REPLACE
REDUCE
REFINE

Fact Sheet

Alternativmethoden für Tierversuche

Das Ziel des weltweit anerkannten 3R-Prinzips besteht darin, Tierversuche zu ersetzen (= Replace), die Zahl der Versuchstiere zu reduzieren (= Reduce) und die Versuche für die Tiere so wenig belastend wie möglich zu gestalten (= Refine).

Replace bedeutet:
Tierversuchsfreie Technologien und Ersatz von belastenden Tierversuchen durch Versuche an weniger empfindungsfähigen Tieren

- *in vivo* (im lebenden Organismus)
- *ex vivo* (außerhalb des lebenden Organismus)
- *in vitro* (im Reagenzglas)
- *in silico* (am Computer)

Reduce bedeutet:
Zahl der Versuchstiere reduzieren

- So viel wie nötig, so wenig wie möglich
- Austausch unter Forschungsgruppen
- Optimierung von statistischen Berechnungen
- Koordinierung von Forschungsvorhaben

Refine bedeutet:
Belastung der Tiere messen und verringern

- Belastungen erkennen
- Belastungen messen
- Belastungen beurteilen
- Belastungen verringern

Beispiele für Alternativmethoden, die Tierversuche ersetzen

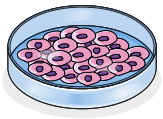
in vivo

Larven, Embryonen

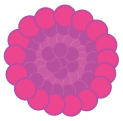
Wirbellose Tiere

Mikro-dosierung
Verteilung von Wirkstoffen im Körper überprüfen

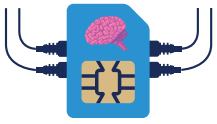
in vitro



Einfache Zellkulturen



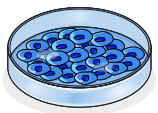
Organoide
dreidimensionale Modelle aus Stammzellen, die ein bestimmtes Organ nachbilden



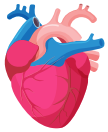
Multi-Organ Chips
Verknüpfung verschiedener Organsysteme auf einem Biochip

ex vivo

Gewebeschnitte
Aufbau und Struktur von Organen bleibt bestehen



Primäre Zellkultur
Untersuchung direkt nach Entnahme aus Organismus



Isolierte Organe
aus lebendem Organismus entnommen, Untersuchung unter möglichst natürlichen Bedingungen

in silico

Computersimulation

REPLACE
REDUCE
REFINE

In-vivo-Verfahren als Alternativen zum Tierversuch

(*in vivo* = im lebenden Organismus): Methoden im oder am lebenden Organismus, um beispielsweise die Wirkung von Medikamenten zu testen oder Organe zu erforschen

Mikrodosierung:
Tests von Medikamenten am Menschen in sehr geringer Dosis

✓	✗
Verteilung im menschlichen Körper	Giftigkeit der vollen Medikamentendosis
Abschätzung der Wirkung eines neuen Medikaments	Wirkstoffe müssen extra dafür entwickelt werden

Wirbellose Tiere*: Experimente mit Fruchtfliegen (Drosophila melanogaster) liefern wertvolle Erkenntnisse in der Erforschung von Krankheiten.

* ausgenommen sind Cephalopoden (Kopffüßer) und Dekapoden (Zehnfußkrebse)

✓	✗
Erforschen, welche Funktionen Gene haben, die beim Menschen Krankheiten auslösen können	Anwendungsgebiete in der biomedizinischen Forschung begrenzt (z.B. Krankheitsmodellierung)
Fliegenembryos können gut untersucht und genetisch verändert werden	Teilweise sehr große entwicklungsgeschichtliche Unterschiede zwischen Mensch und einzelnen Tieren

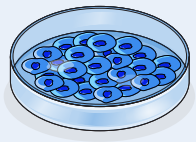
Larven und Embryonen: Larven von Zebrafischen sind nahezu transparent und ermöglichen es, verschiedene innere Vorgänge nicht-invasiv zu beobachten.

✓	✗
Genfunktionen erforschen; Untersuchung von menschlichen Erkrankungen	Teilweise sehr große entwicklungsgeschichtliche Unterschiede zwischen Mensch und einzelnen Tieren
Entwicklung von Organen und Zellen beobachten	Anwendungsgebiete in der biomedizinischen Forschung begrenzt (z.B. chirurgische Eingriffe)

Ex-vivo-Verfahren als Alternativen zum Tierversuch

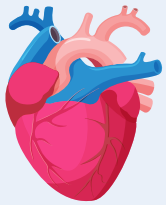
(*ex vivo* = Untersuchung von lebenden Zellen außerhalb des lebenden Organismus): Zu Ex-vivo-Methoden gehören primäre Zellkulturen, isolierte Organe und Präzisionsgewebeschnitte. Diese können in ihrem aktuellen Zustand für einen begrenzten Zeitraum untersucht werden.

