

Versuchstier des Jahres 2017:

Die Ratte



Foto: svet110, Fotolia.com

Eine Gruppe von Farbratten in Erwartung,
was da kommen mag.

Inhalt

Versuchstier des Jahres 2017: Die Ratte	3
Die Ratte: Stellvertreterin und Nahrungskonkurrentin	3
Kurzportrait Ratte	4
Ratten in der Natur	4
Ratten im Labor.....	5
Tierversuchszahlen	6
Rückgang bei regulatorischen Tests, Zunahme bei Grundlagen- und translationaler Forschung	7
Verwendung von Ratten zu regulatorischen Zwecke und Routineproduktion	8
Die Ratte im Tierversuch	9
Weshalb die Ratte?	10
Tierversuche an Ratten im Rahmen von regulatorischen Testvorschriften	10
a) Subchronischer Inhalationstoxizitätstest nach OECD Testrichtlinie 413	10
b) In-vivo-Genotoxizitätstests nach OECD 486, 488, 489	11
c) Ratten in der Entwicklungsneurotoxikologie	12
Entwicklungsneurotoxikologische Studie (OECD Testrichtlinie 426)	12
Die Verwendung von Ratten in der Grundlagenforschung	16
a) Oxytocin-Rezeptoren bei Alkoholkonsum	17
b) Parkinsonerkrankung im Rattenmodell.....	17
c) Kognitionswissenschaftliche Tests an Ratten.....	17
Ratten in der translationalen/angewandten Forschung	18
a) Osteoarthritis-Modelle	18
b) Rheumatoide Arthritis (RA)-Modelle	19
Transgene Rattenmodelle	20
Einsatzbeispiel transgene Ratte	20
Neue Verfahren zum Ersatz von Tierversuchen an Ratten	21
Beispiele für Ersatzverfahren zum Rattenversuch für regulatorische Test	21
Initiative für einen Wegfall der akuten Toxizitätstests	21
Verzicht auf Tests des sogenannten „Six-Pack“	21
Ersatzverfahren für in-vivo-Langzeittoxizität	22
Ersatzverfahren für in-vivo-Inhalationstoxizität	23
Ersatzverfahren für in-vivo-Reproduktionstoxizität: noch nicht in Sicht	24
Ersatzverfahren für in-vivo-Entwicklungsneurotoxizitätstests	24
Toxikokinetik	24
Genotoxizität in-vitro	25
Rodent Dominant Lethal Test nach OECD 478 soll wegfallen	25
Ersatzverfahren in der translationalen Forschung	25
Grundlagenforschung: Ethische Erwägungen versus Forschungsfreiheit?	26
Bewertung	26
Rehoming: nicht nur für Affen, Katzen und Hunde möglich	27
Maßnahmenpaket umsetzen	28
Literatur	29

Versuchstier des Jahres 2017: Die Ratte

Seit 2003 ernennt der Bundesverband Menschen für Tierrechte das „Versuchstier des Jahres“. Diese jährliche Ernennung holt eine Tierart aus der Anonymität des Labors, macht die Versuche an diesen Tieren öffentlich, deckt Störfaktoren bei der Entwicklung tierversuchsfreier Verfahren auf und fordert deren Beseitigung ein. Durch die Diskussion soll das Versuchstier des Jahres dabei helfen, die Abschaffung der Tierversuche so schnell wie möglich zu erreichen.

Selten wird ein Tier so verkannt wie die Ratte. Viele bezeichnen sie als „Ungeziefer“ und lehnen sie gemeinsam mit Spinnen, Läusen, Flöhen, Motten oder Küchenschaben ab. Bei vielen Menschen scheint gar ein Ekel ähnlich dem gegen Spinnen ausgeprägt zu sein. Wer sich vor Ratten fürchtet, weiß eigentlich verstandesmäßig, dass ihm die Tiere nichts anhaben können. Während viele die Maus niedlich finden - die Bezeichnung „Maus“ ist als Kosewort in Gebrauch - benutzt man den Namen „Ratte“ als Schimpfwort, das Verschlagenheit und Hinterhältigkeit charakterisiert. Damit hat die Ratte selbst jedoch nichts zu tun.

Die Ratte: Stellvertreterin und Nahrungskonkurrentin

Das natürliche Verhalten von Kindern gegenüber Tieren wird allgemein als eher zutraulich und relativ angstfrei eingeschätzt. Wissenschaftler nehmen an, dass es zumindest keine angeborene Disposition für die Abneigung gegen über bestimmten Tierarten gibt. Jedoch gibt es kulturunabhängig typische Angst- und Ekeltiere wie die Schlange, Spinne oder Ratte. Die Abneigung ist insgesamt stärker bei Frauen als bei Männern ausgeprägt. Ekel ist analog zur Angst eine Art biologischer Schutzreflex, der sich aus der zivilisatorischen Entwicklung und früheren Erfahrungen mit Seuchen und Krankheiten erklärt, mit dem man sich beispielsweise von Exkrementen oder Abfällen distanzieren will. So wird zum Beispiel die Kanalisation mit der Ratte in Verbindung gebracht. Eine Intervention gegen die Ratte werde dadurch ohne weiteres in Kauf genommen, weil sich so das Vorurteil gegenüber der Tierart befriedigen ließe, schreibt Prof. Ulrich Gebhard von der Universität Hamburg⁽¹⁾.

Auch die Nahrungskonkurrenz zum Menschen spielt eine Rolle. In einer Denkschrift der Deutschen Forschungsgemeinschaft aus dem Jahr 1993 machen sich die Verfasser diesen Umstand zunutze und schreiben: "... Es ist aber auch nur wenigen bewußt, daß ... die weitaus meisten in Tierexperimenten verwendeten Wirbeltiere Ratten und Mäuse sind, die im ganzen Land dort bekämpft werden, wo sie in die Nähe der Menschen, ihrer Wohnungen und ihrer Vorräte kommen..."⁽²⁾

Im 17. Jahrhundert entwickelten Anatomen wie Marcello Malpighi das Analogieprinzip, wonach tierische Organe und Strukturen denen des Menschen entsprechen. Dieses Prinzip wurde im 19. Jahrhundert von Charles Darwin bestätigt und stellte die „wissenschaftliche“ Basis für die Verwendung von Tieren als Stellvertreter und Modell für den Menschen dar⁽³⁾. Erste Kritik am Tierversuch kam Ende des 18. Jahrhunderts, vor allem aber im 19. Jahrhundert durch die Tierschutzbewegungen zunächst in England auf. Doch noch heute dienen Tiere, allen voran Mäuse und Ratten, als Stellvertreterorganismen.

Bereits seit rund 200 Jahren sollen in der Forschung Ratten genutzt werden. Damit zählt sie zu den ersten Säugetieren, die für Tierversuche eingesetzt wurden⁽⁴⁾. Die Ratte steht seit spätestens Mitte der 90er Jahre gleich an zweiter Stelle in den Tierversuchstatistiken. Als Begründung ist häufig angegeben: „...Die Ratte ist das bevorzugte Tiermodell wegen ihrer vergleichsweise kurzen Lebensspanne, ihre Anwendung in der Pharmakologie und in toxiologischen Studien ist weit verbreitet, ihre Anfälligkeit für eine Tumorentwicklung ist hoch und ausreichend charakterisierte Stämme sind verfügbar. Eine Menge an Informationen über Physiologie und Pathologie der Ratte ist vorhanden...“⁽⁵⁾. Aber sind dies die ausschlaggebenden Gründe für die Verwendung der Ratte im Tierversuch?

In erster Linie sollte ein Versuchsmodell den Organismus repräsentieren, für den die Erkenntnisse aus den Versuchen gedacht sind. Und das ist in der Regel der Mensch. Nur 0,6 Prozent der Giftigkeitstests an Ratten dienen der Tiersicherheit. Lediglich 0,26 Prozent aller Tierversuche an Ratten in der Grundlagenforschung wurden durchgeführt, um Erkenntnisse über das Tierverhalten oder die Tierbiologie zu gewinnen. In der translationalen/angewandten Forschung ist es nicht besser: Nur 1,6 Prozent der Versuche hatten die Erforschung und Heilung von Tierkrankheiten oder -störungen zum Ziel.

