Insights into skin toxicity assessment and prediction techniques

Skin toxicity assessment

[Dermal toxicity](https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/skin-toxicity)  is the ability of a substance to cause local reaction and/or systemic poisoning in people or animals by contact with the skin.

พิษต่อผิวหนัง คือ ความสามารถของสารที่ทำให้เกิดความพิษเฉพาะที่และ/หรือความเป็นพิษต่อทั้งระบบในมนุษย์หรือสัตว์โดยได้รับผ่านทางผิวหนัง

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128014066000078>

1. skin irritation test หลักการ และทำอย่างไร

เป็นการเกิดความเสียหายต่อผิวหนังโดยการได้รับการทดสอบสารเค**มีเป็นเวลา 4 ชั่วโมง** โดยการระคายเคืองผิวหนังเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเพียงไม่นานหลังจากถูกกระตุ้น สาเหตุจากการเกิดการอักเสบเฉพาะที่ประกอบไปด้วยระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดของผิวหนัง ลักษณะสำคัญคือการที่เกิดเกิดการอักเสบแบบย้อนกลับได้ โดยมีอาการเช่น แดง บวม คันและปวด ทดสอบได้ใน vitro and vivo

<https://joint-research-centre.ec.europa.eu/eu-reference-laboratory-alternatives-animal-testing-eurl-ecvam/alternative-methods-toxicity-testing/validated-test-methods-health-effects/skin-irritation/skin-irritation-skinethic-skin-irritation-test-sit_en>

The production of reversible damage to the skin following the application of a test chemical for up to 4 hours. Skin irritation is a locally arising reaction of the affected skin tissue and appears shortly after stimulation (38). It is caused by a local inflammatory reaction involving the innate (non-specific) immune system of the skin tissue. Its main characteristic is its reversible process involving inflammatory reactions and most of the clinical characteristic signs of irritation (erythema, oedema, itching and pain) related to an inflammatory process.

In vitro

มี mtt assay

Cell viability in RhE model is measured by enzymatic conversion of the vital dye MTT [3-(4, 5-Dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, Thiazolyl blue; CAS number 298- 93-1], into a blue formazan salt that is quantitatively (UV absorbance) measured after extraction from tissues (31). Irritant chemicals are identified by their ability to decrease cell viability below the defined threshold levels (i.e. ≤ 50%, for UN GHS Category 2). Depending on the regulatory framework and applicability of the TG, test chemicals that produce cell viabilities above the defined threshold level, may be considered non-irritants (i.e. > 50%, No Category).

<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264242845-en.pdf?expires=1689148257&id=id&accname=guest&checksum=65D8F3D9C4FC2B3F48A2C98B839141A7>

Ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK253967/

หาเซลล์ที่ยังมีชีวิตด้วยการวัดจาก MTT assay เทียบกับกลุ่มควบคุม และแปลผลโดยหากเซลล์ที่ยังมีชีวิตมากกว่า 50 % หมายถึงสารที่ทดสอบไม่ก่อให้เกิด skin irritation

NRR assay in vitro

Cultured cells are pre-loaded with the dye and exposed to a test substance. The amount of dye released from the cells indicates the membrane damage induced by the test substance. The toxicological endpoint of the method is the concentration of test substance inducing 50% release of pre-loaded dye (NRR50).

เป็นการหาเซลล์ที่เกิดความเสียหายที่ membrane โดยวัดจาก NR ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ หากค่าสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 50% แปลผลว่าสารทดสอบทำให้เกิด skin irritation

pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28470514/#:~:text=The%20neutral%20red%20uptake%20assay%20is%20a%20cell%20viability%20assay,weak%20cationic%20dye%2C%20in%20lysosomes.

<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/026119290102900513>

<http://cidportal.jrc.ec.europa.eu/ftp/jrc-opendata/EURL-ECVAM/datasets/DBALM/LATEST/online/DBALM_docs/54_M_Neutral%20Red%20Release%20%28NRR%29%20Assay.pdf>

Vivo ใน rabbit

Skin irritation test is conducted with albino rabbits one day after the dorsum is shaved. Test substance (0.5 g solid or 0.5 mL liquid) is applied on the small area (~6 cm2), and then the treated site is covered with a patch. Patch is removed after 4 hr and then, signs of erythema and edema, and the responses are scored at 1, 24, 48 and 72 hr. For the initial test, in one animal is used and the test site is examined immediately after the patch has been removed. If the test substance is not corrosive, then confirmatory test is conducted with additional 2 animals. Erythema and edema are scored with grades from 0 to 4 depending on the severity. Histopathological examination should be considered to clarify equivocal responses ([10](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5523559/#b10-tr-33-191),[11](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5523559/#b11-tr-33-191)). Depending on the severity and reversibility, skin corrosion and irritation is categorized into 1A, 1B, 1C (corrosive), 2 (irritant, mean scores of 2.3~4.0 for erythema or for edema in at least 2 of 3 tested animals) and 3 (mild irritant, mean scores of 1.5~2.3 for erythema or for edema in at least 2 of 3 tested animals) ([12](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5523559/#b12-tr-33-191)).

