

2 Tierversuche mit aquatischen Organismen

Gemäß der Intention des Tierschutzgesetzes sind grundsätzlich alle Vorhaben mit und an Krebsen, Neunaugen und Fischen auf ihre tierschutzrechtliche Bedeutung hin zu überprüfen. Als Tierversuche gelten nach § 7 TierSchG (2010) alle Eingriffe und Behandlungen zu Versuchszwecken, die Schmerzen, Leiden oder Schäden verursachen können. Daneben unterliegen auch die Zucht und Hälterung von Tieren zu wissenschaftlichen Zwecken nach § 11 Abs. 1 Nr. 1 den Bestimmungen des Tierschutzgesetzes. Der Gesetzgeber unterscheidet aktuell zwischen genehmigungs- und anzeigepflichtigen Tierversuchen. Danach sind gemäß § 8 alle Eingriffe an Wirbeltieren genehmigungspflichtig, während Arbeiten an und mit Wirbellosen wie Krebsen der zuständigen Genehmigungsbehörde bislang nur angezeigt werden müssen. Mit dem Beschluss der Europäischen Richtlinie zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere (EUROPÄISCHES PARLAMENT & RAT DER EUROPÄISCHEN UNION 2010) sind allerdings im Rahmen der nationalen Umsetzung in naher Zukunft Veränderungen des deutschen Tierschutzgesetzes sowie die Verabschiedung einer Tierschutz-Versuchstierverordnung zu erwarten. Eine besondere Bedeutung im europäischen Recht nimmt dann auch der Sachkundenachweis für Personen ein, die mit Versuchstieren im Experiment und in der Haltung umgehen. Auch werden künftig Züchter, Lieferanten und Verwender von Versuchstieren über eine spezielle behördliche Zulassung verfügen müssen.

Neu ist auch die Forderung nach einer konsequenten Umsetzung des so genannten „3 R-Konzepts“. Dieses beinhaltet:

- Refinement, d. h. Verbesserung tierexperimenteller Methoden mit dem Ziel, die Belastungen für die Versuchstiere zu verringern oder gänzlich zu vermeiden,
- Reduction, d. h. Ersatz von Tierversuchen durch Verfahren, die ohne Versuchstiere auskommen und
- Replacement, d. h. Optimierung tierexperimenteller Verfahren zwecks Verringerung der Anzahl der benötigten Versuchstiere.

Tierversuche an aquatischen Organismen konzentrieren sich auf bestimmte tiermedizinische, pharmazeutische und biologische Disziplinen, die nachfolgend dargestellt werden (Kap. 2.1 bis 2.5). Die klassische naturwissenschaftlich-biologische Grundlagenforschung beispielsweise an anatomischen oder physiologischen Instituten ist demgegenüber von nachrangiger Bedeutung.

2.1 Genetik

Für die biologischen Forschungsgebiete der Entwicklungsbiologie und Genetik sind Versuchstiere als Modellorganismen unverzichtbar. Vor allem in der medizinisch-pharmazeutisch ausgerichteten Molekulargenetik werden Versuchstiere in großem Umfang zur Erforschung des Einflusses und der Bedeutung der genetischen Erbinformation auf phänotypische Ausprägungen sowie nicht sichtbare physiologische Eigenschaften eingesetzt. Auch die Ursache und Diagnose von Erbkrankheiten sowie ihre Behandlung werden in diesem Kontext erforscht.

Damit Versuchstiere diesen Forschungszielen gerecht werden, müssen sie spezielle Anforderungen erfüllen, die eine Übertragung der gewonnenen Erkenntnisse auf andere Organismengruppen, insbesondere auf den Menschen erlauben. So brachten zwar die Untersuchungen an Hunderten mutanten Linien der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* oder des Nematoden *Caenorhabditis elegans* wichtige grundsätzliche Einblicke in genetische Mechanismen, doch ist die Übertragung dieser Ergebnisse auf Wirbeltiere und damit auch auf den Menschen letztlich nicht möglich. Vielmehr hat sich gezeigt, dass sich entwicklungsbiologische und auch genetische Prozesse bei Wirbeltieren nur an Wirbeltieren selbst studieren lassen, die bezüglich Bauplan und Eigenschaften vergleichbar sind. Dazu zählt eine Chorda dorsalis als embryonal-larvale oder zeitlebens vorhandene Zentralstruktur des Achsenskeletts, ein ektodermales Neuralrohr, ein Kiemendarm sowie ein geschlossenes Blutgefäßsystem mit Herz, Leber und Bauchspeicheldrüse. Daneben wird ein Modellorganismus benötigt, der eine methodisch möglichst einfache Veränderung seines Erbgutes (Mutagenese) erlaubt, d. h. genetisch manipulierbar ist. Die daraus resultierenden Mutanten dienen in der Forschung als so genannte genetische Marker und lassen aus der Veränderung von

Physiologie, Verhalten und Entwicklung Rückschlüsse auf die Wirkweise und Bedeutung bestimmter Gene zu.

