

# Tierversuchsfreie Forschung/Zellkultur



Von  
**Ruth Goldhammer, Cornelia Fischer  
Brigitte Hardt, Katharina Graen  
Barbara Guja, Anja Hemesath**



---

# Tierschutz - GG

## **Artikel 20a [Schutz der natürlichen Lebensgrundlagen und der Tiere]**

Der Staat schützt auch in Verantwortung für die künftigen Generationen die natürlichen Lebensgrundlagen und die Tiere im Rahmen der verfassungsmäßigen Ordnung durch die Gesetzgebung und nach Maßnahme von Gesetz und Recht durch die vollziehende Gewalt und die Rechtsprechung.

---

# Tierschutz – EU

- Unterschiede zwischen den einzelstaatlichen Rechtsvorschriften zum Schutz der Versuchstiere
- Harmonisierung durch Richtlinie
- Ziel: Gewährleistung des Prinzips der „3 R´s“ in der EU

---

# Tierschutzgesetz

## §7 [Begriffsbestimmungen, Voraussetzungen]

- (1) Tierversuche im Sinne des Gesetzes sind Eingriffe oder Behandlungen zu Versuchszwecken
  - 1. an Tieren, wenn sie mit Schmerzen, Leiden oder Schäden für diese Tiere oder
  - 2. am Erbgut von Tieren, wenn sie mit Schmerzen, Leiden oder Schäden für die erbgutveränderten Tiere oder deren Trägartiere verbunden sein können.

---

# Tierschutzgesetz

(2) Tierversuche dürfen nur durchgeführt werden, soweit sie zu einem der folgenden Zwecke unerlässlich sind:

1. Vorbeugen, Erkennen oder Behandeln von Krankheiten, Leiden, Körperschäden oder körperlichen Beschwerden oder Erkennen oder Beeinflussen physiologischer Zustände oder Funktionen bei Mensch oder Tier,
2. Erkennen von Umweltgefährdungen,
3. Prüfung von Stoffen oder Produkten auf ihre Unbedenklichkeit für die Gesundheit von Mensch oder Tier oder auf ihre Wirksamkeit gegen tierische Schädlinge,
4. Grundlagenforschung.

---

# Tierschutzgesetz

„Bei der Entscheidung, ob Tierversuche unerlässlich sind, ist insbesondere der jeweilige Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse zugrunde zu legen und zu prüfen, ob der verfolgte Zweck nicht durch andere Methoden oder Verfahren erreicht werden kann.“

---

# ZEBET

- **Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch**
  - ist im Rahmen des Vollzuges des Tierschutzgesetzes für die zuständigen Behörden der Bundesländer als Auskunftsstelle für Ersatz- und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen tätig

---

# ZEBET

- Aufgaben

- Dokumentation
- Validierung
- Entwicklung

von Alternativmethoden unter Berücksichtigung des Tierschutzgesetzes, der EU-Richtlinie 86/609/EWG und nach dem Prinzip der „3 R`s“



---

# ZEBET

- Unterstützt durch Kommission aus Vertretern der chem.-pharm. Industrie, Tierschutzorganisationen, Genehmigungsbehörden
- Aufgaben
  - Planung und Durchführung von Ringversuchen
  - Entwicklung und Anwendung allgemeiner Kriterien
  - kritische Bewertung vorgeschriebener Tierversuche

---

# ZEBET

## ■ AnimAlt-ZEBET

- ❑ Datenbank der ZEBET
- ❑ Informationen über Alternativmethoden in deutscher und englischer Sprache
- ❑ Lizenzfrei erreichbar über das Deutsche Institut für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI)

---

# ECVAM

- **European Centre for the Validation of Alternative Methods**
  - in Europa für die Validierung und Entwicklung von Alternativmethoden im Sinne der „3 R`s“ zuständig
  - beraten vom Scientific Advisory Committee (ESAC), zusammengesetzt aus Vertretern der Mitgliedsstaaten der EU



---

# Die 3-R-Regel

- formuliert von Russell und Burch (1959) nach kritischer Durchsicht von Tierversuchsprotokollen
- Leitlinie für Einsatz von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch
- Reduce – Refine - Replace

