



## Meinungen und Kommentare

### Zur ethischen Abwägung von Tierversuchen

An die ALTEX-Redaktion,

ich möchte mich kurz zu den Ausführungen von Dr. W. Scharmann und Dr. G. Teutsch zum obigen Thema äußern, die ich in ALTEX 4/94 mit Interesse gelesen habe. Allerdings wäre mein Interesse noch größer gewesen, wenn sich die Autoren hätten entschließen können, von ihrer vorgefaßten Ansicht des Nutzens des Tierversuchs so weit Abstand zu nehmen, um ihn auch als Methode – im Prinzip – hinterfragen zu können.

Der Begriff Ethik beschränkt sich für die Autoren auf die Zulässigkeit bestimmter Grade des Leidens, das der Mensch dem Tier zufügt, daher das Gerüst von Unterscheidungen zwischen „Befürwortern, Verteidigern, Kritikern und Gegnern aus ethischer Sicht“. Anstatt sich damit zu begnügen, hätten sie sich nicht auch mit der Frage auseinandersetzen müssen, ob der Tierversuch überhaupt dort ethisch zulässig ist, wo Schlüsse vom Tier auf den Menschen gezogen werden? Siehe die vielen Medikamentenkatastrophen, unvorhergesehen schwere Nebenwirkungen, Mißgeburten, Todesfälle, Rücknahme von Medikamenten etc. etc. Aus ethischer Sicht wären Tierversuche ja dann ev. abzulehnen, weil sie nicht nur für das „Tiermodell“ belastend, sondern weil sie wissenschaftlich fragwürdig, auch verhängnisvoll für den Menschen selbst wären, dessen Wohl sich die Autoren in erster Linie verpflichtet erklären.

Selbst das Kriterium der „Nähe“, mit dem Dr. Scharmann den Tierversuch rechtfertigt, wäre doch neu zu beurteilen, wenn Tierversuche nicht nur Leiden für das dem Forscher „entfernte“ Tier, sondern Schaden und Leiden auch für den dem Forscher „nahestehenden“ Menschen als Mitbetroffenen verursachen.

E. Peter  
CH-Männedorf

*Entgegnungen auf das Schreiben von E. Peter*

Sehr geehrte Frau Peter,

Ziel unseres Artikels war es, einen Passus im geltenden Tierschutzgesetz – die sog. „ethische Abwägung“ – für Antragsteller von Tierversuchen und die Tierversuche beurteilenden Instanzen verständlicher und praktikabler zu machen. Dabei sehe ich es als einen Fortschritt in der Diskussion um Tierversuche an, daß der Gesetzgeber hierbei grundsätzlich einen ethischen Konflikt anerkennt. Das Tierschutzgesetz geht allerdings nach wie vor davon aus, daß Tierversuche für die biomedizinische Forschung von Nutzen sind. Ich schließe mich dieser Wertung an, auch wenn mir ebenfalls Beispiele bekannt sind, in denen sich Tierversuche auf den Menschen nicht übertragen ließen. Weitaus größer ist jedoch die Zahl der Experimente, denen man einen Nutzen für die menschliche Gesundheit nicht absprechen kann.

Auch wenn Tierversuche nur Teilaspekte multifaktorieller Krankheiten aufklären können, haben sie auf diese Weise doch vielfach zumindest eine kausale Therapie menschlicher Leiden eröffnet und damit zahllosen Patienten ein normales Leben ermöglicht. Hiermit gebe ich die Meinung der mir bekannten Ärzte wieder, die sich keinesfalls alle als „Schulmediziner“ verstehen, sondern manchen Errungenschaften der heutigen Medizinentwicklung eher skeptisch gegenüberstehen. Dennoch können auch sie in Fällen, in denen es ihnen unerläßlich erscheint, nicht auf die mit Hilfe von Tierversuchen entwickelten Medikamente und Methoden verzichten.

Prof. W. Scharmann  
Bundesinstitut für gesundheitlichen  
Verbraucherschutz  
und Veterinärmedizin  
D-Berlin

Sehr geehrte Frau Peter,

es ist richtig, daß wir die Frage der ethischen Abwägung von Tierversuchen in Anlehnung an §7 Abs. 3 des deutschen Tierschutzgesetzes behandelt haben, wo vorgeschrieben wird, daß Versuche an Wirbeltieren nur durchgeführt werden dürfen, „wenn die zu erwartenden Schmerzen, Leiden oder Schäden der Versuchstiere im Hinblick auf den Versuchszweck ethisch vertretbar sind“. Dabei wird allgemein unterstellt, daß Tierversuche der Heilung kranker Menschen und gelegentlich auch kranker Tiere dienen.

Ob Tierversuche auf die eine oder andere Weise auch den Menschen schaden können, ist eine Frage, die in die fachliche Kompetenz der Humanmediziner fällt. Jede Einmischung Fachfremder würde mit Recht zurückgewiesen und den „Einmischer“ disqualifizieren, ganz besonders, wenn er als Ethiker in einem sowieso dünnwandigen Glashaus sitzt.

Wer also mit ethischen Gründen argumentiert und dabei nicht unglaubwürdig werden will, muß sich streng an den Grundsatz halten, Sachverhalte erst dann zu bewerten, wenn sie von Fachleuten ausreichend geklärt sind.

Prof. G. Teutsch  
D-Bayreuth

## Aus der Forschungstätigkeit des SIAT Biografik-Labors<sup>1</sup>

Im *Newsletter 5* wurde eine Validierungsstudie von Pseudorezeptor Modeling<sup>2</sup> veröffentlicht. In einer erweiterten Studie konnte anhand dreier Systeme (Carboanhydrase, dopaminerg und  $\beta$ 2-adrenerger Rezeptor) gezeigt werden, daß die Methode imstande ist, relative Bindungsaffinitäten für einen Satz von repräsentativen Wirkstoffen innerhalb 0,2 bis 0,4 kcal/mol zu reproduzieren (Vedani et al., 1995).<sup>3</sup> An dieser Stelle soll gezeigt werden, daß diese Rezeptormodelle auch fähig sind, relative Bindungsaffinitäten für Wirk-

stoffe außerhalb des Trainingssatzes hinreichend genau vorauszusagen.<sup>4</sup>

Eine Vergleichsstudie mit zwei QSAR-Methoden (*Quantitative Structure-Activity Relationships*) soll aufzeigen, inwieweit Pseudorezeptor Modeling imstande ist, zuverlässigere Voraussagen zu machen als klassische QSAR-Methoden.

Schließlich soll eine neue Stoßrichtung von Pseudorezeptor Modeling vorgestellt werden: *Toxicology Modeling*. Unter Verwendung von Substanzen mit vergleichbaren toxischen Wirkungen wird – analog zum Vorgehen bei pharmakologischen Wirkstoffen – ein „Toxorezeptor“ erstellt.

## 1 Voraussage von relativen Bindungsaffinitäten

Die nachfolgend diskutierten Rezeptormodelle für das Enzym Carboanhydrase (klinische Anwendungen: Glaukom, akute Höhenkrankheit), den dopaminergen Rezeptor (Schizophrenie, Parkinson) und den  $\beta$ 2-adrenergen Rezeptor (Asthma) wurden anhand eines Trainingssatzes von jeweils neun Wirkstoffmolekülen konstruiert (vgl. Vedani et al., 1995). Relative Bindungsaffinitäten für einen Satz von Testmolekülen wurden anhand dieses Modells berechnet<sup>5</sup> und mit den experimentellen Werten verglichen (vgl. Tabellen 1–3).

Carboanhydrase: Die RMS (*root-mean square*) Abweichung zwischen berechneten und experimentellen Bindungsaffinitäten beträgt 0,88 kcal/mol, entsprechend einer Unsicherheit in der Bindungskonstanten von einem Faktor 4,5. Die maximale Abweichung (Wirk-

Tabelle 1: Vergleich vorausgesagter und experimenteller relativer Bindungskonstanten für das Carboanhydrase-System (der Referenzwirkstoff ist kursiv wiedergegeben).

Wirkstoff*	Relative Bindungsaffinität Experiment	Kategorie Experiment**	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt	Kategorie vorausgesagt
ETZA	1,00	<i>sehr stark</i>	1,00	<i>Referenzwirkstoff</i>
BAAA	0,10	stark	0,54	stark bis sehr stark
LBSA	0,013	mittelstark	0,0082	mittelstark
CBSA	0,0059	schwach	0,0021	schwach
YBSA	0,0039	schwach	0,018	mittelstark
SAM	0,00029	sehr schwach	0,0027	schwach

\* ETZA: 6-Ethoxy-benzothiazol-2-sulfonamid (*Ethoxzolamid*); BAAA: 2-Butylamido-1,3,4-thiadiazol-5-sulfonamid; LBSA: 4-Chloro-benzolsulfonamid; CBSA: 4-Carboxy-benzolsulfonamid; YBSA: 4-Cyano-benzolsulfonamid; SAM: 4-Aminobenzolsulfonamid (*Sulfanilamid*).

\*\* *Sehr stark* entspricht nanomolarer Aktivität, nachfolgende Abstufungen pro Zehnerpotenz; *schwach* entspricht beispielsweise mikromolarer Aktivität.

<sup>1</sup> Das SIAT Biografik-Labor befaßt sich mit der Entwicklung von „computer-gestützten 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.

<sup>2</sup> Unter einem Pseudorezeptor versteht man ein dreidimensionales Modell eines strukturell unbekanntem Rezeptors. An diesem Modell lassen sich Wechselwirkungen bekannter oder hypothetischer Wirkstoffe simulieren und quantifizieren.

<sup>3</sup> Dies entspricht einer Unsicherheit in der Bindungskonstanten von einem Faktor 1,5 bis 2,0. Eine solche Unsicherheit ist als klein zu bezeichnen, unterscheiden sich starke und schwache Wirkstoffe typischer-

weise um einen Faktor 100 bis 1000 in ihrer Bindungskonstanten; der relative Fehler betrüge daher lediglich 0,15 bis 2,0%. Diese Unsicherheit entspricht etwa der unteren Fehlergrenze experimenteller Bestimmung von Bindungsaffinitäten (beispielsweise an Zelllinien); formell genauere Rechnungen wären daher nicht aussagekräftiger.

<sup>4</sup> Eine sehr gute Übereinstimmung berechneter und experimenteller Werte für einen Trainingssatz von Liganden ist eine notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung zur Validierung eines Rezeptormodells. Bei der Optimierung eines Rezeptormodells gibt es aber mathematisch gesehen viel mehr Variablen als zu reproduzierende Kenngrößen; d.h. das System ist überbestimmt und es gibt

eine große Anzahl von Lösungen – also nicht nur eine, „die wahre“. Das der wahren Lösung (der biologische Rezeptor, dessen Struktur unbekannt ist) am besten entsprechende Modell muß vielmehr imstande sein, die Bindungsstärke von Wirkstoffen außerhalb des Trainingssatzes semi-quantitativ vorauszusagen.

<sup>5</sup> Die Bindungsaffinität  $K$  eines Wirkstoffes an einen Rezeptor kann *in vitro* gemessen werden. Im Pseudorezeptor Modeling wird die dazugehörige freie Bindungsenergie,  $DG^\circ$ , abgeschätzt. Die beiden Größen sind über die Beziehung  $DG^\circ = -RT \ln K$  miteinander verknüpft ( $R=8,314 \text{ J/mol}\cdot\text{K}$ ;  $T = \text{absolute Temperatur in K}$ ). Je größer  $K$  bzw. je negativer  $DG^\circ$ , desto stärker bindet ein Wirkstoff an den Rezeptor.

Tabelle 2: Vergleich vorausgesagter und experimenteller relativer Bindungskonstanten für das dopaminerge Rezeptorsystem (der Referenzwirkstoff ist kursiv wiedergegeben).

Wirkstoff*	Relative Bindungsaffinität Experiment	Kategorie Experiment**	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt	Kategorie vorausgesagt
<i>C28</i>	1,00	<i>sehr stark</i>	1,00	<i>Referenzwirkstoff</i>
C25	0,29	stark	0,15	stark
C16	0,22	stark	0,079	mittelstark-stark
C26	0,20	stark	0,052	mittelstark-stark
C17	0,019	mittelstark	0,020	mittelstark
C11	0,011	mittelstark	0,0032	schwach

\* C28: 5-Hydroxy-3-[4-(1,2,3,6-tetrahydro-4-phenyl-1-pyridyl)-butyl]indol hydrochlorid; C25: 5-Chloro-3-[4-(1,2,3,6-tetrahydro-4-phenyl-1-pyridyl) butyl]indol hydrochlorid; C16: 3-[4-(1,2,3,6-tetrahydro-4-(2'-fluorophenyl)-1-pyridyl)-butyl]indol hydrochlorid; C26: 5-Methoxy-3-[4-(1,2,3,6-tetrahydro-4-phenyl-1-pyridyl)-butyl]indol hydrochlorid; C17: 3-[4-(1,2,3,6-tetrahydro-4-(4'-chlorophenyl)-1-pyridyl)-butyl]indol hydrochlorid; C11: 3-[2-(1,2,3,6-tetrahydro-4-phenyl-1-pyridyl)-ethyl]indol hydrochlorid.

