

Technical University of Denmark



## 3R-aktiviteter i forskningsgruppen for molekylær- og reproduktionstoksikologi ved DTU Fødevareinstituttet

**Svingen, Terje; Wedebye, Eva Bay; Dybdahl, Marianne; Christiansen, Sofie; Svingen, Terje**

*Published in:*  
2017 Årsrapport - Danmarks 3R-center

*Publication date:*  
2017

*Document Version*  
Også kaldet Forlagets PDF

[Link back to DTU Orbit](#)

*Citation (APA):*  
Svingen, T., Wedebye, E. B., Dybdahl, M., Christiansen, S., & Svingen, T. (2017). 3R-aktiviteter i forskningsgruppen for molekylær- og reproduktionstoksikologi ved DTU Fødevareinstituttet. I 2017 Årsrapport - Danmarks 3R-center (s. 59-63). Glostrup: Danmarks 3R-Center.

## DTU Library

Technical Information Center of Denmark

---

### General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

# 3R-AKTIVITETER I FORSKNINGS-GRUPPEN FOR MOLEKYLÆR- OG REPRODUKTIONSTOKSIKOLOGI VED DTU FØDEVAREINSTITUTTET

De seneste to år har vi bedt henholdsvis Aarhus Universitet og 3R-afdelingen på Novo Nordisk om at beskrive deres arbejde med de 3R'er til vores årsrapport. I år har vi bedt forskningsgruppen for Molekylær og Reproductiv Toksikologi på DTU Fødevareinstitutet om at beskrive deres indsats med et integreret arbejde med de 3R'er i anvendelsen af både computer-, celle- og dyremodeller. Vi hører rigtigt gerne fra andre institutioner, som gerne vil beskrive, hvordan de gør en forskel på 3R-området.

---

---

### Af Eva Bay Wedebye, Marianne Dybdahl, Sofie Christiansen & Terje Svingen

Traditionelt set har dyreforsøg spillet en stor rolle i kemikalie- vurderinger, og nogle spørgsmål kan stadig kun besvares vha. dyreforsøg. I vores gruppe på DTU Fødevareinstituttet forsker vi imidlertid blandt andet i at udvikle dyre-fri metoder for således at bidrage til et paradigmeskifte i, hvordan kemikalier kan risikovurderes i fremtiden.

Gruppen for Molekylær- og Reproduktions-toksikologi er en stor, multidisciplinær forskningsgruppe ved DTU Fødevareinstituttet. Vores overordnede ambition er at beskytte mennesker mod mulige sundhedsskadelige effekter, der kan opstå, når de udsættes for miljøkemikalier. Vi har en lang tradition for at undersøge især potentielle sundhedsskadelige effekter, der opstår, når et foster bliver udsat for kemikalier med hormonforstyrrende effekter.

For både at kortlægge hvilke effekter forskellige stoffer har og at rådgive myndigheder og andre om, hvorledes mennesker bedst kan beskyttes mod disse effekter, benytter vi forskellige strategier, der sammen bidrager til bedst muligt at opnå disse mål. Vi har en holistisk tilgang og anvender computermodeller, cellebaserede metoder og dyreforsøg til at belyse problemstillingen. Vi udfører dog kun dyreforsøg, hvor det er nødvendigt og bestræber os hele tiden på at basere vores forskning og rådgivning på 3R-principperne. Således arbejder gruppen på at finde alternativer til dyreforsøg (Replacement), udvikle metoder, der bruger så få dyr som muligt, og sikre, at man får mest ud af de forsøgsdyr, det stadigvæk er nødvendigt at anvende (Reduction), og at dyrene samtidig får de bedst mulige forhold (Refinement).

#### In silico-tilgang

Vores forskningsgruppe har igennem to årtier udviklet mange *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) computermodeller, til at forudsige kemikaliers sundhedsskadelige

virkninger ud fra deres kemiske struktur. Vores database med QSAR-forudsigelser gjorde vi i 2015 frit tilgængelig på internettet (qsar.food.dtu.dk). Modellerne bygger på tidligere resultater fra både menneske-, dyre- og cellemodeller.