Kurzportrait Ratte

Ratten in der Natur

Wander- und Hausratten sind Kulturfollower. Sie leben auf landwirtschaftlich genutzten Flächen und Gebäuden⁽⁶⁾. Wanderratten und die grazilere Hausratte stammen aus unterschiedlichen Biotopen. Die eigentlich ursprünglich baumbewohnende Hausratte besiedelt vorzugsweise Dachgeschosse und ist vorzugsweise Vegetarierin. Sie klettert gut. Die plumpere, grau-braun gefärbte Wanderratte, von denen die Farb- und im Labor eingesetzten Ratten abstammen, gräbt gerne in Ufernähe ihre Gangsysteme. Aus diesem Grund hält sie sich vorzugsweise gegebenenfalls in den unteren Etagen menschlicher Behausungen auf (Keller). Das Hörvermögen der Ratte liegt zwischen 20 Kilohertz und 1 Gigahertz und damit zum Teil im Ultraschallbereich, den der Mensch nicht wahrnehmen kann (menschlicher Hörbereich = 16 Hertz bis 21 Kilohertz (Kind) und 15000 Kilohertz (35-Jähriger)⁽⁷⁾. Die Ratte ernährt sich von Getreide und Früchten, bisweilen ist sie räuberisch und kann Futter aus dem Wasser fischen⁽⁸⁾. Wanderratten sind talentiert im Graben, Laufen, Klettern und Schwimmen⁽⁶⁾. Ratten leben von Natur aus in Gruppen mit enger sozialer Bindung. Die Gruppen sollen ihr Zusammenleben in einer Art Dreiklassensystem regeln. Innerhalb einer Klasse soll Gleichberechtigung bestehen. Mitglieder einer rangniederen Klasse unterwerfen sich den Ranghöheren Tieren. Es wurde beobachtet, dass innerhalb der einzelnen Klasse stärkere Männchen schwächeren, Weibchen und Jungtieren beim Futter den Vortritt lassen⁽⁹⁾. Andere Wissenschaftler beschreiben ein Zusammenleben in losen Kolonien. Die Hierarchie ist durch Größe und Alter der Tiere bestimmt⁽¹⁰⁾. Innerhalb der Kolonie gibt kleine Familien.

Die Populationsdichten von kolonisierenden im Freien lebenden Wanderratten sollen aus meist 100 Individuen pro Gruppe bestehen. Innerhalb von Siedlungsbereichen bilden sich meist Gruppen von rund 3 Tieren aus⁽⁶⁾. Wanderratten betreiben untereinander soziale Hautpflege⁽⁸⁾.

Männchen entfernen sich weiter vom Familienverband als Weibchen⁽¹¹⁾. Der Aktivitätsradius beträgt in Abhängigkeit von Geschlecht und Nahrungsverfügbarkeit 600 Meter bei männlichen und 240 Meter bei weiblichen Tieren. Innerhalb eines Siedlungsraumes ist dieser meist deutlich kleiner⁽⁶⁾. Wanderratten erkennen einander am Geruch⁽⁸⁾.



Foto links: In der Natur nicht gerade wasserscheu: die Wanderratte (*Rattus norvegicus*). Foto: Erni, Fotolia.com
Foto rechts: gräulere und dunklere Hausratte (*Rattus rattus*). Foto: Liftarn, Wikipedia.

Ratten im Labor

Die karge Käfighaltung ist nicht mehr erlaubt, mittlerweile gibt es Vorgaben zur Anreicherung der Käfige (sogenanntes „Environmental Enrichment“). Um die statistische Streuung von Tierversuchsergebnissen zu minimieren, werden alle Tiere unter standardisierten Bedingungen gehalten⁽¹²⁾. Als adäquater Lebensraum wird bei Ratten je nach Körpergewicht eine Mindestfläche pro Tier zwischen 200 cm² bis 600 cm² zugestanden⁽¹³⁾. [Vergleich 200: 10 x 20 cm Wandfliese Metro, erhältlich im Baumarkt, die meisten modernen Wandfliesen sind größer). In der Zucht bleiben die Muttertiere mit ihren Säuglingen zusammen und teilen sich mindestens einen Lebensraum von 800 cm² bei 18 cm Höhe pro Familie. Rattenböcke werden aufgrund ihrer Verträglichkeit untereinander in Gruppen gehalten. Als Höhe müssen ihnen mindestens 18 cm zur Verfügung stehen, d. h., der Käfig hat nur eine flache Ebene, auf der sich gegebenenfalls ein Nest aus Papierschnipseln und ein kleines, farbiges Plastikhäuschen als Versteck befinden. Die Käfige sollen zumindest alle natürlichen Bewegungsmuster wie Aufrichten und Strecken ermöglichen⁽¹²⁾. 18 Zentimeter reichen aber bei bestimmten Zuchtformen nicht aus, wie z. B. bei Sprague-Dawley-Ratten, die allein eine Länge von 25 cm erreichen und sich demnach nicht aufrichten können. Hinzu kommt, dass sich mit 18 cm die Neugier der Ratten nicht befriedigen lässt. Die Käfighöhe war bei Herstellern schon des Öfteren ein Thema. Während sich über die Käfighöhe mit Affen z. B. noch verhandeln ließ, konnte sich der Tierschutzgedanke gegenüber Nagetieren nicht durchsetzen, weil das aufgrund der Masse verwendeter Tiere eine Millioneninvestition bedeuten würde.

Klettern geht ebenfalls nur sehr eingeschränkt, Auslauf ist in der Tierhaltung nicht möglich. Der Boden ist mit Holz- oder Zellulosegranulat ausgelegt. Die Nahrung besteht standardisiert aus Pellets (Alleinfuttermittel) mit definierter Nährstoffzusammensetzung. Es kann Standardfutter oder für bestimmte Versuchstiere modifiziert sein. Wasser gibt es aus Trinkflaschen, es gibt häufig ein spezielles Belüftungssystem, durch das verbrauchte Luft abgezogen und

Frischlucht zugeführt wird. Lufttemperatur- und Feuchtebereich sind festgelegt⁽¹⁴⁾. Temperatur und Feuchtigkeit in der Haltung werden reguliert. Die Raumtemperatur wird konstant bei 22 bis 24 Grad Celsius gehalten, für die relative Luftfeuchtigkeit sind ebenfalls Richtwerte einzuhalten.



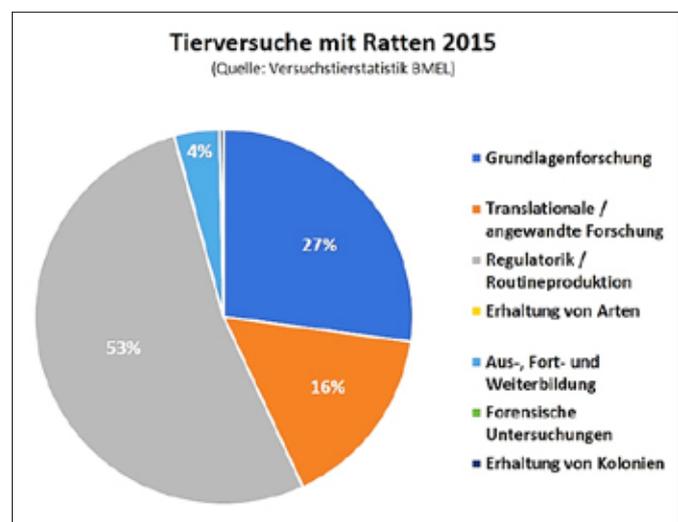
Foto links: Tierversuchseinheiten am Beispiel Mäuse. 32 Käfige befinden sich auf einer fahrbaren Unterlage. Die Käfige werden alle über eine Sauerstoffanlage mit steriler Frischluft versorgt.
Foto rechts: In den Einzelkäfigen befinden sich während dieser Versuche ein oder zwei Tiere (2. Käfig von oben). Der oberste Käfig enthält ein kleines Plastikhäuschen als Versteckmöglichkeit.
Fotos: Christiane Hohensee

In den meist fensterlosen Räumen wird ein Tag-Nacht-Rhythmus von 12:12 Stunden eingehalten, die Lichtstärke beträgt zwischen 200 bis 300 Lux. 200-300 Lux sind absolute Obergrenze bei der Beleuchtung von Rattenkäfigen. Da in Versuchen meist Albinoratten eingesetzt werden, würden sie bei höherer Lichtintensität erblinden. Auf Vermeidung von Lärm (Ratten hören im Ultraschallbereich) wird geachtet.

Tierversuchszahlen

In 2015 wurden 36.297 weniger Rattenversuche durchgeführt als 2014 (16). Insgesamt wurden 320.629 Ratten in 326.233 Versuchen eingesetzt. 5.604 Ratten (1,8 Prozent) wurden zwei- oder mehrfach verwendet (17). Es gab einen Rückgang von 12,96 auf 11,65 Prozent aller Tierversuche. Damit steht die Ratte noch immer an zweiter Stelle in der Statistik.

Abb. 1: Prozentuale Darstellung der Einsatzbereiche, in denen Tierversuche mit Ratten durchgeführt wurden. Klar erkennbar ist, dass die Ratte das Versuchstier bei den gesetzlich vorgeschriebenen Sicherheitsprüfungen (Regulatorik / Routineproduktion) ist.



Rückgang bei regulatorischen Tests, Zunahme bei Grundlagen- und translationaler Forschung

Am häufigsten wurde die Ratte im Bereich der gesetzlich vorgeschriebenen Sicherheitsprüfungen (regulatorische Toxikologie/Routineproduktion) eingesetzt (53 Prozent). Im Vergleich zu 2014 ist der Anteil verwendeter Ratten bei diesen Tierversuchen um 7,5 Prozent auf 171.861 zurückgegangen. An zweiter Stelle steht die Grundlagenforschung (27 Prozent), gefolgt von der translationalen beziehungsweise angewandten Forschung (16 Prozent). In der Grundlagenforschung hat die Zahl der Tierversuche mit Ratten um 61,2 Prozent auf 88.488 und bei der translationalen/angewandten Forschung um 22,3 Prozent auf 52.107 zugenommen.