\*\* *Sehr stark* entspricht nanomolarer Aktivität, nachfolgende Abstufungen pro Zehnerpotenz; *schwach* entspricht beispielsweise mikromolarer Aktivität.

stoff SAM) beträgt 1,30 kcal/mol (Faktor 9,3). Dies bedeutet, daß dieses Modell imstande ist, sicher zwischen Wirkstoffen zu diskriminieren, deren Bindungsaffinitäten sich mindestens um den Faktor 13,5 ( $3\sigma$ ) unterscheiden.

Das Rezeptormodell klassiert BAAA als „stark bis sehr stark“ (Experiment: „stark“); alle übrigen Wirkstoffe des Testsatzes werden als „schwach bis mittelstark“ vorausgesagt. Wäre das pharmakologische *Screening* für diese Wirkstoffe mittels Pseudorezeptor Modeling ausgeführt worden, so wäre nur BAAA für weitere präklinische Tests (einschließlich toxikologisch und pharmakologisch-orientierter Tierversuche) selektioniert worden. Die potentiellen Wirkstoffe LBSA, CBSA, YBSA und SAM wären als zu

schwach erkannt und rechtzeitig aus dem Selektionsverfahren entfernt worden.

Dopaminerge Rezeptor: Die RMS-Abweichung zwischen berechneten und experimentellen Bindungsaffinitäten beträgt 0,56 kcal/mol, entsprechend einer Unsicherheit in der Bindungskonstanten von einem Faktor 2,6. Die maximale Abweichung (Wirkstoff C26) beträgt 0,78 kcal/mol (Faktor 3,8). Dies bedeutet, daß dieses Modell imstande ist, sicher zwischen Wirkstoffen zu diskriminieren, deren Bindungsaffinitäten sich um einen Faktor 7,8 ( $3\sigma$ ) unterscheiden. C25 und C17 werden denn auch richtig als „stark“ bzw. „mittelstark“ erkannt, C16 und C26 werden als „mittelstark-stark“ (experimentell: „stark“) vorausgesagt, wäh-

rend C11 als „schwach“ (experimentell: „mittelstark“) eingestuft wird.

Wäre das pharmakologische *Screening* für diese Wirkstoffe mittels Pseudorezeptor Modeling ausgeführt worden, so wäre nur C25 für weitere präklinische Tests selektioniert worden. Die potentiellen Wirkstoffe C16, C26, C17 und C11 wären als zu schwach erkannt und rechtzeitig aus dem Selektionsverfahren entfernt worden.

$\beta$ 2-adrenerge Rezeptor: Die RMS-Abweichung zwischen berechneten und experimentellen Bindungsaffinitäten beträgt 0,34 kcal/mol, entsprechend einer Unsicherheit in der Bindungskonstanten von einem Faktor 1,8. Die maximale Abweichung (Wirkstoff CLB) beträgt 1,00 kcal/mol (Faktor

Tabelle 3: Vergleich vorausgesagter und experimenteller relativer Bindungskonstanten für das  $\beta$ 2-adrenerge Rezeptorsystem (der Referenzwirkstoff ist kursiv wiedergegeben).

Wirkstoff*	Relative Bindungsaffinität Experiment	Kategorie Experiment**	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt	Kategorie vorausgesagt
<i>AH3</i>	1,00	<i>sehr stark</i>	1,00	<i>Referenzwirkstoff</i>
CLB	2,24	sehr stark	0,40	stark
ORC	0,12	stark	0,21	stark
2CL	0,079	stark	0,064	stark
DU3	0,070	stark	0,32	sehr stark
SKF	0,016	mittelstark	0,070	stark
ISOP	0,0033	schwach	0,0050	schwach

\* AH3: 1-(3-amido-4-hydroxyphenyl)-2-tert-butylaminoethanol; CLB: 1-(4-amino-3,5-dichlorophenyl)-2-tert-butylaminoethanol; ORC: 1-(3,5-dihydroxyphenyl)-2-isopropylaminoethanol; 2CL: 1-(2-chlorophenyl)-2-tert-butylaminoethanol; DU3: 1-(4-hydroxy-3-aminophenyl)-2-tert-butylaminoethanol; SKF: 1-(4-hydroxy-3-aminomethyl-phenyl)-2-tert-butylaminoethanol; ISOP: (+)1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-isopropylaminoethanol.

\*\* *Sehr stark* entspricht nanomolarer Aktivität, nachfolgende Abstufungen pro Zehnerpotenz; *schwach* entspricht beispielsweise mikromolarer Aktivität.

5,6). Dies bedeutet, daß dieses Modell imstande ist, sicher zwischen Wirkstoffen zu diskriminieren, deren Bindungsaffinitäten sich um mindestens den Faktor 5,4 ( $3\sigma$ ) unterscheiden. ORC, 2CL und ISOP werden denn auch richtig als „stark“ bzw. „schwach“ erkannt. Der Wirkstoff CLB (experimentell: stärker als der Referenzwirkstoff AH3) wird nur als „stark“, nicht aber als „sehr stark“ erkannt; DU3 wird als „sehr stark“ (experimentell: „stark“), SKF wird als „stark“ (experimentell: „mittelstark“) eingestuft.

Wäre das pharmakologische *Screening* für diese Wirkstoffe mittels Pseudorezeptor Modeling ausgeführt worden, so wären alle Wirksubstanzen außer ISOP für weitere präklinische Tests selektioniert worden – SKF als „falschpositive“ Substanz. Der potentielle Wirkstoff ISOP wäre als zu schwach erkannt und rechtzeitig aus dem Selektionsverfahren entfernt worden.

Für diese drei Systeme konnte gezeigt werden, daß Pseudorezeptor Modeling imstande ist, relative Bindungsaffinitäten mit einer Genauigkeit vorausszusagen, die mit derjenigen aus experimentellen Messungen vergleichbar ist. Pseudorezeptor Modeling kann somit anstelle von *in vitro* Techniken eingesetzt werden; die Methode hat aber den entscheidenden Vorteil, daß ein Wirkstoff nicht vorgängig synthetisiert werden muß.

## 2 Vergleich mit zwei etablierten QSAR-Methoden

Am Beispiel des  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptors haben wir das *Yak*-Konzept mit den beiden QSAR-Techniken *Genetic Function Approximation* (GFA) und *Comparative Molecular Field Analysis* (CoMFA) verglichen.

Der Gedanke, der allen QSAR-Techniken zugrunde liegt, ist die Annahme, daß die biologische Aktivität eines chemischen Wirkstoffes mittels mathematischer Methoden mit meßbaren oder berechenbaren Eigenschaften des Wirkstoffes korreliert werden kann, d.h., daß die biologischen Eigenschaften einer chemischen Substanz irgendwie aus deren Zusammensetzung und räumlicher Struktur ableitbar sind.

Hansch und Fujita (1964) waren die ersten, die eine mathematische Beziehung zwischen biologischer Aktivität und physikochemischen Eigenschaften ableiteten (Hansch-Gleichung):

$$\log BA = a \cdot p + b \cdot \sigma + c \cdot Es + d$$

BA: Biologische Aktivität

p: Verteilungskoeffizient zwischen n-Octanol und Wasser (Hydrophobizität)

$\sigma$ : Hammett-Konstante (elektronische Effekte)

Es: Taft-Energie (sterische Effekte)

a,b,c,d: Regressionskoeffizienten

CoMFA (Cramer et al., 1988) und *Molecular Shape Analysis* (Hopfinger, 1980) waren Ansätze, um dreidimensionale Eigenschaften (z.B. die räumliche Faltung) chemischer Wirkstoffe in QSAR-Modellen zu berücksichtigen. In GFA (Rogers und Hopfinger, 1994) werden an Stelle von Regressionstechniken „genetische Algorithmen“ verwendet, um die mathematischen Beziehungen aufzustellen.

### 2.1 Genetic Function Approximation (GFA)

Regressionstechniken wählen aus einer Liste von berechneten oder gemessenen Eigenschaften chemischer Wirkstoffe diejenigen Deskriptoren aus, die ein optimales Modell ergeben. Die Form der mathematischen Funktion muß jedoch im voraus festgelegt werden. Mit GFA wird auch die Form der mathematischen Funktion optimiert. Eine Anfangspopulation von zufällig aufgestellten mathematischen Beziehungen (aus einem Reservoir möglicher Formen, z.B. lineare Terme, quadratische Terme, lineare *splines*, quadratische *splines* etc.) wird während der „Evolution“ mittels *crossover* und Mutationen optimiert.

Im Modell 1 (vgl. Tabelle 4) wurden nur ein- und zweidimensionale Deskriptoren sowie lineare Terme und lineare *splines* zugelassen. Ein linearer *spline* ist ein Term mit folgender Form:

$$\langle A-x \rangle \text{ oder } \langle x-A \rangle$$

A ist ein molekularer Deskriptor, z.B. das Dipolmoment eines Wirkstoffes; x ist der „Knoten“ des *splines*. Für den

*spline*  $\langle A-1,7 \rangle$  beträgt der Wert des Terms 0, solange A (z.B. die Größe des Dipolmomentes) kleiner als 1,7 ist, sonst errechnet sich der Wert des Terms gemäß Wert =  $A-1,7$ .

Für den  $\beta_2$ -adrenergen Rezeptor findet GFA eine Beziehung, die nur das Volumen und das Dipolmoment des Wirkstoffes enthält (vgl. Tabelle 4). Der Trainingssatz (neun Wirkstoffe) wird durch das Modell perfekt reproduziert. Von den sechs Testwirkstoffen (CLB, ORC, 2CL, DU3, SKF, ISOP) werden jedoch nur drei hinreichend genau vorausgesagt. Im Falle von 2CL versagt das Modell sogar völlig. Der Grund liegt darin, daß das Dipolmoment von 2CL 2,2 Debye beträgt, das Trainingsset aber einen Bereich von 6,3 bis 10,5 Debye umspannt, d.h. für 2CL muß extrapoliert werden. Vorausagen sind aber nur innerhalb des Trainingsbereichs (Interpolation) genügend sicher. SKF liegt innerhalb des Wertebereichs des Trainingssets, wird trotzdem um einen Faktor 85 (!) zu stark vorausgesagt. ISOP – ein Stereoisomer von ISO (ISO und ISOP verhalten sich wie Bild und Spiegelbild), einem Wirkstoff innerhalb des Trainingssets – wird nicht unerwartet gleich stark bindend wie ISO vorausgesagt, da keine dreidimensionalen Deskriptoren verwendet wurden.

Im Modell 2 (vgl. Tabelle 4) wurde mit der Software *Receptor*<sup>®</sup> (Molecular Simulations Inc., 1995) für die Wirkstoffe des Trainingssatzes eine „Rezeptorumgebung“ simuliert. Diese Methode erzeugt im Unterschied zum *Yak*-Ansatz kein atomistisches Modell; vielmehr werden das gemeinsame Volumen und die gemeinsame Oberfläche aller Wirkstoffe des Trainingssatzes verwendet, um einen räumlichen Negativabdruck des Rezeptors – eine die Wirkstoffe umspannende „Haut“ – zu erzeugen.

Danach werden Eigenschaften der Wirkstoffe (z.B. ihre elektrische Ladungsverteilung) auf die Rezeptor-Oberfläche projiziert. Ein solches Rezeptormodell enthält somit dreidimensionale Deskriptoren; daraus läßt sich beispielsweise die Wechselwirkungsenergie zwischen Wirkstoff und Rezeptor abschätzen. Auch mit diesem Modell werden die biologischen Aktivitäten des Trainingssatzes perfekt reproduziert. Von den sechs Testligan-

Tabelle 4: Vergleich mittels GFA (3 Modelle) bzw. *Yak* vorausgesagter und experimenteller relativer Bindungskonstanten für das  $\beta$ 2-adrenerge Rezeptorsystem (der Referenzwirkstoff ist kursiv wiedergegeben).

Wirkstoff *	Relative Bindungsaffinität <b>Experiment</b>	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt <b>GFA Mod. 1</b>	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt <b>GFA Mod. 2</b>	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt <b>GFA Mod. 3</b>	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt <b>Yak</b>
<i>AH3</i>	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
CLB	2,24	1,63	0,74	3,01	0,40
ORC	0,12	0,16	0,18	0,06	0,21
2CL	0,079	0,00	0,00022	0,00057	0,064
DU3	0,070	0,53	0,018	0,023	0,32
SKF	0,016	1,40	0,0046	0,011	0,070
ISOP	0,0033	0,17	0,00030	0,00011	0,0050

\*Siehe Fussnote zu Tabelle 3

den wird nur noch 2CL ungenügend genau vorausgesagt.

