

Ersatzmethoden zum Tierversuch

## Mehr Technik – weniger Kreatur

BMBF unternimmt seit Jahren beträchtliche Anstrengungen zur Förderung neuer Test-Technologien



Der Tierschutz genießt in Deutschland einen hohen Stellenwert. Jeder, der mit Tieren umgeht, ist nach dem Tierschutzgesetz verpflichtet, deren Leben und Wohlbefinden zu schützen. Auf Experimente an Tieren kann die Gesellschaft derzeit noch nicht verzichten. Eine Reihe von Versuchen sind sogar gesetzlich gefordert, unter anderem im Rahmen von Prüfungen für die Anmeldung bzw. Zulassung von Stoffen oder Produkten wie Chemikalien, Arznei- oder Pflanzenschutzmitteln oder zur Erkennung bestimmter Umweltgefährdungen.

In der biomedizinischen Forschung und Lehre sind Tierversuche zur Untersuchung biologischer Vorgänge, z.B. im Zusammenhang mit der Entstehung von Krankheiten, den komplexen Entwicklungs- und Regulationsmechanismen im Organismus oder physiologischen Leistungen von Mensch und Tier, erforderlich. Der Umgang mit Versuchstieren ist

ethisch nur vertretbar, wenn alle Beteiligten nach den Grundsätzen des Tierschutzes handeln und dabei insbesondere die Zahl der Tierversuche und die Belastung der Tiere auf das unerlässliche Maß beschränken. Auf politischer Ebene können die weitere Harmonisierung internationaler Regeln, die gegenseitige Anerkennung von Prüfverfahren und andere Bemühungen weiterhin dazu beitragen, die Zahl der Versuchstiere zu reduzieren.

*Fortsetzung Seite 2*

Im Jahr 1959 schlugen die beiden Forscher William Russell und Rex Burch das inzwischen weltweit etablierte **3R-Prinzip** zur Reduktion von Tierversuchen vor:

- ▶ Verringern der Versuchstierzahlen durch Reduzieren der Zahl von Tests, u. a. durch internationale Harmonisierung (**Reduction**)
- ▶ Mindern des Leidens der Tiere durch verbesserte Experimente; Gewinnen von mehr Informationen aus einem einzelnen Versuch oder Gewinnen der gleichen Information mit weniger Tieren (**Refinement**)
- ▶ Zunehmendes und letztlich völliges Ersetzen der Tierversuche durch tierfreie Methoden (**Replacement**)

Fortsetzung von Seite 1

Unabhängig davon ist es das Ziel der Forscher, zuverlässige wie leistungsfähige Ersatz- und Ergänzungsmethoden für den Tierversuch zu entwickeln. Diese bilden – neben rechtlich klar geregelten, unabhängigen Prüf- und Genehmigungsverfahren– die entscheidende Voraussetzung zur weiteren Verringerung des Einsatzes von Versuchstieren.

Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) unternimmt dazu seit Jahren beträchtliche Anstrengungen auf nationaler und internationaler Ebene. Das BMBF hat seit Beginn der 80er Jahre auf dem Gebiet „Ersatzmethoden zum Tierversuch“ über 250 Forschungsvorhaben gefördert.

Die derzeitige Förderung basiert auf den Förderrichtlinien „Ersatzmethoden zum Tierversuch“ vom 17. April 2001 innerhalb des Rahmenprogramms „Biotechnologie – Chancen nutzen und gestalten“. Diese Richtlinien setzen nach wie vor den bewährten Schwerpunkt, Ersatzmethoden für den Bereich regulatorisch (also von Behördenseite) geforderter Tierversuche zu erarbeiten. Sie orientieren nunmehr aber auch auf grundlagenorientierte Themen, ohne die Zielsetzungen des 3R-Konzepts nach Russell und Burch (siehe Bildtext Seite 1) aus den Augen zu verlieren. Hierfür sind seit 1980 bis Ende 2004 insgesamt 86,1 Millionen Euro eingesetzt worden.

