

Aktivitäten für den Konstruktiven Tierschutz

von Prof. Dr. med. Dr. h.c. Kay Brune

Forschung und Lehre

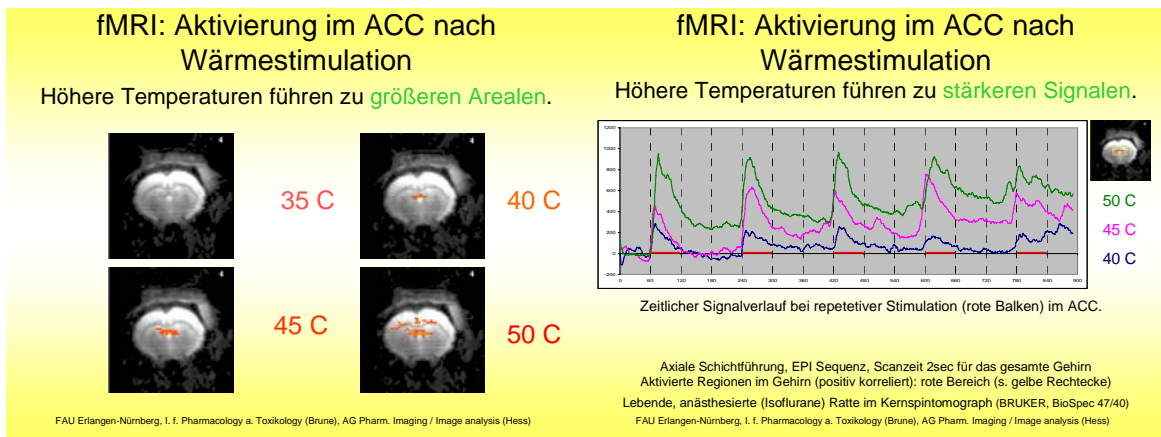
Zur Rechtfertigung von Tierversuchen formulierten Russell und Burch 1959 das sogenannte 3-R-Prinzip. Es geht davon aus, dass Tierversuche notwendig sind. Sie müssen allerdings durch Alternativmethoden ersetzt (**replace**), durch die Anwendung neuer Techniken weniger belastend für das Versuchstier gestaltet (**refine**) und schließlich durch die Anwendung adäquater Technologien in Forschung und Lehre vermindert werden (**reduce**). Dieses Prinzip soll im Rahmen unserer Forschungstätigkeit, wo immer möglich, umgesetzt werden.

1. Zellkulturmethoden (**Replacement**)

Die wissenschaftlichen Publikationen meiner Arbeitsgruppe weisen aus, dass wir bereits in den 70-iger Jahren daran gingen, in der Schmerz- und Entzündungsforschung Zellkulturmethoden als Alternativmethoden einzusetzen (Replacement). Eine erste, ausführliche Arbeit zu diesem Thema erschien im Jahre 1981. Sie enthielt die erste, umfassende Darstellung der zyklooxygenaseinhibitorischen Potenz von antipyretischen, analgetischen Substanzen in Zellkulturen. In dieser Arbeit wurden grundsätzliche Probleme pharmakologischer Analysen in vitro, wie die Bedeutung des Proteingehalts des Kulturmediums, pH-Schwankungen, etc., analysiert und diskutiert. Aus dieser Arbeit entwickelten sich zahlreiche, weiterführende Zellkultur(alternativ)methoden bis in die neueste Zeit. Sie sind im Literaturverzeichnis zusammengestellt. Darunter befindet sich auch ein früher Versuch, allergische Reaktionen in vitro zu imitieren (PNAS, 1995). Wir haben darüber hinaus statt Tierversuchen Mikroorganismen für pharmakologische und toxikologische Fragen eingesetzt. Die Arbeiten dazu finden sich unter.