Im Modell 3 (vgl. Tabelle 4) wurden nun alle Deskriptoren aus 1 und 2 außer dem Dipolmoment verwendet. GFA findet eine Beziehung, welche die interne Energie der Wirkstoffe, deren Polarisierbarkeit und die Wirkstoff-Rezeptor-Wechselwirkungsenergie enthält. Von den sechs Testliganden wird 2CL immer noch ungenügend genau, ISOP nur knapp genügend genau vorausgesagt.

### 2.2 Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA)

In CoMFA werden elektrostatische und sterische Eigenschaften der einzelnen Wirkstoffe analysiert. Dabei wird (in der Simulation) ein dreidimensionales Gittergerüst über die Wirkstoffe des Trainingsatzes gelegt. Auf jedem Gitterpunkt wird eine hypothetische „Probe“ (z.B. ein Wasserstoffatom) plaziert und deren elektrostatische und sterische Wechselwirkung mit den einzelnen Wirkstoffen berechnet. Aus dieser Fülle von Daten werden dann mittels *partial least squares* sogenannte „latente Variablen“ ermittelt, welche die besten Voraussagen ergeben. Dabei wird bereits während der Erstellung des Modells die Voraussagekraft mittels *cross validation* anhand des Trainingsatzes optimiert.

Im gefundenen Modell werden vier der sechs Testwirkstoffe gut vorausgesagt (vgl. Tabelle 5). SKF wird als 12-fach zu stark bindend vorausgesagt. Das Modell versagt bei ISOP, das gleich stark bindend wie sein „Spiegel-

bild“ ISO vorausgesagt wird. Auch eine Reduzierung des Gitterabstandes (von 2,0 Å auf 1,0 Å) brachte keine Verbesserung. Die wahrscheinlichste Erklärung für das Versagen des Modells für die beiden Stereoisomere (ISO und ISOP) ist das Fehlen jeglicher gerichteter Terme (Direktionalität) in CoMFA: ISO und ISOP unterscheiden sich durch die Konfiguration an einem Kohlenstoffatom (anders gerichtete Wasserstoffbrücke). Diese Direktionalität ist im *Yak*-Ansatz explizit berücksichtigt; daher vermag das *Yak*-Modell denn auch semi-quantitativ zwischen ISO und ISOP zu diskriminieren.

### 3 Toxicology Modeling

Unter Verwendung von Substanzen mit vergleichbaren toxischen Wirkungen wird – analog zum Vorgehen bei pharmakologischen Wirkstoffen – ein „Toxorezeptor“ erstellt. Ein solcher Toxorezeptor ist als dreidimensionale Struktur (Miniprotein) zu verstehen, an der sich molekulare Wechselwirkungen (die möglicherweise für akut toxische Wirkungen verantwortlich sind oder die Bildung toxischer Mutanten fördern) erkennen und quantifizieren lassen. Basierend auf TCDD und einer Serie von Tetrachlor-Biphenylen haben wir mit diesem Ansatz erste Modelle für den *AH* (Aromatic Hydrocarbon)-Rezeptor erstellt.

Der *AH*-Rezeptor ist ein Wirkstoff-aktivierter Transkriptionsfaktor, der eine Anzahl biologischer Reaktionen auf aromatische Kohlenwasserstoffe reguliert. Das besondere Interesse an

diesem Rezeptor beruht auf seiner Wechselwirkung mit einer Reihe von Umweltgiften (z.B. Dioxine) und seinem Mechanismus der Gen-Expression (vgl. z.B.: Swanson und Bradfield, 1993; Landers und Brunce, 1991; Bandiera et al., 1983).

Der für *Yak* verwendete Trainingsatz bestand aus TCDD (2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin) und neun weiteren polychlorierten Biphenylenen (PCB). Die RMS-Abweichung der berechneten und experimentellen Bindungsenergien beträgt 0,49 kcal/Mol, entsprechend einer Unsicherheit in der Bindungskonstanten von einem Faktor 2,3. Das Rezeptormodell besteht aus 12 Aminosäuren (Phe-Ala-Trp; Tyr-Ala; Ser-Ala; Ala-Tyr; Leu-Val-Tyr). TCDD weist für jedes der beiden Sauerstoff-Atome eine Wasserstoffbrücke zur Amid-Gruppe von Tyrosin im Fragment Leu-Val-Tyr bzw. zur Hydroxylgruppe des Serins auf. Das polychlorierte Ende der PCB-Moleküle ist vom Tripeptid Phe-Ala-Trp und dem Tyrosin des Tripeptids Leu-Val-Tyr umgeben.

Anschließend wurden acht PCB-Moleküle des Testsatzes an diesem Modell geprüft. Die Resultate sind in Tabelle 6 zusammengefaßt. Die RMS-Abweichung zwischen berechneten und experimentellen Bindungsaffinitäten beträgt 0,79 kcal/mol, entsprechend einer Unsicherheit in der Bindungskonstanten von einem Faktor 3,9. Die maximale Abweichung (Wirkstoff NAc) beträgt 1,66 kcal/mol (Faktor 17). Dies bedeutet, daß dieses Modell imstande ist, sicher zwischen Wirkstoffen zu diskriminieren, deren Bindungsaffinitäten

**Tabelle 5:** Vergleich mittels CoMFA bzw. *Yak* vorausgesagter und experimenteller relativer Bindungskonstanten für das  $\beta_2$ -adrenerge Rezeptorsystem (der Referenzwirkstoff ist kursiv wiedergegeben).

Wirkstoff *	Relative Bindungsaffinität <b>Experiment</b>	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt <b>CoMFA</b>	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt <b>Yak</b>
<i>AH3</i>	1,00	1,00	1,00
CLB	2,24	0,75	0,40
ORC	0,12	0,12	0,21
2CL	0,079	0,16	0,064
DU3	0,070	0,38	0,32
SKF	0,016	0,20	0,070
ISOP	0,0033	0,19	0,0050

\* Siehe Fussnote zu Tabelle 3

**Tabelle 6:** Vergleich vorausgesagter und experimenteller relativer Bindungskonstanten für das *AH*-Rezeptor-System (der Referenzwirkstoff ist kursiv wiedergegeben).

Wirkstoff*	Relative Bindungsaffinität Experiment	Kategorie Experiment**	Relative Bindungsaffinität vorausgesagt	Kategorie vorausgesagt
<i>TCDD</i>	1,00	<i>sehr stark</i>	1,00	<i>Referenzwirkstoff</i>
Br	0,0040	schwach	0,0030	schwach
Et	0,0029	schwach	0,0015	schwach
CN	0,0019	schwach	0,0016	schwach
tBu	0,0015	schwach	0,0041	schwach
NAC	0,0012	schwach	0,000072	extr. schwach
OMe	0,00063	sehr schwach	0,00024	sehr schwach
F	0,00040	sehr schwach	0,00046	sehr schwach
H	0,000071	extr. schwach	0,00055	sehr schwach

\* TCDD: 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin. Alle übrigen Wirkstoffe sind 4'-substituierte-2,3,4,5,-Tetrachlorbiphenyle, die Abkürzung weist auf den Substituenten in der 4'-Stellung hin. Br: Brom, Et: Aethyl, CN: Cyano, tBu: tertiär-Butyl, NAC: Acetamido, OMe: Methoxy, F: Fluor, H: Wasserstoff.

\*\* *Sehr stark* entspricht nanomolarer Aktivität, nachfolgende Abstufungen pro Zehnerpotenz; *schwach* entspricht beispielsweise mikromolarer Aktivität. Im Gegensatz zu pharmakologischen Wirkstoffen sind in der Toxikologie auch Substanzen mit vergleichsweise geringer Aktivität noch von Bedeutung.

## Literatur

- Bandiera, H., Sawyer, T. W., Campell, M. A., Fujita, T. und Safe, S. (1983). Competitive Binding to the Cytosolic 2,3,7,8 Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin Receptor. *Biochemical Pharmacology* 32, 3803–3813.
- 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.
- Donné-Op den Kelder, G. M., Bultsma, T. und Timmerman, H. (1988). Mapping of the  $\beta_2$ -Adrenoreceptor on Chang Liver Cells. *J. Med. Chem.* 31, 1069–1079.
- Cannon, J. G. (1985). Dopamine Agonists: Structure-Activity Relationships. In: Jucker, E. (Hrsg.), *Progress in Drug Research* 29, 303–413. Basel: Birkhäuser.
- Cramer, R. D., Patterson, D. E. und Bunce J. D. (1988). Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA). *J. Am. Chem. Soc.* 110, 5959–5967.
- Hansch, C. und Fujita, T. (1964). r-s-p Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 1616–1626.
- 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.
- Hopfinger, A. J. (1980). A QSAR Investigation of Dihydrofolate Reductase Inhibition by Baker Triazines based upon Molecular Shape Analysis. *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 7196–7206.
- 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.
- Landers, J. P. und Bunce, N. J. (1991). The AH-Receptor and the Mechanism of Dioxin Toxicity. *Biochem. J.* 276, 273–287.

- Main, B. G. (1990).  $\beta$ -Adrenergic Receptors. 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 Benzylisoquinoline 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 ( $\pm$ )-Apomorphine, ( $\pm$ )-Apocodeine, ( $\pm$ )-N-n-Propylnorapocodeine. *J. Med. Chem.* 16, 1223–1228.
- Rogers D. und Hopfinger A. J. (1994). Application of Genetic Function Approximation to Quantitative Structure-Activity Relationships and Quantitative Structure-Property Relationships. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 34, 854–866.
- 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.
- Swanson, H. I. und Bradfield, C. A. (1993). The AH-Receptor: Genetics, Structure and Function. *Pharmacogenetics* 3, 213–230.
- Vedani, A., Zbinden, P., Snyder, J. P. und Greenidge, P. A. (1995). Pseudoreceptor Modeling: The Construction of Three-Dimensional Receptor Surrogates. *J. Am. Chem. Soc.* 117, 4987–4994.
- 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.

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

## Nachrichten

### OECD will zur Prüfung auf Phototoxizität Tierversuche vorschreiben

Noch ehe die EU/COLIPA Studie über Möglichkeiten zur *in vitro* Testung der Phototoxizität abgeschlossen ist (erste Ergebnisse wurden in *ALTEX* 11, S. 22–31 veröffentlicht), bringt die OECD eine Richtlinie in die Diskussion, die unter den Fachleuten Erstaunen hervorruft. Die Richtlinie schreibt Tierversuche vor, für die keinerlei Validierung vorliegt. Schon der Zweck der vorgeschlagenen *in vivo* Versuche ist nicht klar definiert. Auch die Auswahl der Spezies (Kaninchen) entspricht nicht dem internationalen Usus. Es wird von Kritikern der OECD-Richtlinie betont, daß zur Überprüfung des Gefährdungspotentials von Chemikalien durch Phototoxizität Tierversuche nicht nötig sind. Allenfalls zur quantitativen Bestimmung des Potentials von als phototoxisch erkannten Substanzen könnten *in vivo* Versuche notwendig sein.

Auch einige weitere Einzelheiten des OECD-Vorschlags lassen diesen in einem etwas merkwürdigen Licht erscheinen. So soll als Beleuchtungsquelle eine UVA-Lampe verwendet werden, obwohl das größere Gefährdungspotential eindeutig von UVB-Strahlen ausgeht. Auch die Vorbereitung der Kaninchenhaut, es handelt

sich bei den vorgeschlagenen Versuchen um Hauttests, entspricht nicht dem wissenschaftlichen Standard.

Wissenschaftlich und toxikologisch „flawed“, also fehlerhaft in jeder Beziehung, wird diese Richtlinie eingeschätzt. Es wird auch beanstandet, daß die Richtlinie nicht die Möglichkeit offen läßt, mit freiwilligen Versuchspersonen zu arbeiten.

Es ist zu hoffen, daß die OECD von diesen Richtlinien schnell Abstand nimmt. Es mutet merkwürdig an, wenn kurz vor dem Abschluß der Validierung erfolgreicher *in vitro* Studien noch Tierversuche festgeschrieben werden sollen. Vor allem dann, wenn die Tierversuche so offensichtlich fehlerhaft geplant und schlecht in der Aussage sind.

fpg

### OECD erkennt die vom BgVV entwickelte ATC-Methode an

Mit der *Acute Toxic Class* (ATC)-Methode hat das Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV) in Berlin eine Methode zur Prüfung der akuten oralen Giftigkeit von Stoffen entwickelt, die die Zahl der bisher hierfür benötigten Tierversuche um durchschnittlich 70% reduziert. Die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) hat am 21.6.1995 die neue Prüfmethode international anerkannt.