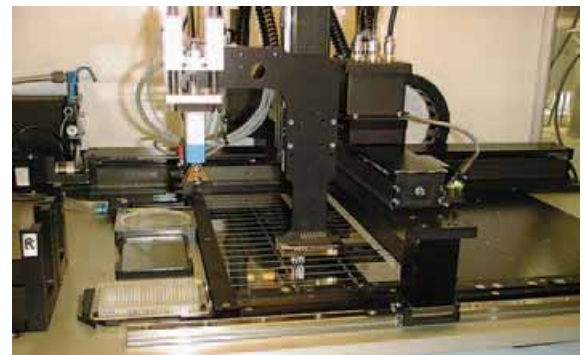
Mit Hilfe der im Rahmen dieser Förderaktivitäten entwickelten Ersatz- und Ergänzungsmethoden konnten in der Vergangenheit wesentliche Beiträge zur Einschränkung von Tierversuchen geleistet werden. So ist im Jahr 2003 die Zahl der Versuchstiere unter den Stand des Jahres 2001 gesunken (siehe auch Seite 4). □

## 1 Chip ersetzt 100 Tiere

Während die Zahl der Versuchstiere allgemein sinkt (s. letzte Seite), steigt der Bedarf speziell an Mäusen in der funktionalen Genomik seit Jahren an. Transgene Tiere spielen eine derzeit noch schwer zu ersetzende Rolle bei der Analyse von spezifischen Genfunktionen.

Die Untersuchungen am lebenden Organismus (*in vivo*) haben jedoch den Nachteil, dass sie eine große Anzahl von Tieren benötigen. Zudem ist der Aufwand bei Erwerb und Haltung von Versuchstieren sowie bei der Projektdurchführung sehr hoch. All dies wirft nicht nur ethische Grundsatzfragen bezüglich der Anzahl der Tierversuche auf, sondern ist auch teuer. Es gibt daher einen deutlichen Bedarf an *in vitro* (= „im Reagenzglas“)-Technologien, die auf Ersatz- und Ergänzungssysteme zum Tierversuch und zu den in der Genforschung etablierten knockout und transgenen Mausmodellen abzielen.

In einem vom BMBF geförderten Projekt arbeitet eine Gruppe um Dr. Michal Janitz am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin an der Entwicklung einer solchen *in vitro* Methodik zur Transfektion, d.h. zum Einschleusen fremder Nukleinsäure in Zellen. Mit dem sogenannten Zelltransfektionsarray (Transfected-Cell Array, TCA) wollen die Forscher



Herstellung von DNS Mikroarrays mittels Spotting Roboter

eine Alternative zur Generierung genmanipulierter Tiere für spezielle gentechnische Untersuchungen in primären Säugerzellen etablieren. Das bedeutet, dass die Transfektion ebenso außerhalb des lebenden Organismus erfolgt wie die Auswertung der Ergebnisse.

Bei dem TCA handelt es sich um die Weiterentwicklung und Optimierung der Technik der DNA-Mikroarrays, die bereits die Molekularbiologie revolutioniert hat. Die Transfektion findet weitgehend automatisiert und robotergesteuert auf einem Glas-Chip statt. Dabei können bis zu 8000 Gene auf der Fläche eines Objektträgers untergebracht und gleichzeitig untersucht werden. Die Analysen an nur einem Chip dieser Art erspart künftig den Einsatz von 50 bis zu 100 Versuchstieren.

# Ersatzmethoden für Tierversuche – Förderbeispiele

## Embryo-Toxizität



*Hochempfindlich gegenüber Umwelteinflüssen*

Embryos reagieren besonders empfindlich auf Arznei- oder Pflanzenschutzmittel, Inhaltsstoffe von Kosmetika oder Industriechemikalien. Zur Prüfung der embryotoxischen Eigenschaften solcher Substanzen werden bis heute zeitaufwendige und kostenintensive Tierversuche mit starker Belastung der Versuchstiere durchgeführt.

Eine viel versprechende Alternative zum konventionellen Tierversuch mit Ratten und Mäusen ist der Embryonale Stammzell-Test (EST). Dieser nutzt die Eigenschaft embryonaler Stammzellen der Maus, unter bestimmten Bedingungen *in vitro* unter anderem in kontrahierende Herzmuskelzellen zu differenzieren.

