



ALTERNATIVEN ZU TIEREXPERIMENTEN

an den Schweizerischen Hochschulen und in der Industrie.

Symposium	Mittwoch , 13. Mai 1987, Institut für Pathologie, Basel.
Organisation	FFVFF, Fonds für versuchstierfreie Forschung, Zürich; in Zusammenarbeit mit PD Dr. U. Otten, Biozentrum Basel
Patronat	Prof. A. Pletscher, Universität Basel

Einem offensichtlichen Bedürfnis der Studierenden entsprechend, ergriffen wir von der Stiftung FFVFF wieder die Initiative, um die Kenntnisse über alternative Forschung in Hochschulen besser bekannt zu machen. Erfreulicherweise sind wir bei der Organisation dieses Symposiums auf grosse Zustimmung und gute Kooperationsbereitschaft bei der Universität Basel gestossen und konnten das Programm innert kürzester Zeit zusammenstellen. Dies auch dank der Bereitschaft kompetenter Referenten aus den verschiedensten Fachgebieten.

Das Symposium soll einen Überblick über die Möglichkeiten geben, die heute als Alternativen zu den Tierversuchen bestehen. Es ist das zweite dieser Art: das erste Symposium - im Dezember 1984 an der ETH Zürich - fand regen Anklang bei den rund 300 Teilnehmenden.

Wir hoffen, dass es nicht bei diesen einmaligen Veranstaltungen bleibt, sondern dass solche Informationen über Alternativen in die Lehrpläne der Hochschulen aufgenommen werden. Eine von 8000 Personen unterschriebene Petition mit diesem Inhalt ist bereits vom Bundesrat entgegengenommen worden. Ein umfassender Bericht ist daher (bald?) zu erwarten. Es bleibt aber den Universitäten unbenommen, schon jetzt in dieser Richtung aktiv zu werden.

Auf den folgenden Seiten finden Sie die Zusammenfassungen der Beiträge zu diesem Symposium.



DIE VERWENDUNG VON LEBERZELLKULTUREN
UND VON MENSCHLICHEN LEBERBANKEN
IN DER PHARMAKOLOGISCHEN UND TOXIKOLOGISCHEN FORSCHUNG

Urs A. Meyer
Abteilung Pharmakologie
Biozentrum der Universität, Basel

Leberzellen aus Hühnerembryonen und von Nagetieren in primärer Monolayerkultur exprimieren differenzierte Funktionen des Arzneimittel- und Fremdstoffmetabolismus und werden seit vielen Jahren als Modellsysteme zu Regulationsstudien der hepatischen Biotransformation von Arzneimitteln sowie von mutagenen, cancerogenen und teratogenen Substanzen verwendet. Kürzliche Untersuchungen in anderen Forschungsgruppen haben gezeigt, dass auch menschliche Leberzellen für längere Zeit unter Kulturbedingungen in der Zukunft für solche Zwecke verwendet werden können.

Die Leber von hirntoten Organspendern und Leberbiopsien, die während Bauchoperationen entnommen werden, können zur Voraussage der Abbaureaktionen neuer Arzneimittel zu inaktiven, aktiven oder toxischen Metaboliten verwendet werden. Die betreffenden Enzyme der Leber bleiben in gefrorenem Zustand bei -80°C über mehrere Jahre funktionell unverändert. Durch die Verwendung einer grösseren Zahl von Gewebeproben von verschiedenen Spendern können zusätzlich interindividuelle Unterschiede im Arzneimittelabbau erfasst werden.

Beide diskutierten Verfahren können nach den Erfahrungen der letzten Jahre gewisse Ganztierversuche ersetzen oder reduzieren.

Literatur

Hirsiger, H., Giger, U., Meyer, U.A.
Stimulation of DNA-Synthesis and mitotic activity of chick embryo hepatocytes in primary culture. Effect on Induction of polysubstrate monooxygenase activity.
In vitro 20, 172-182, 1984

Meier, P.J., Müller, H.K., Dick, B., Meyer, U.A.
Hepatic monooxygenase activities in subjects with a genetic defect in drug oxidation.
Gastroenterology 85, 682-692, 1983

Guillonzo, A., Beaune, P., Gascoin, M.-N. et al
Maintenance of cytochrome P450 in cultured adult human hepatocytes
Biochem. Pharmacol. 34, 2991-2995, 1985



ALTERNATIVMETHODEN ZUR PRUEFUNG ENTZUENDUNGSHEMMENDER UND IMMUNMODULATORISCHER ARZEIMITTEL

Marco Baggiolini und Beatrice Dewald
Theodor-Kocher-Institut
Universität Bern

Die neutrophilen Leukozyten und die Monozyten haben grosse Bedeutung in der Pathophysiologie der Infektabwehr und der Entzündung. Die Untersuchung von Pharmaka, welche die Funktion dieser Zellen beeinflussen, ist daher ein wichtiger Beitrag auf der Suche nach neuen Therapiemöglichkeiten für problematische Infektionen und chronische Entzündungskrankheiten (1). Hemmer oder Aktivatoren von menschlichen Neutrophilen und Monozyten können ohne Probleme in vitro untersucht und beurteilt werden.

