

Kommentare

Anmerkungen zum Manuskript „Ethische Argumente bei der Beurteilung von Tierversuchen“ von Tj. de Cock Buning, F. R. Heeger und H. Verhoog

Der in diesem Heft veröffentlichte Beitrag wurde ursprünglich aus dem Holländischen ins Englische und dann vom Englischen ins Deutsche übersetzt. Beim zweiten Arbeitsgang hat sich gezeigt, daß es mit einer bloßen Übersetzung nicht getan war, sondern daß es noch vieler Überlegungen und Diskussionen bedurfte, um wieder neu auftauchende Fragen so weit wie nur möglich zu klären. Dieser Klärungsprozeß ist noch nicht in allen Fällen abgeschlossen.

Unter den offen gebliebenen Fragen ist auch eine sehr grundsätzliche, wie sie sich im folgenden Satz (auf Seite 8) ergab: „Eine Diskussion kann z.B. die Frage behandeln, ob der Gerechtigkeitsgrundsatz so ausgelegt werden kann, daß Tiere und Menschen gleich behandelt werden sollten oder ob er lediglich beinhaltet, daß Ratten insoweit berücksichtigt werden sollten, als sie die Fähigkeit zur bewußten Leidenserfahrung haben.“

Anders als bisher üblich, wird hier als Voraussetzung der Gleichbehandlung nicht einfach die Leidensfähigkeit akzeptiert, sondern die „bewußte Leidenserfahrung“ als Kriterium erwogen. Damit wird ein Gedanke aufgenommen, der in der Literatur immer mehr Zustimmung findet, nämlich die ethische Berücksichtigung anderer Lebewesen von bestimmten Qualitäten abhängig zu machen, die nur bei höheren Wirbeltieren oder gar nur bei Anthropoiden feststellbar sind.

Meistens werden höhere Formen des Bewußtseins verlangt oder, wie von Tom Regan (*The Case for Animal Rights*, S. 243), die Fähigkeit nicht nur zu leben, sondern ein Leben führen zu können, „subjects of a life“ zu sein, was hohe Anforderungen stellt, wie etwa „beliefs and desires; perception, memory, and a

sense of the future, including their own future“, um nur einige zu nennen.

Konzepte dieser Art werfen jedoch gravierende Probleme auf: die Schwierigkeit, sich über die Reichweite der zu stellenden Anforderungen zu einigen, und die vermutlich noch viel größere, diese Anforderungen so zu präzisieren, daß sie unstrittig bestimmten Kategorien der Tierwelt zuzuordnen sind. Es hat keinen Sinn, ethisch relevante Statusmerkmale aufzulisten, ohne sagen zu können, welche Spezies zur Klasse der ethisch belangvollen und welche zum Rest der ethisch belanglosen Wesen gehören. Zwar klingt es einleuchtend, wenn man im Hinblick auf die Frage nach dem Schutz des tierlichen Lebens meint, daß die Tiertötung immer dann gerechtfertigt sei, wenn die betroffenen Tiere kein Interesse am Leben hätten (H.-P.-Weikard, 1992), aber die unausweichliche weitere Frage, ob es überhaupt Tiere ohne ein solches, wenn auch unbewußtes Interesse gibt, und wenn ja welche, kann wohl niemand zweifelsfrei beantworten.

Um dieser zweiten Schwierigkeit zu entgehen, weichen manche Autoren auf unstrittige Kategorien, wie die Zugehörigkeit zur Gruppe der Anthropoiden, der Säugetiere oder der Wirbeltiere aus. Aber auch hier muß weiter gefragt werden, ob und warum ein biologischer Unterschied der genannten Art ausreicht, um den größeren Teil der Tierwelt von der ethischen Berücksichtigung auszuschließen. Die zu erwartende Antwort ist ein Hinweis auf die nahe Verwandtschaft zu den Anthropoiden und bei den Säugetieren oder Wirbeltieren auf deren Empfindungsfähigkeit. Ob dies aber genügt, um allen anderen die Fähigkeit zur Schmerzempfindung abzusprechen, ist mehr als

nur fraglich. Jedenfalls sollten wir akzeptieren: Solange die Schmerzempfindlichkeit der Wirbellosen nicht belegt ist, müssen wir uns zugunsten der Tiere an den Grundsatz des „in dubio pro reo“ halten.

Das ist aber noch nicht alles. Müssen wir nicht auch fragen, ob dieser Einschränkungsvorstoß zugunsten der als höherentwickelt eingestuften Tiere nicht den prinzipiell gleichen Mangel aufweist wie der Speziesismus, indem eine privilegierte Gruppe als ethisch belangvoll gegen die minderwertige Gruppe der anderen abgegrenzt wird?

Mit welchem Recht versuchen wir, die Schutzwürdigkeit der Tierarten an deren menschenähnlichen Qualitäten zu messen? Die Regel kann doch nicht lauten, daß nur bestimmte Tierarten schonend zu behandeln sind, sondern daß alle Tiere nach Maßgabe ihrer Leidensfähigkeit und Verletzbarkeit zu schonen sind. Jede nicht auf wohlbelegten Erkenntnissen beruhende Ausklammerung bestimmter Tierarten ist äußerst fragwürdig und kann sich nicht auf das Recht der Andersbehandlung aufgrund eines relevanten Andersseins (Gleichheitsgrundsatz) berufen. Würden wir trotzdem unsere Rücksichtnahme auf Wirbeltiere oder sogar nur auf „höhere“ Wirbeltiere begrenzen, so hätten wir den anthropozentrischen Speziesismus lediglich erweitert, aber nicht überwunden. Nicht-anthropozentrischer Tierschutz muß die Tiere um ihrer selbst willen und auch in ihrem Anderssein, nicht aber nach dem Grad ihrer Nähe zum Menschen respektieren.

Albert Schweitzer hatte gute Gründe, jede Unterscheidung zwischen wertvollem und minderwertigem Leben abzulehnen; und wer immer sich mit dieser Frage befaßt, sollte mitbedenken, was Jean-Claude Wolf dazu schrieb: „Erwägungen über 'lebenswertes Leben' müssen letztlich immer aus der Perspektive jener Wesen angestellt werden, deren Lebenswert zur Debatte steht.“ (Tierethik, Seite 113)

gmt

Erfahrungen mit CorrositexTM und Skin^{2TM}

ALTEX 1/94 berichtete, daß das US Department of Transportation den CorrositexTM-Test als Methode zur Transport-Klassifizierung anstelle von Haut-Irritations-Studien am Kaninchen akzeptiert hat. So erfreulich die Anerkennung einer Alternativmethode an sich ist, so bedenklich sind die Methoden ihrer Promotion. In „Summary of an in vitro Corrosivity Testing Model, Submitted by Request to the United Nations Committee and Sub-Committee of Experts on the Transportation of Dangerous Goods, June 1994“ der Firma In-Vitro International sind eine große Zahl von Tabellen enthalten, die die Resultate von Validierungsprüfungen des CorrositexTM-Tests mit bekannten Daten des Draize-Tests bekannter Verbindungen vergleichen. Eine Tabelle enthält die „Complete Results for a Swiss Industry Alpha Site Study“, die zwischen August und September 1993 von der Kurzzeit-Toxikologie der Ciba im Werk Stein erhalten wurden. Beim Vergleich der Rohdaten mit der publizierten Tabelle fallen einige Übertragungsfehler auf. Letztere lassen alle den Vergleich *in vitro-in vivo* besser erscheinen, als es die Rohdaten zulassen würden:

5 von 19 Proben sind „not qualified“ (nicht auswertbar aus technischen Gründen), 4 der verbliebenen 14 sind falsch negativ („not classified“ *in vitro*, „moderately irritant“ im Draize-Test). Von den 19 aufgeführten und 8 von uns zusätzlich geprüften Proben – 11 Pflanzenschutz-Formulierungen (komplexe Mischungen), 7 technische Substanzen und 8 Textilfarbstoffe – waren 10 irritant klassifiziert; keine wurde im CorrositexTM-Test erkannt. Die einzige eindeutig CorrositexTM-positive war im Draize-Test „not classified“. Der im Dossier angegebene Korrelationsfaktor von 96% ist also, mindestens was die „Complete Results for a Swiss Industry Alpha Site Study“ angeht, weit übertrieben.

63 Prüfungen des SkintexTM-Testkits mit 45 Substanzen und Formu-

lierungen in mehreren Verdünnungen zeitigten 15 „not qualified“-Tests. 5 Prüfungen ergaben eindeutig „irritant“ bei Proben, die sich *in vivo* als „slightly irritant (not classified)“ erwiesen. Dagegen wurden 8 als „irritant“ klassifizierte Prüfpräparate als „slightly irritant“ eingestuft.

Es sei nicht verschwiegen, daß sich die Mitarbeiter der In-Vitro International-Vertretung in Paris redlich Mühe gaben, den Test mit Modifikationen zu verbessern, weil das Prüfen von wasserunlöslichen Proben und von Farbstoffen Probleme bereitet. Die Kalibrierung war schwierig, weil die Ablesung zeitkritisch und schlecht reproduzierbar ist. Für einen Ersatz der Hautirritationsprüfung am Kaninchen zu Registrierungszwecken eignen sich beide Tests noch nicht. Zur Prüfung der Schleimhaut- und Augenirritation bildet nach unserer Erfahrung nur der Bovine Cornea Assay eine brauchbare Alternative zum Tierversuch.

Die Propagierung der beschriebenen Prüfmethode als Alternativen zum Tierversuch scheint mir etwas verfrüht. So dienen sie den 3R nicht im Gegenteil. Die Suche nach neuen Techniken der Sicherheitsprüfungen muß weitergehen, und bestehende Methoden müssen verbessert werden, um vor allem die belastenden Irritationsversuche am Kaninchen ersetzen zu können.

Dr. Hansruedi Hartmann
Bundesamt für Veterinärwesen
Sektion Tierversuche und Alternativmethoden
CH-Bern-Liebefeld

Dazu eine Antwort von ZEBET

Das US Verkehrsministerium DOT (Department of Transportation) hat 1993 den CorrositexTM-Test der amerikanischen Firma In-Vitro-International (IVI) zur Klassifizierung chemischer Stoffe bezüglich ihrer Ätzwirkung an der Haut entsprechend den drei Klassen der UN (UN Packing Groups I-III) akzeptiert. Dieselbe Behörde hat 1994 den Skin^{2TM}-Test („künstliche menschliche Haut“), Model ZK 1350, der amerikanischen Firma Advanced-Tissue-Sciences (ATS) ebenfalls zum selben Zweck akzeptiert, genau so wie Transport Canada, das kanadische Verkehrsministerium.

Mit seiner Entscheidung hat das US-DOT

- die genannten Genehmigungen zeitlich befristet ausgesprochen und
- die Einstufung von Stoffen als „nicht ätzend (NC)“ nur gestattet, wenn die Stoffe aufgrund der Prüfung *in vitro* negativ waren, d.h. den UN Packing Groups I-III nicht zugeordnet werden konnten, und sie anschließend *in vivo* im Hauttest an Kaninchen ebenfalls als „nicht ätzend bzw. nicht korrosiv“ eingestuft werden.

Das hier dargestellte Vorgehen kombiniert das Ziel der Reduzierung stark belastender Tierversuche mit einem gleichzeitig optimalen Verbraucherschutz, denn Stoffe mit starken Ätzwirkungen können ohne Tierversuche klassifiziert werden, und bei allen Stoffen, die *in vitro* ein zweifelhaftes oder negatives Ergebnis zeigen, muß die Unbedenklichkeit im Tierversuch bestätigt werden. Es sind also nur noch Tierversuche mit Stoffen durchzuführen, die keine oder nur sehr geringe Ätzwirkung an der Haut zeigen.

Dieses Vorgehen entspricht den Vorschlägen der OECD, die plant, toxikologische *in vitro* Testmethoden nur zur positiven Einstufung von Stoffen bezüglich ihrer toxikologischen Eigenschaften einzusetzen. Stoffe, die z.B. in einer Ersatzmethode für den Draize Test am Kanin-

chenaue ein negatives Ergebnis zeigen, müssen dann zum Nachweis der Unbedenklichkeit noch *in vivo* am Kanichenaue geprüft werden. Das entspricht dem zeitlich befristeten Vorschlag für die Akzeptierung von positiven Daten, die mit dem CorrositexTM-Test und Skin^{2TM}-Test ermittelt wurden, für die Einstufung von ätzenden Stoffen in die *UN Packing Groups I-III* durch das US-DOT.

1993/94 wurde eine europäisch/amerikanische Prävalidierungsstudie von *in vitro* Korrosionstests durchgeführt, bei der sieben Laboratorien 50 Testchemikalien, die von Firmen der englischen chemischen Industrie ausgewählt worden waren, in drei *in vitro* Tests prüften, und zwar im CorrositexTM-Test und Skin^{2TM}-Test sowie im TER-Test (*transcutaneous electrical resistance assay*), mit dem der elektrische Widerstand an isolierter Haut von Mensch oder Ratte bestimmt wird. Die Ergebnisse sind noch nicht publiziert. Sie sind jedoch so ermutigend, daß das Europäische Validierungszentrum ECVAM in Ispra, Italien, in einer Ausschreibung zur Teilnahme an einer Validierungsstudie von *in vitro* Korrosivitätstests aufgerufen hat.

Die bisherigen Ergebnisse, die nach Kenntnis von ZEBET mit dem CorrositexTM-Test und Skin^{2TM}-Test erhalten wurden, zeigen deutlich, daß bei beiden Tests die Phase der Entwicklung noch nicht abgeschlossen ist. Bei der derzeitigen Festlegung der Grenzwerte für die Zuordnung zu den *UN Packing Groups I-III* kam es sowohl zur Einstufung in eine zu niedrige als auch in eine zu hohe *Packing Group*. Bei Prüfungen mit dem Skin^{2TM}-Test im Rahmen der internationalen Prävalidierungsstudie im Labor von ZEBET und zwei Laboratorien in den USA wurden dagegen in nur wenigen Fällen Stoffe mit Ätzwirkung nach der UN-Klassifizierung nicht als ätzend erkannt, und in gleicher Weise wurden nicht ätzende Stoffe als ätzend eingestuft. Aufgrund dieser Ergebnisse hat ZEBET mit Hilfe des statistischen Verfahrens der Diskriminanzanalyse Vorschläge zur Festlegung neuer

Grenzwerte für die Klassifizierung in die *UN Packing Groups I-III* mit Hilfe des Skin^{2TM}-Tests gemacht, die bei der bevorstehenden internationalen Validierungsstudie unter Federführung von ECVAM berücksichtigt werden sollen.

Der CorrositexTM-Test hat wie auch andere kommerzielle *in vitro* Tests der Firma IVI (z.B. SkintexTM, SolatexTM) den Nachteil, daß sich häufig Proben aus technischen Gründen nicht prüfen lassen, d.h. 30–40% der Testmaterialien reagieren nicht mit dem „chemical detecting system“. Weiterhin ist bedauerlich, daß die Firma IVI aufgrund wirtschaftlicher Schwierigkeiten ihre Präsenz in Europa stark reduziert hat.

Es sei abschließend nochmals betont, daß aufgrund der Entscheidung des US-DOT Stoffe, die entweder im CorrositexTM-Test oder im Skin^{2TM}-Test ein negatives Ergebnis zeigen oder aus technischen Gründen nicht zu testen sind, *in vivo* am Kaninchen geprüft werden müssen. Der Kommentar von H. Hartmann über die Prüfung von Stoffen mit dem CorrositexTM-Test in Industrielabors in der Schweiz, die im Draize-Test an der Kaninchenhaut als „irritant“ oder „moderately irritant“ eingestuft wurden, ist schwer verständlich, da das Ziel der behördlichen Zulassung des Tests in den USA bisher nur die Zuordnung ätzender Stoffe zu den *UN Packing Groups I-III* beinhaltet und nicht die allgemeine Klassifizierung hautreizender Eigenschaften, wie sie üblicherweise im Draize Test an der Haut des Kaninchens bestimmt werden.

hsp

Aszites und kein Ende?