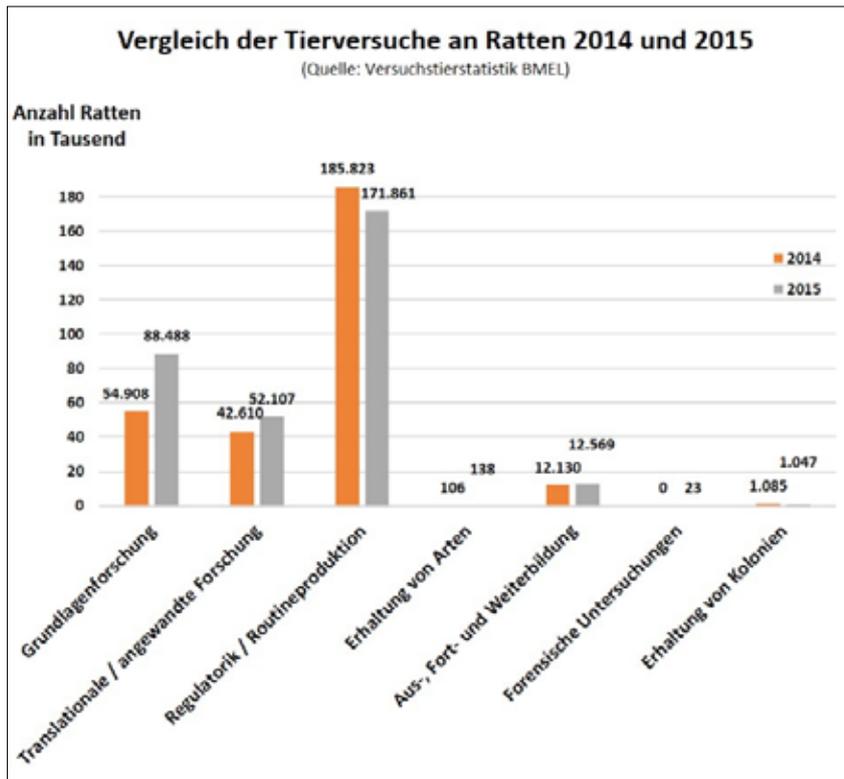


Abb. 2: Vergleichsübersicht 2014-2015 der Tierversuche in den verschiedenen Kategorien. Der Tiereinsatz in der Grundlagenforschung und translationalen Forschung hat zugenommen, der in der Regulatorik / Routineproduktion abgenommen.

Vier Prozent der Ratten kamen bei der Aus-, Fort- und Weiterbildung zum Einsatz. Das waren in 2015 12.569 Fälle. Nach Mäusen sind Ratten hier die größte Gruppe, an der der Umgang mit Tieren in Versuchen erlernt wird. Das erste Mal wurden 23 Ratten in forensischen Untersuchungen eingesetzt. Die Forensik untersucht z. B. kriminelle Handlungen, wie Dopingverdachtsfälle o. ä.



*Injektion einer Substanz in die Schwanzvene einer Maus.
Foto: talialicida, Fotolia.com*

Verwendung von Ratten zu regulatorischen Zwecke und Routineproduktion

Unter der Kategorie "Regulatorische Zwecke und Routineproduktion" versteht man "Verfahren, die zur Erfüllung gesetzlicher Auflagen für die Herstellung von Produkten/ Stoffen und deren Einführung und Erhaltung auf dem Markt durchgeführt werden, einschließlich Unbedenklichkeits- und Risikobewertungen von Nahrungs- und Futtermitteln (klassische Toxizitätstests). Hierzu zählen auch Versuche, für die kein Antrag auf regulatorische Zulassung gestellt worden ist oder Tiere, die für die Herstellung von Arzneimitteln auf Serumbasis verwendet werden⁽¹⁸⁾.



Auch Laborchemikalien sind irgendwann einmal hergestellt und getestet worden.
Foto: Paul Hey, Wikipedia.

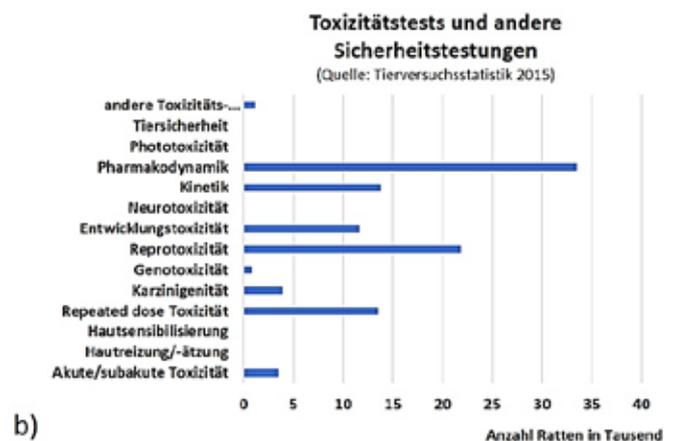
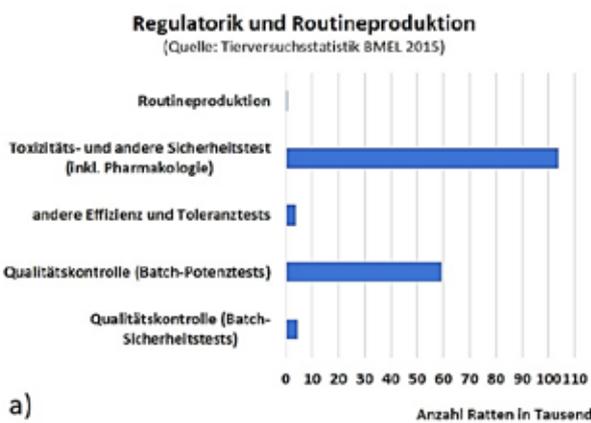


Abb. 3, a und b: 2015 über 100.000 Ratten wurden zum Test von Chemikalien, Pestiziden, Bioziden und Arzneimittel eingesetzt, gefolgt von Qualitätskontrollen, bei denen z. B. getestet wird, ob in einer Charge die gewünschte Menge einer Substanz vorhanden ist (a). Innerhalb der Toxizitätstests spielen vor allem Untersuchungen der Pharmakodynamik eine Rolle sowie Reproduktionstoxizitätstests. Die Ratte ist zudem Langzeitgiftigkeitsprüfungen ausgesetzt.

In der Regulatorik ist die Ratte das klassische Tier für Toxizitäts- und Sicherheitstests von Chemikalien und Arzneimitteln. Das Chemikalienrecht basiert überwiegend auf EU-Verordnungen. Vor allem spielen die REACH-Verordnung (EG Nr. 1907/2006) (19), die CLP-Verordnung (EG) Nr. 1272/2008⁽²⁰⁾ und die Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethoden gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006⁽¹⁴⁾ hierbei eine Rolle. Die REACH-Verordnung regelt Kommunikationspflichten in der Lieferkette, insbesondere die Sicherheitsdatenblätter⁽²¹⁾. Daneben sind die Verordnung über Biozidprodukte (BPR, Verordnung (EU) Nr. 528/2012) und die Pestizidrichtlinie 2009/128/EG in diesem Zusammenhang zu erwähnen. Nicht zuletzt beschreiben die OECD-Testrichtlinien die einzelnen durchzuführenden Versuche näher (siehe Tabelle 1).

Gesetzliche Grundlagen für die Verwendung von Ratten in der Arzneimittelprüfung dagegen liefern die EU-Rats-Direktive 2001/83/EEC zur Schaffung eines Gemeinschaftskodex für Humanarzneimittel und die Richtlinien der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA). Sie legen fest, wie die Qualität, Wirksamkeit und Unbedenklichkeit von Arzneimitteln zu bestimmen sind. So regelt die Safety-Guideline S4 die chronischen Toxizitätsstudien an Nagetieren, während S8 Immuntoxizitätsstudien für Human-Arzneimittel thematisiert. S6 betrifft biotechnologisch hergestellte Pharmazeutika⁽²²⁾.

Die Anforderungen an die Testmethoden bei der Arzneimitteltestung sind weitaus strenger als bei der Chemikaliertestung.

Die Ratte im Tierversuch

In einem ZEIT-Interview erklärte Hirnforscher Wolf Singer von der Max-Planck-Gesellschaft, es gäbe "eine Übereinkunft über die Hierarchie der Schutzwürdigkeit von Tieren. Menschenaffen seien mehr geschützt als Makaken, diese mehr geschützt als Mäuse und so weiter". Im Kern ginge es darum, jeweils zu klären, wie mit einem Minimum an tierischem Leid ein Maximum an Erkenntnis zum Wohl unseres Biotops erzielt werden könne.