---

# Reduce

- = Möglichst präzise Informationen hoher Qualität bei **Verwendung der kleinstmöglichen Anzahl von Versuchstieren**
- gute Planung (z.B. vorheriges Festlegen von Dosierung, Signifikanzniveau etc.) und sorgfältige Durchführung
- Versuche am Tier nur, wenn dies unentbehrlich ist

---

# Refine

= Jede Änderung eines Versuches, die dazu führt, dass Tiere während des Versuches **weniger oft u. weniger schwer leiden müssen**

Dazu zählt:

- Verbesserung von Lebenssituation, Haltung, Hygiene
- Analgesie, Anästhesie bei Versuchen
- Nachbetreuung der verwendeten Tiere, schonende Euthanasie

---

# Replace

## = Einsatz von Ersatzmethoden

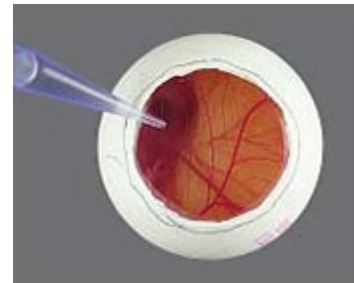
- Absolute Replacement = Verwendung von nicht-empfindsamen Organismen wie Einzeller, Bakterien, Pflanzen
- Relative Replacement = Verwendung tierischer Zellen, die zwar selbst nicht schmerzempfindlich sind, aber einem Tier entnommen werden müssen



---

# Alternativ-Methoden

- **HET-CAM-Test** (tierversuchsfrei!)
  - hens egg test-chorio-allantois membrane



- ersetzt Draize-Test (Tierversuch)



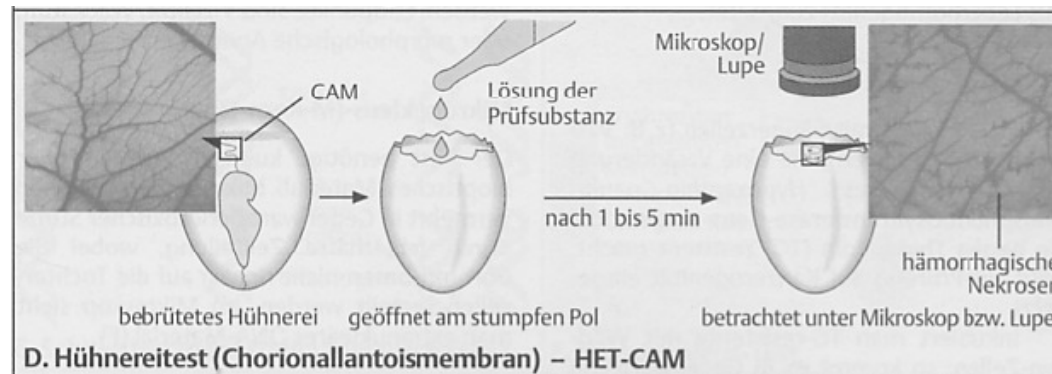
# Draize-Test

- Draize-Test: 1944
  - Versuchstier: Kaninchen
  - Applikationsort: Bindehautsack des Auges
  - Reizwirkung der Substanzen?
  - mögliche Auswirkungen: starke Schmerzen, Reizungen, Bindehaut-/ Augenentzündung, Blutungen, Verätzungen, Erblindung



