

Methode für toxikologische Untersuchungen an Organismen- und Zellsystemen mit einem elektrochemischen In-vitro-Messverfahren

14266 N

Das neue Chemikaliengesetz REACH verpflichtet die chemische Industrie dazu, für alle chemischen Substanzen toxikologische Daten zu liefern. Diese Daten werden zur Zeit zum großen Teil durch Tierversuche erhoben, weshalb die Suche nach Alternativmethoden im Zusammenhang mit toxikologischen Untersuchungen von großem Interesse ist.

Im Mittelpunkt des Forschungsvorhabens stand die Untersuchung eines elektrochemischen Messsystems für Zytotoxizitätsmessungen von ausgewählten Testsubstanzen. Ziel war es, die Anwendbarkeit einer bereits erfolgreich für Aktivitätsbestimmungen getesteten elektrochemischen Gelzelle für zytotoxikologische Fragestellungen zu überprüfen. Außerdem sollte ein Mehrkanalmesssystem entwickelt werden, das einen vollständigen Toxizitätstest einer Testsubstanz in nur einem Messvorgang ermöglicht. Kernstück des Messsystems ist eine elektrochemische Messzelle mit einer Dreielektrodenanordnung. Für Hochdurchsatzmessungen und zur Automatisierung der Toxizitätstests wurde dieses System in Mikrotiterplatten übertragen.

Nach erfolgreicher Herstellung der Mikrotiterplatten mit integrierten Elektroden konnten erste Tests erfolgreich durchgeführt werden. Es zeigten sich dabei jedoch toxische Einflüsse des verwendeten Metalls (Kupfer) und Defizite bei der Anhaftung der aufgetragenen Metallschichten.

Für die Toxizitätsmessungen wurden tierische Zellen in der Messzelle eingesetzt. Diese reduzieren unter Sauerstoffausschluss elektroaktive Substanzen, dadurch kann ein Stromfluss in Abhängigkeit von der Konzentration der reduzierten Substanzen detektiert werden. Die Höhe und die Geschwindigkeit des Stromsignals gibt direkt Aufschluss über den Aktivitätszustand der eingesetzten Zellen, die sich je nach Menge und Toxizität der zugesetzten Testsubstanz ändert.

Die Toxizität der Testsubstanzen wurde anhand der aus den Messwerten generierten IC 50 -Werte ermittelt. Für die Messungen wurden die Zellen und alle weiteren Komponenten in einem Sephadex Gel immobilisiert. Damit konnten neben hydrophilen auch lipophile Testsubstanzen in einem vorwiegend wässrigen System eingesetzt werden. Diese Messungen waren reproduzierbar.

Bei den Zytotoxizitätsmessungen mit ausgewählten Testsubstanzen konnte eine Einteilung in vier Toxizitätsstufen vorgenommen werden. Die bei den Messungen ermittelten toxischen Konzentrationen (IC 50 -Werte) korrelieren in hohem Maße mit den Werten aus der Literatur und den photometrischen Vergleichstests. Die erzielten Ergebnisse zeigen die generelle Eignung der elektrochemischen Gelzelle zur Bestimmung der Zytotoxizität von chemischen Substanzen; eine Validierung ist jedoch noch erforderlich.

Das vorliegende Messsystem zeichnet sich durch geringe Materialkosten, Automatisierbarkeit und minimierte Personalkosten aus. Ein weiterer großer Vorteil ist, dass mit diesem System bereits nach wenigen Minuten Aussagen über die Zytotoxizität gemacht werden können. Bei den klassischen Methoden ist dafür ein Zeitraum von mehreren Stunden erforderlich. Das Testsystem könnte außerdem als Aktivitäts-Screeningmethode bei der Wirkstoffforschung in der Pharmaindustrie eingesetzt werden.

Bearbeitet wurde das Forschungsthema von 02/05 bis 03/07 am **Karl-Winnacker-Institut der DECHEMA e.V.** (Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main, Tel. (0 69) 75 64-0) unter Leitung von Prof. M. Schütze und Dr. D. Sell (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. G. Kreysa).

[--> TIB](#)

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben Nr. 14266 N der Forschungsvereinigung DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.