Seit mehr als zehn Jahren entwickelt ein Team unter Leitung von Prof. Horst Spielmann an der Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch (ZEBET) am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin den EST. Im Rahmen einer internationalen Ringstudie des Europäischen Zentrums für Alternativmethoden (ECVAM), bei der insgesamt 20 Chemikalien mit unterschiedlichen embryotoxischen Eigenschaften untersucht wurden, hat der EST sehr erfolgreich abgeschnitten.

Darauf aufbauend wird seit dem Jahr 2000 in einem vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Verbundprojekt mit Arzneimittelfirmen unter Federführung der ZEBET daran gearbeitet, durch Anwendung molekularbiologischer Methoden den EST zu optimieren. Ziel war ferner eine weitgehende automatisierte Auswertung unter Routinebedingungen. Der Test wird inzwischen erfolgreich in der Arzneimittelindustrie eingesetzt. Ein bis 2007 laufendes, ebenfalls BMBF-gefördertes Anschlussprojekt erweitert die Möglichkeiten des EST.

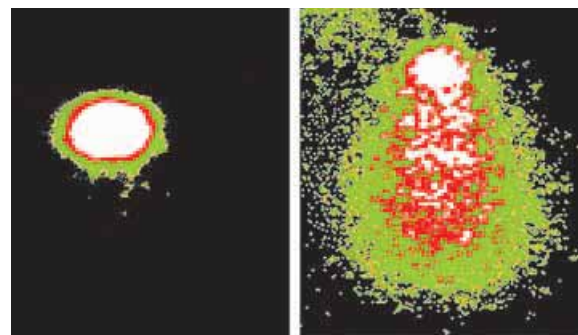
## UV-Test im Reagenzglas

Viele in Kosmetika oder Arzneimitteln enthaltene Substanzen reagieren mit der UV-Strahlung der Sonne. Dies kann mitunter genetische Schäden hervorrufen. Mutierte Zellen können Tumoren bilden, zumeist auf der Haut. Eine Bewertung dieses photokanzerogenen Potenzials von Heil- oder Pflegemitteln ist daher unerlässlich. Gegenwärtig wird die Prüfung meist in einer 1-Jahres-Studie an haarlosen Mäusen durchgeführt, wobei nach wiederholter UV-Bestrahlung und Gabe der Testsubstanz die Ausbildung von Papillomen auf der Haut der Tiere untersucht wird. Bezüglich Interpretation der Befunde und Humanrelevanz des Testmodells bestehen jedoch erhebliche Unsicherheiten.

Eine Alternative zum Tierversuch stellen experimentell bereits gut untersuchte Photogenotoxizitätstests an Säugerzellen dar. Dazu werden moderne molekularbiologische Methoden wie der *in-vitro*-Mikrokerntest und der *in-vitro*-Cometassay eingesetzt.

In einem BMBF-geförderten Projekt wurden die Tests unter den Bedingungen einer breiten Anwendung überprüft. Dazu wurde eine Ringstudie unter Koordination des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM, Bonn) durchgeführt, an der sich sieben Laboratorien aus der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie, der Auftragsforschung, von Universitäten und Behörden beteiligten. Insgesamt wurden bis zum Projektende im Jahr 2004 13 Positiv- und Negativsubstanzen in beiden Testmodellen unter blinden Bedingungen geprüft. Jede Testsubstanz wurde in mindestens vier verschiedenen Laboratorien parallel getestet.

Das Vorhaben soll die Photogenotoxizitäts-Testprotokolle weiterentwickeln, so dass sie den regulatorischen Erfordernissen gerecht werden und in routinemäßigen Sicherheitsprüfungen zum Einsatz kommen können.



*Der 1984 entwickelte Cometassay ist eine elektrophoretische Technologie, die es ermöglicht, DNS-Schäden in einzelnen Zellen zu detektieren. Im Bild rechts führen solche Defekte zu dem ausgeprägten Schweif, daher auch der Name dieser *in-vitro*-Technik.*

# BIOTECHNOLOGIE

## Ersatzmethoden für Tierversuche

Tierversuchsdaten 2003

### Anzahl der Versuchstiere ist gesunken

Im Jahr 2003 ist die Zahl der in Deutschland für wissenschaftliche Zwecke eingesetzten Tiere unter der von 2001 gesunken. War die Zahl von 2001 mit 2.126.561 Tieren auf 2.212.376 im Jahr 2002 gestiegen, wurden 2.112.341 Tiere im Jahr 2003 erfasst. Das bedeutet einen Rückgang von 4,5 Prozent gegenüber dem Vorjahr.