Es soll an dieser Stelle nicht aufgezählt werden, wieviele Publikationen, Meldungen, Tagungsberichte und Kommentare im ALTEX und anderswo nun bereits dem Thema der Vermehrung monoklonaler Antikörper in der Aszitesmaus gewidmet worden sind. Eigentlich sollte dieses extrem tierquälerische Herstellungsverfahren von monoklonalen Antikörpern in der Aszitesmaus ja schon gar kein Thema mehr sein, hörten wir anlässlich der letzten Tagung über Ersatz- und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen im Februar 94 in Linz. Die Industrie arbeite sowieso mit großtechnologischem Know-How, und für die Universitäten gebe es ja nun mit Technomaus, Glasmaus, Rollerulturen und ähnlichen Kultivierungsmethoden eine genügende Auswahl an alternativen, versuchstierfreien Methoden. Bei ZEBET fand schon 1989 eine Expertensitzung zu diesem Thema statt, der Bundesminister veröffentlichte im Tierschutzbericht 1991 die Kunde vom Ende der Aszitesmaus (mit dem Hintertürchen von drei Ausnahmen). Die Tierschutzreferenten der deutschen Bundesländer haben sich darauf geeinigt, daß außer bei diesen drei Ausnahmen keine Aszitesmaus mehr leiden dürfe, schon gar nicht, wenn der Antikörper zur Abgabe an Dritte vorgesehen sei.

Gerade das aber geschieht in einem Umfang, der erschrecken läßt. So ganz nebenbei – die Teilnehmer der Tagung in Langen über Alternativmethoden bei der Entwicklung und Kontrolle von biologischen Produkten sind mit ihren Gedanken schon fast auf dem Heimweg – kommt in der Diskussion zum letzten Vortrag über die Konsequenzen bei der Umstellung der Produktion monoklonaler Antikörper auf *in vitro* Verfahren zur Sprache, daß der einzige in Deutschland zugelassene therapeutische monoklonale Antikörper ein Maus-Aszitesantikörper ist.

Nach der Tagung schriftlich auf den – vermeintlichen – Widerspruch zu geltendem Recht angesprochen,

schildert Frau Schöffner vom PEI eine zumindest von der Tierschutzseite her völlig unbefriedigende Situation. Lesen wir den Tierschutzbericht 1991 (Bundestagsdrucksache 12/224) der deutschen Bundesregierung, stoßen wir auf folgende Sätze: „Monoklonale Antikörper zur Abgabe an Dritte dürfen nur noch *in vitro* gewonnen werden, da bei der Herstellung monoklonaler Antikörper die *in-vivo*-Methode nicht mehr dem Stand der wissenschaftlichen Erkenntnis entspricht. Sofern dennoch das Aszitesverfahren angewendet wird, liegt ein Verstoß gegen §17 Nr. 2 Buchstabe b oder gegen §18 Abs. 1 Nr. 1 in Verbindung mit §1 Tierschutzgesetz vor.“ Diese Aussage ist ja auch logisch, da der jahrelange Verkauf an Dritte eines nicht dem Stand der Wissenschaft entsprechenden Präparates wohl kaum aus einer Notfallsituation heraus erklärt werden kann, die eine Ausnahme rechtfertigen könnte. Aus der Antwort von Frau Schöffner zitiert: „Stellt ein Hersteller im Ausland einen therapeutischen oder *in-vivo*-diagnostischen monoklonalen Antikörper her und ist (er) im Besitz einer Herstellungserlaubnis, so wird ein Antrag auf Zulassung entsprechend EU-Direktiven bzw. AMG (Arzneimittelgesetz) beurteilt. Gemäß EU-Direktiven und §1 AMG ist für die Zulassung entscheidend, ob Qualität, Unbedenklichkeit und Wirksamkeit des Arzneimittels gewährleistet sind. Das AMG definiert des weiteren in §30 die Gründe für Rücknahme, Widerruf und Ruhen einer Zulassung. Danach kann, sofern die therapeutische Wirkung gegeben ist, die Zulassung nicht zurückgenommen, widerrufen oder zum Ruhen gebracht werden, wenn die Herstellung des Arzneimittels mittlerweile mit moderneren Methoden möglich ist. Die therapeutische Bedeutung dieses Antikörpers für die Behandlung der akuten Abstoßungsreaktion von allogenen Nieren-, Herz- und Lebertransplantaten ist nach wie vor groß. Aus der dargelegten rechtlichen Basis für die Entscheidung auf Zulassung ergibt sich,

daß die Empfehlung der Tierschutzreferenten aus dem Jahr 1990 in diesem Zusammenhang nicht von Relevanz ist. Die Zulassung erfolgte in Deutschland (bereits) 1986.“ Es bleibt die Frage offen, ob die Tierschutzreferenten sich der fehlenden Durchsetzbarkeit ihres gut gemeinten Beschlusses bewußt waren und was die Bundesregierung bewogen haben mag, diese nicht umsetzbare Empfehlung unter dem Titel „Rechtsvorschriften“ 1991 in den Tierschutzbericht einzubringen.

Davon ausgehend, daß der Bundesminister vor Abfassung seines Tierschutzberichtes die involvierten Bundesbehörden zu Rate zieht, hätte im Tierschutzbericht an dieser Stelle vermerkt werden müssen, daß die Textstelle „zur Abgabe an Dritte“ einen bösen Haken hat. Alles, was die Tierschutzreferenten der Bundesländer vereinbart haben, gilt nämlich nur, wenn es sich um monoklonale Antikörper zu Versuchszwecken handelt. Werden sie erwerbsmäßig zum therapeutischen Gebrauch an Dritte abgegeben, und das tut eine Herstellerfirma ja zweifelsfrei, so sind die schönen Worte vom Ende der Aszitesmaus Schall und Rauch. In diesem Fall ist die Vermehrung von monoklonalen Antikörpern ein industrielles Herstellungsverfahren, die Bestimmungen über Tierversuche sind dabei völlig belanglos. Dies hätte ruhig auch im Tierschutzbericht stehen können, aber es hätte natürlich nicht besonders gut geklungen.

Der monoklonale Antikörper, um den es konkret geht, wird Patienten nach Transplantationen bei Symptomen einer beginnenden Transplantatabstoßung verabreicht. Er läßt durch seine Anti-CD3 Spezifität die T-Lymphozytenzahlen der Patienten innerhalb weniger Minuten nach der Applikation rasch abfallen, kann jedoch auch Zytokine freisetzen, die zu lebensbedrohlichen Zuständen führen. Er darf nur eingesetzt werden, wenn eine Herz-Lungen-Maschine einsatzbereit ist. Bekommt man diese Nebenwirkungen in den Griff, kann der Stillstand des Abstoßungsprozesses innerhalb von 3–4

Tagen beobachtet werden. Nach 10–14 tägiger Gabe kann die Verabreichung des monoklonalen Antikörpers abgesetzt werden, innerhalb einer Woche erholen sich die T-Lymphozytenspiegel mit Ausnahme der für die Abstoßung verantwortlichen CD3-Träger. Der Antikörper wird vom Hersteller deshalb den Ärztinnen und Ärzten als Alternative zur Entfernung des transplantierten Organs, verbunden mit einer erneuten Transplantation (*significant therapeutic alternative*) genannt, wenn hohe Steroid-Dosierungen und Anti-Thymozyten-Globuline versagen.

Die Sorge der Ärztinnen und Ärzte um ihre frisch transplantierten Patienten muß als ethisch über jeden Zweifel erhabene Motivation anerkannt werden. Der Einsatz dieses Antikörpers geschieht auch niemals prophylaktisch, sondern tatsächlich nur in extremen, lebensbedrohlichen Zuständen.

Gerade deshalb müssen aber in den Transplantationszentren Überlegungen angestellt werden, wie man von den murinen Antikörpern, ganz speziell aber von Aszitesantikörpern wegkommen kann. Es gibt in der Argumentation gegen diese Antikörper zwei Ebenen. Auf einer Ebene muß die Diskussion geführt werden, welche Risiken ein Fremdprotein grundsätzlich mit sich bringt. Diese Abwägung muß natürlich auch geschehen, wenn die Antikörper *in vitro* vermehrt werden. Das Sensibilisierungsrisiko dürfte in diesem Fall eine untergeordnete Rolle spielen, da der Antikörper nur kurzfristig verabreicht wird.

Die zweite Diskussionsebene betrifft die Reinheit der Antikörper. Wir haben es mit einem therapeutischen Protein zu tun, das aus nicht keim- und virusfreien Versuchstieren stammt. Dazu war vom PEI folgendes zu erfahren: „Die Virussicherheit muß bei biotechnologisch hergestellten Arzneimitteln generell durch eine Kombination aus Ausschluß virushaltiger Ausgangsstoffe, Virustestung auf verschiedenen Stufen des Herstellungsverfahrens, Einführung

virusinaktivierender Herstellungsschritte und Validierung des Verfahrens hinsichtlich seiner Kapazität zur Inaktivierung/Eliminierung von Viren erreicht werden. Diese Anforderungen sind bei dem betreffenden Antikörper erfüllt, ansonsten wäre er nicht auf dem Markt.“

Wenn Aszitesflüssigkeit von Mäusen als Ausgangsmaterial für einen therapeutischen Antikörper verwendet wird, müssen also je Aszitesmaus (oder wird gepoolt?) weitere Tierversuche durchgeführt werden, um das Freisein von Viren, die auf den Menschen übertragbar sind oder die bei immunsupprimierten Menschen ein Risiko darstellen können, zu gewährleisten. In der Aszitesflüssigkeit sind um ein Vielfaches mehr Verunreinigungen zu erwarten als in den *in vitro* vermehrten monoklonalen Antikörpern. Entsprechend sind auch um ein vielfaches mehr Tierversuche nötig, um ihre klinische Unbedenklichkeit zu prüfen. Es kann eingewendet werden, daß auch die *in vitro* Produktion nicht risikofrei ist, vor allem wenn mit fetalem Kälberserum gearbeitet wird. Die *in vitro* Produktion von monoklonalen Antikörpern ist aber auch schon ohne Verwendung von fetalem Kälberserum gelungen. Damit wäre diese Kontaminationsquelle ausgeschlossen. Bei den Zusätzen von fetalem Kälberserum zu den Zellkulturmedien muß das Freisein der Spender von BSE durch ein Zertifikat nachgewiesen werden. Dagegen verlangen die

Behörden ein solches Zertifikat offenbar noch nicht, wenn Mäuse als Antikörperspender mit ihrem Trockenfutter Fleischmehl aufnehmen. England ist einer der größten Exporteure von Fleischmehl. Wie wird ausgeschlossen, daß über das Mäusefutter Erreger der BSE in die Aszitesflüssigkeit von Spendermäusen gelangen können?

Zumindest aus tierschützerischer Sicht ist die sofortige Umstellung der Produktion dieser Antikörper auf die längst vorhandenen *in vitro* Verfahren zu fordern. Wir wünschen dem PEI Erfolg bei den Bemühungen, die Hersteller auch ohne rechtlichen Rückhalt zur Umstellung bewegen zu können. Vielleicht kann eine Brücke angeboten werden, wie man von einem nicht mehr zeitgemäßen Produktionsverfahren wegkommen kann, ohne ein völlig neues Zulassungsverfahren anstrengen zu müssen. Von der Legislative ist zu fordern, daß die Zulassung eines Arzneimittels zukünftig auch dann widerrufen werden kann, wenn das Produktionsverfahren nicht mehr dem Stand der Wissenschaft entspricht. Wir appellieren an die Ärztinnen und Ärzte, ihrerseits Druck auf die Hersteller auszuüben, um einen therapeutischen Antikörper ohne tierquälerische Produktions- und Prüfmethode zur Verfügung zu haben.

Tierschutz und Patientenschutz müssen sich nicht ausschließen.

fpg

hielt keinen Hinweis darauf, daß die Verwendung des *in-vivo*-Verfahrens zur Herstellung von monoklonalen Antikörpern einzuschränken sei oder keine Akzeptanz findet. Eine klare Stellungnahme zum *in vivo* Verfahren war in dieser Leitlinie überfällig. Daher wurde 1994 im Rahmen der Überarbeitung der Leitlinie (auf Initiative des Paul-Ehrlich-Institutes hin) ein neuer Abschnitt ergänzt, der auf die Richtlinie 86/609/EWG verweist und eine Stellungnahme mit prinzipieller Ablehnung der Produktion von monoklonalen Antikörpern in der Aszites-Flüssigkeit enthält.

Leider wird im Kommentar von Herrn Gruber die Absicht des Vortrages außer acht gelassen, nämlich die Formulierung von Kriterien, die den Herstellern den Wechsel zur *in vitro* Produktion erleichtern sollen für zugelassene oder kurz vor der Zulassung stehende Arzneimittel aus Aszitesflüssigkeit. Die Darstellung der Kriterien für die Umstellung der Produktion von Aszites zur Zellkultur erfolgte auf dem Symposium mit der Absicht, einen Beitrag zum Tierschutz in Kenntnis der geltenden Zulassungsbestimmungen zu leisten. Bei der Bewertung des nötigen Aufwandes für eine Neuzulassung ist zwischen dem für die Entwicklung eines Arzneimittels bis zur Zulassung nötigen Aufwand und dem im Forschungslabor üblichen Maßstab zu differenzieren. Eine Änderung im Herstellungsverfahren ist nicht so ohne weiteres möglich und erfordert eine neue Zulassung. Diese Regelung trägt dem Umstand Rechnung, daß bei biologischen Arzneimitteln eine Änderung des Herstellungsverfahrens gravierende Auswirkungen auf Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit haben kann, was eine neue Bewertung des Arzneimittels durch die Zulassungsbehörde erforderlich macht. Das Paul-Ehrlich-Institut kann und will daher keine „Brücke anbieten“, die der gesetzlichen Regelung nicht entspricht. In einem neuen Zulassungsverfahren kann jedoch grundsätzlich auf bereits vorhandene Daten Bezug genommen werden. Die Kriterien für den Nach-

Dazu ein Kommentar aus dem Paul-Ehrlich-Institut

Die rechtliche Basis für die Entscheidung über die Zulassung eines Arzneimittels ist das Arzneimittelgesetz (AMG). Danach ist für die Zulassung maßgeblich, ob Qualität, Unbedenklichkeit und Wirksamkeit des Arzneimittels gewährleistet sind. Die Gründe für eine Versagung einer Zulassung sind in § 25 Abs. 2 AMG abschließend geregelt, § 30 AMG nennt die Gründe für Rücknahme, Widerruf und Ruhen einer Zulas-

sung. Die Beachtung bzw. Nichtbeachtung von Tierschutzaspekten bei der Herstellung eines Arzneimittels ist insoweit von der Zulassungsbehörde nicht zu berücksichtigen. Diese Voraussetzungen gelten auch für EU-Verfahren, in denen monoklonale Antikörper in der Regel bisher zugelassen wurden. Die bisher aktuelle Leitlinie „Produktion und Qualitätskontrolle von monoklonalen Antikörpern murinen Ursprungs“ ent-

weis der Produktäquivalenz sollten als detaillierte Anforderungen an Hersteller verstanden werden, die das Verfahren vereinfachen und den Wechsel zur *in vitro* Produktion erleichtern, so daß die Durchführung eines neuen Zulassungsverfahrens, jedenfalls soweit das Paul-Ehrlich-Institut zuständig ist, die Einführung tierschonender Herstellungsweisen nicht nennenswert behindert oder verzögert.

Der klinische Einsatz des betreffenden monoklonalen Antikörpers wurde von Herrn Gruber kurz angerissen, jedoch sind klinische und immunologische Wirkungen bei diesem immunsuppressiven Antikörper sehr viel komplexer als beschrieben. Aus einschlägigen Veröffentlichungen ist hinlänglich bekannt, hier sei lediglich eine Publikation von G. Goldstein (1987)¹ erwähnt, daß dieser therapeutische monoklonale Antikörper in der Aszitesmaus hergestellt wird. Während dessen Entwicklung, 1979–1980, als bereits die ersten klinischen Studien initiiert wurden, war die *in vivo* Herstellung Methode der Wahl und der *in vitro* Vermehrung von Hybridoma in vieler Hinsicht überlegen. Mit Hilfe dieses ersten in die Klinik eingeführten monoklonalen Antikörpers erfuhr nicht nur das Konzept des klinischen Einsatzes monoklonaler Antikörper den entscheidenden Fortschritt, sondern auch die Forschung zur T-Zell-Immunologie. Der Einsatz erfolgt bei Patienten, für die im Falle der akuten Abstoßungsreaktion eines transplantierten Herzens oder einer Leber dieser monoklonale Antikörper das lebensrettende Mittel darstellt. Es steht außer Frage, daß der klinische Einsatz dieses monoklonalen Antikörpers sehr vielen transplantierten Patienten bei der Überwindung einer Organabstoßungsreaktion entscheidend geholfen hat. Die im obigen Kommentar anklingende Infragestellung des Konzeptes

der Immunsuppression unter Verwendung monoklonaler Antikörper in der Transplantationsmedizin erscheint daher unangemessen.

Wie bereits durch Herrn Gruber angedeutet, ist die Möglichkeit der Sensibilisierung gegen Maus-Proteine keine Besonderheit der *in vivo* hergestellten Antikörper, sie muss auch bei *in vitro* hergestellten Antikörpern beachtet werden. Ein entsprechender Hinweis ist in den Pakungsbeilagen der murinen monoklonalen Antikörper enthalten. Die Prüfung der Patienten auf eine bestehende Sensibilisierung ist Voraussetzung jeder Behandlung, die Anwendung muß unter Bereitstellung eines Notfallbesteckes erfolgen.

