



Ersatz für Tierversuche – nicht nur zum Tierschutz

Neue intelligentere Prüfverfahren reduzieren den Verbrauch und das Leid von Versuchstieren. Dadurch werden die Sicherheitstests sogar zuverlässiger.



Von Alan M. Goldberg
und Thomas Hartung

Ein übermannsgroßes Plüschkarnickel blieb dem damaligen US-Vizepräsidenten und späteren Präsidentschaftskandidaten Al Gore bei Wahlkampagnen im Jahr 1999 monatelang auf den Fersen. Es verfolgte den amerikanischen Politiker, weil er ein neues Programm für Sicherheitstests von chemischen Stoffen in die Wege geleitet hatte – was Leid und vielfach Tod für fast eine Million Versuchstiere bedeutet. Trotzdem hielten breite Kreise das neue Regelwerk für längst überfällig.

Zwei Jahre zuvor hatte eine amerikanische Umweltvereinigung darauf aufmerksam gemacht, dass von den meisten in den USA gemeinhin verwendeten Chemikalien keine ausreichenden Daten über ihr Gefahrenpotenzial für Gesundheit und Umwelt existierten. Nur zu vielleicht jedem vierten der etwa hunderttausend gebräuchlichen Stoffe lag eine hinreichende Risikobewertung vor. Dem Aufruf schlossen sich sowohl die US-Umweltbehörde »Epa« als auch der Vorläufer des heutigen amerikanischen Chemieindustrieverbands an. Gore war es dann gelungen, Umweltaktivisten, Behörden und Industrie zusammenzubringen und jenes Programm ins Leben zu rufen: Für die 2800 Chemikalien, von denen die USA jährlich über umgerechnet rund 450 Tonnen produziert oder importiert, sollten Mindestsicherheitsprüfungen erfolgen.

Nun aber legte das Plüschkarnickel den Finger in eine offene Wunde. Ohnehin lassen bei vorgeschriebenen toxikologischen Tests schon viele Millionen Labortiere pro Jahr ihr Leben. Wegen des neuen Programms würde der Tierversuch nochmals drastisch ansteigen.

Diesseits des Atlantiks ist die Lage nicht weniger umkämpft. Auch in Europa verbrauchen zwingende Toxizitätstests jährlich Millionen an Versuchstieren, wogegen Tierschutzverbände seit Jahren agieren. Obendrein verabschiedete nun die Europäische Union Ende 2006 ein neues Chemikalienrecht, das ab Mitte 2007 umgesetzt werden soll. Bekannt ist es unter der Abkürzung »Reach« (für: Registrierung, Evaluierung und Autorisierung von Chemikalien). Neue Chemieprodukte, vor allem aber erstmals zigtausende Altstoffe sollen auf ihr Gefahrenpotenzial hin geprüft werden. Darunter fallen alle Chemikalien, von denen in den EU-Staaten im Jahr mehr als eine Tonne hergestellt oder gehandelt werden – insgesamt rund 30 000 Stoffe. Der britische Medizinische Forschungsrat veranschlagte für diese Tests in einer Kalkulation von 2001 eine Zeitspanne von 40 Jahren, Kosten von über 8 Milliarden Euro und den Verbrauch von über 13 Millionen Versuchstieren.

Harte Verhandlungen

Der Gesetzeskompromiss Reach gelang erst nach jahrelangem Ringen zwischen den unterschiedlichen Interessenseiten und gilt als eines der größten und schwierigsten Gesetzgebungsverfahren in der EU. Nur mit vielen gegenseitigen Zugeständnissen ließen sich die Anliegen von Verbrauchern und Politik, chemischer Industrie und Umweltschutz, Medizin und Tierschutz vereinbaren.

Sicherheitstests sind notwendig, das ist unstrittig. Aber sind wir dafür wirklich auf dermaßen viele Tierversuche angewiesen? Eine kleine Fraktion von Wissenschaftlern auf der ganzen Welt, darunter auch wir beide, bemüht sich seit Jahrzehnten um humanere Verfahren. Manche dieser Experten arbeiten in der Industrie, andere in öffentlichen For-

schungseinrichtungen, einige auch in der Politik. Von den neuen EU-Richtlinien wie auch vom neuen US-Programm fühlen wir uns erst recht gefordert. So brachte einer von uns (Goldberg) auf eine Anfrage des eingangs erwähnten Umweltverbands hin Forscher mehrerer amerikanischer Universitäten zusammen, die sich damit befassen, wie man bei den geforderten Chemikalienprüfungen mit weniger Tieren auskäme.

In Deutschland gibt es am Bundesinstitut für Risikobewertung seit 1989 die »Zentralstelle zur Erfassung und Bewertung von Ersatz- und Ergänzungsmethoden zum Tierversuch (Zebet)«. Unter anderem erstellt Zebet eine Datenbank zu Alternativmethoden für gesetzlich vorgeschriebene Tierversuche. Die deutsche Zentralstelle entwickelt und prüft solche Verfahren auch selbst beziehungsweise gibt so genannte Validierungen (Prüfungen und Bewertungen) in Auftrag – zum Ziel, Tierversuchsalternativen national und international anzuerkennen und durchzusetzen.

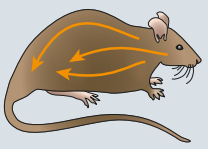
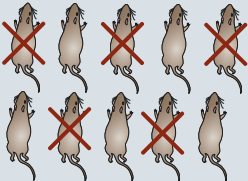
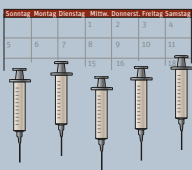
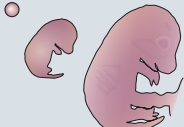
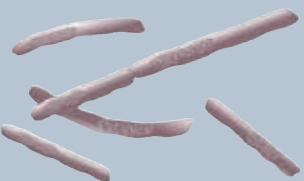
Für die Europäische Union wurde 1993 in Ispra (Italien) das »Europäische Zentrum zur Validierung von Alternativmethoden (Ecvam)« eingerichtet. Ecvam gehört zu der Gemeinsamen Forschungsstelle der Europäischen Kommission, welche die Politik wissenschaftlich unterstützt. Seit 2002 leitet einer von uns (Hartung) diese Institution. Ecvam ist weltweit das führende Referenzzentrum dieser Art. Es arbeitet mit den diversen nationalen Einrichtungen wie Zebet eng zusammen.