Vi bruger QSAR-forudsigelser i vores vurderinger af kemikalier – som oftest sammen med information fra andre alternative metoder eller med historiske data fra dyreforsøg, der ikke har tilstrækkelig kvalitet til at stå alene. Modelforudsigelserne kan bruges til prioriteringer, så fokus rettes på de mest problematiske kemikalier, og de kan hjælpe i design af mere sikre kemikalier, der har mindre risiko for senere at vise sig problematiske med omfattende dyreforsøg til følge.

Vi udvikler og anvender også andre *in silico*-metoder i forskningsgruppen – eksempelvis såkaldt *physiologically based kinetic* (PBK) modellering. Med PBK-modeller kan man forudsige de kemiske stoffers skæbne i kroppen, dvs. absorption, fordeling, omsætning og udskillelse. Disse ting ligger integreret i dyremodellen, når man udfører dyreforsøg, og er vigtige også at dække i en alternativ tilgang baseret på cellebaserede forsøg og såkaldte non-test metoder.

#### In vitro-tilgang

En anden vigtig del af gruppens forskning foregår ved hjælp af cellebaserede (*in vitro*) testmetoder. De er primært baseret på celler fra mennesker, men nogle gange også fra dyr. Disse cellebaserede testmetoder er ofte særligt velegnede til at sige noget om, hvordan kemiske stoffer påvirker kroppen på molekylært plan og derved kan give anledning til uønskede effekter. Da kemiske stoffer kan påvirke mennesker på mange forskellige måder, har gruppen haft fokus på at opbygge en bred vifte af *in vitro*-testmetoder, der tilsammen dækker mange forskellige mekanismer.

Eftersom forsøg baseret på celler fra mennesker forventes at være bedst egnet til at forudsige effekter i netop mennesker, drejer en del af gruppens forskning sig om at udvikle nye og flere *in vitro*-metoder baseret på sådanne celler – eksempelvis humane stamceller. Det er især indenfor vores forskning i hormonforstyrrende effekter, at vi benytter os af *in vitro*-modeller, og her har vi etableret et panel af metoder til at undersøge effekter på bl.a. kønshormonerne og thyroideahormonerne. Vi udbygger løbende panelet af metoder med henblik på at dække flere relevante mekanismer. Andre tilgange som vi bruger i gruppen til at belyse underliggende mekanismer, er såkaldte *omics*- og *high-content* teknologier.

### In vivo-tilgang

Når computerberegninger og *in vitro*-testning ikke i sig selv giver nok viden til at kunne beskytte befolkningen mod mulige skadelige effekter fra miljøkemikalierne, har vi på DTU Fødevareinstituttet dyreforsøgsfaciliteter, der er indrettet til at kunne udføre dyreforsøg. Disse forsøg kan bidrage med oplysninger om farlige eller gavnlige virkninger af kostfaktorer, kemiske stoffer og produkter samt mikroorganismer – herunder gensplejsede mikroorganismer. I vores gruppe laver vi reproduktionsforsøg i drægtige dyr og ser på effekter af forskellige kemiske stoffer i afkommet. Fordelen ved *in vivo*-eksperimenter er, at man kan måle virkningen på hele organismen eller det udviklende foster.

Der anvendes mange forskellige dyreeksperimentelle metoder til at undersøge, om kemiske stoffer kan påvirke fostre og afkom. Mange af disse metoder er standardiserede, og fx har OECD udviklet guidelines (vejledende metodeforskrifter), som foreskriver, hvordan man bruger metoderne. Metoderne anvendes til regulatorisk testning af kemiske stoffer.