Allein auf Grund der Vielzahl der Gene, über die ein Organismus verfügt, sowie der Unzahl von unzähligen möglichen Wirkungen und Wechselwirkungen, ergibt sich ein enormer Bedarf an Versuchstieren, um allein einzelne Fragestellungen untersuchen zu können. Deshalb sind der Raum- und Zeitbedarf für die Haltung und Entwicklung der Tiere von zentraler Bedeutung für die Eignung einer Art als Versuchstier.

Zunehmend werden Fische als Modellorganismen eingesetzt, weil sie eine große Anzahl von Nachkommen haben und die Embryonalentwicklung vollständig außerhalb des Mutterleibes stattfindet. Besonders geeignet sind kleinwüchsige Arten mit einem sehr kurzen Generationswechsel, da sie nur einen geringen Platzbedarf haben, so dass der Aufwand für Hälterung und Pflege im Vergleich zu Kleinsäugetern wie der Maus bedeutend geringer ist. Weil er alle diese Anforderungen in optimaler Weise erfüllt, avancierte in der vergangenen Dekade der oft auch als Zebrafisch bezeichnete Zebrabärbling (Abb. 1) neben bzw. anstelle der Dickköpfigen Elritze, der Regenbogenforelle und der Orfe mit ihrer als Goldorfe bezeichneten Farbvarietät, zum meist eingesetzten aquatischen Versuchstier in Europa.



Abbildung 1: Zebrabärbling, männlich

Die maximal 5 Zentimeter langen Zebraabärblinge sind Schwarmfische, wobei die äußerlich deutlich von den Männchen unterscheidbaren Weibchen bereits 100 bis 120 Tage nach dem Schlupf die Geschlechtsreife erlangen und im Abstand von drei bis fünf Tagen bis zu 300 Eier ablaien können. Als besonders vorteilhaft erweist sich beim Zebraabärbling, dass sich die Eier dieser Art innerhalb von drei bis vier Tagen zur schlupffreien Fischlarve entwickeln, und dass die Ontogenese des Embryos aufgrund der transparenten Eihülle direkt in einer Petrischale unter dem Mikroskop verfolgt werden kann. Die Embryonen sind so groß, dass einzelne Zellen und ganze Zellverbände entnommen und transplantiert werden können. Forschungen über die embryonale Entwicklung sind im Falle des Zebraabärblings folglich wesentlich einfacher durchzuführen, als beispielsweise an Mäusen, bei denen für vergleichbare Untersuchungen zu verschiedenen Zeitpunkten Muttertiere mit ihren Embryonen getötet werden müssten. Somit bietet der Einsatz des Zebraabärblings auch unter den Gesichtspunkten des Tierschutzes Vorteile.

Die herausragende Bedeutung des Zebraabärblings in der Entwicklungsbiologie und Genetik belegt das seit 2010 laufende Projekt „ZF-Health - Zebra fish Regulomics for Human Health“ der Europäischen Kommission unter Koordination des Karlsruher Instituts für Technologie (www.zf-health.org). Ziel dieses Gemeinschaftsprojekts ist es, mit an diesem Modellorganismus gewonnen Erkenntnissen über die Entwicklung der Wirbeltiere einen biomedizinischen Fortschritt im Bereich humaner Erbkrankheiten zu erzielen. So erhoffen sich Demenzforscher beispielsweise neue Erkenntnisse oder Behandlungsmethoden für neuronale Erkrankungen, da der Zebraabärbling eine besondere Fähigkeit zur Regeneration gestörter oder defekter Nerven besitzt. Im Bereich der Krebsforschung wird zudem das Streuverhalten von Krebszellen intensiv untersucht. Dabei hilft vor allem eine spezielle Form des Zebraabärblings, die durch Kreuzung zweier genetisch veränderter Stämme die Pigmentierung verloren hat, so dass eine direkte Beobachtung des Zellwachstums am lebenden Organismus möglich ist.