Bestimmte Stoffe wie Chemikalien, Pflanzenschutz- und Arzneimittel werden nach ihrer Gefährlichkeit (Toxizität) eingestuft. Dazu ist zur Prüfung der schädlichen Wirkung die Prüfung im Tierversuch und die Klassifizierung im LD-50-Test vorgeschrieben. Für jeden LD-50-Test wurden in der Vergangenheit bis zu 30 und mehr Tiere benötigt. Trotz großer internationaler Anstrengungen ist es bisher nicht gelungen, alternative Methoden, die völlig ohne Tierversuche auskommen, erfolgreich einzusetzen. Mit der ATC-Methode, der detaillierte biometrische Berechnungen zugrunde liegen, kann die Einstufung jetzt jedoch mit einer weitaus geringeren Anzahl von Tieren auskom-



men. Auch ist die neue Methode dem klassischen LD-50-Test überlegen. Sie ist zuverlässig, reproduzierbar und kann trotz der international unterschiedlichen Toxizitätsklassen weltweit eingesetzt werden.

Die ATC-Methode wurde am BgVV im Rahmen eines nationalen For-

schungsprojektes entwickelt, an dem auch Laboratorien der deutschen chemischen Industrie beteiligt waren. Anschließend wurde die ATC-Methode unter Koordination des BgVV in sechs Ländern außerhalb der EU validiert, unter anderem in Japan und den USA. Der Bundesminister für Bildung, Wis-

senschaft, Forschung und Technologie hat das Projekt von 1987 bis 1994 mit 2,1 Millionen DM unterstützt.

Aus dem Pressedienst des BgVV

## Tierversuche in Arzneibuchmonographien

Die europäische Arzneibuchkommission hatte im Herbst vergangenen Jahres eine Umfrage zur Notwendigkeit von Tierversuchen bei der Prüfung von Antibiotika gestartet. ALTEX hat 1994 darüber berichtet (ALTEX 11, 227-228). Bei der Neufassung der Monographietexte sollten die eingegangenen Kommentare berücksichtigt werden. Die Reaktionen waren offenbar recht unterschiedlich.

In der neuesten Ausgabe von Pharmeuropa (Heft 2, Juni 1995) wird im Neuentwurf der Monographie „Framycetinsulfat“ die Streichung der Prüfung auf anomale Toxizität an Mäusen

und Meerschweinchen, sowie der Verzicht auf die Prüfung auf blutdrucksenkende Substanzen an Katzen vorgeschlagen. Der Pyrogentest am Kaninchen soll allerdings ebenso wie bei der Monographie „Flucloxacillin-Natrium“ beibehalten werden. Im Neuentwurf für die Monographie „Ampicillin-Natrium“ ist andererseits beabsichtigt, den Pyrogentest zugunsten der Prüfung auf bakterielle Endotoxine zu ersetzen.

Sehr zügig geht derzeit der Ersatz von Tierversuchen bei Monographien für Hormone voran. Jetzt soll die Wirksamkeitsprüfung für „Calcitonin vom Lachs“, bei der bisher mindestens 30

Ratten erforderlich waren, zugunsten einer chromatographischen Technik ersetzt werden.

In einem Anhang für die Monographie „Impfstoffe für Menschen“ werden Anforderungen für kontinuierliche Zelllinien zur Produktion von Impfstoffen beschrieben. Hierbei sollen zahlreiche Tierversuche verlangt werden (siehe Tabelle).

Kommentare zu den Monographie-Entwürfen können bis zum 30. September 1995 über die nationalen Arzneibuchkommissionen (Liste siehe ALTEX 11, Seite 228) abgegeben werden.

kc

*Tabelle:* Vorgeschlagene Tierversuche zur Prüfung von Zelllinien zur Herstellung von Impfstoffen für Menschen auf infektiöse Agentien (A) und auf Tumorwachstum (B)

Tiere	Versuchsdurchführung	Auswertung
(A)		
2 Würfe Saugmäuse (mind. 10 Tiere)	10 <sup>7</sup> Zellen subkutan	vier Wochen Beobachtungszeit; die Tiere dürfen keine Krankheitserscheinungen zeigen
10 adulte Mäuse 5 Meerschweinchen 5 Kaninchen	10 <sup>7</sup> Zellen intramuskulär	80% der Tiere müssen gesund bleiben und den Beobachtungszeitraum überleben; bei Nagerzelllinien: Prüfung auf Antikörper gegen Nagerviren
10 adulte Mäuse zusätzlich	10 <sup>7</sup> Zellen intrazerebral	zusätzlicher Test zur Prüfung auf LCM-Viren
(B)		
10 athymische Mäuse oder neugeborene Mäuse, Ratten oder Hamster, vorbehandelt mit Antithymozytenserum oder thymektomierte, bestrahlte und mit β-Zellen rekonstituierte Mäuse	10 <sup>7</sup> Zellen in 0,2 ml subkutan oder intramuskulär	21 Tage Beobachtungszeit; Tötung aller Tiere und Untersuchung der Injektionsstelle und der inneren Organe; postiv, wenn mindestens 9 Tiere Tumorwachstum zeigen;
10 Mäuse zusätzlich	10 <sup>7</sup> Zellen z.B. HeLa	als Positivkontrolle

Interessierte Leser können die Monographie-Entwürfe bei der ALTEX-Redaktion anfordern.



## ECVAM Contracts

Two kinds of calls for action in relationship to the work of ECVAM were recently published by the European Commission in the *Official Journal of the European Communities*.

Firstly, a request for bids for contracts to conduct and/or coordinate major initiatives in three areas:

1. Alternative methods to replace, reduce and/or refine the use of laboratory animals in vaccine production, quality control and safety assessment, bearing in mind the report and recommendations of ECVAM Workshop 4 (ATIA 22, 420–434, 1994).
2. The further definition and evaluation of the prevalidation process with respect to the validation of alternative testing methods, notably the establishment of procedures for optimising protocols and evaluation their interlaboratory transferability prior to conducting formal validation studies, as outlined in the report of the ECVAM Task Force on prevalidation (ATIA 23, 211–217, 1995).
3. The development of an integrated approach to the prediction of systemic toxicity, using computer-based and *in vitro* biokinetic models

and *in vitro* test systems for the determination of relevant endpoints as alternatives to the use of laboratory animals, as proposed in the ERGATT (European Research Group for Alternatives in Toxicity Testing)/CFN (Swedish Board for laboratory Animals) Integrated Toxicity Testing Scheme (ECITTS; ATIA 20, 406–428, 1992) or in another well-documented strategy.

Secondly, institutions were invited to register their interest in collaborating with ECVAM in establishing the relevance and reliability (i.e. in the validation) of non-animal test procedures for assessing the potential toxicity of chemicals and products and for establishing the efficacy of biologically active products of various kinds, in the following areas:

1. The design and statistical evaluation of validation studies on alternative methods.
2. *In vitro* tests for the classification and labelling of chemicals, and for use in the safety evaluation of chemicals and products of various kinds, in relation to:
  - acute systemic toxicity
  - ocular toxicity
  - dermal irritation and corrosivity

- dermal penetration
  - metabolism and hepatotoxicity
  - nephrotoxicity
  - respiratory toxicity
  - reproductive toxicity
  - neurotoxicity
  - immunotoxicity and sensitisation
  - haematotoxicity
  - cell transformation and tumour promotion
3. *In vitro* tests for the quality control and safety evaluation of:
    - vaccines
    - hormones
    - pharmaceuticals
    - cosmetic ingredients and products
  4. The validation of non-invasive methods used in human volunteer studies.
  5. The definition and evaluation of ethical and practical aspects of the use of transgenic animals and cells.
- An indication of the intention to bid for one of the three main contracts had to be received by ECVAM by 22 June 1995, but further calls for bids will be issued in 1996. However, institutions interested in registering their interest and competence in the five areas listed above can still do so, by contacting Dr Ermilio Marafante, Secretary, ECVAM, JRC Environment Institute, I-21020 Ispra (Va), Italy, preferably by fax (+39-332-785336). jhf

## Tierverbrauchsfreie Verfahren in der Ausbildung

Die Akademie für Tierschutz, eine Einrichtung des Deutschen Tierschutzbundes, hat mit Unterstützung der Mainzer Stiftung „set“ die GELBEN LISTEN (s. ALTEX Nr. 18, 1993, S. 79) um ein wesentliches Kapitel erweitern können. Nach Auswertung vieler Praktikumsanleitungen deutscher Hochschulen und anderer Informationsquellen wurde die bestehende Datenbank für Alternativmethoden überarbeitet und erweitert. Mit ihrer Hilfe können nun zu den verschiedensten Lehrinhalten der Fächer Biologie, Medizin und Tiermedizin „tierverbrauchsfreie“ Unterrichtseinheiten abgefragt werden. Es wird auch wieder ein Ausdruck vorbereitet, der unter anderem an alle deutschen Universitätsbibliotheken kostenlos verschickt werden soll.

Bei der Entscheidung, ob eine Methode als „tierverbrauchsfrei“ einzustufen ist, wurde berücksichtigt, ob die

Methode mit dem Ziel, den Tierverbrauch einzuschränken, entwickelt wurde. Ein Film also, in dem ein Tierversuch dargestellt wird, wurde nur dann in die Datenbank aufgenommen, wenn er zum Ziel hat, den gezeigten Tierversuch zu ersetzen, nicht wenn er eine Anleitung zum Tierversuch darstellt. Die Verwendung von Tieren, die eingeschläfert wurden, weil ihr Weiterleben mit unzumutbaren Schmerzen und Leiden verbunden gewesen wäre, und die Verwendung von Organen vom Schlachthof im Unterricht wurden als „tierverbrauchsfrei“ eingestuft.

Die erfaßten Informationen (ca. 550 Einträge) werden im neuen Band der GELBEN LISTEN nach Fach- und Stoffgebieten sortiert aufgeführt. Informationen zu den Lehrinhalten, die mit der jeweiligen Methode abgehandelt werden können, erfolgen in der Kurz-

beschreibung der jeweiligen Methode. Innerhalb der Stoffgebiete werden die einzelnen Eintragungen, nach der Art der eingesetzten Methode sortiert, aufgezählt: Abiotische Modelle, Pflanzen und Schlachthofmaterial, audiovisuelle Lehrmittel wie Filme, Videos, Dias und Computersimulationen. Nicht zuletzt kann nachgeschlagen werden, welche nichtinvasiven Selbstversuche in der biomedizinischen Ausbildung an den Hochschulen zum Einsatz kommen.

Alle aufgezählten Methoden sind als Dokumente in der Datenbank für Alternativmethoden zu Tierversuchen des Deutschen Tierschutzbundes abgespeichert. Sie können dort themenbezogen abgerufen werden. Die Datenbank kann auch auf Disketten erworben werden (Akademie für Tierschutz, Spechtstr. 1, D-85579 Neubiberg).

fpg

## Tagungsberichte

### ECVAM Workshop 8\*: The integrated use of alternative approaches for predicting toxic hazards

Angera (Italien), 23.–27. Januar 1995

Der Workshop unter dem Titel *Integrierter Gebrauch von alternativen Methoden zur Voraussage der toxischen Gefährlichkeit* wurde von **Martin D. Barratt** (Unilever, UK-Bedford) organisiert.

Diskussionsthemen waren die Möglichkeiten, wie quantitative Struktur-Aktivitätsbeziehungen (QSAR) für die Entwicklung, Evaluierung und Validierung von *in vitro* Tests gebraucht werden können, sowie die Auswahl von geeigneten Testchemikalien für Validierungsstudien. Die Schlußfolgerungen und Empfehlungen der teilnehmenden Experten wurden in einem Bericht zusammengefaßt und werden noch dieses Jahr in ATLA (*Alternatives to Laboratory Animals*) publiziert.

Die bisherigen ECVAM Workshops hatten hauptsächlich alternative Methoden zur Voraussage von spezifischen toxischen Endpunkten zum Thema. Da die Teilnehmer dieses 8. ECVAM Workshops einen breit gefächerten wissenschaftlichen Hintergrund von Mathematik, Computing bis Chemie, Biochemie, Zellbiologie und Toxikologie aufwiesen, wurde zuerst eine gemeinsame Diskussionsgrundlage geschaffen, indem die Teilnehmer kurz ihre Forschung zum Workshopthema erläuterten.

Die erste Sitzung zum Thema „Prinzipien und Anwendung von QSAR in der Toxikologie“ wurde von **John C. Dearden** (School of Pharmacy, John Moores University, UK-Liverpool) mit einem Überblick von SAR-Methoden von 1839 bis heute eröffnet. Er berichtete, wie die Bedeutung hydrophober, sterischer und elektronischer Parameter, welche die biologischen Effekte toxischer Substanzen kontrollieren, erkannt worden war. Die epochale Rolle der Publikation von Hansch (1962) wurde im Detail anhand einiger Beispiele diskutiert. Für aquatische Systeme ist die Beziehung zwischen Toxizität und Hydrophobizität ( $\log P$ ) für unreaktive Chemikalien linear, während sie in mammalen Systemen eher

parabolisch ist. Für reaktive Chemikalien müssen weitere Terme verwendet werden.