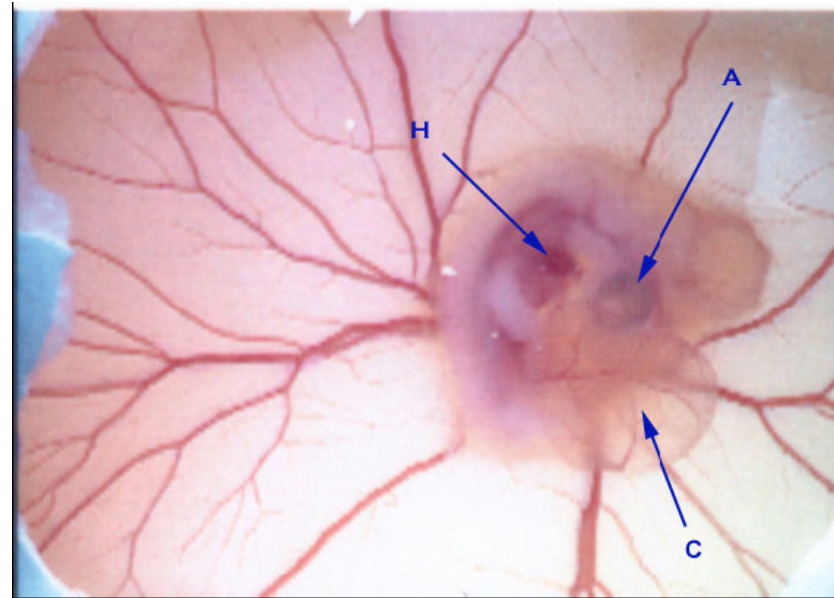
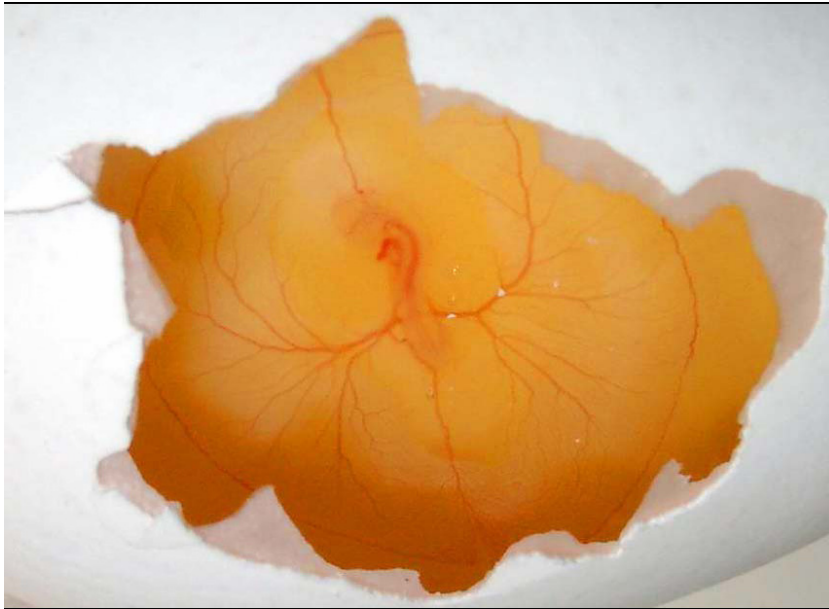
# Testprinzip HET-CAM

- Aufbringen des Stoffes auf die Chorion-Allantois-Membran eines bebrüteten Hühnereis (7-10 Tage alt)