เป็นการทดลองในกระต่ายเผือก โดยจับกระต่ายโกนขนบริเวณหลังแล้วใช้สารที่ต้องการทดสอบ treat ด้วยการใช้ patch และวัดผลหลังจาก 4 ชม. โดยแบ่งเป็น 1 24 48 72 ชม. หลังนำ patch ที่ประกอบไปด้วยสารที่ทดสอบออกแล้วบันทึกผลและแปลผลว่าอยู่ใน category ใด ของ GHS

<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264242678-en.pdf?expires=1689532750&id=id&accname=guest&checksum=2CAD3A5B1F10560E11F426E424F54FAB>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027323002100060X>

2. Skin corrosion test

The production of irreversible damage of the skin; namely, visible necrosis through the epidermis and into the dermis, following the application of a test chemical for up to four hours. Corrosive reactions are typified by ulcers, bleeding, bloody scabs, and, by the end of observation at 14 days, by discoloration due to blanching of the skin, complete areas of alopecia, and scars. Histopathology should be considered to evaluate questionable lesions.

เป็นการเกิดความเสียหายที่ย้อนกลับไม่ได้ต่อผิวหนังโดยการได้รับการทดสอบสารเคมีเป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยอาจเกิดเนื้อตายที่สังเกตได้ชัดเจน หรือปฏิกิริยาอย่างอื่น เช่น แผล เลือดออก มีสะเก็ดเลือดออก และสิ้นสุดการสังเกตภายใน 14 วัน

<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264264618-en.pdf?expires=1689149124&id=id&accname=guest&checksum=A3F1DFA23878B167EA935F15FB8C9D91>

3. Skin sensitization test

Skin sensitization (allergic contact dermatitis) is an immunologically mediated cutaneous

reaction to a substance. In the human, the responses may be characterised by pruritis,

erythema, edema, papules, vesicles, bullae or a combination of these. In other species the

reactions may differ and only erythema and oedema may be seen.

คือการเกิดปฏิกิริยาระหว่างระบบภูมิคุ้มกันต่อสารกระตุ้น โดยมักจะมีอาการคัน แดง บวม และอาจเกิดตุ่มนูนหรือตุ่มลักษณะอื่น ๆ โดยตุ่มพวกนี้มักเกิดได้หลากหลาย

<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070660-en.pdf?expires=1689563951&id=id&accname=guest&checksum=0F1FDEC631238D77938FA545EBE29C3D>

In vitro & chemico

<https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442c-in-chemico-skin-sensitisation_9789264229709-en>

In vivo

**Guinea pig maximization test**

The test animals are initially exposed to the test chemical by intradermal injection

and/or epidermal application (induction exposure). Following a rest period of 10 to 14 days

(induction period), during which an immune response may develop, the animals are

exposed to a challenge dose. The extent and degree of skin reaction to the challenge