Zu den Hauptaufgaben der erwähnten Einrichtungen zählt es, festzustellen, ob Tierversuchsalternativen die Anforderungen der OECD erfüllen. Der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung gehören 30 Industrienationen an, darunter auch Deutschland und die USA. Die OECD versucht, unter anderem Testmethoden zwischen den Mitgliedsstaaten zu vereinheitlichen. Die genannten Validierungszentren erarbeiten, welche Testdaten man jeweils dazu braucht, um über das Gefahrenpotenzial einer chemischen Substanz verlässliche Aussagen zu erzielen. Nach den derzeitigen amerikanischen Vorschriften unter Verwendung von OECD-Methoden benötigt man pro Chemikalie 430 Versuchstiere. Allerdings hat sie einzelne innovative, im Tierversuch sparsamere Prüfschemata bereits anerkannt. ▷

In Kürze

- Für **vorgeschriebene Sicherheitsprüfungen** an Medizinprodukten und Chemikalien werden jedes Jahr Millionen von Versuchstieren benötigt.
- Mit **alternativen Methoden** sowie **verbesserten Versuchsprotokollen** sinkt zum einen der Tierversuch, zum anderen leiden Versuchstiere weniger. Zu den wichtigsten Neuerungen gehören: eine optimierte statistische Auswertung; Beobachtung der Tiere mit nichtinvasiver Bildgebung; Tests an Zell- und Gewebekulturen.
- Die neuen Ansätze sparen Geld und Zeit. In ihrer toxikologischen Aussage sind sie obendrein **zuverlässiger als die herkömmlichen Verfahren**.

TESTBATTERIE FÜR TOXIZITÄTSTESTS

	herkömmliche Prüfverfahren	Alternativmethoden
	Toxikokinetik erfasst Aufnahme, Verteilung, Verstoffwechselung und Ausscheidung von Stoffen im Körper; Substanz wird verfüttert; Blut, Urin und Kot werden in Abständen untersucht; Tiere werden dann getötet, um alle Stoffreste und Stoffwechselprodukte in Organen zu bestimmen	Industrie verwendet zum Teil Zellkulturen und Simulationen (In-vitro- beziehungsweise In-Silico-Methoden); ein In-vitro-Ansatz für die Hautabsorption von der OECD zugelassen
	lokale (topische) Wirkung – Auftrag auf Haut, Hornhaut beziehungsweise Augenschleimhaut, seltener Schleimhaut von Mund oder Vagina; Prüfung auf Rötung, Blasenbildung, Verätzung und anderes	von der OECD genehmigte Alternativtests auf Verätzung, Phototoxizität und Allergenpotenzial; Ecvam prüft Ersatzmethoden zu Haut- und Augenreiztests, Allergiereaktionen und Photogenotoxizität (Erbgutschäden durch die Substanz bei Lichteinwirkung)
	akute systemische Toxizität (Wirkung auf Organe) – Stoff wird binnen 24 Stunden einmal oder mehrfach geschluckt, Folgen werden 14 Tage lang erfasst; hierunter fällt der klassische LD ₅₀ -Test, der die Dosis ermittelt, bei der die Hälfte der Tiere stirbt: früher 140 Tiere in 6 bis 7 Versuchsgruppen	Ein von der OECD akzeptiertes alternatives Testschema benötigt durchschnittlich 16 Tiere. Ecvam arbeitet an einem Verfahren ohne Tierversuche. Gemeinsam prüfen Ecvam und Iccvam einen In-vitro-Ansatz zur Ermittlung einer Anfangsdosis für LD ₅₀ -Tests, wodurch nur noch 6 Tiere benötigt würden
	chronische Toxizität/wiederholter Kontakt – zahlreiche Prüfverfahren testen an Tieren, ob Organfunktionen bei chronischer Belastung ausfallen	noch keine offiziell validierten Verfahren; im Einsatz unter anderem Messungen bestimmter Zellfunktionen, von Genaktivitäten mit Chips, nichtinvasive Kontrollstudien an Tieren beispielsweise mit moderner Bildgebung (wie MRI, Pet, Biophotonik)
	Embryonalentwicklung / Fortpflanzung – Wirkung auf Eizellen, Spermien, Fruchtbarkeit, Feten, Jungtiere; Effekte in oder nach der Pubertät des Nachwuchses	Industrie verwendet nichtinvasive Prüfverfahren am lebenden Tier; auch mehrere In-vitro-Methoden; drei Toxizitätstests am Embryo von Ecvam positiv bewertet; andere Tests stehen kurz davor
	Krebspotenzial (Kanzerogenität)/Erbgutschäden (Mutagenität) – zur Abschätzung des Tumorpotenzials möglichst lebenslange Exposition; wegen der Kosten sind solche Langzeitversuche eher selten	häufig angewandte Alternativen: In-vitro-Verfahren – darunter der Ames-Test an Bakterien; Ecvam lässt derzeit mehrere der Alternativen prüfen
	Ökotoxikologie – Wirkung auf die Umwelt; ein junges Forschungsfeld; testete von Anbeginn »einfachere« Organismen, wie Fische, Algen, Wasserflöhe	ein Abwassertest mit Fischeiern in Deutschland und Schweden zugelassen; ein von Ecvam validiertes Verfahren senkt den Fischverbrauch um 60 Prozent
	biogene medizinische Produkte – Qualitätsprüfung von Impfstoffen und anderen Bioprodukten für medizinische Zwecke; Tests auf Fieber auslösende bakterielle Verunreinigungen (Pyrogene); in der Regel wird eine Anzahl Tiere mit dem Impf- oder Wirkstoff behandelt und der Krankheit ausgesetzt; eine Kontrollgruppe wird mit der Krankheit konfrontiert, bleibt aber unbehandelt oder ist nicht geimpft	ein Bluttest (der Lal-Test) zum Pyrogennachweis im Einsatz; neue Prüfverfahren für Zytokine validiert; von Ecvam geprüfte statistische Verfahren kommen mit weniger Tieren aus; verfeinerte Impfstofftests mindern Leiden