Anschließend zeigte **David J. Livingstone** (ChemQuest, UK-Herts), daß bereits 1868 die Beziehung  $f=f(C)$  publiziert worden war, wobei  $f$  eine biologische Reaktion auf eine chemische Verbindung und  $C$  Deskriptoren der chemischen Struktur der Verbindung darstellen. Allerdings war es zu dieser Zeit nicht möglich, Änderungen in der Struktur chemischer Verbindungen genügend genau zu beschreiben, um die Funktion  $f(C)$  zu berechnen. Dieses Problem stellt sich auch größtenteils heute noch. Es wurde an Beispielen gezeigt, wie mit Hilfe von *Molecular Modeling* und *Computational Chemistry* physiko-chemische Parameter berechnet worden waren, die zur Charakterisierung von Substitutionskonstanten für chemische Verbindungen verwendet werden können. Allerdings weist dieser Ansatz den Nachteil auf, daß er von einer einzigen Konformation einer Struktur ausgeht. Schließlich wurden noch verschiedene Techniken zur Generierung von QSAR und die damit verbundenen möglichen Fehlerquellen diskutiert. Die Regressionsanalyse stellt die heute am meisten verwendete Methode dar.

Zum Schluß der ersten Sitzung zeigte **Mark Chamberlain** (Unilever, UK-Bedford) am Beispiel der Augenreizung, bedingt durch neutrale organische Verbindungen, verschiedene Möglichkeiten, wie QSAR-Beziehungen zusätzlich zu ihrer bekannten Verwendung auch zur Voraussage der toxischen Gefährlichkeit verwendet werden können. Die Identifizierung molekularer Eigenschaften, die mit der Indikation des toxischen Endpunktes zusammenhängen, kann beispielsweise verwendet werden, um geeignete Chemikalien zur Überprüfung der Robustheit einer QSAR-Beziehung auszuwählen. Beispiele zum Gebrauch von QSAR zum Testen des einer *in vitro* Methode zugrunde liegenden Mechanismus wurden gezeigt. Schließlich stimmten die Teilnehmer überein, daß

der integrierte Gebrauch von QSAR zusammen mit *in vitro* Tests die Entwicklung neuer *in vitro* Tests mit verbesserter Voraussagekraft sowie die Auswahl geeigneter Testchemikalien für Validierungsstudien erleichtern sollte.

Die zweite Sitzung mit dem Titel „Kurzzeit Toxikologie“ wurde mit einem Vortrag von **Ingrid Gerner** (Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, D-Berlin) eröffnet. Sie zeigte die Entwicklung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen (SAR) und einen Prototyp eines Expertensystems zur Voraussage der lokalen Reizung und akuten Toxikologie chemischer Substanzen. Grundlage sind physiko-chemische und toxische Daten von ca. 600 Verbindungen, eingesandt unter dem Chemical Substances Act 1982 (basierend auf der Direktive 67/548/EEC). Ziel dieser Forschung ist die Abklärung, ob die mögliche lokale Reizung chemischer Verbindungen ausgehend von SAR vorausgesagt werden kann, oder ob SAR in Kombination mit validierten Alternativmethoden verwendet werden müssen. Die gegenwärtigen EU- und OECD-Normen erlauben nur den Gebrauch von Alternativmethoden zur Klassifizierung chemischer Substanzen als *korrosiv* oder *schwer reizend*.

**Martin D. Barratt** zeigte eine Methode zur Identifikation potentieller Kontaktallergene, basierend auf der Annahme, daß eine Verbindung dann ein Kontaktallergen ist, wenn sie Haut penetrieren kann und kovalent mit Hautproteinen reagiert, allenfalls nach Metabolisierung in der Haut. Ein Set von ca. 50 Struktur-Aktivitäts-Regeln wurde in das Expertensystem DEREK (*Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge*) implementiert und anhand von Beispielen überprüft.

**Henk J. M. Verhaar** (RITOX, NL-Utrecht) zeigte Methoden zur Einteilung von Substanzen in vier Klassen, die auf dem Gebiet der aquatischen Toxikologie verwendet werden können. Von 2000 Verbindungen, die in Europa in großen Mengen hergestellt werden, konnten 1000 vom Expertensystem nicht klassifiziert werden, da sie anorganisch, Gemische oder ungenügend charakterisiert waren. Von den verbleibenden wurden 27% der Klasse I, 8% der Klasse II und 42% der Klasse III oder IV zugeteilt. 23% konnten

noch nicht klassifiziert werden. Solche Expertensysteme können in der aquatischen Toxikologie sowie zum Auffinden der Art des toxischen Effektes einer Verbindung verwendet werden.

**Julia H. Fentem** (ECVAM, JRC Environment Institute, I-Ispra) gab einen Überblick über Alternativmethoden zur Voraussage der Haut- und Augentoxizität. Die meisten dieser *in vitro* Tests sind allerdings zytotoxische Tests. Eine kürzlich durchgeführte Vorvalidierung von *in vitro* Methoden zur Hautkorrosivität beinhaltete die Evaluation von transkutanen elektrischen Widertandsassays, CORROSI-TEX und SKIN. Diese Tests konnten die dermale Penetration und die nachfolgende Zytotoxizität chemischer Verbindungen modellieren. Weitere Alternativmethoden zur Haut- und Augenreizung wurden diskutiert. Die Entwicklung zukünftiger *in vitro* Tests sollte vermehrt auf der Erforschung der zugrundeliegenden *in vivo* Mechanismen sowie dem Gebrauch von QSAR zur Identifikation geeigneter Testsubstanzen und der Entwicklung von integrierten Teststrategien beruhen.

**Timothy J. B. Gray** (Sanofi Research Division, UK-Northumberland) machte die Teilnehmer darauf aufmerksam, daß bisher die meisten Alternativmethoden den Ersatz von Haut- und Augentests zum Ziel haben, während ca. 95% der Tierexperimente in der systemischen Toxikologie durchgeführt werden. Um die Zahl der Tierversuche signifikant zu verringern, sollten somit vermehrt Alternativmethoden zur systemischen Toxizität entwickelt werden. Allerdings sind hier die Fragestellungen komplexer. Die zur Zeit besten Gelegenheiten zur erfolgreichen Anwendung von *in vitro* Methoden sind das *secondary screening*. Dabei werden Verbindungen chemischer Klassen, die eine bekannte Organtoxizität aufweisen, getestet. Als Beispiel wurde die Verwendung von Knochenmark-Zellkulturen zur Bestimmung des relativen myelotoxischen Potentials von Antikrebsmitteln diskutiert. Die größten Fortschritte auf diesem Gebiet könnten wohl erzielt werden, wenn *in vitro* toxikologische Tests bereits mit Drug-Design-Projekten verknüpft würden.

**Robert D. Combes** (FRAME, UK-Nottingham) beschrieb Tests zum Auffinden von DNA-Schäden. Die Exi-

stenz von genotoxischen und nicht-genotoxischen Karzinogenen ist wohl bekannt. Die meisten genotoxischen karzinogenen Verbindungen können in Kombination von Mutagenitätstests an Salmonellen und SAR identifiziert werden. Die meisten nicht-genotoxischen karzinogenen Verbindungen können hingegen nicht mit *in vitro* Assays identifiziert werden. Für die Genotoxine konnten strukturelle Merkmale identifiziert werden, die mitverantwortlich für die Toxizität sind. Diese Information sowie Daten über den Metabolismus und das Expertensystem DEREK werden zur Zeit verwendet, um die für Karzinogenität und Mutagenität verantwortlichen Toxikophore zu identifizieren.

**Alessandro Giuliani** (Sigma-Tau, I-Pomezia) zeigte Probleme bei der Verwendung von QSAR-Methoden zur Identifikation des toxischen Endpunktes für beispielsweise karzinogene Verbindungen auf. Die Anwendung von QSAR außerhalb des „klassischen“ Anwendungsbereichs (kongenere Serien mit nur einem zugrunde liegenden Mechanismus) ist notwendig im Risiko-Assessment. Dabei ergeben sich allerdings einige fundamentale theoretische Probleme, die anhand von Beispielen diskutiert wurden.

Die letzte Sitzung wurde mit einem Vortrag von **José V. Castell** (Unidad de Hepatología Experimental, E-Valencia) über Hepatotoxizität eröffnet. Die meisten Hepatotoxine entfalten ihre toxische Wirkung erst nach einer Biotransformation. Daher muß ein *in vitro* Modell, das Hepatozyten verwendet, verschiedene Xenobiotika metabolisieren können. Herkömmlicherweise werden Hepatozyten von Ratten verwendet. Diese verlieren aber ihre Fähigkeit zur Biotransformation von Xenobiotika während der ersten 24 Stunden. Dieser Effekt konnte teilweise durch Co-Kulturen mit anderen Zellen verringert werden. Hepatozyten-Kulturen werden häufig zum Auffinden der unterschiedlichen Metabolisierung von Hepatotoxinen in verschiedenen Spezies gebraucht.

**Fons A. J. J. L. Rutten** (TNO Nutrition and Food Research Institute, NL-Zeist) beschrieb den Gebrauch von präzisionsgeschnittenen Assays aus Leber, Lunge, Niere und Hautkulturen zum Auffinden der *in vitro* organ- und

spezies-spezifischen Toxizität einer Reihe von chemischen Verbindungen. Zur Reduktion, Verfeinerung und zum Ersatz von Tierversuchen für speziesspezifische Hauttoxizität wurden Zweikompartiment-Organokultursysteme entwickelt. Diese Systeme waren während mehrerer Tage aktiv. Verschiedene toxische Endpunkte konnten bestimmt werden.

**PBPK-Modeling (Physiologically Based Pharmacokinetic)** wurde von **W. Mc Lean Provan** (ZENECA, UK-Cheshire) präsentiert. **PBPK-Modeling** wird zur Voraussage der Verteilung auf verschiedene Organe und der Metabolisierung von Xenobiotika verwendet. Drei Typen von Parametern werden verwendet: Spezies-spezifische physiologische Parameter, Verteilungskoeffizienten und Metabolismusparameter. Einige PBPK-Modelle beinhalten auch verschiedene Aufnahmehuten von Xenobiotika (Inhalation, oral, intravenös, dermal etc.). Sie sind daher prädestiniert für ADME-Studien (*Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion*).

Zum Schluß erläuterte **Peter Zbinden** (SIAT, CH-Basel) die Generierung von Pseudorezeptor-Surrogaten zur Beschreibung von strukturell unbekanntem Rezeptoren. Anhand von Beispielen wurde die *Yak*-Methode diskutiert (siehe *ALTEX 11* (1994), 11–21). Als Anwendung in der Toxikologie wurde ein Modell für den aromatischen Hydrocarbon Rezeptor gezeigt, das die Toxizität von TCDD und einer Serie von polychlorierten Biphenylen simuliert. Schließlich wurde noch eine neue Methode zur Generierung von QSAR-Modellen präsentiert (*Genetic Function Approximation*).

Die abschließenden Diskussionen und Empfehlungen des Workshops konzentrierten sich auf folgende drei Schwerpunkte:

- Qualität und Verfügbarkeit von toxikologischen Daten
- Wege zur besseren Integration von QSAR und *in vitro* Methoden
- Methoden, Validierung und Auswahl von Testchemikalien.

pz

Der Bericht und die Empfehlungen des ECVAM Workshops werden in *ATLA 23* (3) veröffentlicht. Vorab kann er angefordert werden bei: Julia H. Fentem, ECVAM, TP 580, JRC Environment Institute, I-21020 Ispra

## 25. Seminar über Versuchstiere und Tierversuche

4. Fortbildungstagung „Verminderung von Belastung im Tierversuch“  
22./23. Mai 1995, D-Berlin

Eine gemeinsame Veranstaltung des Bundesinstituts für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BGVV), des Instituts für Tiererschutz, Tierverhalten und Labortierkunde der FU Berlin, der Zentralen Tierlaboratorien der FU Berlin (ZTL) und der deutschen „Tierärztlichen Vereinigung für Tierschutz“ (TVT).

Bei der diesjährigen, gut besuchten Fortbildungsveranstaltung (150 Teilnehmerinnen und Teilnehmer) ging es am ersten Tag ausschließlich um die spezielle Problematik transgener Tiere; am zweiten Tag wurden verschiedene Themen behandelt.