2. Nicht invasive Verfahren (**Refinement, Reduction**)

Seit Jahren bemühen sich meine Mitarbeiter und ich, durch nicht-invasive, bildgebende Verfahren, die Schmerzforschung an Tieren akzeptabel zu gestalten. Ein Schwerpunkt ist die Entwicklung der MR-Technik für die Schmerzforschung beim Tier. Diese Entwicklung schlägt sich bisher noch nicht in Publikationen nieder, denn wir mussten zunächst die finanziellen Voraussetzungen schaffen (ca. € 1,5 Mio), um ein Tier-MR aufzubauen und betriebsfertig zu machen. Mit Hilfe eines von der SET (Stiftung zur Förderung der Erforschung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zur Einschränkung von Tierversuchen) unterstützten Projektes wird zur Zeit ein BMBF-Projekt zur Erforschung der Chronifizierung von Schmerzen mit Hilfe der MR-Technik verfolgt. Dabei geht es darum, die plastischen Veränderungen im Gehirn von Versuchstieren bei wiederholter, kurzfristiger externer Stimulation, etwa der Vibrissen, nicht-invasiv zu erfassen. Erste Bilder zeigen, dass es möglich ist – wie beim Menschen mit repetitiven Schmerzen –, plastische Veränderung der Wahrnehmung mit Hilfe der MR-Technik sichtbar und messbar zu machen. Diese Befunde werden es erlauben, neue Pharmaka und Techniken zur Bekämpfung chronischer Schmerzen zu entwickeln.



Sie erlauben darüber hinaus beim gleichen Tier, bei nur geringer Belastung, kontinuierlich Daten zu erheben. Dadurch müssen nur wenige Tiere untersucht werden (Publikationen hierzu von Dr. A. Hess s. Literaturanhang).

3. Verlagerung von Experimenten vom Tier zum Menschen

In großem Umfang haben wir versucht, die Anzahl der Tierversuche in der Forschung und Lehre zu vermindern. Dabei gelang es einerseits, durch humane Freiwilligenversuche in der Schmerzforschung wesentliche Differenzierungen der Wirkungen von Analgetika vorzunehmen. Die Arbeiten sind unten dargestellt. Es ist wahrscheinlich überflüssig anzuführen, dass die ganze Arbeitsgruppe regelmäßig als Probandenkollektiv mitgewirkt hat.

Mit Hilfe zahlreicher Mitarbeiter in der Klinik gelang es darüber hinaus, zahlreiche Fragen vom Tierversuch in den Humanversuch zu verlagern. Hier ist besonders der frühzeitige Einsatz der Mikrodialyse zur Bestimmung der Bildung von Mediatoren unter der Einwirkung von analgetischen und antiphlogistischen Pharmaka durch die Mikrodialyse beim Freiwilligen zu erwähnen. Ähnliche Versuche und pharmakokinetische Analysen beim Menschen brachten weitere, für die Schmerzforschung relevante Ergebnisse, ohne dass dafür Tiere geopfert werden mussten.

Schließlich gelang es, Tierversuche in der Lehre durch neue Werkzeuge, wie einen pharmakokinetischen Rechenschieber und Computersimulation, zu ersetzen. Diese Versuche sind durch einige Publikationen zum Teil dokumentiert (s. unten). Zur Zeit sind wir wesentlich am sogenannten k-med-Projekt des BMBF beteiligt, das einen umfangreichen, computerisierten Datensatz über das Internet Studierenden der Medizin, Biologie und Pharmazie als Lernhilfe anbieten will.

Öffentlichkeitsarbeit für den konstruktiven Tierschutz

Erlauben Sie nach diesem Einblick in unsere wissenschaftliche Tätigkeit kurz darauf hinzuweisen, dass es mir auch darum geht, im öffentlichen Umfeld mit Nachdruck und nachhaltig für den wissenschaftlich begründbaren, konstruktiven Tierschutz einzutreten. Unter meinem Vorsitz hat die Doerenkamp-Zbinden-Stiftung zahlreiche Forschungsprojekte zum Aufbau von Alternativmethoden unterstützt. Zahlreiche

