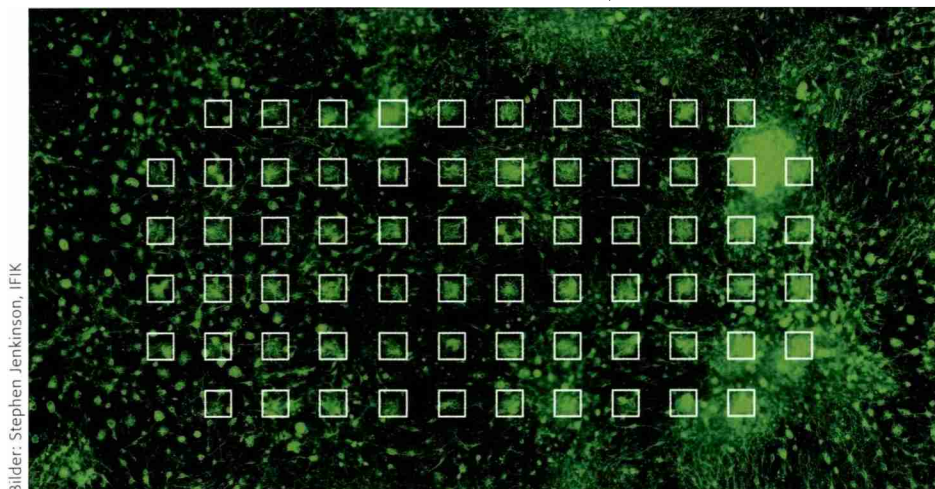




› Botulinumnachweis ohne Tierversuche Maus-Stammzellen auf Chip

Forschende des Instituts für Infektionskrankheiten der Universität Bern haben auf einem Chip einen Test entwickelt, der auf Maus-Stammzellen basiert und fähig ist, das Nervengift Botulinum nachzuweisen. Bisher benötigte man dafür hauptsächlich Tierversuche. Der neue Test könnte nun einerseits diese Tierversuche reduzieren und andererseits dazu dienen, weitere gefährliche Stoffe nachzuweisen..



Bilder: Stephen Jenkinson, IFIK

Neuronen, die auf einem MEA gewachsen sind und ein Netzwerk gebildet haben (grün). Die einzelnen Elektroden der MEA sind mit weissen Quadraten hervorgehoben.

Das Nervengift Botulinumtoxin, auch unter dem handelsüblichen Namen Botox bekannt, wird vom Bakterium *Clostridium botulinum* produziert und ist von allen heute bekannten natürlich vorkommenden Toxinen das stärkste. In kleinen Dosen eingesetzt, verursacht es eine lokale Lähmung, was für die Behandlung von zahlreichen Krankheiten genutzt werden kann, zum Beispiel für verschiedene Formen der Dystonie (Überdehnung von Organen), chronische Schmerzen, Kopfschmerzen, übermässige Schweißbildung oder starkes Schielen. Am häufigsten wird es gegenwärtig jedoch für ästhetische Behandlungen eingesetzt, um etwa Zornesfalten zu mindern. Diese Art der Verwendung ist in den letzten Jahrzehnten stark gestiegen. Da das Botulinumtoxin von Bakterien her-

gestellt wird und somit eine natürliche Substanz ist, können sowohl die Konzentration als auch die Aktivität des Toxins in pharmazeutischen Produkten stark variieren. Da diese pharmazeutischen Präparate bei den nationalen Gesundheitsbehörden als Arzneimittel zugelassen sind, muss jedes Endprodukt getestet werden, um die Patientensicherheit zu gewährleisten. Bislang wurden hauptsächlich Mäuse eingesetzt, um die Stärke von biologisch aktivem Botulinumtoxin zu testen. In einem sogenannten Mouse Bioassay (MBA), der in den 1920er-Jahren eingeführt wurde, werden den Mäusen unterschiedliche Konzentrationen des Botulinomtoxin injiziert und Lähmungserscheinungen über vier Tage beobachtet.



Jährlich Aktivitätstests an 600 000 Mäusen

Aufgrund der enormen Nachfrage nach pharmazeutischen Mitteln, die Botulinumtoxin enthalten, gehen Schätzungen von rund 600 000 Mäusen aus, die jährlich in den USA und Europa für diese Tests eingesetzt werden. Die grosse Anzahl der Tiere und ihr Leiden rufen grosse ethische Bedenken hervor. Daher wird intensiv nach einer Möglichkeit gesucht, diese MBA zu ersetzen. Nun gibt es eine vielversprechende Alternative, die von Stephen Jenkinson, einem Doktoranden im Labor von Stephen Leib am Institut für Infektionskrankheiten der Universität Bern, und in Zusammenarbeit mit dem Labor Spiez des Bundesamts für Bevölkerungsschutz, entwickelt wurde.