Bei der Diskussion der Aszitesproblematik sollte die Tatsache bekannt sein, daß auch monoklonale Antikörper, die in Zellkultur hergestellt werden, von Maus-Zellen produziert werden, die z.B. endogene murine Retroviren in sich tragen können.

Die Möglichkeit einer BSE-Übertragung durch Mäusefutter ist für die Zulassungsbehörden eine Variante, die bei der Revision oder Vervollständigung der Kriterien zur Beurteilung eines BSE-Risikos von Arzneimitteln in die Diskussion gebracht werden sollte. Bisher fand BSE im Zusammenhang mit monoklonalen Antikörpern insofern Beachtung, als daß monoklonale Antikörper aus Zellkultur unter Verwendung von Zellkulturmedien mit FKS-Zusatz hergestellt wurden.

Für die weitere Diskussion dieser Thematik, insbesondere zur Harmonisierung bestehender rechtlicher Bestimmungen hinsichtlich des Tierschutzgedankens, stehen wir zur Verfügung.

Dr. Gabriele Schöffner
Prof. Dr. Dieter Kabelitz
Abteilung Immunologie
Paul-Ehrlich-Institut
D-Langen

¹G. Goldstein: Overview of the development of Orthoclone OKT3: Monoclonal antibody for therapeutic use in transplantation. Transplant. Proc. 19 (1987) suppl. 1, 1–6

Mikroben

unentbehrlich und gefürchtet



272 Seiten,
gebunden, 27 Abb.
DM 48,-/öS 375,-/sFr 49,40
ISBN 3-86025-199-6

Mikroben und Menschen

Mikroben sind allgegenwärtig und haben viele Gesichter: Sie sind keineswegs nur die gefürchteten Krankheits- und Fäulnisreger, derer man sich mit allen Mitteln zu erwehren sucht. Viele von ihnen erfüllen sehr nützliche Funktionen: etwa bei der Herstellung von Nahrungsmitteln und Medikamenten, bei der Erzeugung und bei der Sanierung verseuchter Böden. Der renommierte Mikrobiologe John Postgate lädt den Leser in seinem informativen und unterhaltsamen Buch zu einer spannenden Entdeckungsreise in die schillernde Welt der Mikroorganismen ein, wobei sein Hauptaugenmerk deren vielfältiger Bedeutung für den Menschen gilt.

„Man spürt auf diesen Seiten die Gegenwart eines ausgezeichneten Lehrers mit der beneidenswerten Fähigkeit, sich klar auszudrücken und auch komplizierte wissenschaftliche Sachverhalte zugänglich zu machen.“

Applied Microbiology 16/1 (1993)

Spektrum
AKADEMISCHER VERLAG

Vangerowstraße 20 · 69115 Heidelberg

SIAT Newsletter 5

Schweizerisches Institut für Alternativen zu Tierversuchen
Swiss Institute for Alternatives to Animal Testing

Aus der Forschungstätigkeit des SIAT Biografik-Labors*

Das Biografik-Labor befaßt sich derzeit hauptsächlich mit der Validierung von **Pseudorezeptor Modeling**, einer Methode, welche die funktionale Rekonstruktion eines unbekannten biologischen Rezeptors erlaubt. Die Bedeutung der Methode für die Reduktion von Tierversuchen im pharmakologischen *screening* besteht darin, daß Pseudorezeptor Modeling dann eingesetzt werden kann, wenn keine oder nur wenig Information über den entsprechenden biologischen Rezeptor (die Schaltstelle eines natürlichen oder synthetischen Wirkstoffes) zur Verfügung steht. Dies entspricht leider dem Industrialltag (der Entwicklung von pharmakologischen Leitsubstanzen), wo der gewünschte Rezeptor in 90 bis 95% aller Fälle unbekannt ist. Hier wurden bisher denn auch fast ausschließlich Tiermodelle eingesetzt. Pseudorezeptor Modeling erlaubt es erstmals, potentielle Wirkstoffe eines strukturell unbekannten Rezeptors im Computer zu *screenen*.

Die am SIAT Biografik-Labor entwickelte Pseudorezeptor Modeling-Software *Yak*® (Vedani et al., eingesandt; Vedani, 1994; Snyder et al., 1993; Vedani et al., 1993) wurde bisher an verschiedensten Systemen (dopaminergem Rezeptor, adrenerger Rezeptor, Progesteron-Rezeptor, 5HT-2C-Rezeptor, Integrin-Rezeptor, Carboanhydrase, H⁺/K⁺-ATPase)

getestet und teilweise auch validiert. In diesem Newsletter werden die Arbeiten am dopaminergen und adrenergen Rezeptor vorgestellt.

Außerhalb unseres Labors wird *Yak* derzeit von verschiedenen Unternehmen der pharmazeutischen Chemie (AWD, Dresden; Asta Medica, Frankfurt; IRBM, Rom; Merck, Darmstadt; Roussel Uclaf, Paris; G. D. Searle, Chicago; Sandoz, Basel) sowie von Hochschulen (Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg; Universität Groningen, Niederlande; Columbia University, New York; Florida A&M University, Tallahassee; University of Liverpool; Technische Universität München; ETH Zürich) verwendet.

Terminologie

Ein Pseudorezeptor gilt dann als validiert, wenn er (im Computerexperiment) eine repräsentative Serie von Wirkstoffmolekülen mit gleicher relativer Stärke zu binden vermag, wie der (strukturell unbekannte) biologische Rezeptor im Laborexperiment. Die entsprechende Vergleichsgröße ist die Bindungskonstante **K** oder die freie Bindungsenergie ΔG° . Bindungskonstante und -energie sind über folgende Beziehung miteinander verknüpft:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K$$

Dabei ist R die universelle Gaskonstante ($1,99 \cdot 10^{-3}$ kcal/Mol·K) und T die absolute Temperatur, bei der die Messung der Bindungskonstante **K** vorgenommen wurde (meist 293,1 K, entsprechend 20° C). $\ln K$ ist der natürliche Logarithmus (Basis $e=2,72$) des Wertes der Bindungs-

konstante. Je grösser **K** bzw. je negativer ΔG° , desto stärker bindet ein Wirkstoff an den Rezeptor. Unterschiede in der freien Bindungsenergie, $\Delta(\Delta G^\circ)$, der verschiedenen Wirkstoffe werden meist relativ zum stärksten Wirkstoff angegeben. Per Definition ergibt sich daraus für den stärksten Wirkstoff (Referenzsubstanz) ein $\Delta(\Delta G^\circ)$ von 0,0 (null); für alle anderen Wirkstoffe ist $\Delta(\Delta G^\circ) > 0,0$.

Dopaminergem Rezeptor

Dopamin gilt sowohl für das zentrale Nervensystem als auch für periphere Gewebe als wichtiger Neurotransmitter. Die Ursache von Krankheiten wie Schizophrenie und Parkinson werden in Fehlfunktionen des dopaminergen Rezeptorsystems vermutet (Kaiser und Jahn, 1985). Die molekulare Grundstruktur – das starre Dopamingerüst –, welche für die Aktivität von Apomorphinen und verwandten Molekülen verantwortlich ist, wurde von Cannon und anderen nachgewiesen (Cannon, 1985; Miller, 1978; Neumeyer et al., 1973; Neumeyer et al., 1977). Böttcher und Mitarbeiter entdeckten und synthetisierten eine neue Klasse von Verbindungen, sog. 3-(1,2,3,6-tetrahydro-1-pyridylalkyl)Indole, die sich strukturell deutlich von den Dopamin-Agonisten unterscheiden (Böttcher et al., 1992). Entsprechende Struktur-Reaktivitäts-Beziehungen wurden mittels Molekül-Modeling erstellt (Böttcher et al., 1994).

Vier dieser 3-(1,2,3,6-tetrahydro-1-pyridylalkyl)Indole, die Verbindungen **5**, **11** und **28** (vgl. Tabelle I in: Böttcher et al., 1992) sowie ein Piperazinderivat von **28** (Böttcher et al., 1994) dienen in unseren Studien als Trainingssatz. Die Verbindung **21** (vgl. Tabelle I in: Böttcher et al., 1992) wurde als Testmolekül eingesetzt.

Der Pseudorezeptor besteht aus acht Aminosäuren (Asp-Trp; Ile-Met; Phe, Thr, Phe, His) und stellt ein „Miniprotein“ dar. Die Ergebnisse bezüglich der freien Bindungs-

* Das SIAT Biografik-Labor befaßt sich mit der Entwicklung von „computergestützten Verfahren zum rationalen Entwurf neuer Wirkstoffe“ (engl.: Computer-Assisted Drug Discovery, CADD). Diese umfassen eine Palette von Konzepten zur systematischen Suche nach neuen pharmakologischen Leitsubstanzen.

energien sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Die relativen freien Bindungsenergien, $\Delta\Delta G^\circ$, werden semi-quantitativ reproduziert (Trainingssatz) bzw. vorausgesagt (Testwirkstoff); ebenso werden alle Ränge richtig berechnet. Der Korrelationskoeffizient für die Übereinstimmung von berechneten und experimentellen Werten beträgt 0.972 (Trainingssatz) bzw. 0.909 (kombinierter Trainings-/Testsatz). Die RMS (*root-mean square*) Abweichung von 0.549 kcal/Mol zeigt, daß Pseudorezeptor Modeling imstande ist, zwischen Wirkstoffen zu diskriminieren, deren **K** sich wenigstens um einen Faktor 2 unterscheidet. Dies ist im *Drug Design* (und insbesondere für die Reduktion von Tierversuchen!) völlig ausreichend, unterscheiden sich doch starke und schwache Wirkstoffe oft um einen Faktor 10 bis 1'000 in der Bindungskonstanten **K**. Im Falle des dopaminergen Rezeptors erklärt unser Pseudorezeptormodell die relative Reihenfolge (Ränge) *aller* verwendeten Wirkstoffe.

Adrenerger Rezeptor

Der adrenerge β_2 -Rezeptor gehört zur Klasse der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Der rationale Entwurf von wirksamen und gleichzeitig selektiven β_2 -Adreninagonisten – von besonderem Interesse für die medikamentöse Behandlung von Asthma (Main, 1990) – würde durch die Kenntnis der dreidimensionalen Struktur der „Bindungstasche“ am Rezeptor wesentlich erleichtert. In jüngster Zeit wurden Versuche unternommen, Modelle für den adrenergen β_2 -Rezeptor – direkt oder indirekt – aus der Struktur des Bakteriorhodopsins (Henderson et al., 1990) herzuleiten; es besteht jedoch eine mehr oder weniger heftige Kontroverse über die Gültigkeit solcher Modelle (Kontoyianni und Lybrand, 1993; Hoflack und Trumpp-Kallmeyer, 1994).

Im Gegensatz dazu versuchten wir mittels Pseudorezeptor Modeling

Tabelle 1: Vergleich berechneter und experimenteller relativer freier Bindungsenergien für das dopaminerge Rezeptor-System. Der Referenzwirkstoff (C11) ist kursiv, die Testsubstanz (C21) fett wiedergegeben.

Ligand	rel. Bindungskonstante K	$\Delta\Delta G^\circ(\text{exp.})$ kcal/mol	$\Delta\Delta G^\circ(\text{ber.})$ kcal/mol	$\Delta\Delta G^\circ(\text{ber.})$ $-\Delta\Delta G^\circ(\text{exp.})$ kcal/mol	Rang exp.	Rang ber.
<i>C11</i>	1,00	0,00	0,00	0,00	1	1
C5	0,21	+0,91	+0,21	-0,70	2	2
C21	0,14	+1,15	+1,69	+0,54	3	3
C28	0,0087	+2,76	+1,98	-0,78	4	4
C28P	0,0050	+3,08	+2,75	-0,33	5	5

Modelle für die Bindungsstelle zu entwerfen und zu validieren. In dieser Studie verwendeten wir neun Adreninagonisten als Trainingssatz: AH3: Wirkstoff **6** (vgl. Tabelle 1 in: Donné-Op den Kelder, 1988); TER: **1**; NAB: **18**; TBF2: **2**; ISO: **10**; SAL: **5**; NIS: **23**; ADR: **12**; NOR: **13**. Anschließend haben wir drei Agonisten (CLB: Wirkstoff **7**; ORC **14**, 2CL **8**) ausgewählt, um das Modell zu testen.

Der Pseudorezeptor besteht aus dreizehn Aminosäuren (Phe-Trp-Ala-Pro-Ala-Ser; Ser-Lys-Ala-Ser; Asp-Pro-Leu) und stellt ein „Mini-protein“ dar. Die Ergebnisse bezüglich der freien Bindungsenergien sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

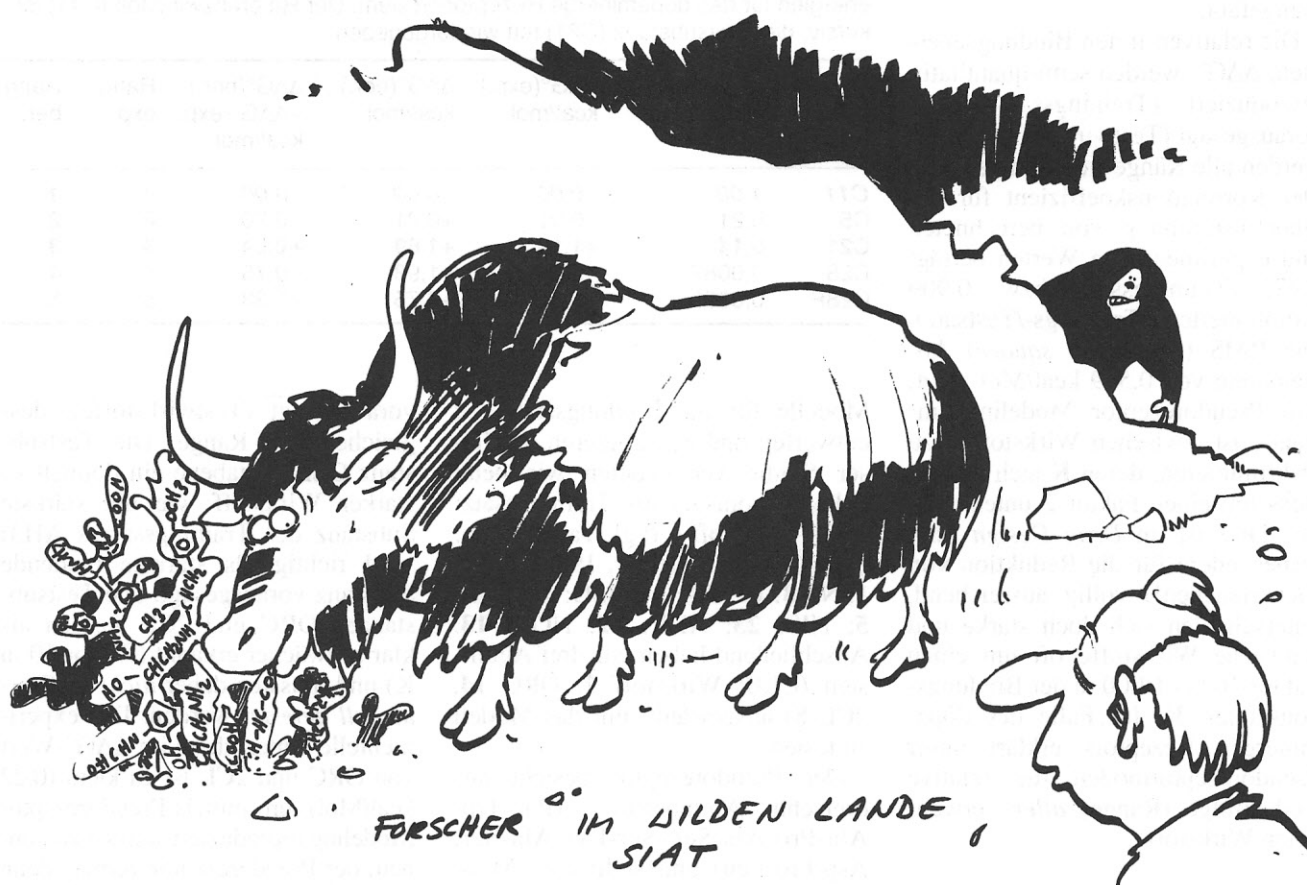
Die relativen freien Bindungsenergien, $\Delta\Delta G^\circ$, werden semi-quantitativ reproduziert (Trainingssatz) bzw.

vorausgesagt (Testwirkstoffe); desgleichen alle Ränge. Die Testsubstanz CLB (notabene ein doppelt so starker Wirkstoff wie die stärkste Substanz des Trainingssatzes AH3) wird richtig als stärkste bindende Substanz vorausgesagt. Die Testsubstanzen ORC und 2CL werden als klar schwächer erkannt (Faktor 10 in K) und müßten daher *nicht im Tiermodell getestet* werden. Der experimentelle Unterschied im $\Delta\Delta G^\circ$ -Wert von ORC und 2CL ist zu klein (0.22 kcal/Mol), um mittels Pseudorezeptor Modeling reproduziert werden zu können; der Pseudorezeptor vermag denn auch nur knapp (0.039 kcal/Mol) zwischen diesen zu diskriminieren.