Grundlage der aktuellen Statistik sind die Angaben nach der Versuchstiermeldeverordnung von 1999, nach der nun deutlich mehr Tiere erfasst werden. Ab dem Jahr 2000 werden alle Tiere gezählt, die zu wissenschaftlichen Zwecken verwendet werden. Damit werden nun auch Tiere berücksichtigt, die zu wissenschaftlichen Zwecken getötet, an denen Gewebe oder Organe entnommen, die zur Herstellung, Gewinnung, Aufbewahrung oder Vermehrung von Stoffen, Produkten oder Organismen verwendet werden oder die zur Aus-, Fort- oder Weiterbildung dienen.

Durch die Änderung der Versuchstiermeldeverordnung sind die Gesamtzahlen der Versuchstiere bis 1999 nicht direkt mit denen ab 2000 vergleichbar, da seitdem wesentlich mehr Versuchszwecke und somit auch mehr Tiere erfasst werden.

### KONTAKTADRESSEN

Forschungszentrum Jülich GmbH  
Projekträger Jülich (PtJ)  
52425 Jülich

Dr. Manfred Hansper  
Telefon: 02461-61-5566  
m.hansper@fz-juelich.de

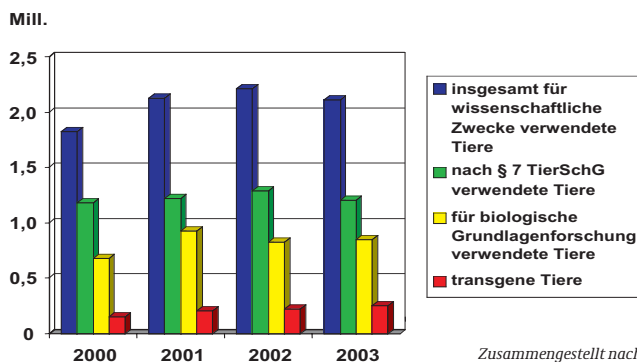
Dr. Jürgen Johnsen  
Telefon: 02461-61-5550  
j.johnsen@fz-juelich.de

Die Fördermaßnahme im Internet:  
[www.fz-juelich.de/ptj/Ersatzmethoden](http://www.fz-juelich.de/ptj/Ersatzmethoden)

Rahmenprogramm des BMBF  
„Biotechnologie – Chancen nutzen  
und gestalten“  
[www.bmbf.de/pub/  
rahmenprogramm\\_biotechnologie.pdf](http://www.bmbf.de/pub/rahmenprogramm_biotechnologie.pdf)



### Versuchstierzahlen 2000 – 2003



Zur Erforschung von Krankheiten wurden über 1,3 Millionen Tiere (62 Prozent) benötigt. Hier sind insbesondere Infektionskrankheiten, Herz- und Kreislauferkrankungen, Krebs sowie Störungen des Nervensystems zu nennen. Auf Grund von gesetzlichen Vorschriften wurden insgesamt 23 Prozent der Tiere eingesetzt. □

(Quelle: Bundesministerium für Verbraucherschutz,  
Ernährung und Landwirtschaft BMVEL)

### I M P R E S S U M

#### Herausgeber:

Forschungszentrum Jülich GmbH  
Projekträger Jülich (PtJ)  
PtJ-Außenstelle Berlin  
Wallstraße 18  
10179 Berlin

Telefon: 0 30/2 01 99-4 31  
Telefax: 0 30/2 01 99-4 70  
E-Mail: [beo11.beo@fz-juelich.de](mailto:beo11.beo@fz-juelich.de)  
Info: <http://www.fz-juelich.de/ptj>

#### Redaktion:

Dr. Michael Ochel (PtJ)

#### Bildquellen:

VIB, PEI, MPI f. Molek. Genetik, JdL, PtJ

#### Lithografie und Druck:

FZ-Jülich / Graphische Betriebe

#### Stand: März 2005

Gedruckt auf Recyclingpapier

Dieses Infoblatt wird kostenlos abgegeben und ist  
nicht zum Verkauf bestimmt.