Primäre Zellkultur:
Unmittelbar nach Entnahme aus dem Organismus findet die Untersuchung statt; Vermehrung der Zellkultur (außer bei Stammzellen) nur eingeschränkt möglich.



✓	✗
Keine Belastung durch einen Tierversuch	Struktur- & Zellzusammensetzung des Organs nur begrenzt abbildbar
Können das In-vivo-Verhalten der Zellen widerspiegeln	Begrenztes Überleben und eingeschränktes Vermehrungspotenzial

Isolation von Organen:
Die Untersuchung des Organs findet unmittelbar nach der Entnahme aus einem lebenden Organismus statt.



✓	✗
Untersuchung unter möglichst natürlichen Bedingungen	Komplexe Vorgänge im Gesamtorganismus nicht abzubilden (z.B. Reaktion des Immunsystems)
Aktueller Zustand des Organs kann erforscht werden	Bei einigen Organen nur sehr kurze Überlebensdauer oder gar nicht durchführbar

Präzisionsgewebeschnitte:
Gewebeschnitte, bei denen Aufbau und Struktur der Organe bestehen bleiben

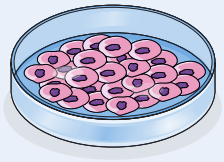
✓	✗
Können über einen längeren Zeitraum kultiviert werden	Auf Grund begrenzter Überlebenszeit chronische Untersuchungen nicht möglich
Giftigkeitstests oder Tests mit Infektionen möglich	Eingeschränkte Übertragung auf Gesamtorganismus (z.B. durch Verlust normaler Transport- oder Barrierefunktionen)

REPLACE
REDUCE
REFINE

In-vitro-Verfahren als Alternativen zum Tierversuch

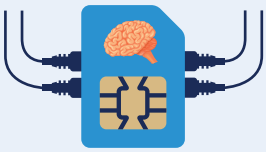
(*in vitro* = im Glas): Forschende können mithilfe von In-vitro-Verfahren Erkenntnisse über das Zusammenspiel von Organen und dem menschlichen Stoffwechsel gewinnen. Dafür legen sie möglichst realitätsnahe Zellkulturen an, die beispielsweise bestimmte Gewebestrukturen oder ganze Organe nachbilden.

3D-Zellkulturen:
Nachbildung von Gewebestrukturen



✓	✗
Giftigkeitstests durch Hautmodelle	Zusammenspiel von Körperfunktionen wird nicht erfasst (z.B. Einbindung des Immunsystems in seiner Komplexität)
Entwicklung und Funktionsweise von Organen untersuchen	Nicht alle Funktionen von Geweben werden dargestellt

Multi-Organ-Chips:
Verknüpfung verschiedener Organsysteme auf einem Biochip



✓	✗
Medikamentenentwicklung und Giftigkeitsprüfungen	Keine vollständige Abbildung eines Immunsystems und anderen Körperfunktionen
Untersuchung von Krankheitsmodellen	Kann insgesamt nur so gut sein, wie die Zellkulturen, aus denen der Chip zusammengesetzt wird

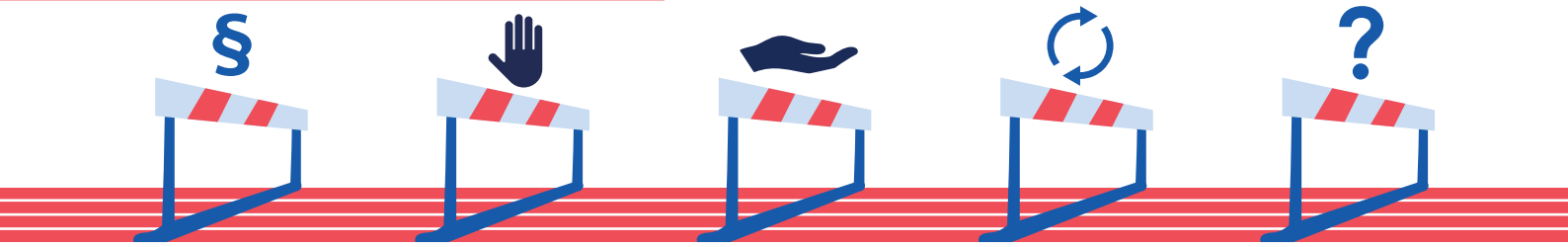
Dreidimensionale Modelle aus Stammzellen, die ein bestimmtes Organ nachbilden, heißen **Organoide** oder Organmodelle. Inzwischen können Forschende viele verschiedene Organe nachbauen wie beispielsweise die Leber, den Darm, das Gehirn oder auch die Lunge. Mit Hilfe von Organoiden lassen sich **Krankheitsprozesse beobachten, Giftigkeitstests durchführen** oder auch die Entwicklung einzelner Organe untersuchen. Allerdings sind Organoide noch hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Funktion im Vergleich zum Organ deutlich eingeschränkt.