Grundlage solcher Erwägungen sind die europäische Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU und das Deutsche Tierschutzgesetz. Nach Erwägungsgrund 13 der Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU müssen "...die Arten ausgewählt werden, die die geringste Fähigkeit zum Empfinden von Schmerzen, Leiden oder Ängsten haben oder die geringsten dauerhaften Schäden erleiden und bei denen die beste Möglichkeit der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Zielarten besteht."

Es soll das Tier genommen werden, das in der Systematik niedriger zu bewerten ist. Darüber sagt aber weder die Tierversuchsrichtlinie noch das Deutsche Tierschutzgesetz etwas aus. Unter Artikel 13 Absatz 2, b ist vorgegeben, es sind immer „...die Tiere zu verwenden, die die geringste Fähigkeit zum Empfinden von Schmerzen, Leiden oder Ängsten haben oder die geringsten dauerhaften Schäden erleiden“. Das dürfte bei der Ratte im Vergleich zum nicht-humanen Primaten wohl vergleichbar sein. Ähnliches sagt das Tierschutzgesetz Paragraph 7a, Absatz 2, Nr. 5: "Versuche an Tieren, deren artspezifische Fähigkeit, unter den Versuchseinwirkungen zu leiden, stärker entwickelt ist, dürfen nur durchgeführt werden, soweit Tiere, deren derartige Fähigkeit weniger stark entwickelt ist, für den verfolgten Zweck nicht ausreichen." Wer will nun behaupten, dass Ratten z. B. weniger leiden als Affen?

Weshalb die Ratte?

In Testrichtlinien, verfasst von den Regulationsbehörden, wird für den Einsatz von Ratten in Toxizitätstests argumentiert, weil sie eine relative kurze Lebensspanne haben, ihr Einsatz in der Toxikologie und Pharmakologie weit verbreitet ist, sie leicht Tumore ausbilden und verfügbare Stämme gut charakterisiert sind. Zudem liegt ein umfangreicher Datenschatz über Physiologie und Pathologie der Ratte vor. Ratten und Mäuse werden auch gern in der Giftigkeitsforschung eingesetzt, weil z. B. per Schlundsonde verabreichte Substanzen sicher im Magen landen und im Gegensatz zu manchen anderen Tieren nicht wieder erbrochen werden. Wegen der Vielzahl an im Bedarfsfall vorgeschriebenen Tierversuchen an Ratten können an dieser Stelle nur eine Auswahl von Versuchen vorgestellt werden.

Tierversuche an Ratten im Rahmen von regulatorischen Testvorschriften

a) Subchronischer Inhalationstoxizitätstest nach OECD Testrichtlinie 413

90-Tage Inhalationstest z. B. von Pigmentstaub aus Titandioxid im Rahmen der Arbeitsplatzsicherheit. Zur Einzelidentifizierung wird den Tieren subkutan ein Mikrochip unter die Haut eingespritzt.

80 bis 100 Ratten im Alter von 7 bis 9 Wochen werden in eine Inhalationsapparatur eingespannt und müssen für 90 Tage eine Substanz über die Nase einatmen.



*Inhalationstest an Ratten.
Foto: Human Toxicology Project.*

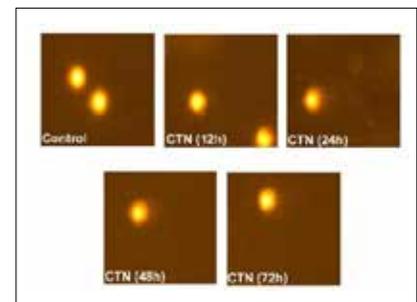
Für jede Testkonzentration werden 10 männliche und 10 weibliche Tiere eingesetzt, zzgl. Kontrolltiere. Sie werden jeden Tag für 6 Stunden 5 Tage die Woche der Testsubstanz ausgesetzt. Die höchste Konzentration soll nachweislich giftig sein, jedoch ohne die Tiere zu töten. Zusätzlich eingesetzte Satellittiere sitzen noch 14 Tage länger nach Ende des Versuchs und sollen Aufschluss geben, inwieweit sich Schäden im Laufe der Zeit durch Eigenkräfte des Körpers wieder zurückbilden (Reversibilität). Kontrolltiere haben in den 90 Tagen lediglich die Filterluft beziehungsweise das Lösungsmittel der Testsubstanz eingeatmet. Die Ratten werden vor, während und nach der Expositionszeit klinisch beobachtet. Es erfolgen Blut- und Urin- und Augenuntersuchungen, die Tiere werden gewogen und ihr Fress- und Trinkverhalten dokumentiert. Nach insgesamt 13 Wochen werden die Tiere bis auf die Satellittiere getötet, alle Organe entnommen und eine vollständige Autopsie mit histologisch-pathologischen Untersuchungen vorgenommen. Weitere Beschreibungen können der folgenden Tabelle entnommen werden⁽²³⁾.

b) In-vivo-Genotoxizitätstests nach OECD 486, 488, 489

Die in-vivo-Tests werden dann durchgeführt, wenn sich positive Befunde aus den in-vitro-Mutagenitäts- und Klastogenitätstests in Bakterien (Ames-Test, OECD 471) oder aus einer in-vitro-Genmutationstest mit Säugetierzellen (OECD 476) ergeben haben. Dafür stehen gleich drei in-vivo-Tests zur Verfügung: der Transgenic rodent (TGR) somatic and germ cell gene mutation assays (OECD 488), der in-vivo mammalian alkaline comet assay (OECD 489) und der Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test an Leberzellen eines Säugetiers in-vivo (OECD 486)⁽²⁴⁾.

- **Transgenic rodent (TGR) somatic and germ cell gene mutation assays (OECD 488)**
Zur Untersuchung von Chromosomen- oder Genmutationen. Häufiger mit transgenen Mäusen, es geht aber auch mit transgenen 8 bis 12 Wochen alten Ratten. Feststoffchemikalie wird in Lösungsmittel gelöst und über das Trinkwasser oder Inhalation verabreicht. Nach der Behandlungsperiode erfolgt die Manifestationszeit, in der sich die Mutationen verfestigen. Es laufen neben Negativ- auch Positivkontrollen mit, also Tiere, die mit einer mutagenen Substanz behandelt werden, die Mutationen in Leber oder Lunge auslöst. Durch eine 28-tägige Behandlung wird davon ausgegangen, dass sich mit jedem Behandlungstag die Mutationen anhäufen⁽²⁵⁾. Auch hier gibt es wieder Gruppen, die eine unterschiedliche Dosis erhalten, wobei die höchste Dosis der Maximum Tolerated Dose (MTD) entspricht (die Dosis, in der toxische Effekte auftreten, die die Lebenserwartung der Tiere noch nicht beeinträchtigen (26). Am Ende des Versuchs werden alle Tiere getötet und die genomische DNA aus dem Gewebe zur weiteren Untersuchung isoliert.
- **In-vivo mammalian alkaline comet assay (OECD 489)**
Mehrere Rattengruppen im Alter von 6 bis 8 Wochen werden in abgestuften Konzentrationen mit der Testsubstanz über zwei oder mehr Tage behandelt, die in Lösungsmittel gelöst und z. B. über das Trinkwasser verabreicht wird. Nach der Expositionszeit werden die Tiere getötet und das entsprechende Organ – meist die Leber – entnommen. Aus dem Organ werden die Zielzellen isoliert und für die Einzelzellelektrophorese vorbereitet⁽²⁷⁾.

Prinzip: Der in-vivo alkaline comet assay (Foto rechts) ist ein Einzelzell-Gelelektrophorese-Test. Er dient der Detektion von DNA-Strangbrüchen im Zellkern, die durch die Testsubstanz ausgelöst werden. Dabei wird die Einzelzelle auf einem Objektträger in Agarose eingebettet und die Zell- und Kernmembran der Zelle aufgelöst. Dadurch werden DNA-Fragmente und Kernkörperchen freigesetzt. Durch einen angelegten Stromfluss (Elektrophorese) in alkalinen Milieu wandert die DNA in Abhängigkeit von der Bruchstückgröße und Ladung zur positiv geladenen Anode, die DNA-Fragmente migrieren von ihrem Ausgangspunkt (Kopf) in den Schweif (daher Komet). Der Vorgang kann durch Fluoreszenzfärbung unter dem Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden. Die Intensität des Kometenschweifs im Verhältnis zu Kopf plus Schweif ist das Maß für die Menge der DNA-Strangbrüche.



- **Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test an Leberzellen eines Säugetiers in-vivo (OECD 486)**
Für diesen Versuch werden bevorzugt Ratten eingesetzt. Die Testsubstanz in mindestens zwei Konzentrationen wird in einer einmaligen Gabe über die Schlundsonde verabreicht. Dann werden die Tiere getötet und die Lebern zur Gewinnung der Leberzellen entnommen, die 3 bis 8 Stunden mit Tritium-markierten Thymidin im Medium inkubiert werden. Nach Waschen der Zellen werden sie autoradiografisch untersucht.