OECD: Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
 Ecvam: Europäisches Zentrum für die Validierung von Alternativmethoden
 Iccvam: US-Gremium für die Validierung von Alternativmethoden

▷ So konnten wir zeigen, dass man pro Chemikalie auch mit 86 Versuchstieren auskommt, einem Fünftel – ohne Informationsverlust und ohne die Vorgaben zu verletzen. Hingegen benötigen besonders gefährliche Chemikalien und solche, die in sehr großen Mengen produziert werden, noch immer oft fünf- bis zwölftausend Tiere.

Wer Alternativen zu Tierversuchen erforscht, sah sich bisher gleich von mehreren Seiten angegriffen. Radikale Tierschützer bezeichneten dergleichen gern als Feigenblatt, um den Tiereinsatz letztlich doch zu rechtfertigen. Viele Wissenschaftler wiederum verspotteten den Ansatz als Gefühlsduselei. Doch inzwischen haben wir uns auf dem schmalen Grat festgesetzt, an dem sich diese beiden Interessengruppen berühren. Tatsächlich hat sich dank dieser Forschungen bei den Sicherheitsprüfungen von chemischen und biologischen Produkten bereits viel getan.

Hierzu muss man wissen, dass die Bestimmungen für Unbedenklichkeitsprüfungen in den einzelnen Ländern durchaus voneinander abweichen. Man nehme nur Kosmetika. In der Europäischen Union darf seit 2003 kein Kosmetikprodukt mehr verkauft werden, das als Endprodukt im Tierversuch getestet wurde, und dasselbe gilt für die Inhaltsstoffe – sofern es Alternativtests gibt. Bis 2009 sollen Tiertests von verwendeten Inhaltsstoffen völlig untersagt sein. In den USA sind die Bestimmungen für Kosmetika lascher. Ergebnisse von Sicherheitstests müssen nur

auf Verlangen nach der Markteinführung vorgelegt werden. Falls vom Verbraucher Beschwerden kommen, gibt es allerdings mittlerweile Richtlinien. Insbesondere müssen dann Ergebnisse des umstrittenen Draize-Tests vorgelegt werden, dem Augentest an Albino-Kaninchen, wobei die Substanz den Tieren ins Auge getropft oder geschmiert wird.

Zähe Anpassung von Behörden

Genau festgelegt sind hingegen in Europa und in den USA Sicherheitstests von Agrochemikalien. Die Prüfung eines Pestizids etwa dauert mindestens zwei Jahre und erfordert annähernd 10 000 Tiere mehrerer Arten. Zuerst wird festgestellt, ob die betreffende Substanz über die Haut aufgenommen wird, ob sie eingeatmet werden kann, und auch, ob auf den Pflanzen Reste verbleiben, die Menschen unter Umständen schlucken würden. Für jeden dieser Fälle ist dann Verschiedenes zu klären, zum Beispiel die mögliche Expositionsdauer von Personen oder die im ungünstigen Fall aufgenommene Menge. Man muss auch wissen, wie sich die Substanz im Körper verteilt. All dies muss für Menschen verschiedener Altersklassen, auch für ungeborene Kinder, ermittelt werden.

Die anschließend erforderlichen Toxizitätstests zur Wirkung einer Chemikalie auf Lebewesen sind noch am wenigsten aufwändig, wenn die Substanz nicht ins Blut gelangt. Dann sind »nur« Haut- und Augentests nötig. Andernfalls gilt es, mögliche Auswirkungen auf die einzel-

nen Organe zu untersuchen – einschließlich des Effekts von Reaktionsprodukten der Chemikalien, die erst im Körper entstehen. Das Standardverfahren bedeutet, dass Ratten, Mäuse, Hunde oder andere Säugetiere die Substanz in bestimmten Dosierungen verabreicht bekommen, zum Teil ihr Leben lang. Die Forscher fahnden dabei nach Organerkrankungen, Krebs und dergleichen. Sie beobachten außerdem Nachkommen dieser Tiere über deren volle Lebensspanne. Je nachdem kommen auf allen Stufen noch spezifischere Tests hinzu.

So brutal, wie dies klingt, scheint das Prozedere aber in der Praxis meist nicht abzulaufen. Vertreter von neun multinationalen Konzernen äußerten Goldberg gegenüber, ihre Firmen würden neu entwickelte chemische Produkte nicht gleich an Säugetieren, sondern zuerst möglichst an Zellkulturen oder an Würmern oder Fischen prüfen. Erst wenn das gut geht, würden sie noch die vorgeschriebenen Säugetierversuche durchführen – vor allem, um sich rechtlich abzusichern.

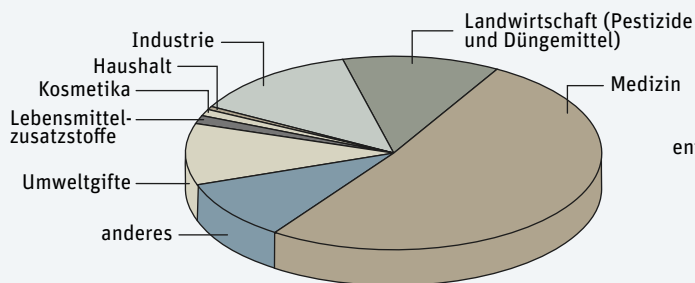
Die Tabelle S. 63 listet die im Regelfall für Arzneimittel und andere Chemikalien verlangte Testbatterie auf. In der Tat fordern die Ämter heute noch meistens die traditionellen Tierversuche. Zum einen halten Firmen manche der besten alternativen Prüfmethode geheim. Zum anderen vertrauen die Behörden mehr auf Tierversuchsergebnisse alter Manier, haben diese die Menschen doch bisher offenbar ganz gut vor Schaden bewahrt.

