

Allergen-Beurteilung von Stoffen und Produkten ex vivo

- hier: – HLT
– LST/LTT
– Basophilen-Degranulation

HLT = Histamin-Liberations-Test

Der HLT dient der Beurteilung möglicher Sofort-Reaktionen bei Kontakt mit Allergenen oder Pseudo-Allergenen. Stoffe, die in Verdacht stehen, eine Histamin-Liberation bei Mediator-Zellen wie Mastzellen (im Gewebe) oder Basophilen Granulozyten (im Blut) auszulösen können auf diese Weise ex vivo geprüft werden. Bei Allergenen liegt in der Regel bereits eine Sensibilisierung (anaphylaktische Reaktionsbereitschaft) vor. Bei Pseudo-Allergenen handelt es sich um die erhöhte Reaktivität (anaphylactoid) auch ohne spezifische Sensibilisierung. Hierzu werden angereicherte Basophile aus dem frisch entnommenen Blut von Allergikern (Atopiker IgE > 1000 IU) und Kontrollpersonen (Normergiker IgE < 100 IU) verwendet und nach kurzer Inkubation mit dem zu prüfenden Stoff das sezernierte Histamin gemessen. Neben frischen Basophilen Granulozyten wird auch die HMC-1-Zelllinie verwendet.

F. Diel, B. Neidhart and W. Oprée: Application of rat mast cell incubates as a possible shorttime test for sensitizing occupational chemicals. *Int. Arch. Occupat. Hlth.* 48/4 (1981) 369-373

LST/LTT = Lymphozyten-Stimulationstest/Lymphozyten-Transformationstest

Beim LST/LTT werden die immunogenen Langzeitwirkungen ex vivo beurteilt und der Einfluß von Stoffen auf die Lymphozytentransformation. Diese Messungen dienen der Beurteilung der Stoff-Wirkung auf das menschliche Abwehrsystem (Immunogenität) und damit auch dem allergenen Potential.

Hierzu werden beim LST periphere Blut- Monozyten (PBMC) angereichert und so stimuliert, dass sich Lymphozyten anreichern. (In der Regel 3-Tage-Kulturen.) Die Proliferation wird im LST mittels MTT-Test (mitochondriale Enzymaktivität), im LTT mittels Thymidin-Einbau in die DNA gemessen. Hinzu kommt die Bestimmung wichtiger Zytokine und Zytokin-abhängiger Signal-Transduktionswege. Neben frischen PBMC werden auch Lymphozyten-Zelllinien verwendet.

F. Diel, B. Horr, H. Savtchenko, T. Mitsche, E. Diel: Pyrethroids and Piperonyl-butoxide (PBO) affect human T-Lymphocytes *i n v i t r o*. *Tox. Letters* 107 (1999) 65-74

F. Diel, B. Horr, H. Borck, T. Irman-Florjanc: Pyrethroid insecticides influence the signal transduction in T helper lymphocytes from atopic and nonatopic subjects. *Inflamm Res* 52 (2002) 154 –163

Basophilen-Degranulation

Der Basophilen-Degranulations-Test dient ebenfalls der Beurteilung von Sofort-Reaktionen gegen einen Stoff mit allergenem oder pseudoallergenem Potential.

Hier wird ähnlich wie beim HLT der zu prüfende Stoff kurzzeitig (20 -30 min) mit frisch angereicherten Basophilen Granulozyten inkubiert und die Zell-Zerstörung (Degranulierung) unter dem Licht-Mikroskop gemessen. Ausstriche und Farbreaktionen in der panoptischen Methode werden ebenfalls angewandt.

Es werden sowohl frische Mediatorzellen als auch HMC-1-Zellen verwendet.

F. Diel, M. Detscher, B. Schock and M. Ennis: *I n v i t r o* effects of the pyrethroid S-bioallethrin on lymphocytes and basophils from atopic and non-atopic subjects. *Allergy* 53 (1998) 1052 – 1059