Bestimmt wird die Aufnahme des radioaktiv (Tritium)-markiertes Thymidin in die Leberzellen, die sich gerade nicht in der Synthese-Phase der DNA-Synthese befinden. Denn Zellen, die sich in außerplanmäßig in der Synthesephase und damit in Reparatur befinden, sind ein Maß für genotoxische Testsubstanzeffekte in der Leber.⁽²⁸⁾



*Ratte, die eine Testsubstanz über die Schlundsonde schlucken muss.
Foto: Franziska Thu Hang und Katrin Kübra.*

c) Ratten in der Entwicklungsneurotoxikologie

Das sich entwickelnde Gehirn eines Fötus im Mutterleib ist häufig weitaus verwundbarer als das eines Erwachsenen. Es gibt viele Substanzen, von denen man annimmt, dass sie nicht nur neurotoxisch, sondern auch entwicklungsneurotoxisch wirken. Neurotoxizität wird als schädigender Effekt auf Chemie, Struktur oder Funktion des in der Entwicklung oder Reifung befindlichen Nervensystems aufgefasst⁽²⁹⁾. Solch ein schädigender Einfluss kann auch erst nach Jahren neurodegenerative Erkrankungen wie z. B. Parkinson nach sich ziehen.

Eine entwicklungsneurotoxikologische Studie kann als Einzelstudie durchgeführt werden (OECD Testrichtlinie 426), aber auch in eine reproduktionstoxikologische Studie oder z. B. in eine neurotoxikologische Studie mit adulten Tieren (Testrichtlinie 424) integriert werden.

Entwicklungsneurotoxikologische Studie (OECD Testrichtlinie 426)

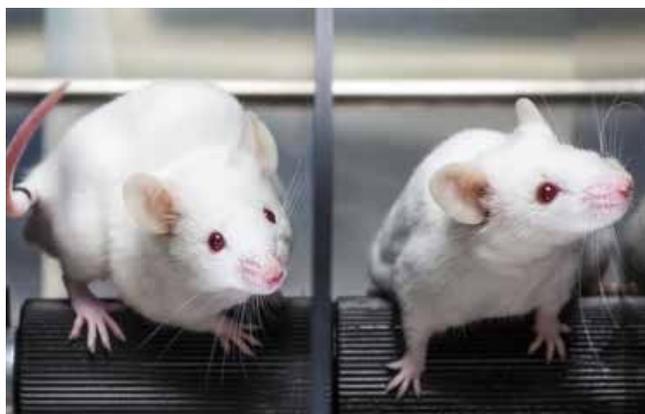
Die Testsubstanz wird während der Trächtigkeit und Laktationszeit weiblichen Rattenmüttern verabreicht. Die Muttertiere werden auf Auswirkungen in der Trächtigkeit und Laktationszeit untersucht. Die Nachkommen werden nach dem Zufallsprinzip ausgewählt. Bei diesem Test werden die meisten Ratten verbraucht.



*Rattensäuglinge.
Foto: Maslov Dmitry, Fotolia.com*

Die Testsubstanz wird trächtigen Rattenweibchen über eine Schlundsonde oder das Trinkwasser verabreicht beziehungsweise dermal oder inhalativ, wenn es der Expositionsrouten des Menschen entspricht (z. B. Pestizide). Es sind mindestens drei Dosen (plus Kontrolltiere) vorgesehen. Per Substanzdosis werden 20 Würfe (pro Wurf 8 bis 12 Säuglinge) empfohlen. Verabreicht wird die Substanz ab dem 6. Trächtigkeitstag bis zum Ende der Laktationszeit. Damit werden die Nachkommen der Testsubstanz im Uterus und über die Muttermilch ausgesetzt. Während dieser Zeit werden die Muttertiere auf Vergiftungsanzeichen hin beobachtet. Nach der Geburt werden alle Säuglinge auf Schäden hin beobachtet. Bis zum Ende der Laktationszeit wird eine bestimmte Anzahl Säuglinge beiderlei Geschlechts getötet, die Gehirne gewogen und auf Veränderungen untersucht. Andere Säuglinge funktionellen und Verhaltenstests unterzogen, wie auf sexuelle Reifung, Verhaltensentwicklung, motorische Fähigkeiten (Reflexe), motorische und sensorische Funktionen sowie Lernen und Erinnerung.

Gerade bei Letzteren werden die Jungtiere u. a. Geruchskonditionierungstests und unter anderem den berühmten Water-Maze-Tests unterzogen (30), bei denen sie im Wasser selbstständig eine unter der Wasseroberfläche befindliche, nicht sichtbare Plattform finden und sich deren räumliche Position merken müssen⁽³¹⁾.



Motorischer Test am Beispiel der Maus. Das Tier muss sich für eine bestimmte auf einer rotierenden Walze halten können.
Foto: mrks_v-Fotolia



Ratte im Water-Maze-Test.
Foto: Wikipedia

Tabelle: Auszug einiger weiterer relevanter Testrichtlinien für die Verwendung von Ratten

Testrichtlinie	Bezeichnung	Beschreibung
Akute Toxizität oral		
401	Akute orale Toxizität	gelöscht seit 17.12.2002
420	Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure	Schrittweise Dosierung festgelegter Testkonzentrationen von 5, 50, 300 und 2000 mg/kg Körpergewicht. Aufnahme z. B. über eine Schlundsonde. 5 Tiere pro Geschlecht und Konzentrationsschritt zzgl. Kontrolle.
423	Akute Orale Toxizität – Acute Toxic Class Method	Schrittweises Vorgehen mit je 3 Tieren pro Schritt und Geschlecht. In Abhängigkeit von toten oder sterbenden Tieren nach ca. 2-4 Schritten wird die akute Toxizität der Testsubstanz beurteilt. Vier Substanzkonzentrationen werden getestet.
425	Acute Oral Toxicity – Up-and-Down-Procedure (UDP)	Tests in schrittweisen Konzentrationen, die erste knapp unter der geschätzten LD50-Konzentration. Überlebt das erste Tier, erhält das zweite Tier eine höhere Dosis. Stirbt das erste Tier oder erscheint sterbend, erhält das nächste Tier eine geringere Dosis. Unterschiedliche Progressionsfaktoren sind möglich (fester Faktor von 3.2 oder z. B. 1.75, 5.5, 17.5, 55, 175, 550, 1750, 5000 mg/kg Körpergewicht).

Testrichtlinie	Bezeichnung	Beschreibung
Akute Inhalationstoxizität		
403	Akute Inhalationstoxizität	Die Versuchstiere inhalieren 4 Stunden die Prüfsubstanz in abgestuften Konzentrationen. Es werden die Auswirkungen und Todesfälle registriert und die Letalkonzentration LC50 bestimmt.
436	Acute Inhalation Toxicity - Acute Toxic Class Method	Schrittweises Vorgehen mit je 3 Tieren pro Schritt und Geschlecht. In Abhängigkeit von toten oder sterbenden Tieren nach ca. 2-4 Schritten wird die akute Toxizität der Testsubstanz beurteilt. 4 Substanzkonzentrationen werden getestet.
Genotoxizität		
488	Transgenic rodent (TGR) somatic and germ cell gene mutation assays	Beschreibung siehe Fließtext
489	In-vivo mammalian alkaline comet assay	Beschreibung siehe Fließtext
486	Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test an Leberzellen eines Säugetiers in-vivo	Beschreibung siehe Fließtext
Repeated-Dose-Toxizität Inhalation		
412	Subacute Inhalation Toxicity: 28-Tage Studie	Gruppen von wenigstens 5 weiblichen und 5 männlichen Ratten werden 6 Stunden pro Tage über 28 Tage der Inhalation von drei oder mehr Testkonzentrationen ausgesetzt.
413	Subchronic Inhalation Toxicity: 90 Tage-Studie	Gruppen von wenigstens 5 weiblichen und 5 männlichen Ratten werden 6 Stunden pro Tag über einen Zeitraum von 90 Tagen mit drei oder mehr Testkonzentrationen der Inhalation ausgesetzt.
Repeated-Dose-Toxizität oral		
407	Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents	Ziel: Gefahrenidentifizierung und Risikobewertung. Grundstudie für Fälle, bei denen 90-Tage-Studie nicht durchgeführt wird, weil z. B. Produktionsvolumen eine bestimmte Menge nicht übersteigt. 5 Tiere pro Geschlecht und Dosislevel müssen Substanz täglich oral über 28 Tage einnehmen. Zusätzlich zu den „Dosis-Tieren“ gibt es zwei Kontrollen (2 mal 5 Tiere pro Geschlecht).
408	Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents	Verlängerte Expositionszeit 3 Monate, Beginn vor der 9. Lebenswoche bis in die Reifezeit. Es werden mind. 3 Konzentrationen, je 10 Tiere pro Geschlecht per Dosisgruppe (zzgl. Kontrolle) verabreicht. Die Studie zielt auf Informationen toxischer Effekte in Zielorganen und Anzeichen von Substanzanhäufung und auf Erkenntnisse über die Konzentration, bei der kein beobachteter Effekt auftritt. Zudem werden neurologische, immunologische und reproduktionstoxische Anzeichen beobachtet. Es folgen Blut- und Urinuntersuchungen, Verhaltensauffälligkeiten u. a. und am Ende eine große Nekropsie, (Histopathologische Untersuchungen).
452	Chronic Toxicity Studies (>90 Tage)	Tägliche orale, dermale oder inhalative Gabe in abgestuften Dosen an mehrere Gruppen (8 Wochen alte Tiere, beide Geschlechter). Normalerweise für 12 Monate, Beobachtung von Effekten durch eine Anhäufung der Dosis. Studie erfolgt erst, wenn Informationen aus 28-Tage-Studie oder 90-Tage-Tests vorliegen. Autopsie verstorbener oder während des Versuchs getöteter Tiere. Am Versuchsende werden alle überlebenden Tiere getötet und eine Autopsie durchgeführt. Zwischenzeitlich werden nach 6 Monaten wenigstens 10 Tiere pro Geschlecht getötet, um toxikologische Entwicklungen in den Körpern zu untersuchen. Wenigstens drei verschiedene Substanzdosen sind zu testen, die sich an den vorhergehenden 28-Tage-Studien oder den vorhergehenden Dosisfindungsstudien orientieren. Zusätzlich wird eine Kontrollgruppe gehalten, die am Ende ebenfalls getötet und einer Autopsie unterzogen wird.