VERSUCHSTIERVERBRAUCH IN DER EU IM JAHR 2002

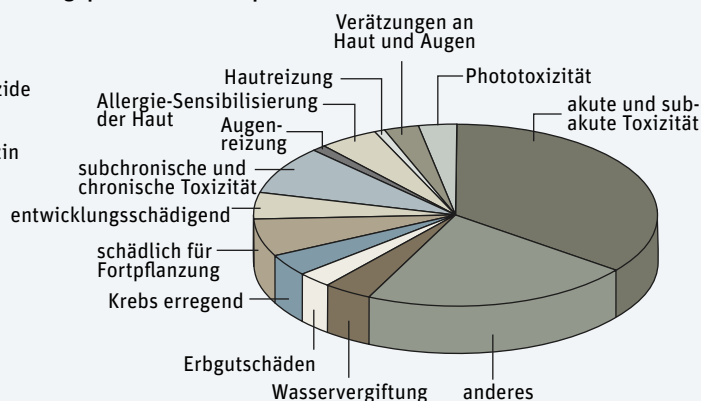
Die Länder der Europäischen Union setzten im Jahr 2002 10,7 Millionen Tiere für Sicherheitsprüfungen ein. Die meisten Tests galten medizinischen Produkten (vor allem der Qualitätskontrolle von

Impfstoffen, Medikamenten et cetera) beziehungsweise waren Toxizitätsprüfungen, die eine Palette hochspezifischer Prüfverfahren erfordern.

Verwendungsgebiet der Produkte



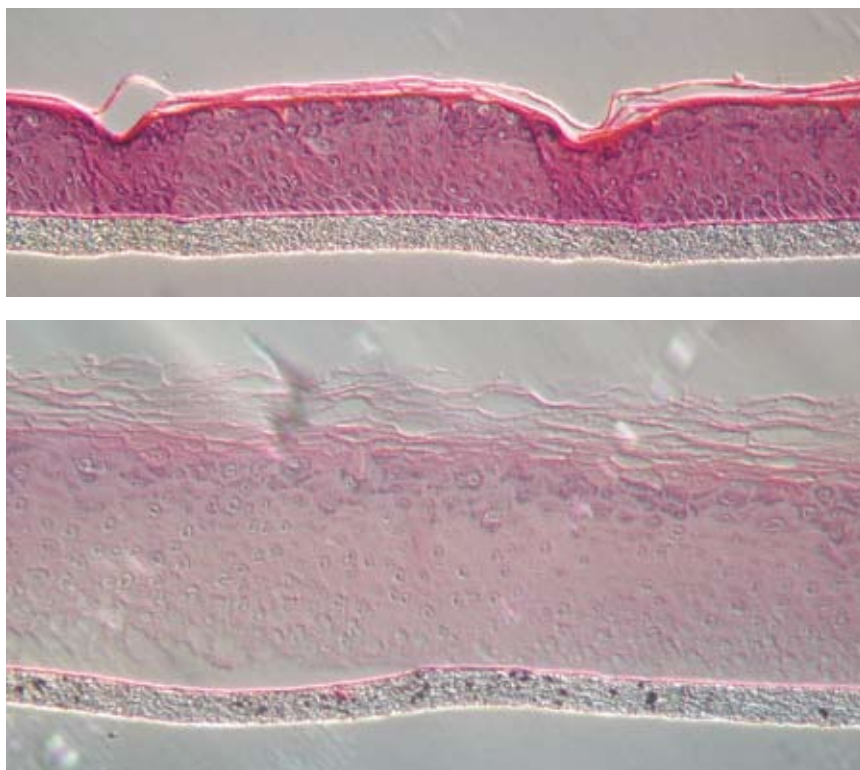
geprüftes Gefahrenpotenzial



Erst in letzter Zeit begegnen Ämter alternativen Sicherheitstests offener. Das Konzept, auf das sich unsere Forschungsrichtungen stützen, geht auf das Jahr 1959 zurück. William Russel und Rex Burch, Mitglieder einer universitären Vereinigung britischer Tierschutzorganisationen (Ufaw genannt), formulierten damals das Ziel der »drei R«: »replace – reduce – refine«. Anzustreben sei, Tierversuche zu ersetzen (*replace*), den Tierverbrauch zu verringern (*reduce*) und das Leiden zu vermindern (*refine*). Heute sprechen Experten oft auch von »replacement – reduction – refinement«. Daran halten wir uns noch heute, wenn auch bei den heutigen Alternativmethoden die Grenzen zwischen den drei Zielen oft verwischt sind.

Zunächst zum zweiten Ziel (*reduction*): Die Zahl der verwendeten Tiere lässt sich mit neueren Prüfschemata tatsächlich oft stark reduzieren. Man muss die Tests von vornherein so konzipieren, dass sie mit der geringstmöglichen Anzahl an Tieren trotzdem alle nötige Information liefern. Zum Beispiel erfassen Tests auf akute systemische Toxizität eines Stoffs (akute Giftigkeit für den Organismus) die gesundheitlichen Folgen im Verlauf von zwei Wochen, nachdem das Tier die Substanz einmal oder mehrfach binnen 24 Stunden erhalten hatte. Am gebräuchlichsten ist der LD₅₀-Test (letale Dosis 50 Prozent). Er ermittelt, welche Substanzmenge bei 50 Prozent der Tiere tödlich (letal) wirkt. Früher testete man sechs oder sieben verschiedene Dosierungen jeweils an zehn Männchen und zehn Weibchen, insgesamt rund 150 Tiere pro Substanz. Mit der Zeit erkannten die Forscher, dass diese Tierzahl völlig überzogen war, im wahrsten Sinn des Wortes ein Overkill. Seit 1989 werden die Daten mit einem Prüfschema gewonnen, bei dem 45 Tiere genügen. Seit 2001 akzeptiert die OECD nur noch ein alternatives Testschema, das mit durchschnittlich 16 Tieren auskommt. Und diese Entwicklung geht weiter: Eine kürzlich abgeschlossene Studie in Europa und den USA verspricht, bald pro Prüfschubstanz nur noch durchschnittlich sechs Versuchstiere zu benötigen.