Preisträger, besonders in Deutschland, sind durch die Preise dieser Stiftung gewürdigt und unterstützt worden. (Mein eigenes Institut und ich selbst waren und sind von Zuwendungen der Stiftung natürlich ausgeschlossen.) Diese Stiftung konnte darüber hinaus mit zahlreichen, internationalen Projekten die Entwicklung von Lehrmitteln (Bücher, Videobänder und Computerdisketten) für den pharmakologischen und toxikologischen Unterricht zur Einsparung von Tierversuchen voranzubringen. Zurzeit plant die Stiftung die Etablierung eines Lehrstuhls für Toxikologie mit der besonderen Aufgabe, Tierversuche einzusparen und durch Alternativverfahren zu ersetzen. Schließlich gelang es, die Öffentlichkeit auch durch die Stiftung von Kunstwerken auf den konstruktiven Tierschutz und die Verantwortung des Forschers hinzuweisen. Eine erste, künstlerische Darstellung (s. Abb. und Zeitungsausschnitt Anlage 2) wurde in der Eingangshalle des neugebauten Instituts für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie von dem bekannten Bildhauer Jürgen Goertz errichtet. Sie zieht auch ganz normale Passanten regelmäßig in diese Halle und konfrontiert etwa 400 Studierende jeden Tag mit den Möglichkeiten und Grenzen des Rechtes der freien Forschung im Zusammenhang mit dem Tierschutz. Eine ähnliche, künstlerische Darstellung wird z.Zt. an der Universität Zürich geplant und aufgebaut. Diese Kunstwerke wurden von einer Stifterin, beraten durch mich, ausgewählt und finanziert. Mein Engagement führte kürzlich zur Berufung in das Kuratorium der SET, wo ich hoffe, meine Erfahrungen einbringen zu können.

All diese Aktivitäten haben im Jahre 2002 zur Verleihung des Sonderpreises des Felix-Wankel-Tierschutz-Forschungspreis und im Jahre 2003 zur Implementierung des ersten Stiftungslehrstuhls für Innovationen im Tier- und Verbraucherschutz in Deutschland geführt.



J. Goertz K. Brune H. Zehetmair

(Kultusminister)

S. Balleis
(OB Erlangen)

Publikationen

A Replacement

A1 Zellkultur

Bättig P, Brune K, Schmitt H, Walz D. A pharmacokinetic slide rule for more accurate drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol.* 1974, 7 (3): 233-9.

Brune K, Riedtmann HJ. Computer-assisted teaching. *Trends Pharmacol Sci.* 1980: 1-11.

Brune K, Rainsford KD, Wagner K, Peskar BA. Inhibition of anti-inflammatory drugs of prostaglandin production in cultured macrophages. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1981, 315 (3): 269-76.

Hummel T, Lötsch J, Brune K, Kobal G. Computer-assisted teaching in pharmacology. *ALTEX.* 1993, 10 (1): 45-60.

Bang H, Müller W, Hans M, Brune K, Swandulla D. Activation of Ca²⁺ signaling in neutrophils by the mast cell-released immunophilin FKBP12. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995, 92 (8): 3435-8.

Rascher C, Pahl A, Pecht A, Brune K, Solbach W, Bang H. *Leishmania major* parasites express cyclophilin isoforms with an unusual interaction with calcineurin. *Biochem J.* 1998, 334 (Pt 3): 659-67.

Hinz B, Brune K, Pahl A. Nitric oxide inhibits inducible nitric oxide synthase mRNA expression in RAW 264.7 macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000, 271 (2): 353-7.

Bang H, Pecht A, Raddatz G, Scior T, Solbach W, Brune K, Pahl A. Prolyl isomerases in a minimal cell. Catalysis of protein folding by trigger factor from *Mycoplasma genitalium*. *Eur J Biochem.* 2000, 267 (11): 3270-80.

Ramer R, Brune K, Pahl A, Hinz B. R(+)-methanandamide induces cyclooxygenase-2 expression in human neuroglioma cells via a non-cannabinoid receptor-mediated mechanism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;286(5):1144-52.

Pahl A, Zhang M, Kuss H, Szelenyi I, Brune K. Regulation of IL-13 synthesis in human lymphocytes: implications for asthma therapy. *Br J Pharmacol.* 2002;135(8):1915-26.

