

1 Einleitung

Internationale Richtlinien der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) empfehlen die Durchführung reproduktionstoxikologischer Untersuchungen an trächtigen Ratten oder Kaninchen. Ziel dieser Tierstudien ist es, sowohl embryo-/foetotoxische Effekte als auch eine teratogene Wirkung der Testsubstanzen festzustellen. Dem 3R-Konzept von Russel und Burch [1] folgend, wurden schon seit Jahrzehnten Alternativmethoden zu diesen Tierstudien etabliert. In der Reproduktionstoxikologie werden inzwischen *In-vitro*-Methoden verwendet, die man vier Kultursystemen zuordnen kann [2]:

1. Permanente Zelllinien,
2. Primäre Zellen,
3. Nicht-Säugetierembryonen und
4. Säugetierembryonen.

Zellkulturen haben den Nachteil einer geringen Komplexität der Zielstruktur. Vorteilhaft dagegen ist, dass sie wenig oder kein *In-vivo*-Material benötigen. Eine Kultur ganzer Embryonen spiegelt einen Teil der Embryogenese wieder und kann somit die umfassende Komplexität zellulärer Proliferation und Differenzierung darstellen. Jedoch ist zu beachten, dass diese *In-vitro*-Methode Tiermaterial benötigt.

Für die *In-vitro*-Kultur ganzer Rattenembryonen (Whole Embryo Culture – WEC) wird neben den Embryonen selbst auch noch Rattenblut für die Herstellung des Standardkulturmediums (100 % Rattenserum) benötigt. Durch den Ersatz von Rattenserum durch ein heterologes Serum könnten zwei Drittel des benötigten Tiermaterials für die WEC eingespart werden [3]. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden in den letzten Jahrzehnten verschiedene heterologe Seren als Alternativen untersucht. Bisher stellten diese jedoch keinen ausreichenden Ersatz dar, da sie in ihrer Qualität zu stark variierten oder nur eingeschränkt verfügbar waren [4].

Ein heterologes Serum als Alternative zum Rattenserum könnte eine stärkere routinemäßige Anwendung der WEC mit höheren Durchsatzraten begünstigen. Dieses Kulturmedium sollte idealerweise Kulturergebnisse ermöglichen, die mit denen des Standardkulturmediums aus 100 % Rattenserum vergleichbar sind. Zudem sollte es in ausreichenden Mengen verfügbar sein.

Ein kommerziell erhältliches Produkt mit konstant hoher Qualität könnte diese Anforderungen erfüllen. Die Produktion in großen Chargen würde nicht nur eine permanente Lieferung an alle Laboratorien sicherstellen können, sondern auch erstmals Langzeitstudien und *Inter*-Laborstudien unter gleich bleibenden Kulturbedingungen mit einer Kulturmediumcharge ermöglichen. Dass hierfür eine Notwendigkeit besteht, zeigte die Validierungsstudie der WEC auf, gefördert durch das Europäischen Zentrum für die Validierung von Alternativmethoden (European Centre for the Validation of Alternative Methods - ECVAM) [5]. Aufgrund mangelnder Reproduzierbarkeit konnten die Auswertungsparameter für das Wachstum in dem

entwickelten Prädiktionsmodell [6] der WEC nicht berücksichtigt werden. Trotz dieses Mangels erreichte die WEC im Rahmen der internationalen Validierungsstudie eine gute Prädiktivität für ein embryotoxisches Potential der untersuchten Referenzsubstanzen [7].

Würden die Wachstumsparameter verlässlich in das Prädiktionsmodell integrierbar sein, könnte die Aussagekraft der WEC weiter gesteigert werden. Um diese These prüfen zu können, müsste zuerst die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bezüglich der Wachstumsparameter sichergestellt werden. Ein gut charakterisiertes Kulturmedium ist dazu eine wesentliche Voraussetzung. Optimierung und Standardisierung des WEC Kulturmediums aber auch die Reduktion des Tierverbrauchs waren demnach die wesentlichen Ziele dieser experimentellen Arbeit. Aus diesen Gründen wurde die vorliegende Studie zur Etablierung eines Kulturmediums basierend auf Rinderserum initiiert.