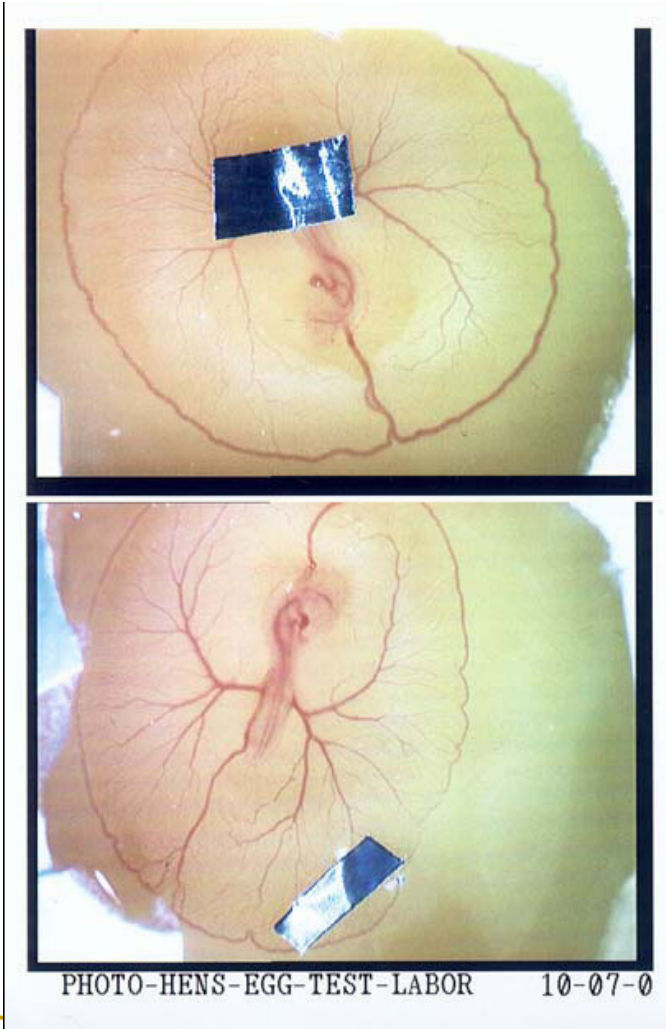


- zeitabhängiges Auftreten verschiedener Reaktionstypen wird erfasst (Videoanalyse)
- zeitliches Auftreten der Reaktionen korreliert mit der Reizstärke
- durch Veränderungen des exponierten Gewebes → Rückschlüsse auf toxikologische Wirkung

# Testprinzip HET-CAM



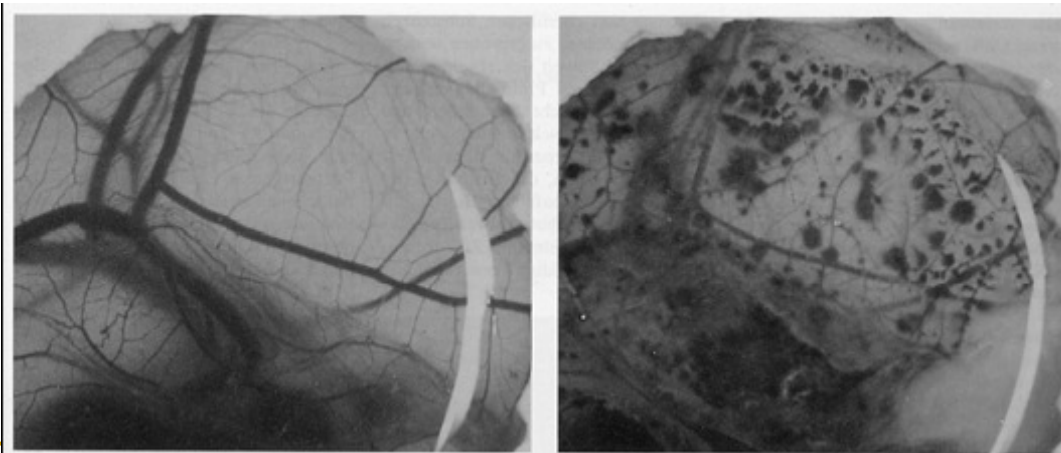
# Testprinzip HET-CAM





# HET-CAM

- mögliche Reaktionen:
  - Trübungen
  - Hämorrhagie
  - Gefäßerweiterungen, -lysis
  - Koagulation



# Alternativ-Methoden

## ■ Tests auf Genotoxizität

### a) Comet-Assay

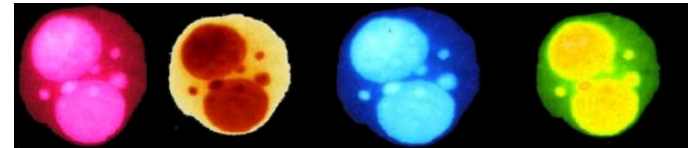
- Zellen in Agarose eingebettet
- Detektion von einzelnen Zellen, die DNA-Schäden aufweisen mit Hilfe von Elektrophorese

### b) Mikro-Kerntest

Wenn Zellkerne bei Zugabe der Testsubstanzen kleine (Mikro-)Kerne abspalten, so ist das ein Hinweis auf krebserzeugende oder erbgutverändernde Wirkung.

→ Je mehr Mikro-Kerne, desto gefährlicher die Substanz.