Der Korrelationskoeffizient für die Übereinstimmung von berechneten und experimentellen Werten beträgt 0.954 (Trainingssatz) bzw. 0.952 (kombinierter Trainings-/Testsatz).

Tabelle 2: Vergleich berechneter und experimenteller relativer freier Bindungsenergien für das adrenerge Rezeptor-System. Der Referenzwirkstoff (AH3) ist kursiv, die Testsubstanzen (CLB, ORC, 2CL) sind fett wiedergegeben.

Ligand	rel. Bindungskonstante K	$\Delta\Delta G^\circ(\text{exp.})$ kcal/mol	$\Delta\Delta G^\circ(\text{ber.})$ kcal/mol	$\Delta\Delta G^\circ(\text{ber.})$ $-\Delta\Delta G^\circ(\text{exp.})$ kcal/mol	Rang exp.	Rang ber.
CLB	2,24	-0,47	-0,19	+0,28	1	1
<i>AH3</i>	1,00	0,00	0,00	0,00	2	2
TER	0,63	+0,27	+0,03	-0,24	3	3
NAB	0,61	+0,29	+0,22	-0,07	4	4
TBF2	0,32	+0,67	+0,31	-0,36	5	5
ISO	0,23	+0,86	+0,55	-0,31	6	6
ORC	0,12	+1,26	+1,06	-0,20	7	8
SAL	0,11	+1,31	+0,58	-0,73	8	7
NIS	0,092	+1,39	+1,51	+0,12	9	10
2CL	0,079	+1,48	+1,45	-0,03	10	9
ADR	0,029	+2,06	+1,53	-0,53	11	11
NOR	0,010	+2,66	+2,46	-0,20	12	12



Die RMS (*root-mean square*) Abweichung von 0.358 bzw. 0.505 kcal/Mol zeigt wiederum, daß Pseudorezeptor Modeling imstande ist, zwischen Wirkstoffen zu diskriminieren, deren **K** sich wenigstens um einen Faktor 2 unterscheidet; genauere Voraussagen innerhalb eines bestimmten Modelles müssen als „zufällig“ angesehen werden.

Die neun Wirkstoffe des verwendeten Trainingssatzes stellen – im Gegensatz zum Modell des dopaminergen Rezeptors mit „nur“ vier Wirkstoffen (vgl. oben) – eine repräsentative Auswahl dar; die Voraussage der relativen Bindungsstärke neuer Adrenin-Antagonisten (wie z.B. AH3, ORC und 2CL, vgl. Tabelle 2) ist daher zuverlässig. Für die Anliegen der 3R (*refine, reduce, replace*) ist es von besonderer Bedeutung, schwach oder unwirksame Substanzen (wie ORC oder 2CL) frühzeitig zu erkennen und aus dem Evaluati-

onsverfahren auszuschneiden, *bevor* Tierversuche angesagt sind. Dieses Ziel konnte mit dem Pseudorezeptormodell klar erreicht werden.

Literatur

- onsverfahren auszuscheiden, bevor Tierversuche angesagt sind. Dieses Ziel konnte mit dem Pseudorezeptormodell klar erreicht werden.
- ### Literatur
- Böttcher, H., Barnickel, G., Rippmann, F., Greiner, H. E. und Seyfried, C. A. (1994). Towards a Molecular Understanding of Creating Selectivity in Indolealkylamines. XIIIth International Symposium on Medicinal Chemistry, Paris (Poster presentation).
- Böttcher, H., Barnickel, G., Hausberg, H.-H., Haase, A. F., Seyfried, C. A., und Eiermann V. (1992). Synthesis and Dopaminergic Activity of some 3-(1,2,3,6-Tetrahydro-1-pyridyl-alkyl)indoles. *J. Med. Chem.* 35, 4020–4026.
- Cannon, J. G. (1985). Dopamine Agonists: Structure-Activity Relationships. In E. Jucker (Hrsg.), *Progress in Drug Research* 29 (303–413). Basel: Birkhäuser.
- Donné-Op den Kelder, G. M., Bultsma, T. und Timmerman, H. (1988). Mapping of the β_2 -Adrenoreceptor on Chang Liver Cells. *J. Med. Chem.*, 31, 1069–1079.
- Henderson, R., Baldwin, J. M., Ceska, T. A., Zemlin, F., Beckmann, E. und Downing, K. M. (1990). The Structure of Bacteriorhodopsin. *J. Mol. Biol.* 213, 899–923.
- Hoflack, J. und Trumpp-Kallmeyer, S. (1994). Re-evaluation of Bacteriorhodopsin as a Model for G Protein-Coupled Receptors. *TIPS* 15, 7–9.
- Kaiser, C. und Jain, T. (1985). Dopamine Receptors: Functions, Subtypes and Emerging Concepts. *Med. Res. Rev.* 5, 145–229.
- Kontoyianni, M. und Lybrand, T. P. (1993). Three-Dimensional Models for Integrated Membrane Proteins. *Perspectives in Drug Discovery and Design* 1, 291–300.
- Main, B. G. (1990). β -Adrenergic Re-

- ceptors. In J. C. Emmett (Hrsg.), *Comprehensive Medicinal Chemistry* (187–228). Oxford: Pergamon Press.
- Miller, D. D. (1978). Steric Aspects of Dopaminergic Drugs. *Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 37, 2392–2395.
- Neumeyer, J. L., Dafeldecker, W. P., Costall, B. und Naylor, R. (1977). Dopaminergic Activity of Aporphine and Benzyloquinoline Derivatives. *J. Med. Chem.* 20, 190–196.
- Neumeyer, J. L., Neustadt, B. R., Oh, K. H., Weinhardt, K. K., Boyce, C. B., Rosenberg, F. J. und Teiger, D. G. (1973). Total Synthesis and Pharmacological Evaluation of (±)-Apomorphine, (±)-Apocodeine, (±)-N-n-Propylnorapocodeine. *J. Med. Chem.* 16, 1223–1228.
- Snyder, J. P., Rao, S. N., Koehler, K. F. und Vedani, A. (1993). Pseudoreceptors. In H. Kubinyi (Hrsg.), *3D QSAR in Drug Design* (336–354). Leiden NL: ESCOM Science

- Publishers B.V.
- Vedani, A., Zbinden, P., Greenidge, P. A. und Snyder, J. P. (eingesandt). Pseudoreceptor Modeling: The Construction of Three-Dimensional Receptor Surrogates. *J. Am. Chem. Soc.*
- Vedani, A. (1994). Das Konzept des Pseudorezeptors für das pharmakologische Screening. *ALTEX* 11, 11–21.
- Vedani, A., Zbinden, P. und Snyder, J. P. (1993). Pseudoreceptor Modeling: A New Concept for the Three-Dimensional Construction of Receptor Binding Sites. *J. Receptor Research* 13, 163–177.

Kontaktadresse:

SIAT Biografik-Labor,
Angelo Vedani
Missionsstraße 60,
CH-4055 Basel, Schweiz.
Telefon: +41-61-321-0533,
Telefax: +41-61-321-0540.

- Respiratory Toxicity
- Neurotoxicity
- Computer Modeling of Toxicologic Processes
- Structure – Activity Relationships

Enquiries and requests for applications should be directed to:
Program Administrator
International Program for Animal Alternatives
The Procter & Gamble Company
Miami Valley Laboratories
P. O. Box 398707
Cincinnati, Ohio 45239-8707
(513) 627-1153

Current Projects

1992

„Cell Type-Specific Selection of Immortalized Cell Lines for In Vitro Product Testing“
„Induction of Human Liver P450 Enzymes In Vitro“
„Effect of Antirheumatic Drugs on the Metabolism and Morphology of Articular Cartilage Explants Exposed to mechanical Stress. Development of Two In Vitro Models of Healthy and Osteoarthritic Cartilage“

1993

„Langerhans Cell and Keratinocyte Markers as Predictors of Contact Allergy“
„In vitro Pharmacodynamic Model of Infective Endocarditis“
„Use of an in Vitro Bioartificial Liver as an Alternative to Animal Testing in Identifying Metabolic Pathways During Phase 1 Safety and Efficacy Testing“

1994

„Computer-Based Induction Methods for Estimating Biological Activity of Noncongeneric Chemicals“
„Development and Characterization of a Model System for Isolation and Cloning Pluripotent Stem Cells from Mammalian Brain for In Vitro Testing“
„An In Vitro Model to Study Metabolic Bone Disease“

Nachrichten

The Procter & Gamble Company International Program for Animal Alternatives A Call for Research Proposals

The Procter & Gamble Company is committed to the development and use of new methods for testing the efficacy and safety of drugs and consumer products that eliminate or reduce the use of animals or distress imposed on animals. The International Program for Animal Alternatives will provide funds for research to develop such methods.

Funding: Up to \$ 50.000 annually for up to 3 years. Three such grants will be awarded.
Deadline for Application: August 15.

Announcement of Recipients: January 1.

Proposals will be accepted from any academic or non-profit medical research institution. The Company is

interested in proposals in the following areas:

Efficacy Testing

- Inflammation/Arthritis
- Diseases of the Oral Cavity
- Nutritional and Gastrointestinal Disorders
- Cardiovascular Disorders
- Bone Disorders
- Skin Disorders
- Respiratory Diseases
- Rational Drug Design
- Structure – Activity Relationships

Safety Testing

- Ocular Irritation
- Contact Sensitization
- Acute Oral Toxicity
- Skin Irritation
- Developmental Toxicity

BMFT: Neues Verbundvorhaben geplant

Am 23. und 24. Juni 1994 fand in Bonn ein Expertengespräch statt, das noch auf Initiative des verstorbenen Zürcher Professor Zbinden zurückging. Thema: Ersatzmethoden zu Tierversuchen in den Bereichen Lebertoxikologie und -pharmakologie.

Dazu aus dem Schreiben des mit der Durchführung und Koordination beauftragten Forschungszentrum Jülich, Projektträger Biologie, Energie, Ökologie vom 5. Dezember 1994:

„Ziel des BMFT ist es, vorhandene vielversprechende Ansätze für den Ersatz von Tierversuchen im Sinne des von Russell und Burch entwickelten „3 R-Konzeptes“ (Refine, Reduce, Replace) insbesondere im Hinblick auf die industrielle Anwendung nutzbar zu machen. Voraussetzung für die Förderung des Verbundvorhabens ist daher die Beteiligung von Industrieunternehmen mit eigenen Arbeitsprogrammen. Projektskizzen von Interessenten, die sich an dem

Verbundvorhaben beteiligen möchten, können bis zum 28. Februar 1995 bei uns eingereicht werden. Wir empfehlen, soweit möglich, Kooperation mit anderen Partnern anzustreben und dies bereits in den Projektskizzen darzustellen. Die Projektskizzen sollten eine kurzgefaßte, für Gutachter beurteilungsfähige Kurzbeschreibung des geplanten Arbeitsprogramms, Angaben zur Laufzeit sowie – soweit heute möglich – Angaben zum voraussichtlichen Finanzmittelbedarf bezogen auf Personalstellen und Sachmittel enthalten. Es wird erwartet, daß alle Arbeitsgruppen bereit sind, sich im Rahmen des Verbundvorhabens an der Validierung bereits entwickelter, als aussichtsreich eingestufte Ersatzmethoden im Bereich hepatischer Funktionen zu beteiligen.“

Zur weiteren Verbreitung des Fördervorhabens wurde ein Informationsschreiben für potentielle Interessenten verfaßt:

Detaillierte Unterlagen sind erhältlich beim

Forschungszentrum Jülich GmbH
Projektträger Biologie, Energie,
Ökologie
Bereich 21
D-52425 Jülich

Letzte Meldung: Die Europäische Arzneibuchkommission will Tierversuche bei der Oxytocin-Prüfung abschaffen.

In der Dezemberausgabe 1994 von PHARMEUROPA gibt die Europäische Arzneibuchkommission bekannt, daß die Monographien *OXYTOCINUM* und *OXYTOCINI SOLUTIO* revidiert werden sollen. Die nationalen Arzneibuchkommissionen können bis zum 31.3.1995 Bedenken äußern.

Wörtlich heißt es: „*The HPLC test for oxytocin peptide has proved to be very satisfactory for the assay, and hence it replaces the bioassay for oxytocin in the draft revision of the monographs for oxytocin and oxytocin bulk solution. As a consequence the activity of a preparation will be expressed no longer in terms of International Units of biological activity; but in terms of milligrams content of oxytocin peptide.*“

Die HPLC (Hochdruckflüssigkeitsschromatographie) ersetzt einen Bioassay, bestehend aus drei Tiermodellen. Es mußte die Blutdrucksenkung bei Hühnern bestimmt werden: Hähne wurden mit einem Narkosemittel, das über einen genügend langen Zeitraum einen konstant bleibenden hohen Blutdruck bewirkt, narkotisiert. Verdünnungen von Standardsubstanz und Testsubstanz wurden intravenös injiziert. Der Blutdruck wurde durch Einführen einer Kanüle in eine Arterie blutig gemessen. War ein Tier gegenüber wiederholten Injektionen schnell un-

Die Nutzung hepatischer Funktionen für *in vitro* Verfahren zur Prüfung von Stoffen mit dem Ziel der Einsparung von Tierversuchen

Zur pharmakologisch-toxikologischen Bewertung von Stoffen wie Arzneimittel, Pflanzenschutzmittel oder Industriechemikalien sind gegenwärtig umfangreiche Tierversuche erforderlich. Eine Verminderung dieser Versuche ist vor allem dadurch möglich, daß bereits vor der Durchführung ausreichende Kenntnisse zu Metabolismus, Kinetik und Wirkungsmechanismus mit Hilfe von *in vitro* Modellen erarbeitet werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen dienen auch dazu, die Übertragbarkeit der in Tierversuchen erarbeiteten Ergebnisse auf den Menschen zu verbessern.

Metabolismus, Pharmakokinetik und Wirkungsmechanismus eines Stoffes werden vor allem durch

Leberfunktionen bestimmt. Es lassen sich viele der leberspezifischen Funktionen *in vitro* abbilden. Die damit gemachten Erfahrungen sollen zur Einsparung von Tierversuchen genutzt werden. Dafür ist es erforderlich, eine Bestandsaufnahme der vorhandenen Verfahren vorzunehmen und die zur Einsparung von Tierversuchen geeigneten zu verbessern und zu validieren.

Diese Thematik soll im Rahmen des BMFT-Förderschwerpunktes „Ersatzmethoden zu Tierversuchen“ in einem Verbundvorhaben zwischen Industrie, außerindustriellen Forschungseinrichtungen und Genehmigungsbehörden bearbeitet werden, um den Praxisbezug zu gewährleisten.

empfindlich, mußte es durch ein neues Tier ersetzt werden. Ein weiterer Bioassay war die Bestimmung der Kontraktion des Rattenuterus: Mit Estradiolbenzoat vorbehandelte Ratten wurden getötet, die Uterushörner in ein Bad eingehängt. Durch Zugabe von Testsubstanzen und Standardpräparationen wurden die Uteruskontraktionen bestimmt. Der dritte Assay war die Erhöhung des Drucks der Milchabgabe bei der säugenden Ratte: Eine säugende Ratte wurde von ihrem Wurf getrennt und narkotisiert. In Narkose wurde die Spitze einer Zitze abgeschnitten und eine Kanüle eingeführt. In dieser Kanüle wurde der Druck der Milch nach intravenöser Gabe von Test- und Standardsubstanzen gemessen.

Mit diesen Methoden wurde der Gehalt an Internationalen Einheiten jeder Oxytocin-Charge geprüft. Alle Versuche liefen in terminaler Narkose ab, waren also für die Tiere nicht außergewöhnlich belastend (Schwehregrad 1). Die Tiere waren bei diesen Untersuchungen auf den Status eines Meßinstrumentes reduziert.