Testrictlinie	Bezeichnung	Beschreibung
Reproduktion/Entwicklung		
415	One-Generation Reproduction Toxicity Study	Ziel: allgemeine Informationen über Substanzeffekte auf die Reproduktionsleistung von männlichen und weiblichen Ratten. Männchen werden in ihrer Wachstumszeit für die Dauer eines vollständigen Spermatogenesezyklus behandelt, Weibchen der Elterngeneration für wenigsten zwei Östruszyklen. Die Tiere werden dann verpaart. Weibchen erhalten die Substanz während der Trächtigkeit und Laktationszeit weiterhin.
421	Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test	Testsubstanz wird in abgestuften Dosen je 10 männlichen und weiblichen Gruppen täglich oral verabreicht, männliche wenigstens 4 Wochen lang, weibliche während der gesamten Studie (63 Tage). Die Tiere werden verpaart. Neben klinischen Beobachtungen berücksichtigt die Autopsie besonders die für die Reproduktion notwendigen Parameter.
422	Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Development Toxicity Screening Test	Kombination Langzeittest (männliche 4 Wochen, Weibliche Tiere 54 Tage) mit Testrichtlinie 421
443	Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study	Getestet werden Effekte auf Reproduktionsleistung und Nachkommenentwicklung. Vor ihrer Reifung werden männliche und weibliche Tiere (Elterngeneration) 2 Wochen in abgestuften Konzentrationen exponiert, dann während ihrer Reifung, Trächtigkeits- und Laktationszeit. Die Säuglinge werden in 3 Kohorten eingeteilt und mit Substanz zum Test auf ihre Entwicklungs- und Reproduktionsfähigkeit (Kohorte 1), auf entwicklungs-neurotoxische Effekte (Kohorte 2) und immuntoxikologische Effekte (Kohorte 3) bis zu ihrer Reife behandelt. Kohorte 1 wird nochmals verpaart. Deren Nachkommen werden zusammen mit allen anderen untersucht und am Ende getötet.
426	Development Neurotoxicity Study	Beschreibung siehe Fließtext
478	Rodent Dominant Lethal Test	Der Test untersucht das Absterben von Embryo und Föten, gewertet als Substanzeffekt auf das Keimzellgewebe gewertet wird. Männliche Ratten werden einmal oral oder durch Injektion in die Bauchhöhle mit der Substanz behandelt und mit unbehandelten weiblichen Ratten verpaart. Die Weibchen werden nach einer Zeit getötet und die Gebärmutter auf eingenistete Frühentwicklungsstadien, tote und lebende Embryos untersucht.

Toxikokinetik

417	Toxikokinetik	Der Test dient dazu, Informationen über Absorption, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung der Substanz zu gewinnen, um Toxizitätsmechanismen zu verstehen. Er liefert auch Informationen über eine mögliche Anhäufung in Geweben/Organen. Die Testanforderungen unterscheiden sich je nach Substanzklasse (Pestizide, Biozide oder Chemikalien). Je vier 6-12 Wochen alte Ratten (meist ein Geschlecht) werde je Dosis eingesetzt und müssen die radioaktiv mit C14 markierte Testsubstanz über eine Schlundsonde schlucken. Über Szintillations-Radiografie lassen sich Metabolite detektieren und Mengen in den verschiedenen Geweben berechnen. Es wird eine Pilotstudie mit einmaliger Verabreichung oder eine Hauptstudie mit zweimaliger Substanzverabreichung durchgeführt.
-----	---------------	--

Die Verwendung von Ratten in der Grundlagenforschung

Unter Grundlagenforschung verstehen die Wissenschaftler alle fundamentalen Untersuchungen, auch physiologischer Art sowie Untersuchungen zur weiteren Erforschung normaler und abnormaler Strukturen, der Funktionsweise und des Verhaltens lebender Organismen und der Umwelt. Auch grundlegende toxikologische Untersuchungen gehören dazu. Dazu zählen ferner Untersuchungen und Analysen, die eher auf ein besseres oder genaueres Verständnis eines Themas, Phänomens oder grundlegenden Naturgesetzes als auf die spezifische praktische Anwendung der Ergebnisse ausgerichtet sind⁽²⁰⁾.



Abb. 4: In der Grundlagenforschung wurde die Ratte in 2015 vor allem für Studien des Nervensystems eingesetzt, gefolgt von Experimenten zur Untersuchung kardiovaskulärer Erkrankungen. Forschungen zu Krebskrankungen (Onkologie) spielten nur eine untergeordnete Rolle.

Das Erbgut der Ratte stimmt zu 90 Prozent mit dem des Menschen überein. Deshalb meinen Forscher, so gut wie alle genetisch bedingten Erkrankungen des Menschen an Ratten erforschen zu können⁽⁴⁾. Untersuchungen zu Krebskrankungen spielten in 2015 dabei aber eine verschwindend geringe Rolle. Vielmehr ist die Ratte das sogenannte Tiermodell bei neurodegenerativen Erkrankungen wie Parkinson und vor allem für Abhängigkeitserkrankungen (Drogen-/ Alkoholsucht).



*Ratte und Hirn scheint für viele Forscher zusammen zu gehören. Viele Versuche mit Ratten in der Grundlagenforschung dienen der Erforschung neurologischer Erkrankungen des Menschen.
Foto: m0zg@polsen, Fotolia.com*

a) Oxytocin-Rezeptoren bei Alkoholkonsum

Zur Erforschung, inwieweit das "Kuschelhormon" Oxytocin einen positiven Einfluss auf das Verlangen nach Alkohol hat, werden Ratten alkoholsüchtig gemacht, dann mit Oxytocin behandelt und ihr Suchtverhalten studiert. Dafür erfolgt die Implantation einer Kanüle in einen Hirnventrikel, in die später der Oxytocin-Rezeptor des Gehirns (GABA-A δ) mit einem Molekül besetzt wird. Während und nach der Implantation werden die Tiere mit Schmerzmitteln behandelt. In den Versuchen wurden die Tiere 3 Wochen lang isoliert gehalten und an Alkohol gewöhnt, der über die Trinkflasche eine festgesetzte Zeit lang regelmäßig verabreicht, dann aber wieder entfernt wird. Der Alkoholspiegel wird über Blutentnahmen überprüft. Die Tiere leiden an Entzugserscheinungen. Dann wird Oxytocin in die Bauchhöhle gespritzt und die vermutete Reduktion des Suchtverhaltens überprüft. Um zu überprüfen, ob dafür die Bindung des Oxytocins an den GABA-A δ -Rezeptor verantwortlich ist, wird der Rezeptor mit einem anderen Molekül besetzt, so dass das Oxytocin nicht wirken kann. Am Ende des Versuches werden die Tiere betäubt und durch Enthauptung getötet. Alle Behandlungen und Reaktionen der Tiere wurden als mittlere Belastung bewertet.

Zu diesen Versuchen gibt es diverse Abwandlungen^(32,33).

b) Parkinsonerkrankung im Rattenmodell

Bei der Parkinson-Erkrankung gibt es erste therapeutische Ansätze, bei denen Dopamin produzierende Zellen implantiert werden. Dabei traten jedoch Nebenwirkungen auf, so dass die Forscher die Behandlung zunächst im Tierversuch verbessern wollen. Dafür haben sie sich eine Implantation von Dopamin produzierenden Zellen zusammen in einer Gelmatrix ausgedacht, damit die Wahrscheinlichkeit erhöht wird, dass die Zellen nach der Transplantation länger leben. Um die neuen Methoden im Tier zu testen, werden in den Ratten zunächst ein parkinsonähnlicher Zustand ausgelöst, indem Dopamin produzierende Nervenzellen durch Injektion eines Giftstoffes in einer Hirnhälfte der Ratten abtötet. Die Tiere entwickeln einseitig Symptome einer Parkinsonkrankheit. In einer zweiten Operation wurde die Zellimplantation mit dem Gel vorgenommen. Nach 20 Wochen Untersuchungszeit werden die Tiere getötet.

c) Kognitionswissenschaftliche Tests an Ratten

Da Ratten im Vergleich zu Mäusen u. a. lernfähiger sind, werden sie vor allem für kognitionswissenschaftliche Fragestellungen eingesetzt⁽⁴⁾. Nachdem die Affenversuche in Tübingen eingestellt werden, soll an Ratten weitergeforscht⁽³⁴⁾.