2.2 Ökotoxikologie

In der Ökotoxikologie werden die Wechselwirkungen zwischen Chemikalien, vor allem anthropogen hergestellten Schadstoffen (Xenobiotika), aber auch natürlichen Toxinen mit der belebten Umwelt untersucht. Ziel dabei ist es, an Modellorganismen die Wirkung sowie die Wirkkonzentrationen dieser Stoffe zu ermitteln (GUNKEL 1994). Auf diesem Forschungsgebiet werden Versuchstiere seit langem in normierten Toxizitätstests eingesetzt um die physikalisch-chemischen Eigenschaften einer Substanz, ihre Akkumulation und ihren Abbau zu untersuchen sowie die Effekte auf biologische Systeme, insbesondere die menschliche Gesundheit zu prüfen. Hinsichtlich der Wirkkonzentrationen von Substanzen geben einschlägige Richtlinien rechtsverbindliche Grenzwerte an, nach denen die Toxizität klassifiziert wird (OECD 1981). Unterdessen hat die Europäische Union diese Richtlinien aufgenommen und zum Schutz von Mensch und Umwelt eine weitreichende Chemikalienverordnung unter der Bezeichnung REACH (= Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) erlassen (EUROPÄISCHE UNION 2007). Dieses Mantelgesetz basiert auf dem Grundsatz der Eigenverantwortung von Herstellern, Händlern und Transporteuren, die gemäß dem Vorsorgeprinzip die Beurteilung des Umweltrisikos resp. der Umweltverträglichkeit von neuen Substanzen und herkömmlichen Chemikalien selber vorlegen müssen. Dieser Prüfungsauftrag umfasst auch Altstoffe, die mehr als 99 % der bisher in die Umwelt gelangten Substanzen ausmachen. Als EU-Verordnung ist die Mantelverordnung in den Mitgliedstaaten wie auch in Deutschland unmittelbar geltendes Recht, muss allerdings noch in den nationalen Gesetzen wie dem Abwasserabgabengesetz verankert werden. Gemäß REACH ist eine valide Beurteilung des ökotoxikologischen Wirkpotenzials einer Chemikalie oder von Umweltproben nunmehr durch Kombination verschiedener, standardisierter und nach DIN-Vorschriften genormter Testverfahren auf biochemischer bzw. molekularbiologischer Ebene sowie anhand ausgewählter Testorganismen möglich. Hierbei kommen Toxizitätstests mit Wasserflöhen (Daphnien) und vor allem mit Zebrafärblingen zum Einsatz, um das Ausbreitungs-, Akkumulations- und Abbauverhalten chemischer Substanzen zu ermitteln. Auch die Bewertung des toxischen Potenzials einer Substanz in Gewässern, z. B. zur Festlegung der Wassergefährdungsklasse erfolgt auf der Basis solcher Toxizitätstests:

- Als eines der ersten Testverfahren für Xenobiotika wurde die akute Fischtoxizität anhand der tödlichen Wirkung einer Testsubstanz auf Jungfische bestimmt. Als Maß für die akute Toxizität galt der LD₅₀-Wert: Dieser entspricht der Konzentration einer Chemikalie im Wasser nach einmaliger bzw. kurzzeitiger Verabreichung, bei der innerhalb eines bestimmten Zeitraums 50 % der Versuchsfische sterben.
- Chronische Wirkweisen von Chemikalien auf Fische werden mit dem umfassenderen Life Cycle Test (kurz: LCT) getestet, bei dem die Wirkung einer chemischen Substanz über zumindest eine Generation des Testorganismus untersucht wird. Der LCT betrachtet dabei vor allem die Fertilität der Elterntiere, deren Fortpflanzungserfolg sowie die Qualität der Nachkommen (OECD 1992).
- Zur Minimierung des Verbrauchs von Fischen, wird zunehmend der Zebrabärbling-Embryotest eingesetzt. Dieser Fish Early Life Stage Test (kurz: FELS) ermöglicht die Bestimmung von schädlichen Wirkungen, noch bevor der Testorganismus die zur Wahrnehmung von Schmerzen erforderlichen Strukturen wie das Zentralnervensystem, die Haut oder periphere Sinnesorgane ausgebildet hat. Auf Grund der besonders empfindlichen Reaktion der frühen Entwicklungsstadien von Fischen gegenüber Belastungen durch Xenobiotika werden hierbei verschiedene Embryonalstadien, Dottersacklarven und freischwimmende Larven des Zebrabärblings auf Veränderungen in ihrer Entwicklung hin untersucht (McKIM 1985, WESTERNHAGEN 1988).
- Vor dem Hintergrund ethischer Bedenken gegenüber der Forschung an Embryonen, wurde im Jahr 2004 der so genannte DIN-Fischeitest gesetzlich eingeführt, bei dem die Wirkweisen von Xenobiotika auf befruchtete Fischeier in Hinblick auf die Schlupfrate sowie Deformationen, Mortalität und Wachstum der geschlüpften Larven untersucht werden (DIN 38415-6).