→ Test bei Mensch und Tier



# Alternativ-Methoden



## ■ Ames-Test

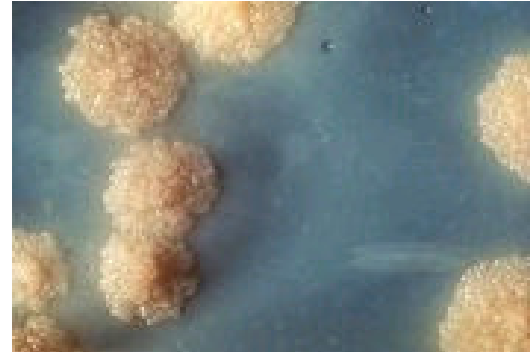
- ersetzt Mutagenitätstest an Mäusen, Ratten und Hamstern
- Hierbei wird eine mögliche erbgutverändernde Wirkung mit Hilfe von Bakterien festgestellt.
- Auch an menschlichen Blutzellen kann die Überprüfung der Testsubstanz erfolgen.
- Bsp.: Mangelmutant *Salmonella typhimurium*



---

# Alternativ-Methoden

- **Tuberkulose-Diagnostik**  
an Bakterien anstatt  
an Meerschweinchen



- Der Nachweis kann durch Vermehrung der Tuberkulosebakterien in einer Kultur erfolgen.
- heute routinemäßige Durchführung

Dadurch wird positiven Tieren ein qualvolles Sterben erspart.

---

# Alternativ-Methoden

- **Hautabsorptionstest**

an künstlicher oder aus OP stammender menschlicher Haut anstatt an Ratten

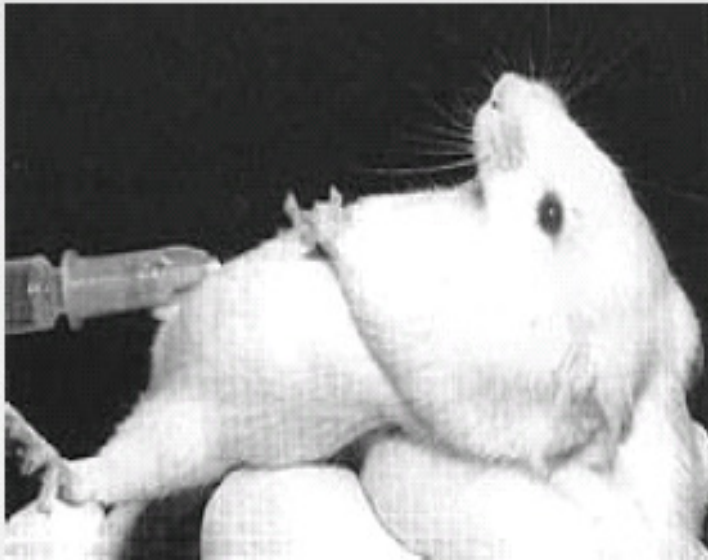
Um zu überprüfen, in welchem Maß eine Substanz von der Haut aufgenommen, also absorbiert wird.

# Alternativ-Methoden

Aszites-Maus



Tecno-Mouse  
(Alternative)



---

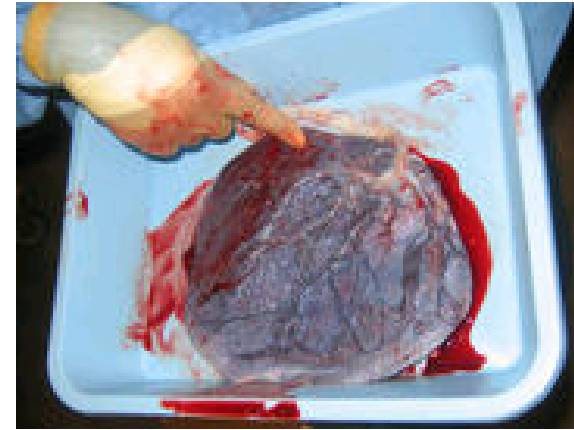
# Alternativ-Methoden

## ■ Bioreaktor (Tecno-Mouse)

- ersetzt Produktion monoklonaler Antikörper in lebenden Mäusen (Ascites-Maus)
- In zwei Kammern werden hier monoklonale Antikörper produziert.
- Eine Membran zwischen den Kammern lässt in die eine Richtung die Nährflüssigkeit für alle Zellen durch, in die andere Kammer werden schädliche Ausscheidungen abgeleitet.

# Alternativ-Methoden

## ■ Plazenta (Nachgeburt)



- Sie ist ein vielseitig anwendbares Modell zur Testung von Zellschädigungen durch Giftsubstanzen sowie zur Filtration von Nährstoffen.
- Auch eignet sie sich wegen ihrer feinsten Blutgefäße zur Übung von Nähten in der Mikrochirurgie.