Um zu verstehen, wie Neuronen der Hirnrinde feuern, muss man verstehen, wie neurale Schaltkreise funktionieren. Deshalb haben die Forscher zwei Regionen gleichzeitig aufgezeichnet, während Ratten auf Umweltreize wie elektrische Stromschläge reagierten. Für die Aufzeichnungen wurden 4 männlichen Ratten unter Betäubung 28 Elektroden in den somatosensorischen Cortex und eine Elektrode in die linke und rechte Region des Locus coeruleus implantiert. Von letzterem wird angenommen, dass er für die Einflussnahme auf die mentale Orientierung im Sinne einer gelenkten Aufmerksamkeit verantwortlich ist (35, 36). Aus ihren Aufzeichnungen entwickelten sie ein mathematisches Modell. Für die Stimulation des somatosensorischen Bereichs werden elektrische Schläge an den Rattenfüßen ausgelöst. Nach Testdurchführung wurden die Tiere getötet.

Ratten in der translationalen/angewandten Forschung

Zu der Kategorie translationale/angewandte Forschung gehört z. B. die Durchführung von Wirksamkeitsprüfungen im Rahmen der Entwicklung eines neuen Medizinproduktes oder eines Arzneimittels⁽¹⁸⁾. Dabei wurden Ratten in 2015 vor allem bei den Entwicklungen für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen sowie für Nerven- und psychischen Erkrankungen eingesetzt.

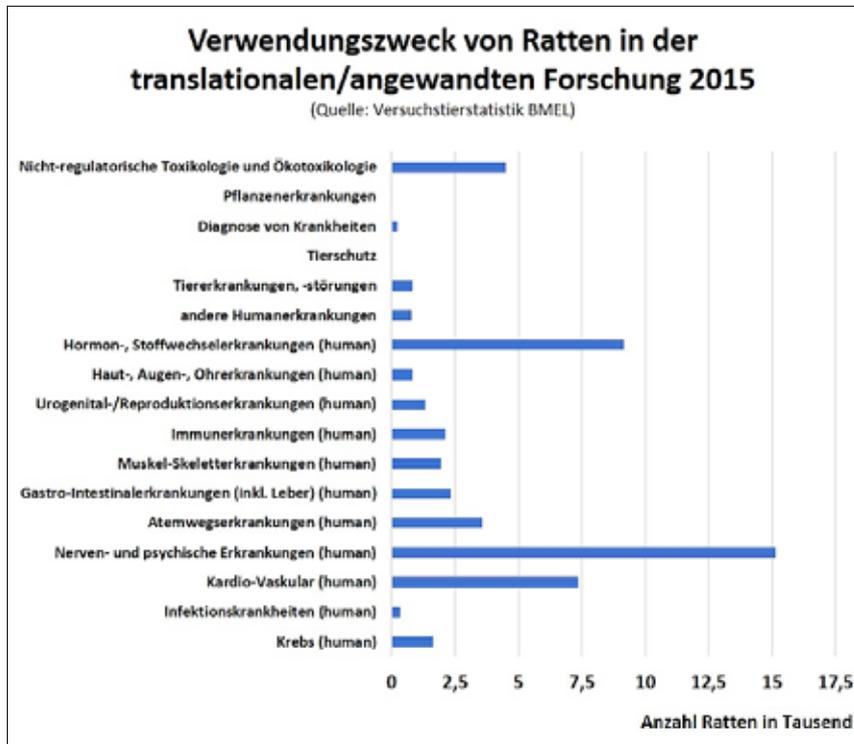


Abb. 5: In der translationalen Forschung 2015 spielten Ratten in 2015 vor allem bei Medikamenten-Entwicklungen für Hormon- und Stoffwechselerkrankungen sowie von Nerven- und psychischen Erkrankungen eine Rolle.

a) Osteoarthrose-Modelle

Eine häufig durchgeführte Untersuchung ist das Studium der Wirksamkeit von Arzneimitteln bei chronischen Schmerzen an Ratten, in denen vorher eine Osteoarthrose im Kniegelenk künstlich erzeugt wurde⁽³⁷⁾.

Ein sogenanntes Osteoarthrose (OA)-Modell kann über mehrere verschiedene Techniken im Tier erzeugt werden und führt immer zu schweren Leiden und Schäden beim Tier. Das Monoiodoacetat-Modell z. B. ist heute Standard zur Untersuchung von Gelenksproblemen durch Osteoarthritis in Ratte oder Maus. Dabei wird Monoiodoacetat ins Kniegelenk gespritzt, wodurch eine schnelle Reaktionen des Gelenkgliedes auf der entsprechenden Körperseite erfolgt. Die Stärke der Schmerzauslösung wird durch die Höhe der Dosis bestimmt. Eine Injektion der Substanz in die Gelenkhöhle unterbricht die Chondrozytenglykolyse (Chondrozyten=Knorpelbildner) und hemmt das Enzym Glycerinaldehyd-3-Phosphatase Dehydrogenase. Dies führt zum Absterben der Knorpelbildner, zu einer Blutgefäßneubildung, zum Absterben des Gewebes, zum Zusammenbruch des darunterliegenden Knochens sowie zu Entzündungsprozessen⁽³⁸⁾. Häufig wird die Dosis oder das Verfahren so gewählt, dass "nur" eine Entzündung im Kniegelenk der Tiere erzeugt wird. Die Tiere verlagern ihr Schwergewicht auf die andere nicht betroffene Seite und vermeiden es nach Möglichkeit, sich viel zu bewegen. Mit dem so erzeugten Rattenmodell lassen sich Arzneimittel testen, mit denen die Entzündung beseitigt oder gelindert werden soll. Am Ende werden die Tiere getötet.

Tiermodelle sollen eine Untersuchung der Mechanismen hinter den Schmerzen bei Osteoarthritis (OA) möglich machen und helfen dabei, neue Behandlungen zu entwickeln. Die OA ist jedoch eine chronische Erkrankung, akute entzündliche Schmerzmodelle, die durch Injektion künstlich ausgelöst werden haben daher eine beschränkte translationale Relevanz für die OA beim Menschen. In einem Faktenblatt der Internationalen Gesellschaft zum Studium des Schmerzes⁽³⁹⁾ wird eingeräumt, dass die translationale Validität beschränkt sei. Mehrere Arzneimittel hätten sich zwar im Tiermodell als wirksam erwiesen, sie seien jedoch bei der menschlichen Schmerzlinderung erfolglos gewesen. Statt aber das Tiermodell in Frage zu stellen, wird daraus gefolgert, dass die Tiermodelle und deren Beurteilung verbessert und ein besseres Verständnis entwickelt werden müsse, welche phänotypische klinische OA-Untergruppe durch ein bestimmtes Tiermodell repräsentiert wird.

Trotz der vielen Modelle gibt es kein entwickeltes und zugelassenes Medikament, das den Krankheitsverlauf der Osteoarthritis nachweislich verbessert.

b) Rheumatoide Arthritis (RA)-Modelle

Erzeugt werden soll ein dem Menschen ähnliches Krankheitsbild z. B. durch die Injektion eines nicht infektiösen Bakterienextraktes in ein Gelenk der Ratten, die eine Gelenkentzündung mit schubförmigem Verlauf auslöst.

Die Forscher wollen damit neue Arzneimittel gegen Rheumatoide Arthritis (RA) und andere chronisch entzündliche Krankheiten mit schubförmigem Verlauf entwickeln. Bei einer Versuchsdauer von 60 Tagen kommt es zu einer Schwellung und Schmerzhaftigkeit des betroffenen Gelenkes sowohl bei Bewegung als auch in Ruhe. Der Gang ist gestört. Der Versuch wurde als schwer belastend eingestuft. Am Ende der Versuche werden die Tiere getötet. Allein im Jahr 2015 wurden für diese Art Untersuchung allein 19.800, also fast 20.000 Ratten genehmigt⁽⁴⁰⁾.

Eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die menschliche Erkrankung wird dadurch unterstellt, dass die Erkrankung ein für die menschliche Rheumatoide Arthritis charakteristisches Bild einer Gelenkentzündung mit chronischen Schüben zeigt. Die Forscher argumentieren, dass solch komplexes Geschehen der Entzündungsreaktion im Gelenk, bei der Knorpel, Knochen, Blutgefäße, Nerven und einwandernde Entzündungszellen interagieren, in-vitro nicht nachgestellt werden könne.