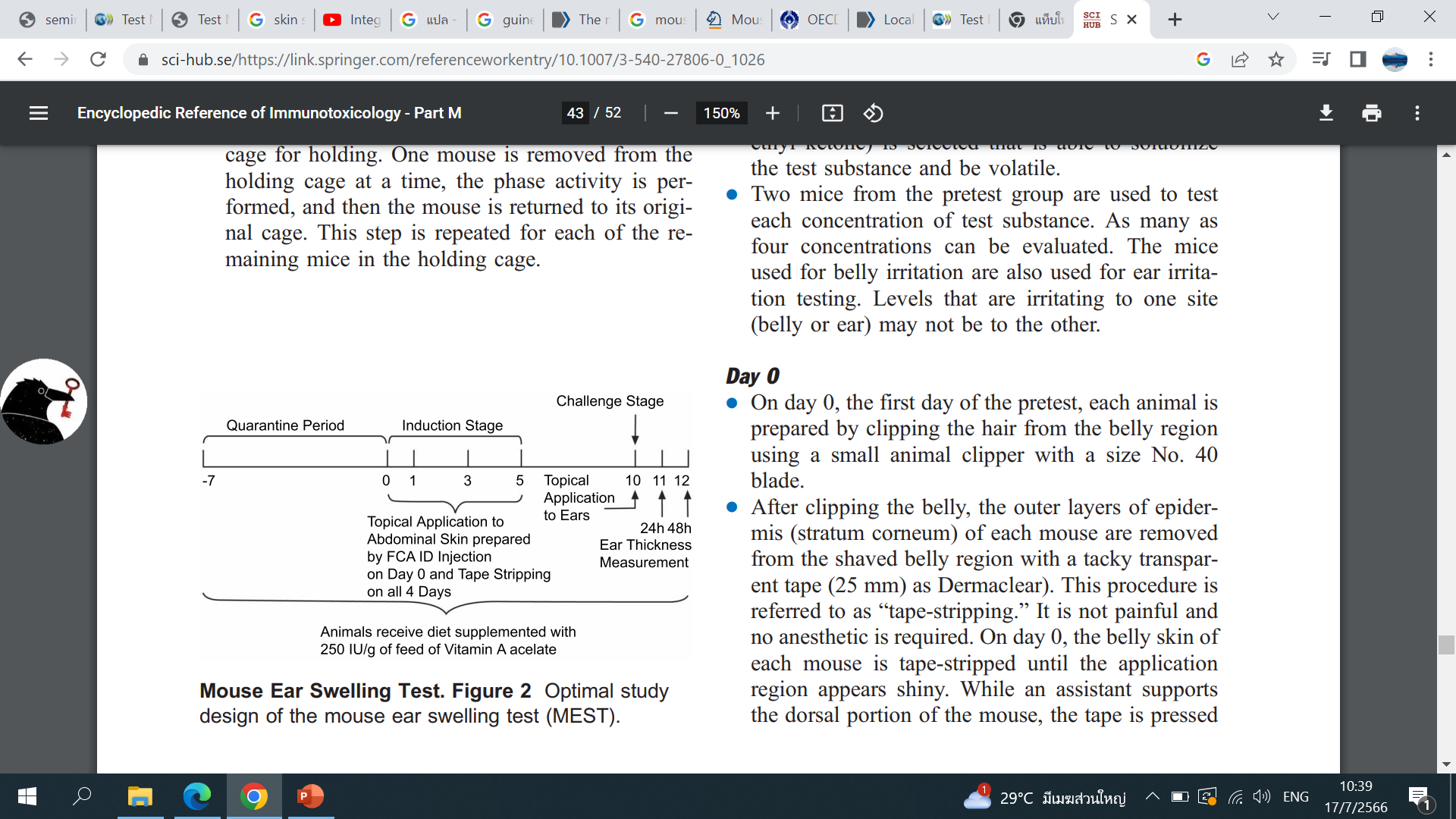
exposure in the test animals is compared with that demonstrated by control animals which

undergo sham treatment during induction and receive the challenge exposure.

เป็นการทดลองในสัตว์

**Mouse ear swelling test**

evaluating test substances for their potential to cause dermal sensitization in mice



<https://sci-hub.se/https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/3-540-27806-0_1026>

<https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/3-540-27806-0_1026>

**LLNA local lymph node assay**

The basic principle underlying the LLNA: BrdU-ELISA is that sensitisers induce proliferation of lymphocytes in the lymph nodes draining the site of test chemical application. This proliferation is proportional to the dose and to the potency of the applied allergen and provides a simple means of obtaining a quantitative measurement of sensitisation. Proliferation is measured by comparing the mean proliferation in each test group to the mean proliferation in the vehicle treated control group (VC). The ratio of the mean proliferation in each treated group to that in the concurrent VC group, termed the SI, is determined, and should be ≥1.6 before further evaluation of the test chemical as a potential skin sensitiser is warranted. The methods described here are based on the use of measuring BrdU content to indicate an increased number of proliferating cells in the draining auricular lymph nodes. BrdU is an analogue of thymidine and is similarly incorporated into the DNA of proliferating cells. The incorporation of BrdU is measured by ELISA, which utilises an antibody specific for BrdU that is also labelled with peroxidase. When the substrate is added, the peroxidase reacts with the substrate to produce a coloured product that is quantified at a specific absorbance using a microtiter plate reader

<https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264090996-en.pdf?expires=1689573005&id=id&accname=guest&checksum=B67D0AB444B3DFD50E03D07E07DE7147>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16938465/>

**Skin prick test**

Prediction tech.

1.QSAR คือ วิธีที่เกี่ยวกับการใช้ predictor variable เพื่อหา potency of response variable

<https://en.wikipedia.org/wiki/Quantitative_structure%E2%80%93activity_relationship>

<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1897/01-171#pane-pcw-references>

เป็นการเทียบเคียงโครงสร้างทางเคมีเพื่อหา activity โดยใช้ค่าทางสถิติ

เป็น method ที่วิเคราะห์หา effect ด้าน bio-chem, physical และนำไปใช้ประโยชน์เช่น chemo computing, drug discovery and calculate for biological activity

2. Read across

Read-across is a technique for predicting endpoint information for one substance (target substance), by using data from the same endpoint from (an)other substance(s), (source substance(s))

<https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/09_read_across_webinar_en.pdf/4dbb2e64-408c-4d12-a605-e9f9b75615d8>