Ein anderes gutes Beispiel, wie sich der Tierversuch deutlich senken lässt, stellen die modernen nichtinvasiven Bildgebungsverfahren dar, die den Körper »durchleuchten«: Röntgenaufnahmen und vor allem die verschiedenen



Arten von Tomografien, die viele innere Feinheiten aufzeigen. Früher wurden im Verlauf einer Studie in bestimmten Abständen einige Tiere getötet und dann auf Organschäden, etwa Leberdefekte, hin untersucht. Heute kann man Organveränderungen eingriffsfrei am selben Tier verfolgen. Zum einen ist diese Art der Datenerhebung präziser. Zum anderen sinkt der Tierversuch um bis zu 80 Prozent.

Fortschrittliche Impfstofftests verkürzen das Leiden

Eine Methode der Zukunft dürfte die moderne Biophotonik sein, wobei man aus Lichtinformation Schlüsse zieht (siehe Bild S. 66 oben). Das Ehepaar Christopher H. und Pamela R. Contag von der Stanford-Universität (Kalifornien) entwickelte Tests, die nicht nur Tiere einsparen helfen, sondern auch erlauben, deren Leid frühzeitig zu beenden. Möchten Forscher etwa beobachten, wie sich ein Krebs im Organismus ausbreitet, versehen sie die Krebszellen vor der experimentellen Einpflanzung in das Tier mit einem Gen für einen Leuchtstoff. Die Krebszellen bilden dann zum Beispiel Luciferase, ein in der Tierwelt häufiges Leuchtzym. Spezielle Lichtdetektoren erfassen nun das Krebswachstum lange bevor Tumoren ertastet werden können. Mit diesem Ansatz lässt sich auch beob-

▲ Synthetische Haut kann die rasierte Rückenhaut lebender Kaninchen ersetzen. Das obere abgebildete Präparat lag drei Minuten in Wasser, das untere war ebenso lange einer Lauge ausgesetzt. Der Schaden durch die Lauge ist deutlich zu sehen.

achten, ob und wie stark bestimmte Krebsmittel wirken. Die Biophotonik eignet sich ebenfalls zum Studium von Frühstadien vieler anderer Krankheiten und deren Behandlung. Die Tiere werden so weniger gequält und erleiden weniger Stress.

Zur Leidensminderung (*refinement*) bei qualvollen Versuchen trägt bei, Krankheitszustände – sprich eindeutige Symptome – festzulegen, bei denen ein Versuch vorzeitig beendet werden darf. Einen möglichst frühen Zeitpunkt zu definieren, ab dem man das Tier nicht länger leiden lässt, ist vor allem für Impfstofftests ein Fortschritt. Es gibt etwa Erfahrungswerte, ab wann sich Tiere bei stark abgesunkener Körpertemperatur nicht wieder erholen und nur noch dahinsiechen würden. Oder bei Tollwutimpfstoffen: Falls ein geimpftes Tier nach der experimentellen Infektion mit dem Tollwutvirus anfängt, sich im Kreis zu drehen, ist dies ein klares Anzeichen dafür, dass die Impfung versagt hat. Das Tier kann man sofort möglichst schmerz-

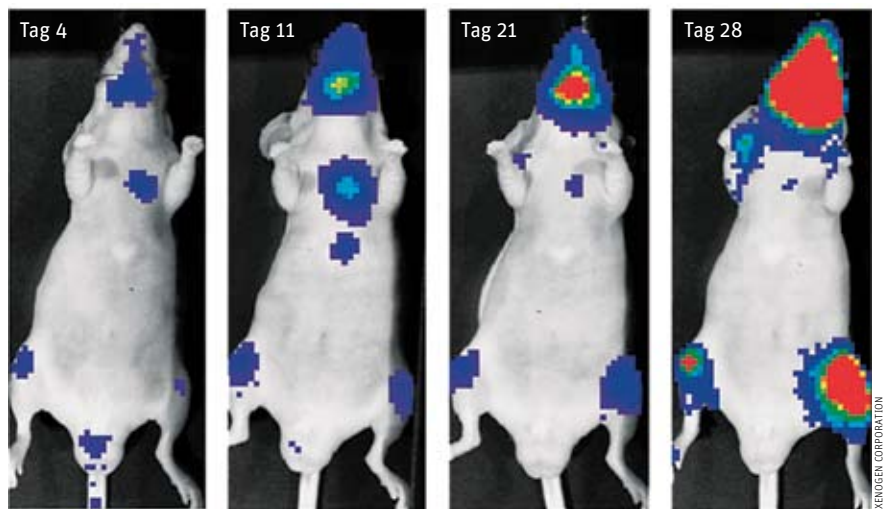
▷ frei töten und ihm damit den stundenlangen Todeskampf ersparen.

Ob ein Impfstoff wirkt, lässt sich heute mit immunologischen Tests sogar noch rascher erkennen. Statt nach der Infektion auf sichtliche Krankheitssymptome zu warten, ermittelt man nur die Antikörpertiter nach der Impfung. Nicht zuletzt können auch Schmerz- und Betäubungsmittel dazu beitragen, Qualen im Versuch zu mildern.

Unter den Ansätzen, das Leiden von Tieren herabzusetzen, bilden Tests an niederen Wirbeltieren und Wirbellosen eine eigene Kategorie. Denn es gibt Gründe anzunehmen, dass solche Tierarten Schmerz und Stress generell weniger erleben. Der Zebrafisch und ein Fadenwurm gehören heute zu den bevorzugten Organismen, etwa um den Einfluss von Chemikalien auf die Entwicklung des Zentralnervensystems zu untersuchen. Mehr noch: Von beiden Tieren kennen Forscher die Funktion aller unverzichtbaren Gene. Sie wissen, was deren Proteine in der Zelle tun. Unter Umständen genügt es, im Reagenzglas mit Genchips herauszufinden, ob sich eine Substanz auf Genaktivitäten auswirkt, ob dadurch etwa Gene an- oder abgeschaltet werden. Solch ein Chip kann zum Beispiel die 9000 lebenswichtigen Gene des Zebrafischs tragen.