Schmitt C, Humeny A, Becker CM, Brune K, Pahl A. Polymorphisms of TLR4: rapid genotyping and reduced response to lipopolysaccharide of TLR4 mutant alleles. *Clin Chem.* 2002;48(10):1661-7.

Hinz B, Brune K, Pahl A. 15-Deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2 inhibits the expression of proinflammatory genes in human blood monocytes via a PPAR-gamma-independent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;302(2):415-20.

Hinz B, Ramer R, Brune K. Induction of COX-2 expression by the endocannabinoid derivative R(+)-methanandamide. *Adv Exp Med Biol.* 2003;525:145-52.

Ramer R, Weinzierl U, Schwind B, Brune K, Hinz B. Ceramide is involved in r(+)-methanandamide-induced cyclooxygenase-2 expression in human neuroglioma cells. *Mol Pharmacol.* 2003;64(5):1189-98.

Puljic R, Pahl A. Smoke induced changes in epithelial cell gene expression: development of an in vitro model for COPD. *ALTEX.* 2004, 21 (1):3-7.

Hinz B, Ramer R, Eichele K, Weinzierl U, Brune K. Upregulation of cyclooxygenase-2 expression is involved in R(+)-methanandamide-induced apoptotic death of human neuroglioma cells. *Mol Pharmacol.* 2004 Sep 10

A2 *Humanversuche*

Lötsch J, Geisslinger G, Mohammadian P, Brune K, Kobal G. Effects of flurbiprofen enantiomers on pain-related chemo-somatosensory evoked potentials in human subjects. *Brit J Clin Pharmacol.* 1995, 40 (4): 339-46.

Lötsch J, Kobal G, Stockmann A, Brune K, Geisslinger G. Lack of analgesic activity of morphine-6-glucuronide after short-term intravenous administration in healthy volunteers. *Anesthesiology.* 1997, 87 (6): 1348-58.

Tegeder I, Muth-Selbach U, Lötsch J, Rusing G, Oelkers R, Brune K, Meller S, Kelm GR, Sorgel F, Geisslinger G. Application of microdialysis for the determination of muscle and subcutaneous tissue concentrations after oral and topical ibuprofen administration. *Clin Pharmacol Ther.* 1999, 65 (4): 357-68.

Maihöfner C, Schlotzer-Schrehardt U, Gühring H, Zeilhofer HU, Naumann GO, Pahl A, Mardin C, Tamm ER, Brune K. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in normal and glaucomatous human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001, 42 (11) : 2616-24.

Werner U, Werner D, Mundkowski R, Gillich M, Brune K. Selective and rapid liquid chromatography-mass spectrometry method for the quantification of rofecoxib in pharmacokinetic studies with humans. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001;760(1):83-90.

Lötsch J, Muth-Selbach U, Tegeder I, Brune K, Geisslinger G. Simultaneous fitting of R- and S-ibuprofen plasma concentrations after oral administration of the racemate. *Br J Clin Pharmacol.* 2001;52(4):387-98.

Lotsch J, Muth-Selbach U, Tegeder I, Brune K, Geisslinger G. Simultaneous fitting of R- and S-ibuprofen plasma concentrations after oral administration of the racemate. *Br J Clin Pharmacol*. 2001;52(4):387-98.

Werner U, Werner D, Pahl A, Mundkowski R, Gillich M, Brune K. Investigation of the pharmacokinetics of celecoxib by liquid chromatography-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2002;16(1):56-60.

Schwartz JI, Vandormael K, Malice MP, Kalyani RN, Lasseter KC, Holmes GB, Gertz BJ, Gottesdiener KM, Laurenzi M, Redfern KJ, Brune K. Comparison of rofecoxib, celecoxib, and naproxen on renal function in elderly subjects receiving a normal-salt diet. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;72(1):50-61.

Pahl A, Brune K. Gene expression changes in blood after phlebotomy: implications for gene expression profiling. *Blood*. 2002;100(3):1094-5.

Pahl A, Brune K. Stabilization of gene expression profiles in blood after phlebotomy. *Clin Chem*. 2002;48(12):2251-3.