2.3 Verhaltensbiologie und Sinnesphysiologie

Das Verhalten von Tieren ist der komplexe Ausdruck einerseits von erbten sowie andererseits von erfahrungsbedingten, also erlernten Lebensäußerungen, die maßgeblich durch die Umwelt sowie die Sinnesleistungen des Tieres beeinflusst werden. Vor allem in der Biologie wird das Verhalten von Tieren (Ethologie) sowie die Funktion und Empfindlichkeit ihrer Sinnesorgane (Sinnesphysiologie) mit dem Ziel erforscht, ihre Verhaltensäußerungen zu verstehen. Im Rahmen zumeist langwieriger verhaltensbiologischer Studien mit aquatischen Tieren werden Einzelindividuen oder Gruppen gleicher oder gemischter Artzusammensetzung unter konditionierten Bedingungen in einsehbare kleine, wie auch großskalige Aquarien oder durchströmte Gerinne gesetzt. Sodann werden den Tieren einzelne Reize verabreicht oder ihre Umweltbedingungen gezielt verändert, um ihre Reaktionen wie Flucht oder Neugier auf die gegebene Situation zu untersuchen. Die für solche Forschungen benötigten Versuchstiere werden ihrem natürlichen Lebensraum entnommen, weshalb nicht auszuschließen ist, dass sie durch die Handhabung und Durchführung der Tests gestresst werden. Deshalb fallen Verhaltensbeobachtungen mit aquatischen Organismen selbst dann unter die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, wenn den Tieren keine Leiden oder Schmerzen in Folge von Eingriffen zugefügt werden.

Eine neue transdisziplinäre Richtung der Verhaltensforschung stellt die Ethohydraulik dar, mit der Erkenntnisse über die Verträglichkeit wasserbaulicher Bauwerke oder flussbaulicher Maßnahmen gegenüber aquatischen Organismen erarbeitet werden, die sich in Felduntersuchungen nicht oder allenfalls mit enormem technischen Aufwand gewinnen ließen. Die Ethohydraulik wird darüber hinaus für die Entwicklung und Optimierung von Anlagen genutzt, die fisch- oder gewässerökologischen Zwecken dienen sollen, z. B. Fischaufstiegsanlagen, Fischschutz- und Fischabstiegsanlagen. Stets gilt es dabei, aus dem Gesamtrepertoire der artspezifischen Verhaltensweisen (Ethogramm) jene reproduzierbaren Reaktionen und Verhaltensmuster zu identifizieren, die als Antworten der Tiere auf die jeweils gebotene konstruktive/hydraulische Situation zu verstehen sind. In einem weiteren Schritt werden dann die ursächlich für die jeweilige Reaktion verantwortlichen Parameter identifiziert und ihre Werte gemessen. Auf diese Weise lassen sich Regeln und Grenzwerte für die

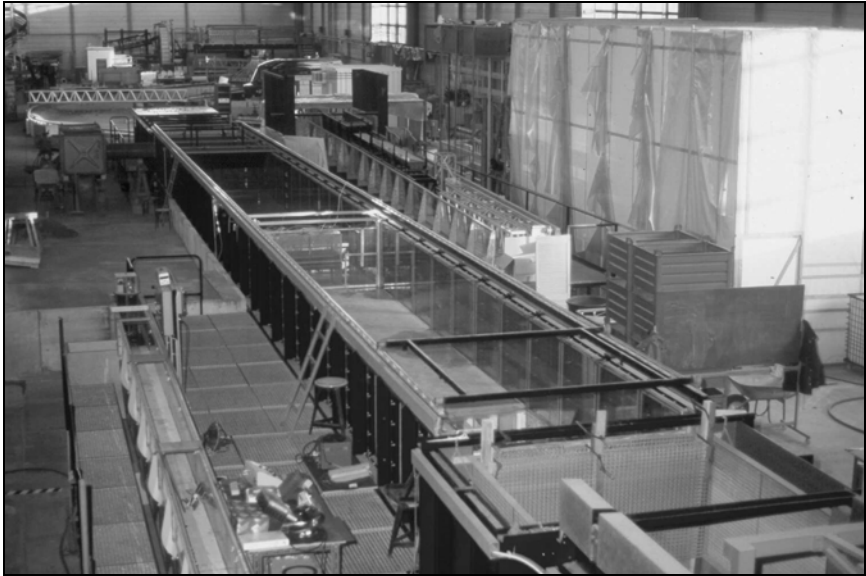


Abbildung 2: 30 m langes, 2 m breites, 1,2 m hohes und beidseitig verglastes wasserbauliches Modellgerinne der Universität Darmstadt, das ideal geeignet ist für Verhaltensbeobachtungen mit aquatischen Organismen unter Strömungsbedingungen