Zu diesem Zweck haben wir eine Reihe von einfachen Testmodellen ausgearbeitet. Die Zellen werden in reichlicher Zahl aus Blutspenden, ohne Verlust der anderen Blutbestandteile, gewonnen. Sie werden auf verschiedene Arten stimuliert und ihre Antworten (d.h. die Freisetzung von Enzymen und die Bildung von Superoxyd bzw. Wasserstoffperoxyd) werden quantitativ erfasst. Als Stimuli können chemotaktische Agonisten (N-formyl-Methionylpeptide, das Anaphylatoxin C5a, Leukotrien B₄ und Platelet-Activating Factor) Interferone, oder phagozytische Partikel eingesetzt werden. Erfasst werden Substanzen, die in selektiver Weise die Wirkung eines bestimmten Agonisten verstärken oder hemmen sowie allgemeine Modulatoren der Zellaktivität. Ein Test-System für die Erfassung und Evaluation von Antagonisten von Platelet-Activating Factor wurde bereits erfolgreich eingesetzt (2). Bei allen in diesem Projekt ausgearbeiteten Modellen wurde auf Einfachheit und grosse Kapazität geachtet. Selbst wenig geschulte Personen sollen in der Lage sein, die Tests selbständig auszuführen. Sämtliche Ansätze werden in Mikrotiter-Platten ausgeführt, welche die gemeinsame Bearbeitung von 96 Einzelproben erlauben. Die funktionellen Antworten der Zellen werden nach biochemischen Kriterien automatisch gemessen. Kapazität, Einfachheit und gute Reproduzierbarkeit machen diese Testsysteme zu einer attraktiven und kostengünstigen Alternative zu Tiermodellen im Rahmen von Primärscreening-Programmen.

Literatur

Baggiolini, M.
Phagocyte activation and its modulation by drugs
Handbook of Inflammation, Vol. 5: The Pharmacology of
Inflammation (eds. I.J. Bonta, M.A. Bray and M.J. Parnham)
Elsevier Science Publishers B.V., 1985, pp. 117-135

Dewald, B. & Baggiolini, M.
Evaluation of PAF antagonists using human neutrophils in a
microtiter plate assay
Biochem. Pharmacol. 1987, in press



PD Dr. U. Otten
Inst. f. Pharmakologie
Biozentrum der Universität Basel

Sensorische Nervenzellen in Kultur: Modell zum Studium
biochemischer Mechanismen der Schmerzentstehung.

Um die Wirksamkeit schmerzlindernder Pharmaka (Analgetika) festzustellen, ist es erforderlich, Versuchstieren Schmerzen zuzufügen. Der Grad der Abschwächung einer Schmerzreaktion ist massgebend für die Beurteilung der analgetischen Wirksamkeit eines Medikamentes.

Von verschiedenen Seiten werden Anstrengungen unternommen, das Los der Versuchstiere zu erleichtern und nicht schmerzfähige Modelle zu entwickeln, die ermöglichen, Untersuchungen über Schmerz und die Wirksamkeit von Analgetika durchzuführen.

In unserem Labor ist ein Kultursystem für sensorische Nervenzellen entwickelt worden, das erlaubt, sensorische Neurone von Spinal- und Trigeminusganglien von neugeborenen Ratten für länger als 8 Wochen zu züchten.

Detaillierte Untersuchungen haben ergeben, dass die sensorischen Neurone in Kultur die charakteristischen morphologischen, physiologischen und biochemischen Eigenschaften der sensorischen Neurone aufweisen, die an der Leitung von Schmerzreizen beteiligt sind.

Mit Hilfe dieses Zellkultursystems wird es möglich, biochemische Mechanismen der Schmerzentstehung aufzuklären und die Wirksamkeit peripher angreifender Analgetika zu untersuchen.



ETHISCHE ANMERKUNGEN ZUM THEMA TIER- VERSUCHE

Ina Praetorius, Institut für
Sozialethik der Universität
Zürich

Medizin im Kontext westlicher Industriegesellschaften ist nicht eindeutig heilsam. Sie scheint sogar im Zuge ihrer zunehmenden Integrierung ins naturwissenschaftlich-technische Paradigma mehr und mehr Krankheit zu erzeugen. Dieser heute deutlicher denn je erkennbare Zustand macht eine Infragestellung scheinbar selbstverständlicher Voraussetzungen westlicher Medizin-Tradition notwendig.