Das Eröffnungsreferat „Nutzen und Risiken transgener Versuchstiere“ hielt **Detlev Ganten** (Max-Delbrück-Zentrum für molekulare Medizin, Berlin). Nach einem historischen Rückblick auf die wechselnden Paradigmen der naturwissenschaftlichen Forschung und die moralischen Tabu-Brüche, die damit einhergingen und -gehen, wandte er sich umstandslos dem „Segen“ transgener Versuchstiere zu. Er tat dies ausführlich anhand des Renin/Angiotensin-Systems (ein Modellsystem für Kreislauf-Regulationsmechanismen). Er unterließ es, auf den zweiten Teil seines Themas einzugehen und über die Risiken zu sprechen. In der Diskussion wurde darauf hingewiesen, daß sich die Gentechnik insofern von allen bisherigen (legitimen) Methoden unterscheidet, als sie in Bezug auf Geschwindigkeit und Präzision der Einflußnahme einmalig sei. Der Tatsache, daß sie Risiken birgt, ethisch fragwürdig ist und dadurch Gegnerinnen und Gegner auf den Plan ruft, will man dadurch begegnen, daß man sich auf eine öffentliche Diskussion über ethische Normen überhaupt einläßt und die Bemühungen um internationale Konventionen begrüßt.

**Franz Theurig** (Schering AG, Berlin) erläuterte die Hauptverfahren für die Erzeugung transgener Mäuse (DNA-Mikroinjektion, retrovirales *gen-trapping*, ES-System). Er wies auf

mögliche Schwierigkeiten dieser Techniken hin (z.B. geringe Integrationsrate, unbekannter Integrationsort, Erfolg stammesspezifisch unterschiedlich und stark routineabhängig) und nannte die hauptsächlichlichen Einsatzgebiete transgener Mäuse. **Horst Mossmann** (Max-Planck-Institut für Immunologie, Freiburg) berichtete über Erfahrungen mit der Zucht und Haltung transgener Mäuse, speziell über mögliche prä- und postnatale Störungen (embryonale Letalität, retardiertes Wachstum, Sterilität homozygoter Weibchen, reduzierte Fertilität und kürzere Lebenserwartung) und wies auf die Häufigkeit solcher Störungen (das Absterben in der embryonalen Phase ist das Hauptproblem, es gibt sehr viele transgene Linien ohne postnatale Defekte), sowie tierschutzrelevante Bereiche in der Herstellung und Zucht transgener Tiere hin (z.B. wird neuerdings die Superovulation von Donor-Weibchen bereits im Alter von 3 Wochen propagiert!). In der Diskussion wurde erwähnt, daß bereits 10.000 transgene Mauslinien existieren, bei steigender Tendenz. Es wurde u.a. auch das Problem des Leidens transgener Tiere aufgeworfen (Qualzuchten), sowie die Frage, wo der Versuch bei der Erzeugung transgener Tiere überhaupt endet und wo die reine Zucht beginnt. Der Tenor war folgender: Eine neue Leidensqualität gegenüber dem herkömmlichen Versuchstier wird transgenen Tieren nicht zuerkannt. Damit ein Versuch „Erzeugung transgener Tiere“ vom wissenschaftlichen Standpunkt aus als abgeschlossen gelten kann, muß das Transgen exprimiert werden; erst dann kann allenfalls auch über die Frage der Qualzucht befunden werden. Die formale Abgrenzung Tierversuch – Zucht ist bei transgenen Tieren offensichtlich schwierig und bedarf für das Genehmigungsverfahren verschiedener Präzisierungen, um Unsicherheiten auf Seiten der Forschung auszuräumen.

In der Mittagspause wurde der Videofilm „Gentechnik an Tieren“ des „Zürcher Tierschutz“ vorgeführt. Es fanden sich trotz der Essenszeit erstaunlich viele Tagungsteilnehmerinnen und Teilnehmer ein; der Film mit klarer Tierschutzorientierung und kriti-

scher Haltung gegenüber transgenen Tieren läßt auch befürwortende Stimmen zu Wort kommen; schade, daß aus Programm- oder Zeitgründen keine Diskussion möglich war.

Den Nachmittag begann **Berndt Arnold** (Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg) mit einem Referat über die Erzeugung und Haltung von *knock-out* Mäusen und immundefizienten Tieren. Solche „Konstrukte“ sind häufig ohne zusätzliche gentechnologische Tricks (Induzierbarkeit und Gewebespezifität der Defizienzen) gar nicht lebensfähig; zudem birgt der zunehmende Handel mit solchen „Spezialitäten“ Probleme bezüglich Hygienestatus und Einschleppung unerwünschter Keime. Eine ethische Würdigung transgener Tiere bzw. der moralischen Relevanz von Artgrenzen wurde **Albrecht Müller** (Zentrum Ethik in den Wissenschaften, Tübingen) überlassen. Er machte auf verschiedene Fehler aufmerksam, die beim Ableiten moralischer Normen oder Gebote aus biologischen Tatsachen bzw. Aussagen gemacht werden und kam zum Schluß, daß es kein moralisches *a priori* Verbot für die Erzeugung transgener Tiere gebe; eine ethische Beurteilung müsse von Fall zu Fall anhand konkreter Beispiele vorgenommen werden. Damit verabschiedete er sich leider vor schnell von der Grundsatzdiskussion, die verschiedene Kreise gerne geführt hätten. **Ingeborg Kruczek** (Robert-Koch-Institut, Berlin) erklärte wieder ganz pragmatisch das Vorgehen, mit dem transgene Tiere bezüglich ihres Gefährdungspotentials für Mensch und Umwelt in vier Risikogruppen (nach WHO) eingeteilt werden. Zum Abschluß des Tages sprach **Heidemarie Ratsch** (Senatsverwaltung für Gesundheit, Berlin) als Vertreterin der Genehmigungsbehörde. Sie gab einen statistischen Überblick über die Häufigkeit, mit der transgene Tiere im Tierversuchsgeschehen (in Berlin) überhaupt vorkommen.

Obwohl bis dahin alle Referate durchaus interessant waren und viel Sachinformation boten, ging es doch sehr wenig um das eigentliche Thema dieser Tagungen, nämlich um die Verminderung von Belastungen im Tierversuch. Auch die Grundsatzfrage der ethischen Vertretbarkeit gentechnischer Methoden bzw. der Verletzung



der Tier-Würde durch Eingriffe ins Genom wurde mehrheitlich ausgeblendet.

Am zweiten Tag wurden vier Podiumsdiskussionen geboten, was schon von der Form her attraktiv war. Unter der Moderation von **Dietmar Büttner** (Zentrale Tierlaboratorien, Essen) sprachen W. Bock, D. Feddersen-Petersen (beide Universität Kiel), sowie **Christian Welker** (Gesamthochschule, Kassel) über biologische Forschung an und mit Wildtieren. Tierschutzprobleme tauchen bereits beim Fangen, Markieren und Aussetzen auf, dann aber auch durch Eingriffe in Chronobiologie, Territorium und Sozialgefüge und schließlich beim eigentlichen ethologischen Experiment, das sehr wohl Angst, Streß und Leiden hervorrufen kann; die Einzelhaltung von Rhesusaffen bezeichnete Welker klar als Tierquälerei. Es wurde die Tatsache erörtert, daß eine Genehmigungsbehörde ethologische Experimente mit Primaten in Gefangenschaft als nicht genehmigungspflichtig deklarierte und gar nicht begutachtete. Offensichtlich wird nicht einmal die Frage einheitlich beurteilt und gehandhabt, was als bewilligungspflichtiger Tierversuch zu gelten hat; es wurde sogar der Verdacht geäußert, daß sich die betreffende Behörde mit solchem Vorgehen die Proteste von Tierschutzorganisationen vom Halse halten wollte.

**Norbert-C. Jühr** (Zentrale Tierlaboratorien, Berlin), **Klaus Schwarz** (Schering AG, Berlin), **Ingo Reetz** (Universität Kiel) und ein angeregtes Publikum diskutierten sodann über das Töten von Tieren und den „vernünftigen Grund“, wie er vom deutschen Tierschutzgesetz in § 17 verlangt wird. Jühr meinte einleitend und provozierend, es müsse sich wohl um eine Hofethik handeln, die einen vernünftigen Grund für das Töten attestiere und dieses damit legalisiere, denn eigentlich gebe es doch höchstens „keinen vernünftigen Grund für das Weiterleben eines Tieres“. Töten kann wissenschaftlich, moralisch und ökonomisch begründet sein, wobei in Frage zu stellen ist, ob eine rein ökonomische Begründung (oftmals die einzige) überhaupt vertretbar ist. Das Dilemma, daß der Lebensschutz die Tötung ohne vernünftigen Grund *a priori* verbietet, während der Schutz vor Angst, Schä-

den und Leiden das Töten oftmals gebietet, scheint kaum lösbar. Für den tiereperimentellen Bereich wurde der Lösungsansatz diskutiert, das Töten wenigstens zu minimieren, was zwar ein rein quantitativer Ansatz ist und das moralische Grund-Dilemma nicht löst. Folgende Möglichkeiten wurden diskutiert: eingeschränkte Vorrathaltung, Bildung von „Tierbörsen“, Abgabe überschüssiger Tiere in private Obhut oder Verwendung als Futtertiere. Die Möglichkeit, keine unnötigen Versuche durchzuführen, wurde nicht erwähnt.

**Christian Grosse-Siestrup** (Tierschutzbeauftragter der Universität, Berlin) leitete ein Gespräch über die psychische Belastung des Versuchspersonals. Dazu erklärte einleitend eine ehemalige Versuchstier-Pflegerin, weshalb sie ihre Stelle in einem Tierversuchsbetrieb gekündigt hatte. Der Hauptgrund war das Töten gesunder (überzähliger) Tiere, ein weiterer die Inkompetenz der Versuchsleiterinnen und Versuchsleiter im Umgang mit den Versuchstieren. Der Psychosomatiker **Gerhard Danzer** (Universitätsklinikum, Berlin) referierte über „anthropologische und tiefenpsychologische Aspekte des Gebrauchs und der Tötung von Versuchstieren“. Aus seinen Ausführungen geht hervor, daß bei der

routinemäßigen Tötung von Tieren ohne vernünftigen Grund bzw. ohne Einsicht in den vernünftigen Grund eine „Vergrößerung des Daseins“ erfolgt, die zur Alexithymie führt, zur Schwierigkeit, Gefühle zu entwickeln, wahrzunehmen und zu äußern. Nach Danzer leidet das Tierpflegepersonal relativ oft unter einer solchen Alexithymie und psychosomatischen Folgekrankheiten. Allerdings würden nicht nur einzelne Personen von Alexithymie erfaßt, sondern ganze Institutionen, ja unter Umständen ganze Gesellschaftsschichten; einzelne Individuen äußerten dann als Rollenträger die Symptome (Krankheiten) des ganzen Kollektivs. Man kann nur hoffen, daß diese Worte bei den mit Tierversuchen befaßten Personen nicht nur gehört wurden, sondern auch zum Nachdenken angeregt haben. Ansätze zur Symptombekämpfung lieferten **Hugo Berg** (Universität, Heidelberg) und **Thomas Jourdan** (Tierschutzbeauftragter an der Universität, Freiburg): Gruppengespräche und/oder Supervision mit dem Tierpflegepersonal, was für Pflegepersonal in der Humanmedizin (z.B. Krebsabteilungen, Pflegestationen im Altersheim) zum Teil schon gebräuchlich ist und gute Erfolge zeigt.

cm

### ECVAM Workshop on the three Rs – the way forward

Sheringham GB, 30. Mai–2. Juni 1995

Thema des ECVAM Workshops war die Bedeutung, die das von Russel und Burch 1959 in ihrem Buch „*The Principles of Humane Experimental Technique*“ entworfene Konzept zur Reduktion von Tierversuchen, das sog. 3 R-Konzept „*reduce, replace, refine*“ heute noch hat. Anlaß gab die Tatsache, daß Russel und Burch in den letzten 30 Jahren relativ vergessen in England lebten, von der Weiterentwicklung ihres Konzeptes eigentlich nichts wußten und als betagte Rentner im Jahre 1992 von einem amerikanischen Tierschützer aufgespürt wurden. Da das Europäische Validierungszentrum ECVAM nach dem 3 R-Konzept bemüht ist,

Tierversuche in Europa zu reduzieren, hat dessen Leiter Michael Balls beschlossen, die Gültigkeit des 3R-Konzeptes 1995 zu überdenken, und zwar in Gegenwart von Russel und Burch. Nachdem Burch aus gesundheitlichen Gründen nicht mehr reisen kann, wurde der ECVAM Workshop in der Nähe seines Wohnortes Sheringham an der Nordseeküste Englands in Norfolk durchgeführt.

Eröffnet wurde die viertägige Veranstaltung mit einem Festakt im Rathaus von Sheringham, an dem die 20 Teilnehmer des Symposiums und der Bürgermeister von Sheringham teilnahmen. Die beiden Ehrengäste waren von der offiziellen Feier sichtlich berührt. Jeder Teilnehmer gab kurz seine Ein-



schätzung ab, wie das 3 R-Konzept sein eigenes Leben beeinflusst hatte. Die jüngsten Teilnehmer waren 1959, als Russel und Burch ihre Thesen publizierten, noch nicht einmal geboren.