Die Europäische Arzneimittelkommission setzt offenbar ihre Politik des beschleunigten Ersatzes von Tierversuchen enthaltenden Monographien durch tierversuchsfreie Methoden fort. Auf der Tagung in Langen (siehe Bericht in diesem Heft) konnte diese erfreuliche Entwicklung bereits registriert werden.

fpg

Tierversuche in der Lehre Deutschland: Regierungspräsident strebt höchstrichterliche Entscheidung an

Erhebliche Bedeutung dürfte ein Gerichtsverfahren erlangen, bei dem es um die Zulässigkeit von Eingriffen („Tierversuchen“) zum Zweck der Ausbildung geht. Ausgangspunkt ist eine Lehrveranstaltung der Marburger Universität, in der Studierende des Fachbereichs Biologie/Zoologie zum Zweck der Demonstration der „Nahrungsresorption im Dünndarm einer tief narkotisierten Ratte“ Eingriffe an Labortieren vornehmen. Die Tiere werden anschließend getötet. Die Behörde hatte diese Eingriffe im Oktober 1993 untersagt, da der Ausbildungszweck auch anders erreicht werden könne, insbesondere durch einen an der Universität angefertigten Videofilm. Die Eingriffe seien damit nach dem Tierschutzgesetz definitiv unzulässig. Die Hochschule dagegen verwies als zentrales Argument auf die grundgesetzlich verbrieftene Lehrfreiheit, was die Methodenwahl einschließe.

Die Universität hatte für den betroffenen Hochschullehrer Widerspruch gegen das Verbot eingelegt. Den Sofortvollzug hatten die Verwaltungsgerichte ausgesetzt, so daß

die Experimente derzeit weiterhin stattfinden.

Den Widerspruch in der Hauptsache hat der Gießener Regierungspräsident jetzt zurückgewiesen. „Inzwischen liegen weitere Gutachten vor, die die Richtigkeit der Entscheidung des Regierungspräsidiums unterstreichen“, stellt er fest. „Es muß daher Rechtsklarheit über die Anwendbarkeit des Tierschutzgesetzes im Lehrbereich geschaffen werden. Ich werde in der Grundsatzfrage, ob Lehrfreiheit Vorrang vor dem Tierschutz hat, eine höchstrichterliche Entscheidung anstreben.“

Begründet hatte seinerzeit das Regierungspräsidium sein Verbot damit, daß Eingriffe an Tieren zu Ausbildungszwecken nur statthaft seien, wenn der Zweck nicht auf andere Weise erreicht werden könne, insbesondere durch filmische Darstellungen, wie es das Tierschutzgesetz vorschreibt. Ein neues, im September 1994 erstelltes Gutachten bestätigt, daß im Marburger Fall der Eingriff am lebenden Tier nicht erforderlich ist. Es gäbe hierfür andere geeignete Methoden, insbesondere

die Vorlesung, aber auch – zumindest in einer verbesserten Version – den vorliegenden Videofilm. Beide Aussagen stimmen mit den früheren Gutachten von 1993 überein.

Nach Ansicht der Universität dagegen steht die Bestimmung der Lehrmethoden unter dem vorbehaltlosen Schutz des Art. 5 des Grundgesetzes („Forschung und Lehre sind frei“), das Tierschutzgesetz könne folglich dieses Grundrecht nicht einschränken.

Das Regierungspräsidium geht in seiner 28-seitigen Entscheidung vor allem auf diese zentrale Frage ein. Das Tierschutzgesetz, so erläutert der Regierungspräsident, sehe ausdrücklich die Prüfungskompetenz der Tierschutzbehörde und nicht die Selbstkontrolle des Hochschullehrers vor. So heiße es in der Begründung des Tierschutzgesetz-Entwurfs ausdrücklich: „In Zukunft soll die Anzeige (Anm.: über die Eingriffe) bereits vor Aufnahme in das Lehrprogramm erfolgen; hierdurch wird eine intensivere Überwachung durch die zuständige Behörde ermöglicht. Einschränkungen dieser Art sind auch im Hinblick auf die in Art. 5 Abs. 3 des GG garantierte Freiheit der Lehre vertretbar und zumutbar.“ Der Bundestag habe somit bewußt im Angesicht des Grundgesetzes die Prüfung durch die Behörde vorgesehen. Bei einer Auslegung im Sinne der Hochschule würde sich aber das Tierschutzgesetz im universitären Lehrbetrieb praktisch als Makulatur erweisen. Die Behörde könne dann nicht auf eine Beseitigung festgestellter Mängel hinwirken. Dies habe der Gesetzgeber eindeutig nicht gewollt, daher müsse eine höchstrichterliche Entscheidung getroffen werden, gegebenenfalls sogar durch Vorlage vor das Bundesverfassungsgericht. „Wenn die Gerichte den Vorrang der Lehrfreiheit bestätigen sollten“, so der Bundespräsident, „wird sich der Bundestag erneut die Frage stellen müssen, ob er, wie vielfach gefordert, den Tierschutz ebenso wie die Freiheit der Lehre in der Verfassung verankert.“

hg

Schweiz: Forderung nach Alternativen zu Tierversuchen in Lehre und Ausbildung

In der Wintersession des eidgenössischen Parlamentes wurde ein von 21 Nationalrätinnen und Nationalräten unterzeichnetes Postulat eingereicht, womit der Bundesrat ersucht wird, die Tierschutzverordnung bei der laufenden Revision mit folgendem Passus zu ergänzen:

„Studierenden der Fachgebiete Biologie, Medizin und Veterinärmedizin mit Spezialisierungsrichtungen, in denen Tierversuche üblich sind, müssen ausreichende Kenntnisse vermittelt werden über Methoden, die Tierversuche ersetzen oder mit weniger Versuchstieren oder geringerer Belastung derselben auskommen. Ohne solche Kenntnisse dürfen im weiteren Ausbildungsgang keine biomedizinischen Arbeiten mit und an Tieren durchgeführt werden.“

In der Begründung weisen die Politiker darauf hin, daß die Verwendung von Alternativmethoden heute noch immer marginal ist und sich dies in der Praxis erst ändern wird, wenn die erforderlichen Kenntnisse und Techniken durch gezielte Anstrengungen bei Studierenden ver-

breitet werden. Als Forum für eine gezielte Vermittlung bieten sich in allererster Linie die Hochschulen an. Studierende der Fachgebiete Biologie, Medizin und Veterinärmedizin sollten in gesonderten Unterrichtseinheiten über die Möglichkeiten, Tierversuche zu ersetzen oder zu reduzieren und die Versuchstiere weniger zu belasten, informiert werden. An einigen ausländischen Hochschulen wird dies bereits in vorbildlicher Weise praktiziert, so in Konstanz, an der Freien Universität Berlin, am Veterinärinstitut in Paris VI und an der University of California. In der Schweiz bieten bisher einzig die ETH und die Universität Zürich in beschränktem Umfang eine solche Möglichkeit an.

Diese Erwähnungen zeigen aber deutlich, daß man an fortschrittlichen Hochschulen die Aktualität des Problems erkannt hat und entsprechend handelt.

Nachdem der Bundesrat bereit ist, das Postulat entgegenzunehmen, besteht berechtigte Hoffnung, dass auch er zu entsprechendem Handeln bereit ist und das Problem in der Revision der Tierschutzverordnung berücksichtigen wird.

hg

Forschungs- und Promotionspreise der Vereinigung „Ärzte gegen Tierversuche“ e.V.

Die Preise werden zur Förderung tierversuchsfreier humanmedizinischer Arbeiten über Ursachen und Therapiemöglichkeiten menschlicher Krankheiten ausgeschrieben.

Die Vereinigung „Ärzte gegen Tierversuche“ e.V. steht aus ethischen, methodologischen und medizinischen Gründen dem Tierversuch als Erkenntnismethode für die Humanmedizin kritisch gegenüber. Um die tierversuchsfreie humanmedizinische Forschung in der Medizin vor allem unter jüngeren Medizinern und Wissenschaftlern zu fördern, schreibt sie jährlich einen Forschungspreis im Wert von 25.000 DM und einen Promotionspreis im Wert von 10.000 DM aus.

Die Preise werden für hervorragende wissenschaftliche Arbeiten verliehen, die sich unter Verzicht auf das Tierexperiment mit den relevanten Ursachen und Therapiemöglichkeiten menschlicher Krankheiten beschäftigen und einen wesentlichen Beitrag für den medizinischen Fortschritt leisten.

Für den Forschungspreis werden die Bewerber aus dem europäischen Raum, die nicht älter als 40 Jahre sein sollten, gebeten, eine deutsch- oder englischsprachige wissenschaftliche Publikation bis zum 1. Juli 1995 bei der Geschäftsstelle der Vereinigung „Ärzte gegen Tierversuche“ e.V. einzureichen. Die Veröffentlichung sollte nicht älter als zwei

Jahre sein. Eine allgemeinverständliche Begründung der besonderen Relevanz für den medizinischen Fortschritt ist beizufügen.

Für den Promotionspreis werden die Bewerber gebeten, ihre Promotionsarbeit, die nicht älter als ein Jahr sein sollte, bis zum 1. Juli 1995 bei der Geschäftsstelle einzureichen und ebenfalls eine allgemeinverständliche Begründung der besonderen Relevanz für den medizinischen Fortschritt beizulegen.

Die Preisvergabe erfolgt auf Vorschlag eines unabhängigen Kuratoriums aus Sachverständigen. Bei gleichwertigen Arbeiten kann der Preis geteilt werden. Der Rechtsweg ist ausgeschlossen. Die Finanzierung des Preises erfolgt durch die Vereinigung „Ärzte gegen Tierversuche“ e.V., Frankfurt, und Bürger gegen Tierversuche e.V., Hamburg.

In vitro toxicity testing

The CellTox Centre now offers the following *in vitro* toxicity test systems for prescreening and adjunct toxicology testing by experienced scientific personnel. Advisory consultancy on specialist issues, mechanistic and investigative studies also available.

General Cytotoxicity: Cultured fibroblasts and Hela cells.

Hepatotoxicity: Hepatocytes from various species including UDP-GT deficient cells.

Neurotoxicity: Neuroblastomas, gliomas, primary neural cultures and organotypic whole-brain reaggregate cultures.

Immunotoxicity (Mast Cell Toxicity): *In vitro* mast cell preparation.

Endocrine Toxicity: Cultured thyrocytes. Thyroid Hormone measurement and function tests. Mutagenicity & Bacterial Endotoxins – Ames and LAL tests.

Contact: Professor C K Atterwill, CellTox Director, CellTox Centre, Division of Biosciences, University of Hertfordshire, Hatfield, Herts, AL10 9AB, UK.

Tel. +44 (0)1707 284513. Fax: +44 (0)1707 284514.

Tagungsberichte

INVITOX 94, 8th International Workshop on *in vitro* Toxicology

Kartause Ittingen, Switzerland,
20.–23. September 1994.

Das ansprechende Ambiente der Kartause Ittingen gab den stimulierenden Rahmen für die INVITOX 94, die unter der Regie von **Christoph A. Reinhardt** (SIAT, Zürich) organisiert worden war. Der Workshop gliederte sich in sechs Themenbereiche, die das Spektrum der *in vitro* Toxikologie voll umfaßten, sowie – als ideales Forum für vertiefte Diskussionen – eine Posterausstellung.

In Session 1 (*Immuno- and Neurotoxicology*) berichtete **K. Frei** (Universitätsspital, CH-Zürich) über Untersuchungen zur Mikroglia-induzierten Neurotoxizität an Mikroglia/Neuronen Co-Kulturen. Überraschenderweise waren weniger von den Mikrogliazellen freigesetzte reaktive Sauerstoffspezies für die Toxizität verantwortlich als vielmehr die exzitatorische Aminosäure Glutamat, die in großen Mengen von den Gliazellen freigesetzt wird.

Als Modellsystem für die Blut-Hirn-Schranke verwendete **L. Morgan** (University College London, GB-London) kapillare Endothelzellen des Gehirns, die mit konditioniertem Medium von Fibroblasten kultiviert wurden, da sie unter diesen Bedingungen eine hohe Widerstandsbarriere entwickeln. Mit Transfilterwells, bei denen die Endothelzellen auf der Oberseite und Rattenastrozyten auf der Unterseite kultiviert wurden, konnte **B. Joly** (Hôpital Pontchaillou, F-Rennes) die Beeinflussung der Permeabilität durch verschiedene Chemikalien, bzw. deren Einfluß auf die Expression des P-Glycoproteins messen.

B. Kunz (Universität Zürich, CH-Zürich) untersuchte zytotoxische Einflüsse auf das axonale Wachstum, das sich in einem Dreikammer-System bestimmen läßt. Während

hier nur neuronale Zellen zum Einsatz kamen, arbeitete **M. G. Zurich** (Universität Lausanne, CH-Lausanne) mit aggregierenden Hirnzellkulturen, die Neuronen, Astrozyten, Oligodendrozyten und Mikrogliazellen enthalten. Gegenüber Schwermetallverbindungen waren in diesem System besonders die Mikrogliazellen empfindlich.

In Session 2 (*Cellular and molecular stress regulation to monitor toxicity and apoptosis*) berichtete **M. D. Todd** (Xenometrix Inc., Boulder, CO, USA) über die Verwendung gentechnologisch veränderter Zellen zur Toxizitätsprüfung. Für ein *screening* System wurden 14 verschiedene Humanleberzelllinien zusammengestellt, die mit Promotoren von 14 Streß-induzierbaren Genen und Chloramphenicol Acyltransferase (CAT) als Reportergen stabil transfigiert worden waren. Durch ELISA-Detektion der synthetisierten CAT-Menge ließ sich der Einfluß zytotoxischer Agentien auf einfache Weise messen. Die Auswahl der Streß-induzierbaren Gene erlaubte es, jeder zytotoxischen Substanz ein mehr oder weniger eindeutiges Induktionsmuster zuzuordnen, durch die sie auch in komplexen Gemischen erkannt werden kann.

M. Piacentini (University of Rome „Tor Vergata“, I-Rom) berichtete über die Rolle der „tissue“ Transglutaminase (tTG) bei der Apoptose. Die Induktion der tTG kann als ein präapoptotisches Ereignis und das Enzym selbst als ein Marker für apoptotische Zellen angesehen werden. Dies konnte eindrucksvoll durch Transfektion von humanen Neuroblastomzellen mit kompletter tTG cDNA bestätigt werden.

Primärkulturen von trachealen Epithelzellen wurden von **A. Baeza** (Université Paris VII, F-Paris) als Modellsystem für die Untersuchung der toxischen Wirkung von Mineral-

partikeln bei Erkrankungen des Atmungsapparats eingesetzt. Erste Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Fe²⁺-katalysierte Produktion von aktivierten Sauerstoffspezies für die Toxizität dieser Stoffe bedeutsam ist. Ein ähnliches Modell wurde von **N. H. Seemayer** (Heinrich-Heine-Universität, D-Düsseldorf) verwendet, um die genotoxische Wirkung von Rußpartikeln aus der Luft mit Hilfe des Sister-Chromatid-Austauschtests zu untersuchen. Bereits der Gehalt eines Kubikmeters Luft an solchen Stoffen aus dem Ruhrgebiet führte zu starken genotoxischen Veränderungen.

J. M. Karczewski (University of Nijmegen, NL-Nijmegen) untersuchte die Mechanismen der Zytotoxizität von Menadion und anderen Quinonen an der humanen Colon-Karzinom-Zelllinie Caco-2.

M. Cervinka (Charles University, CR-Hradec Kralove) zeigte mittels Time-lapse Microfilmtchnik, daß bei humanen Hep2 Zellen und Maus L929 Fibroblasten Proliferation und Apoptose nebeneinander ablaufen.

In Session 3 (*Target Organ I: Bone and blood-forming cells*) wurde von **J.-L. Wautier** (Université Paris VII, F-Paris) die Verwendung von kultivierten Endothelzellen als Modellsystem für vasculär sich manifestierende Toxizität vorgestellt. Wie die Ergebnisse zeigen, ist es nötig, viele verschiedene Endpunkte zu bestimmen, um die oft auf sehr unterschiedlichen Mechanismen beruhende Toxizität zu erfassen.

G. E. R. Schoeters (VITO, B-Mol) entwickelte ein Co-Kultursystem für die Untersuchung toxischer Einflüsse auf das Knochenmark. Er konnte zeigen, daß die Anwesenheit von Zellen des Stromas wichtig ist, um eine geeignete Mikroumgebung für hämatopoietische Zellen zu schaffen. Unter dem Einfluß von Vitamin C und β -Glycerophosphat differenzierten die Stromazellen zu Knochenzellen und produzierten eine extrazelluläre Matrix, die bereits nach 3 Wochen kalzifiziert war.

H. P. Klöcking (Friedrich-Schiller-Universität, D-Jena) wies auf die

unterschiedliche Beeinflussung von Zellen durch Laborplastikartikel und andere Biomaterialien hin, die mit der Auslösung der Arachidonsäure-Kaskade an U937 Zellen bestimmt werden kann.