Die Praxis der Tierversuche kann als symptomatisch gelten für das der westlichen Schulmedizin zugrundeliegende Wissenschaftsparadigma: Lebewesen 'niederer Ordnung' werden leblosen, mechanisch funktionierenden Dingen gleichgestellt, mit denen nach Belieben verfahren wird. Dieses mechanistische Modell von Leben macht entgegen einer verbreiteten Meinung vor menschlichem Leben nicht halt. Es ist verfehlt anzunehmen, zwischen 'dem Menschen' und 'dem Tier' bestehe die entscheidende Grenze, insofern alle Menschen als Subjekte, alle Tiere als Objekte behandelt würden. Realistischer erscheint eine Einschätzung, die ein Gegenüber annimmt zwischen einer Hierarchiespitze aus weissen Männern und allem übrigen Leben, das von der Spitze aus nach Belieben klassifiziert und funktionalisiert wird.

Aufgrund dieses Analyseansatzes scheint es mir nicht sinnvoll, die Praxis der Tierversuche als isoliertes 'ethisches Problem' ins Auge zu fassen, das unabhängig von einer Abkehr vom klassischen naturwissenschaftlichen Paradigma systemimmanent durch ethische Normsetzung und gesetzliche Kontrolle zu lösen wäre. Vielmehr muss der Tierversuch als signifikanter Akt innerhalb des technokratisch-patriarchalen Weltverhältnisses 'des Menschen' wahrgenommen werden, das sich zum heutigen historischen Zeitpunkt als primär zerstörerisch erweist. Der Weg zu einer ethisch begründeten Infragestellung der Praxis Tierversuche führt demnach nicht über eine Kritik des sogenannten 'Anthropozentrismus' und auch nicht über eine Reklamation von 'Tierrechten', sondern über eine Aufdeckung des patriarchalen Wissenschaftsparadigmas, das Tierversuche als ein lebensfeindliches Handeln neben anderen hervorbringt.

LITERATUR

Mary Daly, Gyn/Oekologie, eine Meta-Ethik des radikalen Feminismus, München 1981

Evelyn Fox-Keller, Liebe, Macht und Erkenntnis, männliche oder weibliche Wissenschaft?, München/Wien 1986

Mary Midgley, Animals and why they matter, Harmondsworth (Penguin) 1983



Alternative Forschungsmethoden in der Toxikologie.

Gerhard Zbinden
Institut für Toxikologie
ETH und Universität
Zürich

Alternative Testverfahren, die es ermöglichen, toxikologische Untersuchungen direkt zu ersetzen, gibt es nur wenige. Als Beispiel seien erwähnt die Prüfung von Injektionslösungen auf Pyrogene durch den Limulus-Amöbozyt Lysatstest und die Standardisierung von Insulinchargen durch HPLC- und Rezeptorbindungsstudien anstelle von Rattenexperimenten. Ueber den möglichen Ersatz des Draize-Augenreiztests wird in einem speziellen Referat berichtet. Eine drastische Verminderung des Tierverbrauches kann bei der Prüfung chemischer Stoffe auf akute Toxizität durch Verzicht auf hohe Präzision der LD50 sowie Verbesserung der Versuchsanlage erzielt werden. Eine grosse Zahl von Alternativmethoden stehen zur Verfügung für eine Auswahl toxikologisch unbedenklicher Stoffe im Sinne eines Screenings. Die grössten Fortschritte wurden hier auf dem Gebiet der Prüfung auf mutagene Wirkung, zelltransformierende Wirkung und teratogene Wirkung gemacht. Bei negativen Ausfall derartiger Voruntersuchungen sind jedoch, sofern die Substanz beim Menschen verwendet werden soll, oft noch Kontrolluntersuchungen am Ganztier durchzuführen.

Eine weitere grosse Bedeutung haben die Alternativmethoden bei der Abklärung von Wirkungsmechanismen toxischer Substanzen. In diesem Bereich sind in vitro Modelle den Experimenten am Ganztier oft überlegen, da sie es ermöglichen, bestimmte biologische Reaktionen isoliert und präzise zu erfassen.