Von den 20 Wissenschaftlern, die am Workshop teilnahmen, kamen 16 aus England oder den USA, drei aus Holland und einer aus Deutschland. Dieses Übergewicht der Angloamerikaner schlug sich natürlich in den Diskussionen und Ergebnissen des Workshops nieder.

Überraschenderweise ist anscheinend die Einstellung zu ethischen Problemen des Tierschutzes in den USA und Deutschland recht ähnlich. Sie unterscheidet sich aber in vielen Punkten von der ethischen Bewertung von Tierversuchsproblemen in England, wie einige Beispiele zeigten.

Der Begriff „Alternativmethoden“ hat in den USA und in Deutschland einen negativen, unwissenschaftlichen Anklang, jedoch nicht in England (und auch nicht in der Schweiz, die Red.). Die Wissenschaftler aus den USA schlugen daher vor, in Zukunft *nicht mehr von „Alternativmethoden“ zu sprechen, sondern von „3 R-Methoden“*.

Kontrovers verlief die Diskussion um den Tierverbrauch einerseits bei den Tierversuchen, andererseits beim Töten von Tieren. Nach Russel und Burch betrifft das 3 R-Konzept nur Tierversuche. Das sog. „humane“ Töten von Versuchstieren zur Organentnahme fällt demnach nicht unter das 3 R-Konzept. In den USA und auch in Europa ist man dagegen im Rahmen der Bemühungen zur Reduktion des Leidens und der Versuchstierzahlen auch bemüht, den generellen Verbrauch von Versuchstieren zu vermindern, d.h. einschließlich der Tiere, die zur Gewebe- und Organentnahme getötet werden. Im Anschlußdokument des 3 R-Workshops sollen beide Ansichten wiedergegeben werden, d.h. die englische, die nur Tierversuche einbezieht, und die amerikanisch-deutsche, die den Tierverbrauch generell betrifft.

Der Begriff des „refinement“ wurde am Workshop sehr weit gefaßt: Er betrifft jede Form der Verbesserung eines Versuches, also die Verbesserung der Qualität des einzelnen Tierversuches durch eine kompetentere Ver-

suchsdurchführung bis hin zur Verbesserung der Tierhaltung.

Die Arbeitsgruppe „replacement“, d.h. Ersatz von Tierversuchen, war übereinstimmend der Meinung, daß Tierversuche in der Lehre und Ausbildung relativ rasch abgeschafft werden können. Gleichzeitig empfahlen jedoch alle Teilnehmer des 3 R-Workshops eine spezielle Ausbildung in Tierversuchskunde für Wissenschaftler, die gezwungen sind, Tierversuche durchzuführen. Eine solche Ausbildung müsste in Zukunft für alle Experimentatoren unerlässlich sein. Sie sollte im Minimum 60–80 Stunden betragen und auch die Assistenz bei erfahrenen Experimentatoren umfassen.

hsp

## Terminkalender

- **BTS Meeting: In vitro Toxicology. UK-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. Ausführliches Tagungsprogramm siehe MEGAT-Nachrichten im Heft 2/95. Organisation, Anmeldung und Auskunft: H. Schöffl, B. Weiß, MEGAT/AFTF, Postfach 210, A-4021 Linz (Fax +43-5333-6248)
- **Universität Tübingen: Vorlesungsreihe Alternativmethoden zu Tierversuchen.**

- Beginn: 18.10.1995, jeweils mittwochs, 17.00–18.00 Uhr, CRONA, Raum 220, Ebene B04.** Auskunft bei Dr. O. Radu, Universität Tübingen, Klinikum, Calwer Str. 7, D-72076 Tübingen (Fax +49-7071-295867)
- **ECVAM Workshop on Medical Devices. DK-Værløse, 24.–26. November 1995.** Information bei Dr. Ove Svendsen, 24, Vestre Ringvej, DK-4140 Borup (Tel. +45-56-821100, Fax +45-56-821202)
- **Colipa Symposium „Alternatives to Animal Testing“, B-Brüssel, 29.–30. November 1995.** Topics: *The Concept of Validation, Photoirradiation, Eye Irridation, Percutaneous Absorption, Skin Compatibility, Sensitisation, Industry at the Forefront of Research, the Challenge of Validation in Europe, Round Table on Regulatory Issues: with Representatives from Scientific & Regulatory Authorities in Europe, USA & Japan, Safety Assessment: the Views of the Scientific Committee on Cosmetology (SCC), National Authorities and Industry.* Auskunft und Anmeldung bei Robert Vanhove, *The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association (Colipa)*, Rue de la Loi 223/3, B-1040 Bruxelles (Tel. +32-2-230.91.91, Fax +32-2-231.15.87)
- **Organ Function Replacement. XXII Congress European Society for Artificial Organs. D-Berlin, 19.–21. Oktober 1995.** Topics u.a. *Hybrid Liver Support Systems: Organ Replacement with Bioreactors und In Vivo and ex Vivo Models for Artificial Organ Research.* Information bei K. Affeld, FU Berlin, Klinikum Rudolf Virchow, Spandauer Damm 130, D-14050 Berlin (Tel. +49-30-30352021, Fax +49-30-3024403)
- **2nd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences. NL-Utrecht, 20.–24. Oktober 1996.** Programme topics: *Alternatives in: Basic research, Toxicology, Pharmacology, Vaccine testings, Biologicals. Validation/Regulations. Animal Welfare/Ethics. Education/Databases.* Information bei FBU Congress Bureau, Utrecht University, PO. Box 80.125, NL-3508 TC Utrecht, The Netherlands (Fax +31-30-533667, E-mail: L.Donkers@pobox.ruu.nl)



schätzung ab, wie das 3 R-Konzept sein eigenes Leben beeinflusst hatte. Die jüngsten Teilnehmer waren 1959, als Russel und Burch ihre Thesen publizierten, noch nicht einmal geboren.

Von den 20 Wissenschaftlern, die am Workshop teilnahmen, kamen 16 aus England oder den USA, drei aus Holland und einer aus Deutschland. Dieses Übergewicht der Angloamerikaner schlug sich natürlich in den Diskussionen und Ergebnissen des Workshops nieder.

Überraschenderweise ist anscheinend die Einstellung zu ethischen Problemen des Tierschutzes in den USA und Deutschland recht ähnlich. Sie unterscheidet sich aber in vielen Punkten von der ethischen Bewertung von Tierversuchsproblemen in England, wie einige Beispiele zeigten.

Der Begriff „Alternativmethoden“ hat in den USA und in Deutschland einen negativen, unwissenschaftlichen Anklang, jedoch nicht in England (und auch nicht in der Schweiz, die Red.). Die Wissenschaftler aus den USA schlugen daher vor, in Zukunft *nicht mehr von „Alternativmethoden“ zu sprechen, sondern von „3 R-Methoden“.*

Kontrovers verlief die Diskussion um den Tierverbrauch einerseits bei den Tierversuchen, andererseits beim Töten von Tieren. Nach Russel und Burch betrifft das 3 R-Konzept nur Tierversuche. Das sog. „humane“ Töten von Versuchstieren zur Organentnahme fällt demnach nicht unter das 3 R-Konzept. In den USA und auch in Europa ist man dagegen im Rahmen der Bemühungen zur Reduktion des Leidens und der Versuchstierzahlen auch bemüht, den generellen Verbrauch von Versuchstieren zu vermindern, d.h. einschließlich der Tiere, die zur Gewebe- und Organentnahme getötet werden. Im Anschlußdokument des 3 R-Workshops sollen beide Ansichten wiedergegeben werden, d.h. die englische, die nur Tierversuche einbezieht, und die amerikanisch-deutsche, die den Tierverbrauch generell betrifft.

Der Begriff des „refinement“ wurde am Workshop sehr weit gefaßt: Er betrifft jede Form der Verbesserung eines Versuches, also die Verbesserung der Qualität des einzelnen Tierversuches durch eine kompetentere Ver-

suchsdurchführung bis hin zur Verbesserung der Tierhaltung.

Die Arbeitsgruppe „replacement“, d.h. Ersatz von Tierversuchen, war übereinstimmend der Meinung, daß Tierversuche in der Lehre und Ausbildung relativ rasch abgeschafft werden können. Gleichzeitig empfahlen jedoch alle Teilnehmer des 3 R-Workshops eine spezielle Ausbildung in Tierversuchskunde für Wissenschaftler, die gezwungen sind, Tierversuche durchzuführen. Eine solche Ausbildung müsste in Zukunft für alle Experimentatoren unerlässlich sein. Sie sollte im Minimum 60–80 Stunden betragen und auch die Assistenz bei erfahrenen Experimentatoren umfassen.

hsp

## Terminkalender

### • **BTS Meeting: In vitro Toxicology. UK-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. Ausführliches Tagungsprogramm siehe MEGAT-Nachrichten im Heft 2/95.

Organisation, Anmeldung und Auskunft: H. Schöffl, B. Weiß, MEGAT/AFTF, Postfach 210, A-4021 Linz (Fax +43-5333-6248)

### • **Universität Tübingen: Vorlesungsreihe Alternativmethoden zu Tierversuchen.**

**Beginn: 18.10.1995, jeweils mittwochs, 17.00–18.00 Uhr, CRONA, Raum 220, Ebene B04.** Auskunft bei Dr. O. Radu, Universität Tübingen, Klinikum, Calwer Str. 7, D-72076 Tübingen (Fax +49-7071-295867)

### • **ECVAM Workshop on Medical Devices. DK-Værløse, 24.–26. November 1995.**

Information bei Dr. Ove Svendsen, 24, Vestre Ringvej, DK-4140 Borup (Tel. +45-56-821100, Fax +45-56-821202)

### • **Colipa Symposium „Alternatives to Animal Testing“, B-Brüssel, 29.–30. November 1995.**

Topics: *The Concept of Validation, Photoirradiation, Eye Irridation, Percutaneous Absorption, Skin Compatibility, Sensitisation, Industry at the Forefront of Research, the Challenge of Validation in Europe, Round Table on Regulatory Issues: with Representatives from Scientific & Regulatory Authorities in Europe, USA & Japan, Safety Assessment: the Views of the Scientific Committee on Cosmetology (SCC), National Authorities and Industry.* Auskunft und Anmeldung bei Robert Vanhove, *The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association (Colipa)*, Rue de la Loi 223/3, B-1040 Bruxelles (Tel. +32-2-230.91.91, Fax +32-2-231.15.87)

### • **Organ Function Replacement. XXII Congress European Society for Artificial Organs. D-Berlin, 19.–21. Oktober 1995.**

Topics u.a. *Hybrid Liver Support Systems: Organ Replacement with Bioreactors und In Vivo and ex Vivo Models for Artificial Organ Research.* Information bei K. Affeld, FU Berlin, Klinikum Rudolf Virchow, Spandauer Damm 130, D-14050 Berlin (Tel. +49-30-30352021, Fax +49-30-3024403)

### • **2nd World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences. NL-Utrecht, 20.–24. Oktober 1996.**

Programme topics: *Alternatives in: Basic research, Toxicology, Pharmacology, Vaccine testings, Biologicals. Validation/Regulations. Animal Welfare/Ethics. Education/Databases.* Information bei FBU Congress Bureau, Utrecht University, PO. Box 80.125, NL-3508 TC Utrecht, The Netherlands (Fax +31-30-533667, E-mail: L.Donkers@pobox.ruu.nl)



**4. Linzer Kongreß über Ersatz- und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen in der biomedizinischen Forschung, 24.-26. September 1995**

**Sonntag, 24. September 1995**

13.00 Uhr Eröffnung

**13.15 Gastvorträge**

G. Pechovitch (Brüssel, angefragt): *Die Durchsetzung der Europaratsrichtlinie 86/609*

W. Halle (Berlin): *Die Prädiktion der akuten Toxizität mit Hilfe von Zytotoxizitätsdaten*

A. Vedani (Basel): *Computermodelle im pharmakologischen und toxikologischen Screening*

**14.30 Entzündungsmodelle**

A. Sauer (Konstanz): *Ein in vitro Modell zur immunpharmakologischen Untersuchung von Mechanismen der Gram-positiven und Gram-negativen Sepsis*

T. Hartung (Konstanz): *Die Erfassung von Pyrogenen in einem humanen Vollblutmodell*

**16.00 In vitro Modelle in der Neurotoxikologie**

C. K. Atterwill (London): *Models, Strategy and Examination in in vitro Neurotoxicity Testing and Validation*

M. Hafner (Mannheim): *Digitized Fluorescence Imaging in Neuronal Cell Cultures for Studying Pathological Changes of Intracellular Ca<sup>2+</sup> Regulation*