In einem temperamentvollen Vortrag stellte **J. V. Castell** (*Hospital Universitario La Fe, E-Valencia*) Ergebnisse zur Ursache der Hepatotoxizität von Diclofenac vor. Mit Hilfe von Human- und Rattenhepatozyten konnte er nachweisen, daß 5-Hydroxiclofenac, ein Nebenprodukt der Biotransformation, Veränderungen des Membranpotentials der Mitochondrien hervorruft. Dies hatte eine Verminderung des ATP-Gehalts und einen Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} Konzentration zur Folge, der dem Zelltod vorausging.

A. Guillouzo (*Hôpital Pontchaillou, F-Rennes*) zeigte, daß sich Primärkulturen von Keratinozyten nicht nur für die Toxizitätsprüfung von topisch applizierten, sondern auch von systemisch verabreichten Arzneimitteln mit kutanen Nebenwirkungen (z.B. nicht-steroidale entzündungshemmende Mittel) eignet.

Zweifel an der Eignung von stationären Kulturen für die Bewertung der mitoinhibitorischen Potenz von Chemikalien, bzw. Karzinogenen, äußerte **R. Gebhardt** (*Universität Tübingen, D-Tübingen*). Am Beispiel des Acetylaminofluorens konnte gezeigt werden, daß perifundierte Hepatozyten mindestens 50-mal empfindlicher reagieren als stationär kultivierte. Ähnliche Unterschiede könnten auch für andere zytotoxische Wirkungen gelten.

In Session 4 (*Target Organ II: Organotypic in vitro models for cardiovascular toxicity*) wurden von **A. M. Wobus** (*Institut für Pflanzengenetik, D-Gatersleben*) permanente Zelllinien von embryonalen Karzinomzellen und von embryonalen Stammzellen als Modellsysteme für die Differenzierung in spontan schlagende Kardiomyozyten verwendet. Eine umfangreiche Charakterisierung der Eigenschaften der differenzierten Zellen illustrierte die Vielseitigkeit dieses *in vitro* Systems für die

in vitro Pharmakologie und Toxikologie.

Mit eindrucksvollen Anwendungsbeispielen der konfokalen Laser-Scanning Mikroskopie konnte **M. Gassmann** (*Universität Zürich-Irchel, CH-Zürich*) belegen, daß sogenannte „Embryoid Bodies“, die von embryonalen Stammzellen gebildet werden können, auch in ihrem Kern, der relativ hypoxisch ist, voll vital sind.

Verschiedene *in vitro* Modelle für die Epidermis wurden nacheinander von **R. Roguet** (*Laboratoires de Recherche de L'Oréal, F-Aulnay sous bois*) und **T. A. Donnelly** (*Advanced Tissue Sciences Inc., La Jolla, CA, USA*) vorgestellt. Ersterer benützte das EPISKIN-System zur Bewertung der Zytotoxizität von topisch applizierten Chemikalien an Hand von Kriterien wie MTT-Test und Interleukin 1a-Freisetzung. Frau Donnelly führte am SkinTM-Modell mit ähnlichen Testparametern Untersuchungen zur Differenzierung schwach hautreizender Produkte wie Salben und Lotionen durch. Übereinstimmend betonten die Autoren die hohe Aussagekraft der gewählten Epidermismodelle, die sich vor allem in der feinen Unterscheidbarkeit zwischen stark und schwach aktiven Produkten äußert.

M. A. Miranda (*Universidad Politécnica, E-Valencia*) berichtete über Ergebnisse mit einem neuentwickelten Testverfahren für Photoallergie-auslösende Verbindungen, das auf der Hypothese beruht, daß an zelluläre Makromoleküle gebundene Neoantigene eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der Photoallergie spielen.

Session 5 (*New molecular techniques to monitor toxicity in vitro*) setzte sich nochmals mit der Verwendung von transgenen Zelllinien auseinander. **A. Pfeifer** (*Nestlé Research Center, CH-Lausanne*) berichtete über humane Leber- und Bronchialepithelzellen, die mittels des SV40 T Antigens immortalisiert worden waren. Durch stabile Transfektion entsprechender cDNAs für verschiedene Zytochrom P450

Isoenzyme wurden weitere Zelllinien mit unterschiedlicher metabolischer Kompetenz hergestellt, die an Hand der Aktivierung karzinogener Verbindungen eindrucksvoll belegt wurde. Ein ähnlicher Ansatz unter Verwendung von humanen lymphoblastoiden Zelllinien wurde von **C. L. Crespi** (*Gentest Corporation, USA-Woburn, MA*) vorgestellt. Auch diese Zellen eröffnen für die Untersuchung des Zytochrom P 450 Isoform-spezifischen Metabolismus und der Auslösung von Genmutationen eine vielversprechende Perspektive.

Gleichfalls über die Verwendung genetisch veränderter Zelllinien sprach **G. J. M. J. Horbach** (*Utrecht University, NL-Utrecht*), der ein Modell vorstellte, das neben einer optimierten Metabolisierung zugleich die Detektion von mutagenen Veränderungen an einem in die Zellen eingebrachten Shuttle-Vektor, der das lacZ-Reporter gen trägt, zuläßt.

In Beiträgen zu anderen Themen berichtete **C. Meredith** (*BIBRA Toxicology International, GB-Carshalton*) über die Rolle der *c-fos* Expression bei der durch exzitatorische Aminosäuren ausgelösten Toxizität an Primärkulturen neuronaler Zellen. Obwohl die *c-fos* Expression geeignet scheint, das zytotoxische Potential zu bewerten, stellt sie doch nur einen einzigen Endpunkt dar. Hingegen wurde von **M. J. Davies** (*BIBRA Toxicology International, Carshalton, GB*) die Bedeutung eines größeren Spektrums von Endpunkten hervorgehoben. An Hand der klassischen Mutagenitätsmarker HGPRT und TK konnte sie zeigen, daß durch Restriktionsverdau und *southern blotting* Aufschluß über Art und Häufigkeit der mutagenen Ereignisse erhalten werden kann, womit eine wesentlich umfassendere Charakterisierung des karzinogenen Potentials möglich wird.

In Session 6 (*Biokinetic modelling and in vitro assays*) gab **J. M. Frazier** (*ManTech Environmental Technology, Inc., USA-Dayton, OH*) zunächst einen allgemeinen Überblick über BBK (*biologically-based kinetic*) Modellierung-Methoden und

ihre Grenzen. Anschließend wurde von **B. van Ommen** (*TNO Toxicology, NL-Zeist*), **M. Chamberlain** (*Unilever Research, GB-Sharnbrook*), **H. Spielmann** (*ZEBET, D-Berlin*) und **A. M. Goldberg** (*John Hopkins School of Public Health, USA-Baltimore, MD*) über verschiedene Anwendungsmöglichkeiten Computer-gestützter Biokinetik in

Verbindung mit *in vitro* Testmethoden referiert und auf die dabei möglichen Fehlinterpretationen, sowie die Aussagemöglichkeiten moderner biostatistischer Methoden hingewiesen.

Rolf Gebhardt und Sabine Fischer
Pharmakologisches Institut der
Universität Tübingen

Replacement, Reduction and Refinement of Animal Experiments in the Development and Control of Biological Products on behalf of the International Association of Biological Standardization (IABS)

Langen, 2.–4. November 1994

In einträchtiger Zusammenarbeit haben erstmals das Paul-Ehrlich-Institut (PEI, D-Langen), das *National Institute of Public Health and Environmental Protection* (RIVM, NL-Bilthoven), das *European Centre for the Validation of Alternative Methods* (ECVAM, I-Ispra) und die *International Association of Biological Standardization* (IABS, CH-Genf) eine gemeinsame Tagung auf die Beine gestellt. Das Thema „Alternativmethoden bei der Entwicklung und Kontrolle von biologischen Produkten“ wurde durch die klare inhaltliche Strukturierung, die eindrucksvolle personelle Besetzung und durch eine perfekte Organisation mit großem Erfolg von allen Seiten her angegangen. Es gelang nämlich nicht nur, für die Referate und Poster hervorragende Wissenschaftler aus der forschenden Industrie und, wenn auch in zahlenmäßig sehr geringem Umfang, aus Universitäten zu gewinnen, sondern gleichzeitig auch Vertreter der Zulassungsbehörden aus den Europäischen Staaten, den USA und Japan, der Europäischen Pharmakopöe und der Weltgesundheitsorganisation.

Da alle Vorträge im vollen Wortlaut in einem Tagungsband beim S. Karger Verlag AG (Basel) veröffentlicht werden (*Development in Biological Standardization*, Bd. 86), soll hier nur auf besonders auffällige Beiträge eingegangen werden.

Einem einleitenden historischen Abriss des Einsatzes von Versuchstieren bei der Entwicklung und Prüfung von Impfstoffen (**Coenraad Hendriksen**, RIVM) folgten weitere Grundsatzreferate zur Bedeutung der 3R bei der Prüfung biologischer Produkte (**Michael Balls**, ECVAM), bei der Neufassung von Monographien in der Europäischen Pharmakopöe (**Peter Castle**, EP) und bei den Bemühungen der WHO (**Julie Milstien**). Gerade von seiten der WHO sind in diesem Zusammenhang durch die Förderung der Entwicklung neuer Zelllinien (VERO, Hep2) gute Erfolge bei der Reduzierung der Primatenzahlen zu verzeichnen gewesen. **Sahra A. Goodman** vom amerikanischen *Animal and Plant Health Inspection Service* schilderte Fortschritte, die es in den USA beim Ersatz (Bestimmung protektiver Antikörper statt der bisherigen Belastungsversuche) aber vor allem beim *refinement* gebe. Aus japanischer

Sicht berichtete **Fumitoshi Chino** (NIH) von der Umsetzung des 3R-Prinzips bei der Zulassung von biologischen Produkten. Während seine Schilderungen zur Reduzierung der Primatenzahlen und der Weiterverwendung von Tieren aus der anomalen Toxizität noch nicht wie der große Durchbruch bei der Einführung des 3R Konzeptes klangen, ließen seine Äußerungen zum Ersatz des Pyrogentests aufhorchen. Sie erinnern sehr an die von Hartung und Wendl publizierten Forschungsergebnisse zur Lebertoxizität (*ALTEX* 18, 1993), verursacht durch Zytokinwirkung aus stimulierten Makrophagen. (Dem Ersatz des Pyrogen/Endotoxintests wird *ALTEX* im Heft 2/95 einen Schwerpunkt widmen.) **Susanne Zänker** (FEDESA) beschrieb die Situation bei der Entwicklung von Alternativmethoden aus der Sicht des europäischen Industrie-Dachverbandes FEDESA. Sie wies eindrücklich auf die Verantwortung der Hersteller aber auch der Zulassungsbehörden hin. Die Industrie wäre bereit, noch sehr viel mehr Tests mit Alternativmethoden durchzuführen, doch scheitere sie oft am fehlenden Willen und an der ungenügenden Flexibilität der Zulassungsbehörden. Sie hob die Arbeit von **Margot D. O. van der Kamp** (NCA) „*Ways of replacing, reducing or refining the use of animals in the quality control of veterinary vaccines*“ in diesem Zusammenhang als ausgezeichnete Basis für die Entwicklung alternativer Zulassungsstrategien hervor (im *ALTEX*-Supplement 1994 ist eine Besprechung der Arbeit von Margot D. O. van der Kamp zu finden).

Auch ein Bericht über die Ergebnisse und Empfehlungen eines ECVAM-Workshops über „*Alternatives to Animal Testing in the Quality Control of Biologicals*“ in Utrecht kann im *ALTEX*-Supplement 1994 nachgelesen werden. In Langen wurden diese Empfehlungen von **Donald W. Straughan** (FRAME) vorgetragen. Als Ergebnis des Workshops wurde u.a. die Empfehlung ausgesprochen, die anomale Toxizi-

tät auf dem Gebiet der Qualitätskontrolle von Tierimpfstoffen ersatzlos zu streichen. Zu diesem Thema führt das Paul-Ehrlich-Institut ein Forschungsprojekt durch. Das Projekt wird durch das Bundesministerium für Forschung und Technologie im Rahmen des Förderprogramms „Ersatzmethoden zum Tierversuch“ gefördert. Im Workshop „*Harmonization*“ stellte **Michael Schwanig** (PEI) die bereits vorliegenden Forschungsergebnisse vor. Er befürwortete angesichts dieser Ergebnisse ebenfalls die ersatzlose Streichung des Tests auf anomale Toxizität aus dem Deutschen Arzneibuch. Diese Empfehlungen erfordern jetzt die Änderung geltender europäischer Vorschriften. In Deutschland schreibt das Tierschutzgesetz vor, daß Tierversuche nur durchgeführt werden dürfen, wenn sie unerlässlich und ethisch vertretbar sind. Um diesem Auftrag und Anspruch des Tierschutzes gerecht zu werden, duldet die Umsetzung der Empfehlung keinen Aufschub.

Roger N. Lucken (UK *Vet. Med. Directorate*) sprach im Zusammenhang mit Alternativmethoden gar von den fünf „R“. Er gab zu, daß die Zulassungsbehörden und Pharmakopöe-Kommissionen in der Vergangenheit tatsächlich nicht immer die schnellsten gewesen wären, wenn es darum gegangen sei, auf neues Wissen zu reagieren. Er fügte den bekannten 3 R's deshalb die 2 R's der „*Regulatory Revolution*“ hinzu, die sich abzuzeichnen beginnen. ALTEX hat bereits die Zusage, noch in diesem Jahr in einem Artikel von den neuesten Entwicklungen in der Europäischen Pharmakopöe im Hinblick auf Alternativmethoden „aus erster Hand“ berichten zu können.

Weitere Vorträge befaßten sich im Detail mit einzelnen Vaccinen, insbesondere gegen Polio, Diphtherie, Hepatitis A und Tollwut. Auch klangen die künftigen Entwicklungen, die durch die Gentechnologie im Impfstoffwesen möglich werden, in verschiedenen Beiträgen an (*nucleic acid vaccination*, „*gen gun*“ usw.).

Etwas außerhalb des Themenbereiches Impfstoffe, aber wegen der Pflicht zur Prüfung auf Pyrogene/Endotoxine lag das Referat von **Thomas Hartung** (Uni Konstanz). Zur *in vitro* Prüfung auf Pyrogene, aber auch auf antiinflammatorische Substanzen wird ein Co-Kultur Modell vorgestellt, das mit Leberzellen, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten arbeitet. Der immense Vorteil dieses Ansatzes könnte darin bestehen, daß künftig *in vitro* tatsächlich wieder ein Pyrogentest durchgeführt werden könnte, also auch pyrogene Substanzen erfaßt würden, die nicht wie beim LAL-Test nur der Endotoxinklasse angehören. ALTEX wird darüber im Heft 2/95 ausführlich berichten.

Der letzte Vortrag von **Gabriele Schöffner** (PEI) befaßte sich mit den Konsequenzen, die die Umstellung der Vermehrung monoklonaler Antikörper beim Einsatz in der Humantherapie und *in vivo* Diagnostik von der Aszitesmaus zur *in vitro* Produktion mit sich bringt. Obwohl es heutzutage „state of the art“ sei, auch therapeutische monoklonale Antikörper *in vitro* herzustellen, seien doch eine ganze Reihe von Vergleichsuntersuchungen erforderlich, um die Gleichwertigkeit dieser *in vitro* hergestellten Antikörper mit den *in vivo* hergestellten (Aszitesmaus) nachzuweisen. Noch im Jahr 1994 sollte hierzu eine neue EU-Leitlinie verabschiedet werden. Bezeichnenderweise sei der einzige in Deutschland zum Einsatz in der Humanmedizin zugelassene therapeutische monoklonale Antikörper immer noch ein Maus-Aszitesantikörper (siehe auch Kommentar auf Seite 36).

Eine Diskussion über Harmonisierungsprobleme (Hindernisse stellen die offenbar nicht auszurottende Ansicht dar, nur nationale Regelungen seien gut genug, sowie engstirnige Auslegung der Zulassungsbestimmungen und andauernde wissenschaftliche Diskussionen über die Validität verschiedenster Testmethoden) und zwei Workshops ergänzten die Vorträge und Poster der

Langener Tagung auf sinnvolle Weise.