### Det overordnede perspektiv

Udviklingen indenfor molekylærbiologi og toksikologi vil fremover bane vejen for også at udvikle bedre alternative metoder til kemikalievurdering. Brugen af traditionelle dyreforsøg til farevurdering af kemikalier vil efterhånden blive erstattet eller suppleret med brugen af alternative metoder såsom *in vitro*-undersøgelser og computerbaserede forudsigelser. Derudover forventes der med tiden at blive anvendt mere målrettede dyreforsøg i tilfælde, hvor de ikke kan undværes. Transformationen er allerede i gang, og vi bidrager aktivt til arbejdet bl.a. sammen med Miljøstyrelsen i OECD og EU-regi.

### Bidrag til det internationale arbejde

Vores forskningsgruppe deltager aktivt i OECD's arbejde med udvikling af *Adverse Outcome Pathways* (AOP) og *Integrated Approaches to Testing and Assessment* (IATA). En AOP beskriver på en systematisk måde for hver enkelt skadelig effekt, den tilgængelige viden om de biologiske mekanismer, der fører til effekten. Ved at klarlægge sammenhænge og tilgrundliggende mekanismer vil man kunne udnytte relevant mekanistisk viden fra fx cellebaserede metoder og QSAR til at forudsige skadelige effekter i mennesker. AOP'er, der dækker en lang række forskellige effekter indenfor fx kræft samt skader på reproduktion og nervesystem, er frit tilgængelige på AOP-wiki hjemmesiden ([aopwiki.org/](http://aopwiki.org/)).

IATA kombinerer al tilgængelig information fra både *in silico*-, *in vitro*- og *in vivo*-studier i forbindelse med en kemikalievurdering. Den kombinerede brug af metoderne kan styrke fortolkningen af de individuelle data, og IATA kan derfor medføre, at myndighederne i højere

grad vil anvende data fra alternative metoder. IATA kan også guide en teststrategi, hvor nye eksperimentelle undersøgelser er påkrævet. Vi bidrager sammen med Miljøstyrelsen til OECD's arbejde, bl.a. i forhold til udvikling af vejledninger vedrørende brug af IATA, der skal sikre, at myndighederne anvender mekanistisk viden på en ensartet måde.

OECD's Test Guideline Program (TGP) udvikler internationalt anerkendte standard-testmetoder, der benyttes ifølge kemikalielovgivningen. Vores gruppe har siden 2010 stået for en af de to nationale (danske) koordinatore for OECD testguidelineprogrammet. Når en test er gennemført med en OECD testmetode, vil medlemslandene gensidigt acceptere de data, som bliver genereret i testen. Det betyder, at firmaer ikke behøver teste deres stoffer for de samme effekter i forskellige

forsøgsdesigns, alt afhængig af hvor på kloden stofferne anvendes. En række *in vitro*-metoder er udviklet som OECD test-guidelines, og vores forskningsgruppe deltager aktivt i dette arbejde. Det tager ofte flere år at validere, standardisere, kommentere og vedtage disse metoder.

Vores forskningsgruppe har også været meget aktiv i arbejdet med at udvikle nye og forbedre eksisterende *in vivo*-reproduktionsguidelines med forskellige hormonrelevante effektmål – såkaldte endpoints. Ved på denne måde at udvide testmetoderne, kan de nu i meget højere grad end tidligere bruges til at bedømme kemiske stoffers mulige hormonforstyrrende effekter. Denne forbedring (Reduction) bliver foretaget uden at bruge flere dyr, end dem der allerede er i forsøget.

## QSAR TOOLBOX + DATABASE

Vi har i mange år arbejdet på at øge anvendelsen af QSAR og andre dyrefri metoder i de internationale vurderinger af kemikalier i EU og OECD. Det gør vi sammen med Miljøstyrelsen ved at demonstrere, hvordan metoderne kan bruges, når vi eksempelvis bidrager til vurderinger af konkrete stoffer eller til prioriteringsøvelser, ligesom vi bidrager til interna-

tionale vejledninger på området. I OECD har vi været en aktiv spiller i forhold til at bringe øget myndighedsbrug af dyrefri metoder på dagsordenen, og vi bidrager til arbejdet med eksempelvis at udvikle OECD's og EU's QSAR Toolbox, som alle frit kan bruge til deres alternative kemikalievurderinger.