Einige Firmen stellen entsprechende Chips mit menschlichen Erbsequenzen her. Sie bestücken sie unter anderem mit jenen Genen, die vermutlich die Zellreaktion auf Giftstoffe kontrollieren. Noch ist es alles andere als einfach, die von solchen Genchips gelieferten Daten zu interpretieren. Doch in der Zukunft dürfte diese Technologie unser ambitioniertestes Ziel unterstützen: nämlich auf Tierversuche verzichten zu können.

Die meisten Erfolge in diesem Bereich verdanken wir weniger dem Verlangen nach einem menschlicheren Um-



▲ Hier wird fortschreitender Krebs mittels Biophotonik an leuchtenden Geweben sichtbar, bevor das Tier solide, erfühlbare Tumoren entwickelt. Das Leiden lässt sich dadurch schneller beenden.

gang mit Tieren als vielmehr dem rasanten Fortschritt unserer Gesellschaft bei billigen, schnellen und leistungsstarken Technologien. Beispielsweise erforderten Hormontests, etwa Schwangerschaftstests, früher meist langwierige Prüfungen an lebenden Tieren. Heute gibt es dafür Ersatzmethoden.

Ein anderes, besonders spektakuläres Beispiel sind die Fortschritte bei den Sicherheitstests von allen Substanzen, die für Injektionen verwendet werden. Solche Präparate können, trotz aller Vorsicht bei der Herstellung, hitzestabile lebensgefährliche Verunreinigungen etwa bakterieller Herkunft enthalten. Jede einzelne Charge solcher Medikamente und Impfstoffe muss darum zwingend auf Fieber auslösende Stoffe – so genannte Pyrogene – geprüft werden. Früher injizierte man die Prüfsubstanzen jeweils Kaninchen und maß Stunden später deren Körpertemperatur.

Bluttest statt Tierversuch

In den 1970er Jahren fand Henry Wagner von der Johns-Hopkins-Universität in Baltimore (Maryland) einen alternativen Pyrogentest. Eigentlich wollte er medizinische Checks mit kurzlebigen Radioisotopen entwickeln. Doch die Isotope zerfielen zu schnell, um die vorgesehenen Substanzen zuvor auf Pyrogene testen zu können. Zufällig forschte ein Kollege derselben Universität, Frederick

Bang, an Pfeilschwanzkrebsen, die an den Atlantikstränden Nordamerikas massenhaft vorkommen. Bang hatte entdeckt, dass deren »Blut« auf viele wichtige bakterielle Toxine vorhersagbar und messbar reagiert. Davon wusste Wagner. Der neue Pyrogentest wurde in den USA und wenig später auch in Europa schnell zugelassen. Nach dem lateinischen Namen dieser urtümlichen, großen Krebse heißt er Limulus- oder Lal-Test.

Aber der Limulus-Test hat seine Grenzen – er spricht zum Beispiel nicht auf alle Pyrogene an –, abgesehen davon, dass er viele Krebse das Leben kostet. Einen Pyrogentest für das Reagenzglas, der zudem wirklich zuverlässig ist, entwickelten Albrecht Wendel von der Universität Konstanz und einer von uns (Hartung) in den 1990er Jahren. Wir konnten zeigen, dass sich bakterielle Toxine auch mit isoliertem menschlichem Blut nachweisen lassen. Denn weiße Blutkörperchen reagieren auf solche Giftstoffe. Entdecken die weißen Blutzellen Pyrogene, schütten sie Zytokine (Signalstoffe) aus, die im Körper Fieber erzeugen würden. Diese Alternativmethode fand großen Anklang und beginnt sich inzwischen als Pyrogentest durchzusetzen.

Ersatzmethoden (*replacement*) für einige andere Verfahren, so für den oft extrem schmerzhaften Draize-Test am Kaninchenauge, verdanken wir insbesondere dem Bestreben, Tierleid zu vermeiden. Beim Draize-Test wird geprüft, ob die



◀ Eine einfache Blutuntersuchung auf Zytokine ersetzt ältere Verfahren, um in medizinischen Präparaten Fieber erzeugende Stoffe – Pyrogene – auszumachen. Die weiße Blutzelle setzt bei Kontakt mit Pyrogene bildenden Bakterien Zytokine frei.

Augenhornhaut oder auch die Schleimhaut durch eine Substanz Schaden nimmt. Vor etwa zehn Jahren begannen einige Forscher, statt lebender Kaninchen Augen von Schlachttieren zu verwenden. In Deutschland wird heute als Alternative oft der Het-Cam-Test angewandt, bei dem die Eihaut der Luftblase angebrüteter Hühnereier für die Prüfung erhalten muss.

Vorteile von Gewebekulturen und Organsystemen

Das Johns-Hopkins-Zentrum für Tierversuchsalternativen, das einer von uns (Goldberg) leitet, finanzierte in den 1980er Jahren Studien zur Eignung von Gewebekulturen menschlicher Hornhautzellen für Sicherheitsprüfungen. Teilweise hierauf geht zurück, dass einige Firmen nun Gewebe züchten, die genau der äußeren Schleimhaut des Auges entsprechen. Hiermit lassen sich nicht nur grobe Schäden durch Testsubstanzen erkennen, sondern auch ganz feine Veränderungen, was zurzeit von Ecvam validiert wird.