Im Workshop „*Statistics and Validation*“ gab **Michael Balls** (ECVAM) zunächst eine Übersicht über die verschiedenen Phasen der Validierung einer Ersatzmethode. Ist die eigentliche Testentwicklung abgeschlossen, sollte sich zunächst eine Evaluierungsphase anschließen, die zunächst einen empirischen Vergleich mit dem Tierversuch anstrebt: Zentrale Fragen sind hier, ob eine solche Methode überhaupt nötig ist, inwieweit beide spezifische Aussagen liefern und ob die Pathomechanismen *in vivo* und *in vitro* ausreichend charakterisiert sind, um einen Vergleich zu ermöglichen. Bezüglich der Testmethode ist zu prüfen, ob sie ausreichend standardisiert ist und ob ausreichend Testsubstanzen und geeignete Laboratorien zur Verfügung stehen. In der nachfolgenden Prävalidierungsphase soll die Übertragbarkeit der Methode zunächst in einem anderen Labor erfolgen. Die dabei gewonnenen Erfahrungen sollen dann der eigentlichen Validierung im Laborvergleich zugute kommen. Zentral ist dabei das vorab im Detail festzulegende Studienprotokoll. Es empfiehlt sich auch, die Validierung zunächst in einem kleineren, begrenzten Probelauf durchzuexerzieren. **Berthold Schneider** (MHH Hannover) stellte ergänzend Grundlagen der biometrischen Evaluierung einer Methode dar. Er betonte die zentrale Rolle einer exakt definierten Datenbasis für die spätere Analyse. Die Kenngrößen einer Methode, Validität, Reproduzierbarkeit, Präzision, Sensitivität, Spezifität und prädiktiver Wert wurden erläutert. Die beiden Vorträge, ergänzt durch Beiträge von Teilnehmern, stellten eine gute Übersicht zum Thema dar. Leider blieb nur wenig Zeit zur Diskussion. Die Vielschichtigkeit der Problematik und die zahlreichen möglichen Fallstricke auf dem Weg zu einer validierten Ersatzmethode wurden aber durchaus deutlich.

fpg/bgw/har

Erste Jahresversammlung der Schweizer Zellkultur-Gesellschaft

Swiss Tissue Culture Society, STCS,
Hoffmann-La Roche, Basel,
2. Dezember 1994

Die rasante Entwicklung der Zell- und Molekularbiologie hat das Interesse für Zellkulturtechnik auch vieler Schweizer Wissenschaftler geweckt und damit den Anstoß zur Gründung einer Schweizer Zellkultur-Gesellschaft gegeben (vergl. ALTEX 11/3, S. 157 f.). Die erste, von der Basler Industrie in edlem Rahmen ermöglichte Jahresversammlung wurde zu einem durchschlagenden Erfolg für die über 100 beteiligten Wissenschaftler. Aus ganz verschiedenen Sparten wie Medizin, Zellbiologie, Biotechnologie, Toxikologie, Pharmakologie und Pflanzenwissenschaften kamen Beiträge, die sich aber mehrheitlich um die verbindenden Interessen drehten, wie das Entwickeln serumfreier Zellkulturmethoden, den Einsatz lipidlöslicher Substanzen oder das Herstellen transgener Zellen. Zu diesen drei Themen hier einige „Highlights“:

Transgene Zellen

Patrick Aebischer (CHUV Lausanne) benutzt im Rahmen eines großen klinischen Verbundprojekts tierische Zellen, die menschliche Proteine für die therapeutische Anwendung produzieren. So werden z.B. Wachstumsfaktoren wie CTNF, BDNF und NT-3 bei der amyotrophen Lateralsklerose eingesetzt, Dopamin-produzierende Zellen gegen Parkinson oder Endorphine bei sonst unbehandelbarem Schmerz von Krebspatienten. Dank geeigneter Verpackung in membranumschlossenen Gelatinekapseln oder in Kunststoffröhrchen sind keine Abstoßreaktionen der Patienten zu befürchten, wenn diese artfremden Zellen ins Gehirn oder andere Zielorgane implantiert werden. Die in der vorklinischen Phase verwendeten Tiermodelle (wie schwer schmerzbelastete Schafe, die Kreiselmaus oder der MPTP-Affe) wurden dabei nur kurz

als – angeblich – unerläßliche Mittel zum guten Zweck der menschlichen Leidensverminderung gestreift. Ob es dazu brauchbare Alternativen gibt, wurde nicht angesprochen.

Christoph Ashton (Oxford Glycosystems, Abingdon U.K.) berichtete im Schnellzugstempo über die zentrale Rolle des Glykosylierungszustandes rekombinanter (eine Form transgener) Zellen für die Produktion natürlicher Eiweiße unter Kulturbedingungen. Bakterien haben infolge fehlender Glykosylierungsfähigkeiten als Eiweißproduzenten menschlicher Proteine schwerwiegende Nachteile, da diese Proteine unberechenbare Wirkungen *in vivo* aufweisen können – wie etwa bei Interferonen schmerzhaft bekannt wurde. Die Glykosylierung wird nun bei tierischen und menschlichen Zellen durch die Kulturbedingungen äußerst empfindlich verändert. Die genaue Struktur der Glykosylgruppen und damit die Polypeptid-Bindungsmöglichkeit an der Zelloberfläche sowie an den gewünschten Zellprodukten (wie etwa monoklonale Antikörper) müssen kontrolliert und optimiert werden, um die erwünschte Qualität reproduzierbar zu erreichen.

Entwickeln serumfreier Zellkulturmethoden

Seit dem bahnbrechenden Erfolg von Gordon Sato's serumfreien Kulturmedien in den 70-er Jahren sind kaum mehr vergleichbare Fortschritte erzielt worden. **Ferruccio Messi** (Cell Culture Technologies, Glattbrugg/Zürich) sprach nun von einem neuen Durchbruch, und zwar in Richtung proteinfreie Medien. Alle etablierten käuflichen Medien müssen etwa daraufhin überdacht werden, ob und wie die lipophilen Bestandteile wie Fettsäuren und gewisse Vitamine funktionstüchtig an die Zelle gebracht werden. Seine Eigenentwicklungen (z.B. FMX-8) scheinen ihm recht zu geben, daß von einem neuen Durchbruch gesprochen werden kann, arbeiten doch bereits namhafte Zell-

biologen an der ETH Zürich und bei Ciba mit seinen proteinfreien Medien. Konsternierte Fragen aus dem Publikum wie „Braucht es wirklich kein Transferrin?“ werden in der Praxis beantwortet werden müssen.

Einsatz lipidlöslicher (lipophiler und hydrophober) Substanzen

Fred Zülfi (Mibelle AG, Buchs bei Aarau) berichtete über neue Möglichkeiten, wie lipophile Substanzen in sogenannte Nanopartikel verpackt werden. Hochdruck (1200 bar) und Überschall (500 m/s) sind notwendig, um etwa 0.00006 mm große Nanopartikel herzustellen, die im wesentlichen aus Membranumschlossenen Fetttröpfchen bestehen. Diese Nanopartikel werden viel besser von Zellen aufgenommen als reine Fetttröpfchen, die frei im Medium herumschwimmen. Die besser bekannten Liposomen sind im Vergleich dazu Träger eines wäßrigen Inhalts, der aber ebenfalls von einer zellverträglichen Membran umschlossen ist. Anwendungsbeispiele in der Kosmetikbranche sind bereits Thema schärfster Konkurrenz, aber beispielsweise zur toxikologischen Verabreichung von lipophilen Chemikalien an Zellen ist noch viel wissenschaftliches Neuland zu betreten.

Eine Vielzahl von Zellmodellen wurde bei weiteren Vorträgen und auf 15 Posters vorgestellt, so über die Bluthirnschranke, für die Nerven- und Lebertoxikologie, zum Studium der Blutbildung oder zur Entwicklung besserer Getreidesorten.

Die rege Beteiligung an dieser Tagung läßt auf weitere spannende Jahrestreffen hoffen.

car

Abstract-Buch und weitere Informationen erhältlich bei:

STCS, Dr. Anke-Peggy Holtorf,
Ciba-Geigy AG, CH-4002 Basel
(FAX +41-61-696 40 69)

Buchbesprechungen

Tiere – Mitgeschöpfe oder Ware?

Informationen und Arbeitsblätter für den Unterricht ab dem 9. Schuljahr. Eine Unterrichtshilfe der Tierversuchskommission des Schweizer Tierschutz STS. 1994. 66 Blätter, 5 Folien. Fr. 25,-.

Diese ansprechend illustrierten Unterlagen lassen sich unter anderem in den Fächern Deutsch und Lebenskunde, Biologie, Religion und Philosophie sowie Staatskunde einsetzen.

Bescheiden steht auf der Klappe der Mappe, die die Lehrblätter enthält: „Vorliegende Unterrichtshilfe liefert Denkanstöße für die Aufarbeitung des Dauerbrenners „Tierversuche“ in der Schule.“ Tatsächlich ist dieses Werk eine der seltenen Unterrichtsunterlagen, die das Wagnis unternehmen, ein Stoffgebiet ganzheitlich anzugehen. Ganzheitlich auf der sachlichen Ebene genauso wie auf der methodisch-didaktischen Ebene: ein beispielhaftes Modell von fächerübergreifendem Unterricht.

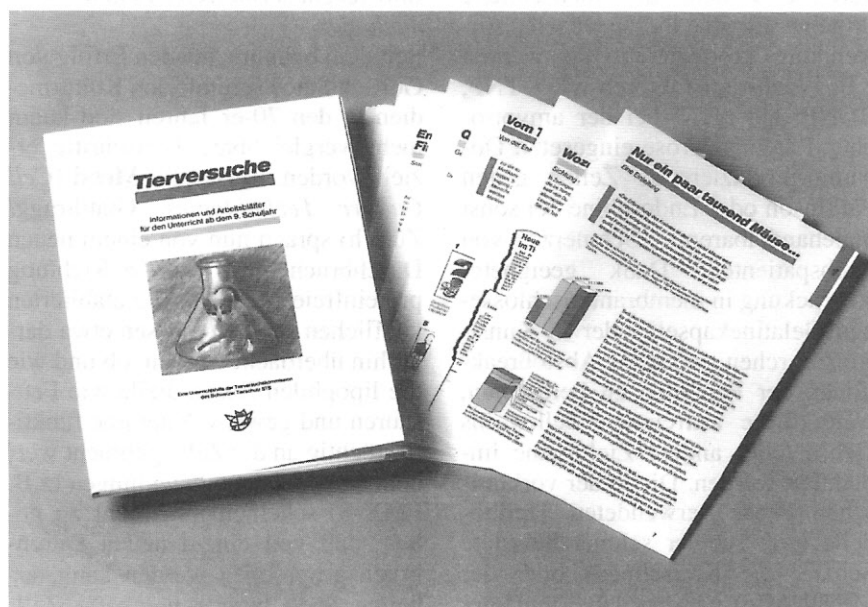
Es handelt sich um acht Kapitel, die einem logischen Aufbau folgen. Es ist jedoch auch möglich, nur einzelne Kapitel des Lehrmittels im Unterricht zu verwenden. Sauber getrennt wird der sachliche Informationsteil für die Lehrerinnen und Lehrer von den konkreten Arbeitsaufträgen für die Schülerinnen und Schüler. Es werden moderne handlungsorientierte Lehrmethoden vorgeschlagen, so ist z.B. eine Pantomime zu entwerfen, indem man sich den Labor-Alptraum eines Tieres vorstellt, oder sich in einem Rollenspiel in verschiedene Meinungen hineinzusetzen – hier heißt das Thema, die Realität nachzuspielen: Es gibt Menschen, für die sind Tierversuche richtig und wichtig, andere lehnen sie ab. Die Schülerinnen und Schüler werden dadurch aufgefordert, Position zu beziehen. „Selbstverständlich erheben die Autorinnen Susi Goll und Rita Moll Furter und

der Autor Thomas Lang keinen Anspruch auf parteilose Objektivität, im Gegenteil.“ Traditionelle Arbeitstechniken finden ebenso ihren Platz (Tabellen erstellen bzw. ausfüllen, Wichtiges unterstreichen, Texte bearbeiten durch Fragen usw.).

Für Lehrerinnen und Lehrer, die in der Regel wenig Erfahrung mit diesem Thema haben, sind diese Unterlagen ein sehr guter Einstieg. Erfahrenere Lehrerinnen und Lehrer können sich die Rosinen herauspicken: So z.B. das kleine Stück Religions- und Philosophiegeschichte, wo auf drei A4-Seiten knapp und klar die Geschichte der Tierschutzethik behandelt wird. Auch der Abriss über die Geschichte der Tierversuche gibt einen guten Einblick, wie sich die Stellung der Tiere im Laufe der Zeit verändert hat. Hier setzt das staatskundliche Beispiel zum Thema Initiativrecht an. In der Schweiz wurden zwischen 1985 – 1993 drei Initiativen zur Einschränkung bzw. Abschaffung der Tierversuche abgelehnt. Was ist eine Initiative? Wie kommt es in der Schweiz zu einer Volksabstimmung?

Das Kapitel „Zuverlässigkeit von Tierversuchen – Sinn und Unsinn von Tiermodellen“ müßte für den

Biologieunterricht in der Sekundarstufe II tiefer gehen. Diese Kapitel finde ich etwas zu plakativ: z.B. den Text zum Medikament Thalidomid (Contergan). Aufgrund des Dramas der Contergankinder sind heute teratogene Tests nicht nur mit Ratten, sondern auch mit Kaninchen vorgeschrieben. Auch konnten ähnliche Schäden wie beim Menschen an der Affenart *Macaca arcoides* festgestellt werden. Andererseits zeigen natürlich vor allem die Tiermodelle in der Psychopharmakaforschung deutlich die Grenzen der Tiermodelle auf. Es fällt tatsächlich schwer, diese Tierversuche nachzuvollziehen. Oder haben Sie schon einmal eine depressive Maus gesehen? Die Schülerinnen und Schüler lernen die verschiedenen Schweregrade von Tierversuchen zu unterscheiden (CH-Recht). Ebenso lernen sie den Weg eines Medikaments bis zur Marktreife kennen. Auch hier ein Rollenspiel: Tochter will sich an einem klinischen Medikamenten-Test beteiligen. Was meint die Mutter dazu? Etwas wenig Platz haben die Alternativen zum Tierversuch im Vergleich zu dem, was es alles an Alternativen gibt. Auch hier, wie in jedem Kapitel, Arbeitsaufträge, die die Schülerinnen und Schüler dazu bringen, sich kritisch mit der Materie zu beschäftigen.



Den Abschluß bildet ein Ausflug in die Literatur: G. B. Shaw: „Vorrede über Ärzte“, Auszug aus „Des Doktors Dilemma“. Auch hier werden Fragen zur Bearbeitung des Textes durch die Schülerinnen und Schüler am Ende des Textes gestellt.

Alles in allem ein hervorragendes und engagiertes Lehrmittel, das in meinem Unterricht sicher Verwendung finden wird. Ich selbst unterrichte Deutsch, Biologie, Staats-, Rechts- und Wirtschaftskunde an einer Berufsschule sowie Biologie und Rechts-Wirtschaftskunde in den neuen Berufsmaturklassen. Für die Biologie an der Berufsmittelschule (Berufsmatur) bzw. an einer Mittelschule (in Deutschland Gymnasien, Sekundarstufe II) müßte der Stoff etwas tiefer behandelt werden. Obwohl diese Unterrichtseinheit speziell für die Schweiz geschrieben wurde, kann sie auch durchaus in Deutschland verwendet werden. Vor allem die Kapitel über Ethik, Tiermodelle und Alternativen zum Tierversuch. Die anderen Kapitel müßten mit deutschen Daten ergänzt werden. In der Gemeinschaftskunde könnte das Schweizer Initiativrecht als Beispiel der Mitbestimmung des Volks behandelt werden.

hik

Der Vollzug des Tierschutzrechts durch Bund und Kantone

Birgitta Rebsamen-Albisser,
375 S., sFr 58,-/ DM 65,-/
öS 507,-.

Vereinigung Tierschutz ist
Rechtspflicht VTR (Hrsg.)
Bern, Stuttgart, Wien:
Paul Haupt (1994)
ISBN 3-258-05007-4

Die Schweiz besitzt seit nunmehr über zwölf Jahren eines der besten und fortschrittlichsten Tierschutzgesetze der Welt. Doch gilt auch hier die Binsenwahrheit, daß jedes Gesetz nur soviel taugt, wie es im Rechtsalltag Anwendung findet. Es

genügt nicht, daß das Tierschutzgesetz gut ist – es muß auch vollzogen werden. Das vorliegende Buch – es ist die an der Juristischen Fakultät der Universität Basel zugelassene Dissertation der Autorin – geht deshalb der Frage nach, wie die eidgenössischen Tierschutzvorschriften in der Praxis umgesetzt werden. Im Ergebnis ist über weite Strecken ein gravierendes Vollzugsdefizit festzustellen, dessen Ursachen teils rechtlicher, teils faktischer Natur sind.