Epilepsieforschung an Hirnschnitten

Dr. H.-R. Olpe
CIBA-GEIGY AG
4002 Basel

Etwa 0.6 Prozent der Weltbevölkerung erkranken im Laufe ihres Lebens an einer Epilepsie. Nur etwa die Hälfte kann mit bestehenden Medikamenten praktisch anfallsfrei gehalten werden. Wirksame Medikamente werden daher dringend benötigt. Die Entwicklung besserer Medikamente hängt vom Verständnis der pathophysiologischen Prozesse ab, die der Epilepsie zu Grunde liegen. Um diese zu erforschen und um ihre Beeinflussbarkeit durch Medikamente auf zellulärer Ebene studieren zu können, werden heute in vermehrtem Masse in vitro Methoden eingesetzt. Im Vordergrund steht das Hirnschnittverfahren, bei dem dünne Gewebsscheiben aus Gehirnregionen gewonnen werden, die besonders anfällig auf epileptische Entladungen sind. An solchen Hirnschnitten können chemisch oder durch elektrische Reizung epilepsie-artige Entladungsmuster der Zellen ausgelöst werden. Diese Versuchsanordnung kann sowohl zur Entdeckung als auch Charakterisierung neuer Substanztypen verwendet werden.

Gegenüber den konventionellen Tests besitzt diese Methode einige markante Vorteile; so können z.B. mehrere Präparate am gleichen Gewebstück vergleichend untersucht werden. Ein Nachteil der Methode besteht darin, dass keine Blut-Hirnschranke vorhanden ist, die für die Hirnverfügbarkeit eines Präparates wichtig ist. Im Moment wird die Frage noch abgeklärt, in welchem Ausmasse die konventionellen Tests durch diesen in vitro Test ersetzt werden können.

Literatur

- Oliver, A., Hoffer, B., Wyatt, R.;
The hippocampal slice: a system for studying the pharmacology of seizures and for screening anticonvulsant drugs, *Epilepsia*, 18 (1977) 543.
- Rose, G., Olpe, H.-R., Haas, H.;
Testing of prototype antiepileptics in hippocampal slices, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 332 (1986) 89-92.
- Schwartzkroin, P., Haglund, M.;
Spontaneous rhythmic synchronous activity in epileptic human and normal monkey temporal lobe; *Epilepsia* 27 (1986) 523.



Praktische Bedeutung von Ersatzmethoden
zur Abschätzung der Reizwirkung von Chemikalien

Christoph A. Reinhardt
Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich
CH-8603 Schwerzenbach/Zürich

Ausgehend vom Konzept der 3R von Russell & Birch verstehen wir den Begriff Alternativmethoden (Reinhardt 1985) in dem Sinne, dass nur ein optimales koordiniertes Vorgehen auf allen Stufen der 3R die bestehenden Teststrategien in der Toxikologie verändern kann. Die hier vorgetragenen Ersatzmethoden für den Augen- und Hautreizwirkungstest von Chemikalien betreffen deshalb die am besten validierten Methoden, welche dem Endziel der 3R, nämlich dem vollständigen Ersatz eines Tierexperiments bereits sehr nahe sind.

Schon vor drei Jahren wurde anlässlich eines internationalen Workshops betont (Reinhardt et al. 1985), dass nur eine Testbatterie Erfolg haben könnte, den Draize-Test wirklich zu ersetzen. In einem kürzlich erschienenem Buch (Frazier et al. 1987) wurden die meisten der bisher publizierten Methoden zusammengestellt und ebenfalls eine Testbatterie vorgeschlagen. Aus praktischer Sicht hat eine Arbeitsgruppe innerhalb der Industrie (Künstler et al., 1986) ähnliche Schlussfolgerungen gezogen, sodass eine Kombination dreier Testsysteme mit verschiedenen Endpunkten und verschiedener Komplexität sich als optimal herauskristallisiert:

1. Ein einfaches intergriertes System wie die Chorionallantois-membran am 9-10 Tage alten Hühnerembryo
2. Isolierte Organkulturen wie Haut- und Augenexplantate aus Schlachthofmaterial
3. Ein einfacher Zelltest zur Bestimmung der Zytotoxizität einer Testsubstanz auf lebende Zellen in Kultur

Zur Illustration werden die neuesten Daten zur Zytotoxizität an Zellkulturen und zum Hühnerembryo-Test näher ausgeführt. Dies soll aufzeigen, wie solche Alternativmethoden 2- bis 3-stufige Antworten erlauben, welche an der in vivo Situation geeicht sein müssen.

- FRAZIER, J.M.; GAD, S.C.; GOLDBERG, A.M. & McCULLEY, J.P. (1987)
In: Alternative Methods in Toxicology Series Vol. 4,
M.A. Liebert, New York, 136 pp.
- KÜNSTLER, K.; BARTNIK, F.; HOLTMANN, W.; LÜPKE, N.P. & WALLAT, S.
(1986) In: Ersatzmethoden zum Tierversuch. Projektträger
Biologie, Ökologie, Energie; Bundesministerium Forsch. Technol.
Bonn, 223-252.
- REINHARDT, C.A. (1985) Alternat. Tierexp. (FFVFF, Zürich) 2, 3-4.
- REINHARDT, C.A.; BOSSHARD, E. & SCHLATTER, C. (1985) Food Chem. Tox.
23, 135-338.