Verschiedenste menschliche Zelltypen können Wissenschaftler heute züchten. Dazu gehören auch Haut- und Schleimhaut-, Lungen- und Muskelzellen. Oft gelingt es sogar, an speziellen Gerüststrukturen dreidimensionale Gewebe wachsen zu lassen. Zu nennen sind außer der Augenhornhaut Gewebe von Lunge und Verdauungsorganen sowie aus Hautzellen und Zellen der Mund- und Vaginaschleimhaut. Die Industrie verwendet solche Kunstgewebe bereits weithin anstelle von Versuchstieren. Allerdings gibt es noch Lücken: Für Lebergewebe beispielsweise existiert noch kein für die Testpraxis geeigneter Laborsatz.

Zell- und Gewebekulturen bieten den Vorteil, daran die biologischen Reaktionen auf eine Chemikalie einfacher untersuchen zu können als im Tierversuch. Viele der Vorgänge können nun unmittelbar verfolgt werden, sodass Forscher die beobachteten biochemischen Stoffwechselwege im Reagenzglas nachahmen können. Anhand solcher Modelle dürften künftig Vorhersagen über Effekte von Stoffen im Körper möglich werden – bis hin zur Genebene, zum Zellwachstum und dergleichen.

Neu ist zum Beispiel ein System der Firma AP Research aus Baltimore mit verschiedenen Gewebetypen, die gewissermaßen Funktionen und Zusammen-

wirken mehrerer Organe nachahmen. Solche Systeme können aufzeigen, wie Stoffwechselprodukte von Chemikalien auf die Organe wirken würden. Dieser Ansatz könnte Tierversuche sogar auf dem wichtigen Gebiet der Toxikokinetik verzichtbar machen – sozusagen des Wegs von Chemikalien und deren Stoffwechselprodukten durch den Körper.

Ein Traumziel wäre, biologische Modellsysteme durch Computermodelle zu ersetzen oder zumindest zu ergänzen. Die pharmazeutische Industrie beginnt bereits damit, Wirkstoffe mittels Computersimulationen von interagierenden Organen auszutesten. Der amerikanische Physiker Charles DeLesi von der Boston-Universität (Massachusetts) und andere ambitionierte Forscher streben ein Großprojekt an, bei dem mit vielen verbundenen Rechnern auf biochemischer Ebene ein virtueller Mensch erstellt werden soll. In der Größenordnung ist dieses Unterfangen dem Humangenomprojekt vergleichbar.

Noch bedeutet es stets einen langen, aufwändigen Prozess mit ungewissem Ausgang, bis Tierversuchsalternativen vorgeschriebene Tests ersetzen dürfen – oder sogar müssen –, das heißt bis die Behörden sie genehmigen und fordern. Eine entscheidende Hürde ist die so genannte Validierung: Labors und Sachverständige müssen prüfen, ob ein neuer Test – beziehungsweise mehrere zusammen in einer Teststrategie – herkömmliche Methoden gleichwertig ersetzt und seinen Zweck wirklich erfüllt. Die Experten müssen ihn als vollwertigen Ersatz akzeptieren. Um diese Abläufe zu gewährleisten, entstand im Jahr 1993 das eingangs erwähnte »Europäische Zentrum für die Validierung von alternativen Methoden«. Ecvam war die Konsequenz der EU-Tierschutzgesetzgebung von 1986, die verlangt, dass wann immer möglich Alternativmethoden verwendet werden müssen. Die Gemeinsame Forschungsstelle der Europäischen Kommission prüft dabei unabhängig, ob eine Alternativmethode hält, was sie verspricht. In den USA wurde für diese Funktionen 1997 das Komitee Iccvam gebildet, das sich dort mit der Koordination der Validierung von Alternativtests befasst.

Gelder für die Suche nach und Prüfung von Tierversuchsalternativen aufzutreiben ist nicht leicht, jedoch ist die Lage in Europa deutlich besser als in den USA. Für Validierungsstudien von al- ➤

wichtige onlineadressen

-  **Dipl.-Ing. Runal Meyer VDI**
 Entwicklung, Konstruktion, Technische
 Berechnung, Strömungsmechanik
www.etastern.de
-  **DOK – Düsseldorfer Optik-Kontor**
 Kontaktlinsen online bestellen
www.dok.de
-  **Kernmechanik –
Optimiertes Modell:
Kernspin + Dipolmomente**
www.kernmechanik.de

Hier können Sie den Leserinnen und Lesern von Spektrum der Wissenschaft Ihre WWW-Adresse mitteilen. Für € 83,00 pro Monat (zzgl. MwSt.) erhalten Sie einen maximal fünfzeiligen Eintrag, der zusätzlich auf der Internetseite von Spektrum der Wissenschaft erscheint. Mehr Informationen dazu von

GWP media-marketing
 Mareike Grigo
 Telefon 0211 61 88-579
 E-Mail: m.grigo@vhb.de

▷ alternativen Verfahren zahlten staatliche Einrichtungen in den USA in den letzten zehn Jahren kaum 10 Millionen Dollar (etwa 7,5 Millionen Euro). Im selben Zeitraum wendete die EU für die Forschung an Alternativen und deren Validierung über 200 Millionen Euro auf. Hinzu kamen hohe Summen von den einzelnen Regierungen, allein in Deutschland 80 Millionen Euro für die Suche nach neuen Methoden.

Das Schema zu Validierungsstudien von Tierversuchsalternativen entwarfen vor allem europäische Forscher. Es ist ähnlich angelegt und ähnlich fassettenreich wie medizinische Tests. Für jede neue Prüfmethode ist zu beweisen, dass sie die in sie gestellten Anforderungen und Erwartungen auch wirklich erfüllt – ähnlich wie bei einem Medikament der Nachweis geführt werden muss, dass es die erwartete Wirkung hat.

Langwieriger Gutachter-Parcours bis zur Zulassung

Zuerst müssen mit dem neuen Ansatz eine Reihe von Vortests (Prävalidierungsstudien) durchgeführt werden. Sie sollen dessen Reichweite erfassen sowie mögliche Fehlerquellen im Test aufdecken und diese ausbessern helfen. Falls die Vortests zur Zufriedenheit ablaufen, starten (im europäischen Fall) in der Regel Ringversuche: Ecvam kooperiert nun mit Labors in mehreren EU-Staaten zu dem Zweck, den neuen Test in so genannten Blindversuchen an einer großen Anzahl von Substanzen auszuprobieren. Entscheidend ist dabei, dass die verschiedenen Labors unabhängig voneinander die gleichen Ergebnisse gewinnen – dass diese Daten also reproduzierbar sind. Oft prüft jedes der Labors eine Anzahl potenzieller Alternativtests für einen etablierten Tierversuch auf einmal.