wasserbauliche Praxis ableiten, um die Bedürfnisse der aquatischen Fauna besser berücksichtigen zu können (ADAM & LEHMANN 2011). Von besonderer Bedeutung sind hierbei hydraulische Parameter wie Fließgeschwindigkeit und Turbulenzgrad, weshalb ethohydraulische Untersuchungen in der Regel in durchströmten wasserbaulichen Modellgerinnen durchgeführt werden (Abb. 2).

Für die Durchführung ethohydraulischer Untersuchungen (Abb. 3 und 4) werden aquatische Tiere benötigt, die aus natürlichen Gewässern stammen; unter Laborbedingungen aufgezogene oder gar genetisch veränderte Tiere sind für solche Studien ungeeignet, da von ihnen nicht dieselben Verhaltensreaktionen zu erwarten sind, wie von freilebenden Artgenossen.



Abbildung 3: Stromabwärts schwimmender Gemischtartenschwarm in einem Modellgerinne



Abbildung 4: Wollhandkrabbe im ethohydraulischen Test

Bei der Durchführung ethohydraulischer Tests ist dafür zu sorgen, dass die Versuchstiere nicht geschädigt oder verletzt werden. Dies erfolgt z. B. durch Installation ausreichend feiner Schutzgitter, um die Tiere daran zu hindern, aus dem Modellgerinne in das Wasserreservoir oder die Pumpen zu geraten, die die Strömung erzeugen. Darüber hinaus ist z. B. bei Tests zur Ermittlung von Schädigungsrisiken für Fische infolge wasserbaulicher Anlagen zu gewährleisten, dass die Probanden nicht in direkten Kontakt mit den sie gefährdenden Anlagenteilen geraten. Entsprechend sind solche gefährlichen Bereiche mit einer Einhausung zu versehen (Abb. 5). Für solche Tests ist stets auch zu prüfen, ob im Sinne des nach Tierschutzgesetz geforderten „Replacements“ anstelle lebender Tiere auch Dummies eingesetzt werden können (Kap. 2, Abb. 6).

In der Sinnesphysiologie wird die Funktion und Empfindlichkeit der Wahrnehmungsorgane aquatischer Organismen untersucht. Vor allem Neunaugen und Fische verfügen nicht nur über einen hoch entwickelten Seh-, Tast-, Hör-, Geschmacks- und Geruchssinn, sondern besitzen zudem einen Sinn zur Wahrnehmung von Druckgradienten im Wasser. Mit diesem außerordentlich empfindlichen Seitenlinienorgan sind sie in der Lage Strömungen wahrzunehmen und sich so selbst bei Dunkelheit und Trübung sicher und über große Distanzen zu orientieren. Etliche Fischarten verfügen zudem über die Fähigkeit elektrische Felder nicht nur zu erzeugen, sondern im Dienste der Orientierung auch präzise zu verorten.

Im Labor wird an lebenden Tieren oder isolierten Sinnesorganen untersucht, welche Stimuli in welcher Stärke an den jeweiligen Sinneszellen Aktionspotenziale im Sinne einer neuronalen Antwort auslösen. Zur Ableitung dieser elektrischen Signale werden die zu untersuchenden Sinneszellen oder Nerven mit feinen Elektroden punktiert. Sowohl die Applikation solcher Sensoren am lebenden Tier, als auch die Tötung von Probanden zum Zweck der Organentnahme bedarf einer tierschutzrechtlichen Genehmigung. Da es sich bei diesen Arbeiten um Grundlagenforschung handelt, spielen Konstitution und Motivation des Versuchstieres nur eine untergeordnete Rolle. Deshalb werden in diesem Forschungsbereich vor allem Tiere aus künstlicher Aufzucht und Haltung eingesetzt, wodurch haltungsbedingter Stress und daraus resultierende Beeinträchtigungen der Versuchstiere vermindert werden.

Zum Umgang mit aquatischen Organismen

Versuchstierkundliche Grundlagen

Adam, B.; Schürmann, M.; Schwevers, U.

2013, IX, 188 S. 113 Abb., 40 Abb. in Farbe., Softcover

ISBN: 978-3-658-01537-4