Dieses Buch richtet sich einerseits an tierschutzinteressierte Juristen, denen es einen Einblick in die Vollzugspraxis von Bund und Kantonen vermittelt; andererseits zielt es darauf ab, den Vollzugsbehörden ihre oft mühsame Arbeit bei der Anwendung und Durchsetzung des Tierschutzrechts zu erleichtern, indem es im Sinne einer Lagebeurteilung auf die bestehenden Mängel hinweist, die verschiedenen Ursachen von Vollzugsschwierigkeiten untersucht und konstruktive Lösungsansätze aufzeigt.

In Deutschland wird das Buch seine Leser hauptsächlich in den Kreisen finden, die beim Vollzug des Tierschutzgesetzes immer wieder in Grenzsituationen kommen, in denen es angebracht ist, einmal über den nationalen Tellerrand hinauszusehen. Von den Vollzugsdefiziten her ist sicher in den beiden Ländern sehr vieles ähnlich – und doch auch wieder nicht. Demokratische Spielregeln haben in der Schweiz eine längere Tradition, sie bestimmen bei der einen oder anderen Lösung im Alltag des Tierschutzes das Ergebnis sehr viel stärker als in Deutschland. Als Beispiel sei genannt, daß die Mitglieder von Schweizer Tierversuchskommissionen selbstverständlich das Recht haben, unangemeldet die Tierlabors zu besuchen und Operationen beizuwohnen, also selbst nachzuprüfen, ob die Kommissionsbeschlüsse auch umgesetzt werden. Einige wenige Kantone verfügen neben den Tierversuchskommissionen auch über Tierschutzkommissionen, vergleichbar vielleicht den Landesbeiräten für Tierschutz in einigen

Bundesländern der BRD. Auffälliger Unterschied im Vollzug des Schweizer Tierschutzgesetzes im Vergleich zur deutschen Praxis ist der Zürcher Tierschutzanwalt, ein Novum, das es auch in der Schweiz erst im Kanton Zürich gibt. Das neue Zürcher Tierschutzgesetz sieht nämlich vor, daß in Strafverfahren jemand die Rechte des Geschädigten, das heißt konkret die Rechte des betroffenen Tieres wahrnimmt. Der Anwalt vertritt das Tier in Strafverfahren und hat dazu weitgehende Kompetenzen.

Das Buch von Frau Rebsamen-Albisser ist gut gegliedert und eignet sich hervorragend als Nachschlagewerk. Das Sachregister enthält etwa 400 Suchbegriffe, die es erleichtern, in die einzelnen Kapitel Eingang zu finden. Die Kapitel im einzelnen: 1. Tierschutz und Tierschutzrecht; 2. Kompetenzverteilung zwischen Bund und Kantonen auf dem Gebiet des Tierschutzes; 3. Der Vollzug des Tierschutzrechts durch den Bund; 4. Der Vollzug des Tierschutzrechts durch die Kantone; 5. Probleme und Mängel des Vollzugs.

Ein knappes Literaturverzeichnis und ein Verzeichnis der Rechtsquellen einschließlich der Internationalen Übereinkommen, die auch in der Schweiz gültig sind, runden den Band ab. Zu empfehlen ist die Lektüre den Mitarbeitern in den Behörden auf Bundes- und Länderebene, die mit dem Vollzug des Tierschutzgesetzes betraut sind. Auch Wissenschaftlern kann es nicht schaden, einmal die „andere Seite“ bei den so unbeliebten Genehmigungsverfahren kennenzulernen. Das Buch beinhaltet natürlich weit über den Bereich der Tierversuche hinaus auch den Vollzug des Tierschutzes bei der Heimtierhaltung und bei der Nutztierhaltung, bis hin zur Schlachthofkontrolle und den Prüfungsverfahren bei Baumaßnahmen für Tierhaltungsbereiche. Deutsche Veterinärämter sollten das Buch zur Anregung als Nachschlagewerk von ihren vorgesetzten Dienststellen geschenkt bekommen.

fpg

Terminkalender

• **In vitro Approaches for Alternatives to Contact Dermatitis.** The Johns Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing, USA-Baltimore, MD, 3.-4. März 1995. Information bei 1995 CAAT Symposium, c/o ADG, 1767 Business Center Drive, Suite 302, Reston, VA 22090 USA (Fax 001-703-438-3113)

• **Gesellschaft für Zell- und Gewebezüchtung e.V. (GZG).** Jahrestagung 1995. Cell Interactions in Development, Differentiation and Malignancy. D-Heidelberg, 2.-5. April 1995. Organisation und Information bei Prof. Dr. Norbert E. Fusenig, DKFZ, Im Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (Tel. +49-6221-424-507; Fax +49-6221-424-551)

• **Volunteers in Research and Testing Conference.** GB-Manchester, 3.-5. April 1995. Information bei Mrs. Bryony Close, Battleborough Croft, Battleborough Lane, Brent Knoll, Highbridge, Somerset TA9 4DS, UK (Tel/Fax +44-278-760843)

• **Zellkulturkurs bei Prof. Dr. W. Minuth, Universität D-Regensburg, 17.-20. April 1995.** Unterlagen bei Frau Lorenz-Minuth, Starenstr. 2, D-93077 Bad Abbach (Tel/Fax +49-9405-4427)

• **Animals in Science.** AU-Clayton, 19.-21. April 1995. Information bei Dr. Noel E. Johnston, Ethics & Integrity in Research, Monash University, Clayton, Victoria 3168, Australia (Tel +61-03-905-3037; Fax +61-03-905-3866)

• **ICLAS Working Group on Complementary Methods.** E-Talavera de la Reina (Toledo), 27.-30. April 1995. Informationen

bei Dr. Eduardo de la Peña de Torres, CSIC c/ Serrano 115 dpdo E-28006 Madrid España (Fax +34-1-5640800 und +34-1-4113077)

• **IIIème Colloque: Les matières premières d'origine naturelle, les méthodes alternatives et l'industrie cosmétique.** F-Poitiers, Château de Perigny, 5.-6. Mai 1995. Informations: ADF CHIMIE (Tél.: +33-53-54-75-00; Fax: +33-53-04-09-58)

• **4. Fortbildungsveranstaltung „Verminderung der Belastung von Tierversuchen“, D-Berlin, 22.-23. Mai 1995.** Information bei Dr. H. H. Hiller, ZTL, FU Berlin, Krahmerstr. 6, D-12207 Berlin, Tel.; +49-30-7983833, Fax +49-30-7989389

• **Eurotox '95. CZ-Prag, 27.-30. August, 1995.** Information bei Czech Medical Association, J. E. Purkyně, P.O.Box 88, Sokolská 31, 12026 Prag 2, Tschechische Republik, (Tel +42-2-24915195; Fax +42-2-24216836)

• **BTS Meeting: In vitro Toxikology.** GB-Oxford, 6.-8. September 1995. Information bei Dr. J. K. Chipman, School of Biochemistry, University of Birmingham, UK (Tel/Fax +44-21-414-6865)

• **4. Österreichischer internationaler Kongreß über Ersatz- und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen in der biomedizinischen Forschung. Zugleich 2. Jahrestagung der Mitteleuropäischen Gesellschaft für Alternativmethoden zu Tierversuchen (MEGAT).** Universität Linz, A-Linz, 24.-26. September 1995. Anmeldeschluß für Vorträge:

1. April 1995
Anmeldeschluß für Poster:
1. Juni 1995
Themen:

1. Immunisierung und Adjuvantien

Kontaktperson K. Cußler, Paul-Ehrlich-Institut, D-Langen, Fax +49-610377-1254

2. Toxikologische Prüfungen von Kosmetika in der EU

Kontaktperson H. Spielmann, ZEBET, D-Berlin, Fax +49-30-7236-2958

3. In vitro Modelle in der Neurotoxikologie

Kontaktperson CH. A. Reinhardt, SIAT, CH-Zürich, Fax +41-1-4451535

4. In vitro Modelle in der Reproduktionstoxikologie

Kontaktperson H. Spielmann, ZEBET, D-Berlin, Fax +49-30-7236-2958

5. In vitro Modelle in der Onkologie

Kontakt H. Tritthart, Universität, A-Graz, Fax +43-316-323468

6. Biometrie von in vitro Methoden

Kontaktperson H. G. Holzhütter, Humboldt-Universität, D-Berlin, Fax +49-30-28468600

7. Recht und Ethik

Kontaktpersonen A. F. Goetschel, VTR, CH-Zürich, Fax +41-1-2626726; F. P. Gruber, FFVFF, CH-Zürich/D-Konstanz, Fax +41-1-4228010 und +49-7531-25833

Anfragen und Organisation:

H. Schöffl, B. Weiß, AFTF, A-Linz, Fax +43-5333-6248

• **2nd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences.** NL-Utrecht, 20.-24. Oktober 1996. Information bei FBU Congress Agency, Mrs. Loes Donkers, P.O.Box 80.125, NL-3508 TC Utrecht, Tel +31-30535044.

Hinweise für Autoren

Absichten und Ziele von ALTEX sind im Impressum erläutert.

Beiträge sollen auf 3 1/2" Disketten, MS-DOS, Mac oder Atari formatiert, zusammen mit zwei Ausdrucken an die **Redaktion in Zürich** gesandt werden. Der Text auf der Diskette soll keine Silbentrennungen enthalten. Bevorzugt werden MS-DOS Word und Word für Mac, es können aber alle gängigen Textverarbeitungsprogramme importiert werden.

Gliederung von Originalbeiträgen:

- Titel – bitte nicht mehr als 20 Wörter (wenn vorhanden: Untertitel in Klammern)
- Alle Überschriften, auch Kapitelüberschriften in Groß/Kleinschreibung
- Autoren mit ausgeschriebenen Vornamen
- Zusammenfassung (deutsch) und Summary (mit englischem Titel)
- Einleitung und Fragestellung
- Material und Methoden (bitte Tiere nicht unter Material aufzählen; Herstellerangaben und Bezugsquellen bitte vollständig angeben)
- Ergebnisse
- Diskussion
- Literatur (siehe extra Hinweis)
- Anmerkungen
- Adresse des Erstautors
- Legenden zu den Abbildungen (müssen ebenso wie die Überschriften der Tabellen auch für sich alleine verständlich sein)
- Tabellen (jeweils eine auf separater Seite, numeriert)
- Abbildungen (jeweils eine auf separater Seite, numeriert)

Beiträge, die nicht Originalbeiträge sind, oder Beiträge aus dem geisteswissenschaftlichen Bereich können nach den Erfordernissen des Themas anders gegliedert sein.

- Abkürzungen müssen bei ihrer ersten Erwähnung im Text erklärt werden. Bei mehr als drei Abkürzungen empfiehlt es sich, ein Abkürzungsverzeichnis anzulegen.
- Allgemeine Abkürzungen wie z.B., ggf., oder ähnliche bitte sparsam verwenden.

Maßeinheiten bitte gemäß dem Internationalen Einheitensystem (SI) verwenden. (Ausnahmen höchstens bei im internationalen Sprachgebrauch noch bevorzugt verwendeten Einheiten wie Å oder bar.) Dezimalzeichen bei Zahlenangaben sollen als Komma geschrieben werden. Gleichungen müssen im Manuskript in einer neuen eigenen Zeile stehen. Handelsnamen und eingetragene Warenzeichen müssen als solche gekennzeichnet sein.

Literaturangaben:

Literaturangaben sollen im Text mit dem Namen der Autoren und dem Veröffentlichungsjahr (in Klammern) gekennzeichnet werden. Bei mehr als zwei Autoren wird nur der Name des Erstautors mit dem Zusatz „et al.“

und der Jahreszahl (in Klammern) angegeben. Ist der Name des zitierten Autors nicht im Text integriert, wird er ebenfalls in Klammern gesetzt, mit einem Komma von der Jahreszahl getrennt. Mehrere Literaturstellen hintereinander können in einer Klammer stehen und werden dann durch ein Semikolon voneinander getrennt. Aus dem gleichen Jahr stammende Veröffentlichungen der gleichen Autoren sollen durch a, b, c unterschieden werden. Vornamen werden immer abgekürzt; Leertaste zwischen den abgekürzten Vornamen. „von“, „van“, „de“ etc. stehen bei Kleinschreibung nach und bei Großschreibung vor dem Nachnamen: z.B. Loon, A. B. van; Van Essen, D.; „jr.“ steht nach dem Vornamen: Müller, S. jr.

Beispiele für Literaturangaben im Text:

In einer Cokultur läßt sich durch LPS ein akuter Zelluntergang induzieren (Hartung, 1991). Tiegs et al. (1989) zeigen, daß Cytokine letztlich die Zellschädigung auslösen. Anderen Autoren gelingt dieser Nachweis ebenfalls (Johnson et al., 1990; Gimbrone und Bevilacqua, 1991). Im Literaturverzeichnis bitte nur die zitierte Literatur in alphabetischer Reihenfolge aufführen.

Beispiele:

Artikel aus Zeitschriften:

Drew, A. H. (1927). The action of tumour extracts on tissues in vitro. *Brit. J. exp. Path.* 8, 176–178.

Artikel aus Büchern:

Rosenman, R. H., Swan, G. E. und Carmelli, D. (1988). Definition, assessment, and evolution of the type A behavior pattern. In B. M. Houston und C. R. Snyder (Hrsg.), *Type A behavior pattern – research, theory, and intervention* (8–31). New York: Wiley.

Bücher:

Anderson, J. R. (1989). *Kognitive Psychologie*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Die einzelnen Literaturstellen werden durch eine Leerzeile voneinander getrennt.

Tabellen und Abbildungen:

Tabellen und Abbildungen müssen dem Text getrennt beigelegt werden, wobei für jede Tabelle bzw. Abbildung ein gesondertes Blatt zu verwenden ist. Jede Abbildung und jede Tabelle muß mit dem Namen des Erstautors und der Tabellen-/Abbildungsnummer versehen sein.

Jede Tabelle muß eine Überschrift, jede Abbildung eine Legende besitzen. Überschriften und Legenden müssen auch jeweils für sich verständlich sein. (Um eine Abbildung oder eine Tabelle verstehen zu können, soll dem Leser nicht ein Vor- und Zurückblättern im Text zugemutet werden.)

Beispiel:

Abbildung 3: Phototoxizität von L-Histidin im 3T3 NRA-Test

Tabelle 4: UV-Faktoren für 15 Stoffe, bei denen in Abwesenheit von UV-A-Strahlung die Zytotoxizität bestimmbar war

Im laufenden Text sollte, mit einer Leerzeile davor und dahinter, in Doppelklammer ein Verweis an der Stelle auftauchen, wo die Tabelle oder Abbildung am besten stehen sollte. Zum Beispiel:

((hier Tabelle 1 einfügen))

((hier Abbildung 1 einfügen))

Die Tabellen mit Tabulatoren setzen, auf keinen Fall mit Leerzeichen! Gelesen werden können auch Tabellen, die mit Excel geschrieben sind. Andere Tabellenkalkulationsprogramme bitte nur nach Rücksprache verwenden.

Für Strichabbildungen werden gute Vorlagen in der gewünschten Endgröße oder größer (mit Angabe der gewünschten Endgröße) erbeten. Für Halbtonabbildungen sind kontrastreiche, reproduktionsfähige schwarz/weiß Fotoabzüge, rechtwinklig beschnitten, in der gewünschten Endgröße (oder größer) erforderlich. Farbfotos bitte nur nach Rücksprache mit der Redaktion verwenden.

Die Beschriftung sollte ca. 2 mm groß sein (nach der durch den Druck erfolgten Verkleinerung!). Bitte gleiche Schriftarten und Schriftgrößen innerhalb einer Abbildung verwenden. Die Herausgeberin behält sich eine Vergrößerung oder Verkleinerung vor.

Bei zitierten Abbildungen anderer Autoren muß der Autor die Druckerlaubnis mitteilen.

Der Satzspiegel der Zeitschrift weist folgendes Format auf: 17,5 cm Breite und 23,2 cm Höhe. Dies ist die maximale Bild- und Tabellengröße!

Sonderzeichen:

Viele Sonderzeichen können über die Tastatur Ihres Computers dargestellt werden. Dies hängt jedoch von dem von Ihnen verwendeten System und Programm ab. Sollten Sie irgend ein Zeichen nicht darstellen können, verfahren Sie bitte folgendermaßen: Statt eines Malzeichens schreiben Sie ((x)), statt eines griechischen Alpha's schreiben Sie ((alpha)). Bitte eine Liste mit der Erklärung der Sonderzeichen beilegen.

Unterstützung der Redaktion bei der Wahl der Gutachter

Zuhanden der Redaktion kann eine Liste möglicher Gutachter beigelegt werden. Es können darauf auch Wissenschaftler vermerkt werden, die das Manuskript **nicht** begutachten sollen, weil sie z.B. in einer Konkurrenzsituation mit den Autoren stehen.