Dann bewertet ein Gremium aus etwa 40 Wissenschaftlern die Resultate. Sie vertreten die 25 EU-Mitgliedsstaaten sowie die EU-Kommission, Wissenschaftsverbände, die Industrie und Tierschutzorganisationen. Auch Beobachter vom amerikanischen Validierungskomitee Iccvam und von der OECD sind einbezogen. Falls ein neuer Test alle Anforderungen bestanden hat, erklärt ihn das Gremium für valide.

Das Konzept einer wissenschaftlichen Validierung von Alternativmethoden stieß 1996 bei einem Workshop der OECD im schwedischen Solna interna-

tional auf breite Zustimmung. Seitdem sprechen die Forscher auch davon, ob ein neuer Test die Solna-Prinzipien oder Solna-Regeln erfüllt.

Ecvam hat bisher 25 Alternativmethoden für Tiertests durch alle Validierungsstadien gebracht. Sie sind nun offiziell validiert. Neun weitere befinden sich auf der letzten Stufe des Bewertungsverfahrens durch Gutachter. Für 40 Methoden laufen derzeit abschließende Laborstudien beziehungsweise Datenanalysen. Die enorme Zahl von 170 Methoden wird derzeit von Ecvam analysiert, viele allerdings noch in frühen Phasen der Optimierung. Ein Beispiel für Alternativen zum vorn beschriebenen Pyrogentest an Kaninchen auf Fieber erzeugende Stoffe sei angeführt: Drei Jahre lang haben zehn Labors sechs Alternativverfahren geprüft, und das mit 190 Proben. Fünf dieser Verfahren bewährten sich im Test, und ihre Eignung wurde von den Gutachtern bestätigt.

Nach der europäischen Gesetzeslage muss eine Tierversuchsalternative für Sicherheitstests, die für zulässig erklärt ist, in der EU fortan auch eingesetzt werden. Leider dauert dieser Schritt trotzdem in den verschiedenen Behörden oft mehrere Jahre. Doch in dem Maße, wie diese mit den neuen Methoden vertrauter werden, dürfte hoffentlich die Bereitschaft wachsen, Ersatzverfahren zu akzeptieren.

Anfangs brachten Testalternativen auch Überraschungen. So scheiterten zu Beginn der 1990er Jahre sechs Ersatzmethoden zum Draize-Test an der Hürde der Validierung. Das war ein schwerer Rückschlag, den sich die Experten damals nicht erklären konnten, zumal die Kosmetikindustrie ein paar jener neuen Verfahren bereits zu ihrer Zufriedenheit anwandte. Erst viel später erkannten wir den Grund für das Scheitern: Die Ersatzmethoden waren dem Draize-Test selbst gegenübergestellt worden. Der aber liefert, so viel wissen wir heute, nicht selten falsch-positive Ergebnisse. Das heißt, er zeigt fälschlich eine gar nicht vorhandene toxische Wirkung an. In einer gemeinsamen Studie überprüfen Ecvam und Iccvam jetzt die vorhandenen Daten zum Draize-Test und den alternativen Ansätzen. Vielleicht wird das schon genügen, um die Eignung mancher jener neuen Verfahren zu erklären. Ansonsten sind wir zuversichtlich, dass eine neuerliche Validierung einigen der Alternativmethoden endlich zur Anerkennung verhilft.

Das Plüschkaninchen, das Al Gore verfolgte, brach an einem heißen Tag ohnmächtig zusammen und Gores Stab leistete erste Hilfe. Sinnbildlich gesprochen wurde der vermeintliche Feind dem gequälten Tier zum Retter. Werden alternative Prüfverfahren voll ausgeschöpft, lässt sich ein Großteil der Tierversuche einsparen.

Um bis zu 70 Prozent kann der Tierverbrauch für die von der EU geforderten Chemikalienprüfungen beispielsweise allein mit den schon vorhandenen und unter Validierung befindlichen Tests erniedrigt werden. Hierin stimmen öffentliche Institutionen und Industrie überein.

Die andere gute Nachricht: Die Tierversuchsalternativen sparen viel Zeit und Geld – Jahre bis Jahrzehnte für Testprogramme und oft Milliarden an Euro und Dollar. Außerdem liefern sie bessere – nämlich härtere und zuverlässigere – Ergebnisse. Einerseits dienen die neuen Methoden dem Wohl unserer Mitgeschöpfe. Gleichzeitig bieten sie uns Menschen mehr Schutz. ◁



Alan M. Goldberg (oben) und **Thomas Hartung**



sind Toxikologen. Goldberg leitet das Zentrum für Tierversuchsalternativen der Johns-Hopkins-Universität in Baltimore (Maryland). Hartung, der auch an der Universität Konstanz lehrt, ist Leiter des Europäischen Zentrums für die Validierung von alternativen Methoden zu Tiertests (Ecvam) in Ispra, Italien, ein Teil der Gemeinsamen Forschungsstelle der Europäischen Kommission. Goldberg berät die Xenogen Corporation in Alameda (Kalifornien). Hartungs Pyrogen-Test wird von den Charles River Laboratories in Massachusetts als Lizenz eines Technologiezentrums an der Universität Konstanz vertreten.

More than a cosmetic change. Von Alison Abbott in: Nature, Bd. 438, 10. Nov 2005, S. 144

To 3R is humane. Von Alan M. Goldberg und Paul A. Locke in: Environmental Forum, S. 19, Juli/August 2004

Animals and alternatives in testing: history, science, and ethics. Von J. Zurlo et al. Mary Ann Liebert, 1994

Weblinks zu diesem Thema finden Sie unter www.spektrum.de/artikel/861617.