G. Schmuck (Wuppertal): *Primary and Permanent Neuronal Cell Cultures – an in vitro Model for Detecting Neurotoxicity*

H. L. Haas (Düsseldorf): *Neurotoxicity: Recording in vitro*

N. Binding (Münster): *Ein mehrstufiges in vitro Testsystem zur Prüfung neurotoxischer Stoffe*

**Montag, 25. September 1995**

**9.00 In vitro Modelle in der Reproduktionstoxikologie**

R. Bechter (Basel): *Die Anwendung von in vitro Embryotoxizitätstests in der pharmazeutisch-chemischen Industrie*

A. Wobus (Gatersleben): *Embryonale Stammzellen als Modellobjekt in der Reproduktionsbiologie, Pharmako-Toxikologie und Entwicklungs-genetik*

R. Vogel (Berlin): *Pluripotente Stammzellen der Maus als in vitro Modell für Säugerkeimzellen*

P. Voshol (Nijmegen): *FACS und GCSS: Neue zellbiologische Methoden zur Embryotoxizitätstestung mit embryonalen Stammzellen*

P. Nayudu (Göttingen): *Evaluation von Mausfollikel-Kulturen als in vitro Testsysteme für ovarielle Toxine*  
parallel dazu

**9.00 Biometrie von in vitro Methoden**

H. G. Holzhütter (Berlin): *ECVAM Task Force Biostatistics: Stand und Perspektiven der Anwendung biometrischer Methoden bei der Validierung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden*

B. Schneider (Hannover): *Biometrische Methoden zur Evaluation der in vitro Korrelation – CART und CBR*

M. Liebsch (Berlin): *Ein Erfahrungsbericht über die zentrale Rolle der Biometrie bei der Validierung von Alternativmethoden*

R. Meister (Berlin): *Zur Quantifizierung toxikologischer Risiken – Chancen für in vitro Versuche?*

**11.30 Diskussion der Posterbeiträge**

**14.00 In vitro Modelle in der Onkologie**

M. Mareel (Gent): *Activation of Invasion-Suppressor Molecules: In vitro Analysis*

A. Bader (Hannover): *Replacement of the Rat Liver S9 Mix by Means of Primary Rat or Human Hepatocytes in 3D Coculture with V79 Cells*

S. O. Hahn (Berlin): *Dreidimensionale Kultur von Knochenmark und PBLs zur Pharmakatestung*

R. Hofmann Wollenhof (Graz): *In vitro 3D models of Invasiveness: New Methods of Evaluation*

C. Dressler (Berlin): *Studies on the Optimized Fluorescence Diagnosis of Tumors*

R. Pfragner (Graz): *In vitro Screening von proliferationsmodifizierenden Substanzen an Zellkulturen von humanen medullären Schilddrüsenkarzinomen*

R. Kammer (Freiburg): *Artificial Tumor (ArT): A Novel Heterotypic, Polymorphic, 3D in vitro Model of Individual Human Solid Tumors*  
parallel dazu

**14.00 Immunisierung und Adjuvantien**

M. Landwehr (Karlsruhe): *Die tierschutzrechtliche Beurteilung der Immunisierung von Tieren*

W. A. de Leeuw (Rijswijk): *Experience with the Dutch Code of Practice for the Immunization of Laboratory Animals*

H. Ronneberger (Marburg): *Adjuvantien in Humanimpfstoffen*

E. O. Rijke (Boxmeer): *Adjuvans Research for Veterinary Vaccines*

W. Linxweiler (Darmstadt): *Effizienz und Verträglichkeit von Adjuvantien bei der Immunisierung von Mäusen, Kaninchen und Schafen*

M. Leenaars (Rotterdam): *Comparison of Alternatives to Freund's Complete Adjuvant*

H. J. Kramer (Kiblegg): *Erfahrungen bei der Herstellung polyklonaler Antikörper im Kaninchen*

C. Schwarzkopf (Berlin): *Freund's komplettes Adjuvans und mögliche Alternativen zur Gewinnung von IgY: Immunisierungsschemata, Titerentwicklung, Affinitätsprüfung und biologische (Un-) Verträglichkeit*

M. H. Ehrhardt (München): *Lipopeptide als nebenwirkungsfreie Adjuvantien zur Immunisierung von Legehennen*

R. Fischer (Zürich): *Herstellung monoklonaler Antikörper: Einfluß der Adjuvantien auf die Immunantwort und die Belastung der Tiere*

**Dienstag, 26. September 1995**

**9.00 Toxikologische Prüfung von Kosmetika in der EU**

U. Sauer (Neubiberg): *„Strategie“ zur sicherheitstoxikologischen Prüfung von Kosmetika aus der Sicht des deutschen Tierschutzbundes*

W. Pape (Hamburg): *Möglichkeiten und Grenzen von tierversuchsfreien Methoden aus der Sicht der europäischen Kosmetikindustrie*

M. Kietzmann (Leipzig): *Das isoliert perfundierte Rindereuter als Modell zur Untersuchung der transdermalen Penetration und Resorption*

W. Pittermann (Düsseldorf): *Isoliert perfundiertes Rindereuter: Erfahrung mit kosmetischen Stoffen*

M. Schäfer-Korting (Berlin): *Grenzen von künstlichen Hautmodellen aus der Sicht der Dermatopharmakologie*

M. Liebsch (Berlin): *Validierung von in vitro Testmethoden zur Prüfung auf phototoxische und korrosive Eigenschaften mit Hilfe von künstlicher menschlicher Haut*  
parallel dazu

**Recht und Ethik**

**9.00 Rechtspolitik und Ethik**

H. Bäumer (Gießen): *Tierschutz contra Lehrfreiheit an deutschen Universitäten*

E. von Loeper (Nagold): *Tierschutz ins Grundgesetz: Zur Frage unseres Wertbewußtseins in rechtlicher, politischer und gesellschaftlicher Sicht*

A. F. Goetschel (Zürich): *Die (in der Schweiz verfassungsrechtlich geschützte) Würde der Kreatur und deren Beachtung im Tierversuch*

**11.30 Internationales Recht**

F. Harrer (Salzburg): *Tierversuche und EU-Recht: Verhältnisse aus österreichischer Sicht*

K. Schwabenbauer (Regensburg): *Die EU-Tierversuchsgesetzgebung und Tierversuche: Verhältnisse aus deutscher Sicht*

**14.00 Aspekte der Rechtsanwendung**

F. P. Gruber (Zürich): *Refinement: Versuch einer Definition*

I. Bloch (Basel): *Erfahrungen und Probleme bei der prospektiven Einschätzung des Belastungsmaßes im Tierversuch*

M. Völkl (Igensdorf): *Die Belastung der Versuchstiere nach Einschätzung der Antragsteller von Versuchsgenehmigungen*

B. Rusche (Neubiberg): *Erste Ergebnisse einer Umfrage unter Mitgliedern der beratenden Kommissionen nach § 15 Tierschutzgesetz*

15.30 H. Spielmann (Berlin): *Schlußworte*

## Buchbesprechungen

### Handbuch über Möglichkeiten und Methoden zur Verbesserung, Verminderung und Vermeidung von Tierversuchen

Heinz-Peter Scheuber (Hrsg.), Loseblattsammlung, DM 149,-. München: Thomas Denner Verlag & Medien Service (1994), ISSN 0942-9700

In einem Aktenordner sind folgende Register zu finden:

- A Rechtsgrundlagen zu Tierversuchen
- B Verbesserung und Verminderung von Tierversuchen
- C Vermeidung von Tierversuchen
- D Wissen schützt Tiere
- E Nationales und internationales Adressenverzeichnis tierschutzrelevanter Behörden, Institutionen und Organisationen

Im Register A sind gut bekannte Texte zu finden: Das Deutsche Tierschutzgesetz und die Allgemeine Verwaltungsvorschrift zur Durchführung des Tierschutzgesetzes mit Anlagen, das Schweizer Tierschutzgesetz (nur sechster Abschnitt: Tierversuche) und die dazugehörige Tierschutzverordnung (nur 7. Kapitel: Tierversuche). Das Österreichische Tierversuchsgesetz fehlt (Manuskript in Vorbereitung). Unverständlicherweise werden bei den Gesetzen und Verordnungen Autoren genannt, die für die jeweiligen Texte wohl kaum verantwortlich sein können.

Der Teil B enthält „Die Anästhesie beim Versuchstier (Säuger)“ von Erhardt, Henke und Brill. Vor- und Nachteile der verschiedensten Anästhesiemethoden bei nahezu allen Versuchstierarten werden diskutiert, vor allem die am Schluß tabellarisch zusammengefaßten Analgesie- und Anästhesieverfahren, getrennt nach Tierarten, sind sehr hilfreich. Ebenfalls in Teil B zu finden ist ein Nachdruck der „Euthanasie bei Labortieren“ von Schatzmann, Gassmann-Langmoen und von Crnach. Diese Schrift wurde bereits besprochen (ALTEX Nr. 17, 1992).

Register C enthält unter dem Titel Datenbanken eine Auswahl von Proto-

kollen zu *in vitro* Techniken, die kaum vollständig sein kann. Eine Übersicht über die vorhandenen Datenbanken wäre an dieser Stelle sicher sinnvoller. Unter dem Titel Diagnostik werden eine Arbeitsanleitung des Arbeitskreises für veterinärmedizinische Diagnostik für die Tollwutdiagnose und eine Kurzanleitung zur Isolierung von Chlamydien in der Zellkultur zum Abdruck gebracht. Nach welchen Gesichtspunkten ausgerechnet diese beiden Anleitungen in das Handbuch aufgenommen wurden, ist nicht nachvollziehbar.

Register D enthält unter dem Titel „Wissen schützt Tiere“ eine Auflistung von Videos, Filmen, Diaserien und Computerprogrammen, die sich im Unterricht verwenden lassen. Alle Lehrmittel sind mit einer kurzen Beschreibung, Preisangabe und Bezugsquelle übersichtlich angeordnet. Ein Verzeichnis weiterführender Literatur ergänzt dieses Register.

Das Register E beinhaltet eine sehr hilfreiche Adressensammlung, gegliedert in die Behörden Deutschlands und der Schweiz (Angaben aus Österreich fehlen wieder) und in forschungsfördernde Organisationen und Institutionen, die unter dem Titel „Tierschutz unter dem Dach der Wissenschaft“ zusammengefaßt werden.

Das Handbuch enthält Unterlagen, die sicher an keinem mit der Beaufsichtigung von Tierversuchen befaßten Arbeitsplatz fehlen dürfen. Einige Beiträge (Tollwut, Chlamydien) scheinen auf den ersten Blick sehr willkürlich ausgewählt zu sein, vielleicht wird mit den angekündigten Ergänzungslieferungen (ein- bis zweimal jährlich) ein System erkennbar. Wertvoll sind auf jeden Fall die Übersichten zur Analgesie, Anästhesie und Euthanasie, sowie das Verzeichnis der Lehrmittel und die Adressensammlung. Ich könnte mir vorstellen, daß viele Anwender dieses Handbuch gerne als Diskette kaufen würden.

fpg

### In Vitro Toxicity Testing Protocols

Current protocols for a rapidly advancing technique. Edited by Sheila O'Hare and Chris K. Atterwill. New Jersey: Humana Press (1995). ISBN 0-89603-282-5. 352 Seiten, \$ 69,50.

Die Protokolle bieten eine Palette von Methoden an, die in der Toxikologie bereits heute eingesetzt werden, um einige wegen ihrer Unzuverlässigkeit und ethischen Bedenklichkeit problematische Tierversuche zu reduzieren und zu ersetzen.

Daß die *in vitro* Toxikologie eines der am schnellsten expandierenden Fächer in den biomedizinischen Wissenschaften ist, geht sicher auf den Druck der Öffentlichkeit zurück. Aber auch die Toxikologen selbst waren nicht immer glücklich mit der oft durch unnötige Doppelversuche großen Menge an Tierversuchen und ihrer Unzuverlässigkeit.

Es wird betont, daß auch *ex vivo* Methoden in das Verzeichnis aufgenommen wurden. Damit werden auch die Ziele von *Reduction* und *Refinement* einbezogen. Es wird eine detaillierte Beschreibung des Stellenwertes, den die *in vitro* Toxikologie heute einnimmt, gegeben. Vor allem wird auch auf die Kriterien eingegangen, die bei der Validierung all dieser Methoden beachtet werden müssen.

Die Protokolle sind in sechs Kapitel gegliedert: *target organ toxicity, general and topical toxicity, irritancy testing, immunotoxicity, carcinogenesis* und *submammalian and subvertebrate models for teratogenicity testing*. 41 Autorinnen und Autoren aus sechs europäischen Ländern haben sich in 37 Kapiteln bemüht, das weite Feld möglicher Alternativmethoden bei den chemischen und pharmazeutischen Sicherheitsprüfungen übersichtlich darzustellen.

Die Herausgeber hoffen, daß mit dem vorliegenden Buch die Verbreitung von *in vitro* Methoden weiter beschleunigt wird.

fpg



## 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 ausgeschrieben 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, nummeriert)
- Abbildungen (jeweils eine auf separater Seite, nummeriert)

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 auführen.

### 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-Bestrahlung 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.