---

# Alternativ-Methoden

## ■ Limulus-Test

Der Limulus ist ein Pfeilschwanzkrebs, dessen Lymphe bei Gifteinwirkung geliert.

→ Nach schmerzfreier Entnahme wird das Tier unversehrt freigelassen.



---

# Alternativ-Methoden

## ■ Episkin

- In einem dreidimensionalen Hautmodell werden Substanzen auf menschlichen Hautzellen (Keratinozyten) auf Hautreizungen getestet.

→ Bisher wurden diese Stoffe auf rasierte Kaninchenhaut aufgetragen und die Hautschädigung protokolliert.



---

# Alternativ-Methoden

- **Pyrogentest am Kaninchen**





---

# Alternativ-Methoden

## ■ **Pyrogentest (alternativ)**

- eine kleine Menge menschliches Blut wird im Reagenzglas mit der Prüfungssubstanz zusammen gegeben
- es wird der Botenstoff des Organismus, der eine Fieberreaktion auslösen würde, genau gemessen
- so lassen sich bakterienverunreinigte Medikamentenbestandteile auffindig machen, die hohes Fieber und tödliche Schocks auslösen
- Früher wurden diese Substanzen Kaninchen gespritzt und deren Körpertemperatur gemessen.

---

# Alternativ-Methoden

## ■ Test auf Embryotoxizität

- EST = Embryonaler Stammzellentest
- Stammzellen der Maus werden mit der Substanz versetzt
- Nach 10 Tagen Zählung der kontrahierenden Myokarde
- Je weniger, desto toxischer die Substanz.

Es kann nur auf embryotoxische Substanzen getestet werden.

---

# Alternativ-Methoden

- **DSS = Decision Support System**
  - ein computergestütztes System
  - hilft halbstrukturierte Probleme zu lösen
  - Zugang und Nutzung von Daten und analytischen Modellen

---

## Tierversuchs- Gegner

- **Erkenntnisgewinn**
  - Tierversuche täuschen Arzneimittelsicherheit vor, die nicht gegeben ist
    - Contergan-Skandal hätte verhindert werden können

## Tierversuchs- Befürworter

- **Erkenntnisgewinn**
  - Entdeckung des Insulins
  - Entwicklung von Impfstoffen
  - Techniken der Chirurgie

---

# Tierversuchs- Gegner

- **Übertragbarkeit**
  - Vielfältige Unterschiede zwischen Mensch und Tier
  - Unterschiedliche Reaktion auf Chemikalien und Medikamente (Asbest, Saccharin)
  - Keine notwendige Zuverlässigkeit

# Tierversuchs- Befürworter

- **Übertragbarkeit**
  - große Ähnlichkeit zwischen Mensch und Tier
  - Nur am lebenden Tier Nachvollziehbarkeit komplexer Zusammenhänge unterschiedlicher Organe

---

# Tierversuchs- Gegner

## ■ Aussagekraft

- ❑ Tierversuche sind nicht aussagekräftiger als Zellkultur-Methoden
- ❑ aussagekräftigere Ergebnisse durch Tierversuchsfreie Methoden kombiniert mit Computerprogrammen
- ❑ keine Beachtung von Lebensgewohnheiten, Umwelteinflüssen, sozialen Faktoren und Stress

# Tierversuchs - Befürworter

## ■ Aussagekraft

- ❑ Intakter Organismus kann nicht ersetzt werden

---

# Tierversuchs- Gegner

## ■ Ethik

- Tiere empfinden Freude, Angst, Schmerz und Qualen
- Tiere werden in Tierversuchen zu Messinstrumenten degradiert
- Umstellung auf Tierversuchsfreie Forschung nicht konsequent

# Tierversuchs - Befürworter

## ■ Ethik

- Sicherung durch Genehmigungsverfahren
- Abwägung der Belastung des Tieres gegen wissenschaftlichen Nutzen
- Vermeidung unnötiger Belastungen durch verbesserte Methoden, auch notwendig zur Erzielung aussagekräftiger Werte

---

Ende!

