_bund)
-  [social.bund.de/@bfr](https://social.bund.de/@bfr)
-  [linkedin.com/company/bundesinstitut-f-r-risikobewertung](https://www.linkedin.com/company/bundesinstitut-f-r-risikobewertung)