

1 EINLEITUNG

Die Notwendigkeit tierexperimenteller Untersuchungen als Grundlage für die Abschätzung eines toxikologischen Risikos für den Menschen wird gesellschaftlich kontrovers diskutiert. Fragen nach dem Sinn routinemäßig durchgeführter toxikologischer Tierversuche sollten in der heutigen Zeit mit der gebotenen Ernsthaftigkeit und Sensibilität aber auch Kompetenz behandelt werden.

Wissenschaftlich unbestritten ist, dass die riesige Zahl von neu synthetisierten und angewandten Chemikalien in unserer engeren Umwelt uns zwingt, Tiere experimentell zu nutzen, um unserem Sicherheitsbedürfnis Rechnung zu tragen. Dennoch muss auch erwähnt werden, dass die Möglichkeit der Extrapolation experimentell gewonnener Daten auf die beim Menschen vorliegenden Verhältnisse problematisch ist, insbesondere dann, wenn eine quantitative Risikoabschätzung erfolgen soll (Neubert, 1980 a, b).

Es ist verständlich, dass Forderungen nach alternativen Testmethoden, die tierexperimentelle Untersuchungen ergänzen oder vielleicht sogar ersetzen können, immer häufiger gestellt werden, zumal der Tierschutz mehr und mehr in das Bewusstsein der Öffentlichkeit tritt. So hat beispielsweise die Bundesrepublik Deutschland in den letzten 15 Jahren die Zuschüsse für die Entwicklung alternativer Testmethoden zum Tierversuch von etwa 3 Millionen US-Dollar auf über 6 Millionen US-Dollar pro Jahr verdoppelt (Spielmann, 1996). Im internationalen wissenschaftlichen Sprachgebrauch zählen nicht nur Testmethoden, die ohne Versuch am lebenden Tier auskommen, zu den „alternativen Verfahren“. Auch Tierversuche, die mit einer geringeren Zahl von Tieren durchgeführt werden, gelten als „Alternative“. Ebenso wird der Einsatz von Techniken, welche die Tiere im Versuch weniger belasten, zu den „alternativen Methoden“ gerechnet. Der Zoologe *Russel* und der Mikrobiologe *Burch* definierten 1959 erstmals die „Alternativen zum Tierversuch“. In ihrem Buch „The Principles of Humane Experimental Technique“ teilen sie die alternativen Testmethoden nach ihren Zielen für den Tierversuch in drei Kategorien ein

1. „Reduction“: Die Verringerung der im Tierversuch eingesetzten Tiere
2. „Refinement“: Die Anwendung verfeinerter Methoden im Tierversuch.
3. „Replacement“: Der Ersatz des Tierversuches durch tierversuchsfreie Methoden

Die Anfangsbuchstaben dieser Begriffe führten zu dem inzwischen klassischen Begriff des „3R-Konzeptes“ nach *Russel* und *Burch*. Dieses Konzept wird in Fachkreisen weltweit akzeptiert und unterstützt.

Zu den „alternativen Methoden“ gehören auch die *In-vitro*-Systeme, die Neubert (1985) für den Bereich der Reproduktionstoxikologie folgendermaßen definiert hat: „Jedes biologische System, das aus embryonalen oder fetalen Zellen, Geweben, Organen oder aus isolierten ganzen Embryonen bestimmter Entwicklungsstadien besteht.“ Wilson (1978) versteht unter einem *In-vitro*-Kultursystem jedes sich entwickelnde Gewebe, Organ oder Organismus mit Ausnahme eines trächtigen Säugetieres. Dabei ist die generelle Voraussetzung für ein Kultursystem die Überlebensfähigkeit des Organmaterials für mehrere Tage. Von entscheidender Bedeutung sind Teilung, Wachstum sowie Differenzierung der Zellen während der Kulturperiode. Es besteht kein Zweifel daran, dass *In-vitro*-Systeme sowohl Vor- als auch Nachteile haben. Viele Autoren (Saxen, 1976; Fantel, 1982; Neubert, 1985) haben sich weltweit mit dieser Thematik auseinandergesetzt. Dieses Kapitel versucht einen Überblick über die Grenzen, Einsatzgebiete und Möglichkeiten von *In-vitro*-Systemen im Allgemeinen und der „Whole-Embryo-Culture“ (**WEC**, Kultur ganzer Rattenembryonen) im Speziellen zu geben. Die „Whole-Embryo-Culture“ ist eine *In-vitro*-Methode, die in der heutigen Zeit eine große Bedeutung in der Reproduktionstoxikologie und -biologie hat. Da maternale Effekte mit ihr ausgeschlossen werden können, ist es möglich, Chemikalien auf ihr direktes embryotoxisches Potenzial in dieser Entwicklungsphase zu analysieren (Webster, 1997). Nahezu alle Wissenschaftler verwenden heute homologes Rattenserum als Kulturmedium (s. Tab. 3). Da sich Rattenserum aber nur in geringen Mengen bzw. auf Kosten eines sehr hohen Verbrauchs an Labortieren gewinnen lässt, arbeitet man am Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie Berlin mit Rinderserum (Gewinnung und Verarbeitung s. Kap. 3.4), welches man in größeren Mengen und einheitlichen Chargen gewinnen kann. Dadurch ist es möglich, Versuchsserien unter Verwendung einheitlicher Serumchargen durchzuführen. Einheitliche Serumchargen sind für die Interpretation von Embryotoxizitätsversuchen sehr wichtig.

Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe eines kontinuierlichen Begasungsverfahrens sowie durch Austestung verschiedener Puffersubstanzen die Kulturbedingungen der Embryonen für die ersten 48 Stunden zu verbessern. Darüber hinaus wurde die Kulturdauer auf 72 Stunden (bzw. 96 Stunden) verlängert, um so über einen längeren Zeitraum mögliche Manifestationen von Effekten besser beurteilen zu können. Außerdem wurden die Auswirkungen von Ethanol auf 9,5 Tage alte Rattenembryonen über einen Kulturzeitraum von 48 bzw. 72 Stunden in Rinderserum untersucht.