Nervenzellen gezüchtet

In ihrer Studie setzten die Forscher sogenannte Multielektrodenarrays (MEA) ein, mit denen die elektrische Aktivität von Nervenzellen gemessen werden kann. Dabei gelang es ihnen, aus embryonalen Stammzellen von Mäusen in vitro Nervenzellen auf den MEA-Chips zu züchten. Diese Kulturen bildeten funktionale Netzwerke mit einer heterogenen Mischung aus signalübertragenden und signalunterdrückenden Nervenzellen. Nach einer 24-stündigen Behandlung mit Botox kam es zu einem totalen Stillstand der Signalübermittlung in den Zellen. Damit haben die Forscher eine physiologisch relevante zellbasierte Methode geschaffen, um das Botulinumtoxin und ähnlich strukturierte Nervengifte nachzuweisen. «Der Nachweis der biologischen Aktivität des Botulinumtoxin in pharmazeutischen Präparaten ist sehr schwierig, da es einen mehrstufigen Mechanismus der zellulären

Vergiftung gibt und das Toxin sehr potent ist», sagt Jenkinson. Bisherige Methoden konnten zwar ebenfalls mittels zellbasierter Tests das Botulinumtoxin nachweisen und somit als Alternative zu Tierversuchen dienen. Die meisten dieser Tests benötigen jedoch aufwendig Schritte, um das Nervengift nachzuweisen. Da sie auch zusätzliche Hilfsmittel brauchen dauern die Tests dadurch länger. «Mit diesen Methoden war es zudem nicht möglich, die neuronale Aktivität während einer Behandlung mit Botulinumtoxin kontinuierlich zu beobachten», erklärt Stephen Leib.

Einfach einzusetzen und ausbaufähig

Der Hauptvorteil der neuen Methode laut den Forschenden ist, dass durch das Kultivieren von stammzellbasierten Nervenzellen auf MEA Tierversuche überflüssig werden könnten. Ausserdem ermöglichen es die MEA-Aufnahmetechniken, die neuronale Aktivität laufend und nicht-invasiv zu beobachten. Dieser neue Ansatz kann laut den Forschern auch eingesetzt werden, um in sogenannten Hochdurchsatz-Screenings das Aufspüren von anderen neuroaktiven Substanzen zu ermöglichen. «Ein weiterer Vorteil unserer Methode ist, dass im Handel erhältliche MEA-Chips einfach zu handhaben sind und es dafür kein hochqualifiziertes Personal braucht», sagt Jenkinson.

Obwohl die neue Methode eine hohe Empfindlichkeit aufweist und das Botulinumtoxin bis hinunter zu einem Pikomolar (einem Billionstel Molar) nachgewiesen werden kann, braucht es weitere Untersuchungen, um die Empfindlichkeit noch weiter zu erhöhen. Dennoch sind Jenkinson und Leib überzeugt, dass der neue



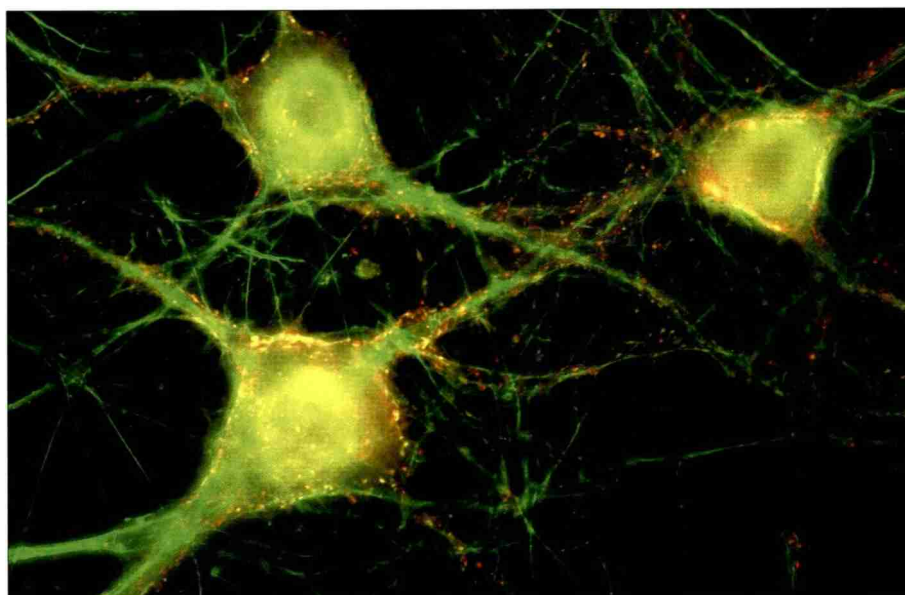
Test ein hohes Potenzial hat, Tierversuche zu reduzieren. Zudem kann er ausgeweitet werden, um weitere neuroaktive Substanzen, die einen Effekt auf die synaptische Übertragung haben, nachzuweisen.

Originalpublikation

Jenkinson, S.P. et al. «Embryonic Stem Cell-Derived Neurons Grown on Multi-Electrode Arrays as a Novel In vitro Bioassay for the Detection of Clostridium botulinum Neurotoxins», *Frontiers in Pharmacology* 2017, 8 (73); DOI: 10.3389/fphar.2017.00073.

Kontakt

Prof. Dr. Med. Stephen L. Leib
Universität Bern
Institut für Infektionskrankheiten (IfIK)
Friedbühlstrasse 51
CH-3010 Bern
Telefon +41 (0)31 632 49 49
stephen.leib@ifik.unibe.ch
www.unibe.ch



Vergrößerung der neuronalen Kultur. In grün sind wiederum Strukturen der Neuronen ersichtlich. Die gelben und roten Punkte zeigen die «Angriffspunkte» des Botulinumtoxins (Rezeptoren), an denen es andockt, um in die Nervenzelle zu gelangen.