Schmidt A, Schwind B, Gillich M, Brune K, Hinz B. Simultaneous determination of leflunomide and its active metabolite, A77 1726, in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*. 2003;17(4):276-81.

Hinz B, Auge D, Rau T, Rietbrock S, Brune K, Werner U. Simultaneous determination of aceclofenac and three of its metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*. 2003;17(4):268-275.

Egger T, Dormann H, Ahne G, Runge U, Neubert A, Criegee-Rieck M, Gassmann KG, Brune K. Identification of adverse drug reactions in geriatric inpatients using a computerised drug database. *Drugs Aging* 2003, 20 (10):769-76.

Werner U, Werner D, Rau T, Fromm M, Hinz B, Brune K. Celecoxib inhibits metabolism of cytochrome P450 2D6 substrate metoprolol in humans. *Clin Pharmacol Ther* 2003, 74(2):130-7.

Hinz B, Rau T, Auge D, Werner U, Ramer R, Rietbrock S, Brune K. Aceclofenac spares COX-1 due to limited but sustained biotransformation to diclofenac. *Clin Pharmacol Ther* 2003, 74(3):222-35.

Dormann H, Neubert A, Criegee-Rieck M, Egger T, Radespiel-Troger M, Azaz-Livshits T, Levy M, Brune K, Hahn EG. Readmissions and adverse drug reactions in internal medicine: the economic impact. *J Intern Med*. 2004;255(6):653-63.

Ullmann S, Hage T, Draheim R, Egerland U, Oelmüller U, Brune K, Pahl A. RNA-Based Drug Screening Using Automated RNA Purification and Real-time RT-PCR1. *J Biomol Screen*. 2004;9(2):95-102.

Dormann H, Criegee-Rieck M, Neubert A, Egger T, Levy M, Hahn EG, Brune K. Implementation of a computer-assisted monitoring system for the detection of adverse drug reactions in gastroenterology. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19(3):303-9.

A3 *Lehre*
Bättig, Lötsch

B Reduction/Refinement

Hess A, Sergejeva M, Bundinsky L, Zeilhofer HU, Brune K. Imaging of hyperalgesia in rats by functional MRI. Eingereicht bei PAIN

Papers in preparation:

Hess A, Brune K. et al: The impact of repetitive application of heat during narcosis to processing of nociceptive processus in the rat brain.

Hess A, Brune K. et al: The effect of antipyretic analgesics and opiates on processing of nociception in animals during anaesthesia assessed by fMRI.

C Reviews (since 2003)

Zeilhofer HU, Brune K. A role for cyclooxygenase-1 in neuropathic pain? *Anesthesiology.* 2003;99(5):1043-4.

Brune K. [Self experimentation and in vitro research will not suffice: a plea for more refinement] *ALTEX.* 2003;20(1):48-50.

Brune K, Hinz B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. *Scand J Rheumatol* 2004, 33:1-6.

Brune K, Hinz B. The Discovery and Development of Antiinflammatory Drugs. *Arthritis Rheum.* 2004; 50(8):2391-2399.

Hinz B, Brune K. Pain and osteoarthritis: new drugs and mechanisms. *Curr Opin Rheumatol.* 2004 Sep;16(5):628-33.

Publikationen von Dr. A. Hess zu nicht-invasiven Verfahren

Schulze, H. N., H.; Ohl, F.W.; Hess, A.; Scheich, H. (2002). "Representation of stimulus periodicity and its learning induced plasticity in the auditory cortex: Recent findings and new perspectives." *Acta Acustica united with Acustica* 88: 399-407.

Zimmermann W.H., Didié M., Wasmeier G.H., Nixdorff U.; Andreas Hess, Melnychenko I., Boy O., Eschenhagen T.,(2002). "Cardiac Grafting of Engineered Heart Tissue in Syngenic Rats." *Circulation* 106, 151-157.

Pielot, R., S. M., K. Obermayer, E. D. Gundelfinger and A. Hess (2003). "A new method of point-based warping to reduce inter-individual variations in brain imaging." *Neuroimage*, 19(4), 1716-29.