In-silico-Verfahren als Alternativen zum Tierversuch

(*in silico* = Computersimulation):
Schnell, zielführend, preiswert – Computermodelle ermöglichen es, Krankheiten nachzustellen und Arzneimittel zu prüfen. Dadurch kann eine Vielzahl an Tierversuchen ersetzt und ergänzt werden.

✓	✗
Verhalten von Arzneimitteln im Körper	Für Vorhersagen müssen bereits viele Dinge bekannt sein (chemische Strukturen, Vorgänge im Körper)
Vorauswahl von Kandidaten für die Entwicklung von Medikamenten	Kann nur einen Teilschritt in der gesamten Forschungskette ersetzen

Welche Hürden müssen alternative Testmethoden vor ihrer Zulassung nehmen?



Rechtliche Vorgaben
Einige Tierversuche sind gesetzlich vorgeschrieben, um z.B. Nebenwirkungen von neuen Medikamenten zu überprüfen

Soziologische Gründe
Fehlende Akzeptanz von alternativen Testmethoden, z.B. da der aktuelle Zustand gegenüber einer Veränderung bevorzugt wird

Zuverlässigkeit
Testergebnisse müssen so zuverlässig wie beim Tierversuch sein und sich auf den Menschen übertragen lassen

Reproduzierbarkeit
Alternative Testmethode muss in unterschiedlichen Laboren zu gleichwertigen Ergebnissen führen

Wissenslücke
Auf welcher wissenschaftlichen Grundlage wird entschieden, ob sich die Testmethode für die Fragestellung eignet?

Bevor Forschende eine alternative Testmethode anstelle eines Tierversuchs nutzen können, durchläuft die Testmethode langwierige Prüfprozesse. Daran sind maßgeblich die EU-Behörde „EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing" sowie die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) beteiligt. Bis zu ihrer vollständigen, behördlichen Anerkennung und allgemeinen Anwendung muss die alternative Testmethode einige Hürden nehmen. So soll sie beispielsweise zuverlässig funktionieren und auch bei weiteren Tests zu gleichwertigen Ergebnissen führen (Reproduzierbarkeit).

Forschungsprojekte des R2N-Netzwerks zu Alternativmethoden

Das R2N-Netzwerk konzentriert sich auf tierfreie biomedizinische Forschung. Dazu gehört die Entwicklung von Alternativmethoden auf Basis des 3R-Prinzips. Außerdem prüfen die Forschenden, inwiefern sich ergänzende Methoden eignen, Tierversuche im Rahmen der 3R-Grundsätze „Replace" und „Reduce" zu ersetzen oder die Anzahl der Tierversuche zumindest verringern. Aktuelle Forschungen zu den Schwerpunkten „Verdauungstrakt" und „Respirationstrakt" (Atemorgane) geben einen ersten Einblick in die **wissenschaftliche Anwendung des 3R-Prinzips.**

Forschung zum Verdauungstrakt:

- Entwicklung eines sogenannten 3D-Gewebe-Implantat-Modells, das die orale Muskosa darstellt und zur Testung von Implantatsmaterial verwendet werden kann.
- Darmgewebe mit Hilfe von 3D-Organoiden, Organ-Chips und 2D-Zellkulturen *in vitro* erforschen, um z.B. Unterschiede in Mechanismen von Darmerkrankungen bei besonders krankheitsanfälligen Geweben festzustellen
- Etablierung und Weiterentwicklung dieser **Darm-Organoide aus Stammzellen** von Mensch, Maus und Schwein
- Organoide bilden die komplexe oberste Zellschicht des Darms in einem Organismus ab

Forschung zu Atemorganen:

- Entwicklung eines **menschlichen Atemwegsmodells** aus humanen Stammzellen
- Spezielle Hautzellen, die die Atemwege beim Menschen auskleiden, dienen als Quelle
- Die Forschung ermöglicht es, **große Mengen an Zelltypen** herzustellen, die als Quelle für *in vitro* Testsysteme der Atemwege dienen
- Mit der Entwicklung von neuartigen In-vitro-Modellen (= im Reagenzglas) geht auch eine deutlich **verbesserte Datenqualität** einher, da die hergestellten Zellen im Gegensatz zu menschlichen, primären Zellen eine gleichbleibende Qualität aufweisen