**Danmarks 3R-Center**

Stationsparken 31

2600 Glostrup

7227 6900

[info@3rcenter.dk](mailto:info@3rcenter.dk)

[www.3rcenter.dk](http://www.3rcenter.dk)

ISBN 978-87-93147-11-9

Tryk: Litotryk

Layout: Essensen

## KORT OM DANMARKS 3R-CENTER

Danmarks 3R-Center er et samarbejde mellem Miljø- og Fødevarerministeriet, Dyrenes Beskyttelse, Dyreværnsorganisationernes Samarbejdsorganisation (DOSO), LEO Pharma, Lundbeck og Novo Nordisk. Danmarks 3R-Center arbejder for at fremme de 3R'er i Danmark og dermed sætte fokus på alternativer til dyreforsøg og skabe endnu bedre forhold for forsøgsdyrene.

### DYRENES BESKYTTELSE

”Dyrenes Beskyttelses holdning til forsøgsdyr er, at anvendelse af forsøgsdyr skal begrænses mest muligt. Derfor støtter Dyrenes Beskyttelse aktivt Danmarks 3R-Centers arbejde med at erstatte, begrænse og forfine brugen af forsøgsdyr. Ikke mindst har vi stor tiltro til, at arbejdet med fremme udvikling af og kendskabet til alternativer til forsøgsdyr vil bidrage til, at Dyrenes Beskyttelses ønske om afvikling af forsøgsdyr kan opnås.”

### DYREVÆRNSORGANISATIONERNES SAMARBEJDSORGANISATION (DOSO)

”DOSO's overordnede mål er afskaffelse af dyreforsøg. Derfor arbejder DOSO aktivt for at fremme udarbejdelse, validering og implementering af alternativer til dyreforsøg ud fra princippet om de 3R'er. En aktiv indsats og støtte til Danmarks 3R-Center er en god mulighed for at nå målet.”

### LEO PHARMA

”Mange af vores tests og forsøgsmodeller inden for udviklingen af lægemidler til behandling af hudlidelser er delvist erstattet af laboratorietests. For med sikkerhed at kunne vurdere lægemidlers effektivitet, samt opfylde myndighedskravene, er vi dog fortsat nødt til at anvende forsøgsdyr i udviklingen af lægemidler. På LEO Pharma er vores ”animal welfare policy” centreret omkring de 3R'er, og vi har initiativer i gang til at begrænse, erstatte og forfine brugen af forsøgsdyr mest muligt. Derfor er en naturlig del af denne politik at støtte det nationale 3R-center for at øge ressourcerne inden for de 3R'er.”

### LUNDBECK

”For at kunne udvikle sikre og effektive lægemidler, er vi på Lundbeck nødt til at anvende forsøgsdyr. Vi stræber efter kontinuerligt at optimere forholdene for disse dyr, og benytter alternative metoder, når det er muligt. Det var derfor et naturligt valg for os at støtte Danmarks 3R-Center, således at vi kan være på forkant med udviklingen indenfor de 3R'er. Gennem dette samarbejde støtter vi den fortsatte udvikling af alle 3R'er, samtidig med at vi holder os orienteret om nye idéer og tiltag, som kan komme vores forsøgsdyr til gode.”

### NOVO NORDISK

”Det er endnu ikke muligt at udvikle medicin, der er effektiv og sikker for patienter, uden brug af forsøgsdyr. Novo Nordisk og Danmarks 3R-Center har samme ønske om at fremme udviklingen af alternativer til dyreforsøg; begrænse brugen af forsøgsdyr; forbedre forholdene for forsøgsdyr samt at formidle viden om alternativer til dyreforsøg. Novo Nordisk arbejder aktivt for at opnå disse mål og støtter derfor også aktivt Danmarks 3R-Center.”