Es gibt weitere Modelle, je nachdem, wie die RA im Tier erzeugt worden ist. So wird beispielsweise eine Polyarthritis mit Knorpelabbauprozessen ausgelöst, nachdem artfremdes Collagen II injiziert worden ist (Collagen II ist das Hauptmaterial, aus dem Gelenkknorpel bestehen⁽⁴¹⁾). In einem anderen Fall wird ein farbloses Öl (genannt Pristan) in die Schwanzbasis gespritzt, in einem anderen Fall führt die Injektion eines immunologischen Wirkverstärkers (Freundsches Adjuvans), der u. a. Mycobacterium butyricum enthält, zu rheumatoider Arthritis⁽⁴²⁾.

Transgene Rattenmodelle

Mittlerweile gibt es immer mehr genetisch veränderte Rattenmodelle, wie beispielsweise Nacktratten ohne Immunsystem. Im Vergleich zu Mäusen sind sie aber unterrepräsentiert.

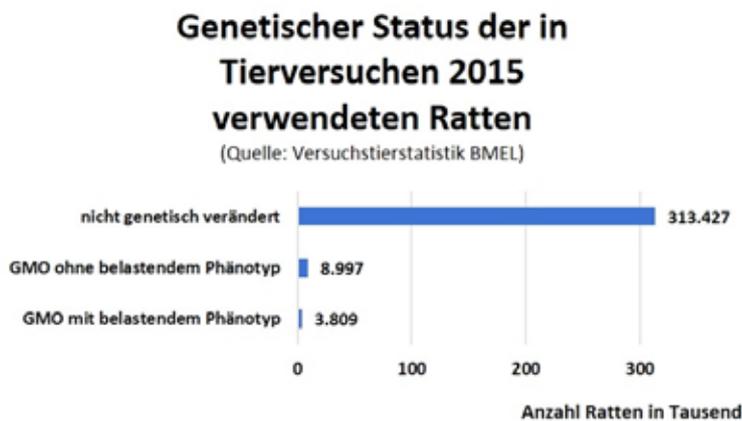


Abb. 6: Tierversuche an Ratten
Foto: Eric Isseleé, Fotolia.com

Transgene Tiermodelle tragen in ihrem Genom Teile eines menschlichen Gens. Dabei gibt es verschiedene Varianten: transgene (zufällig in das Genom eingebracht, das tiereigene Gen ist noch aktiv), knock-in (zielgerecht an den gewünschten Genort eingebrachte Gensequenz), knock-out (ein Gen ist durch eine eingebrachte Sequenz nicht mehr funktionsfähig) und vektor-induzierte Modelle⁽⁴³⁾. Der Vektor stammt von einem Virus, das unschädlich gemacht wurde und nun präzise einen gewünschten Genabschnitt in das Rattengenom einbaut.

Modellbeispiele

1. Athymische Nacktratte, der die T-Zellen fehlen zur Untersuchung der Tumorbilologie und Transplantationen artfremder Organe.
2. RIPHAT-Transgen-Ratte zur Untersuchung von Diabeteserkrankungen.
3. Rattenmodell mit polyzystischer Nierenerkrankung zur Untersuchung dieser Erkrankung.
4. Haarlose Albino-Variante für Wundheilungs- und dermatologische Studien
5. Herzinsuffizienzmodell zur Untersuchung von Herzinsuffizienz, Bluthochdruck, Typ 2 Diabetes, Nierenschäden und Insulinresistenz
6. ENU-Modell zum Studium familiär bedingten Darmkrebs

Es gibt noch weitere Fettleibigkeits-, Diabetes Typ 2-, Bluthochdruckmodelle.

Kosten: Ein nicht fettleibiges Modell eines nicht insulinpflichtigen Diabetes mellitus Typ II z. B. kostet je nach Alter des Tieres zwischen 330 und 590 Euro pro Tier.

Einsatzbeispiel transgene Ratte

Bei Chorea Huntington wird jener Bereich des Gehirns nach und nach zerstört, der für die Steuerung der Muskeln und für psychische Funktionen wichtig ist. Die Nervenzellen gehen langsam zugrunde (44). Zur Untersuchung der durch ein fehlerhaftes Gen bedingten Erkrankung werden tgHD-Ratten-Modelle eingesetzt. In das transgene Chorea Huntington-„Rattenmodell“ wird ein DNA-Fragment eingebracht, das unter der Kontrolle des natürlichen Ratten-eigenen Promotors steht. Dadurch mutiert das eigene Gen. Die Krankheit entwickelt sich in erwachsenen Tieren und zeigt sich u. a. durch kognitive und langsam fortschreitende motorische Defizite⁽⁴⁵⁾.

Neue Verfahren zum Ersatz von Tierversuchen an Ratten

► Beispiele für Ersatzverfahren zum Rattenversuch für regulatorische Tests

Initiative für einen Wegfall der akuten Toxizitätstests

Ersatz für den akuten Toxizitätstest nach Testrichtlinie 401 waren 2001/2002 der Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure (OECD TG 420) sowie die abgestufte Testprozedur Akute Orale Toxicity – Acute Toxic Class Method (OECD TG 423) mit dem Ziel, die Anzahl der zu verwendenden Tiere zu reduzieren. Die meisten Chemikalien, die in Europa produziert werden, sind von geringer Toxizität. Hinzu kommt, dass zu den akuten Toxizitätstests auch sub-akute 28-Tage-Tests und sub-chronische 90-Tage-Tests (ab 100 Tonnen Verkaufsvolumen pro Jahr) in Nagetieren (Ratte und Maus) durchgeführt werden. Die dabei anfallenden Untersuchungen enthalten alle notwendigen Informationen für die Risikobewertung. Auf der Grundlage verfügbarer Testdaten aus der REACH-Datenbank der europäischen Chemikalienagentur ECHA haben Luechtefeld et al. 2016 und Gissi et al. 2016 festgestellt, dass der 28-Tage Test für gering-toxische Substanzen nicht nur die Toxizität der 90-Tage-Tests vorhersagen kann, sondern auch die akute Toxizität^(46,47). Für Substanzen mit einer geringen Toxizität könnte der sub-akute 28-Tage-Test als Bestandteil eines Weight-of-evidence-Ansatz genügen, der zur Ergänzung einer Toxizitätsvorhersage Informationen aus verschiedenen zusätzlichen Quellen wie in-vitro-Zytotoxizitätstests, QSAR-Analysen und physikalisch-chemische Informationen vorsieht. Somit könnte für als gering-toxisch eingeschätzte Substanzen der akute orale Toxizitätstest wegfallen.

Verzicht auf Tests des sogenannten „Six-Pack“

Aus den USA und Canada kam der Vorschlag, auf Tierversuche im Bereich der akuten Toxikologie (das sog. 6-Pack: Inhalationstoxikologie, orale Toxikologie, Hautätzung, Hautreizung, Hautsensibilisierung und Augenätzung) komplett zu verzichten und sie gegebenenfalls mit tierversuchsfreien Methoden durchführen zu lassen. Mittlerweile gab es dazu mehrere Treffen auf OECD-Ebene und ein Guidance-Dokument, in dem nachzulesen ist, in welchen Fällen auf die Versuche verzichtet werden kann⁽⁴⁸⁾.

Das Dokument ist für Pestizide anwendbar, es heißt dort aber auch, dass die Prinzipien auch auf case-by-case-Basis nach einem Weight-of-Evidence-Ansatz auch auf andere Chemikalien, Formulierungen und biologische Materialien übertragen werden können. Allgemein kann in Bereich der akuten Toxizität auf Tierversuche verzichtet werden, wenn es nur geringe oder keine signifikanten Humanexposition gibt, das heißt der Mensch mit der Substanz oral, dermal oder inhalativ gar nicht in Kontakt kommt oder es technisch nicht möglich ist, eine Tierversuchsstudie für einen bestimmten Endpunkt durchzuführen. Eine akute orale Toxizitätsstudie braucht nicht durchgeführt zu werden, wenn sie nicht relevant ist (z. B. die Testsubstanz ist ein Gas oder Dampf) oder wenn zum Beispiel das Endprodukt, mit dem der Verbraucher in Kontakt kommt, nicht brüchig wird und so groß ist, dass es nicht verschluckt werden kann. Auch wenn die Substanz nach einem in-vitro-Test sich als stark hautätzend erwiesen hat, braucht kein oraler Test durchgeführt werden. Ein akuter Inhalationstest braucht nicht durchgeführt zu werden, wenn die Substanz kaum gasförmig werden kann, nicht verdampft oder

die Substanzpartikel zu groß sind, um inhaliert zu werden. Eine akute Toxizitätsstudie braucht beispielsweise nicht durchgeführt werden, wenn die Testsubstanz sich in anerkannten in-vitro-Verfahren oder anderen anerkannten Daten als ätzend oder stark reizend erwiesen hat. Eine Hautätzungs-/reizungsstudie kann entfallen, wenn aus anderen Daten oder akzeptierten in-vitro-Tests bekannt ist, dass sie stark ätzend ist. Ebenso verhält es sich mit Augenätzungs- oder -reizungstests und Hautsensibilisierungstests, für die dann die neue anerkannte abgestufte in-vitro-Teststrategie nach OECD durchzuführen ist⁽⁴⁸⁾.

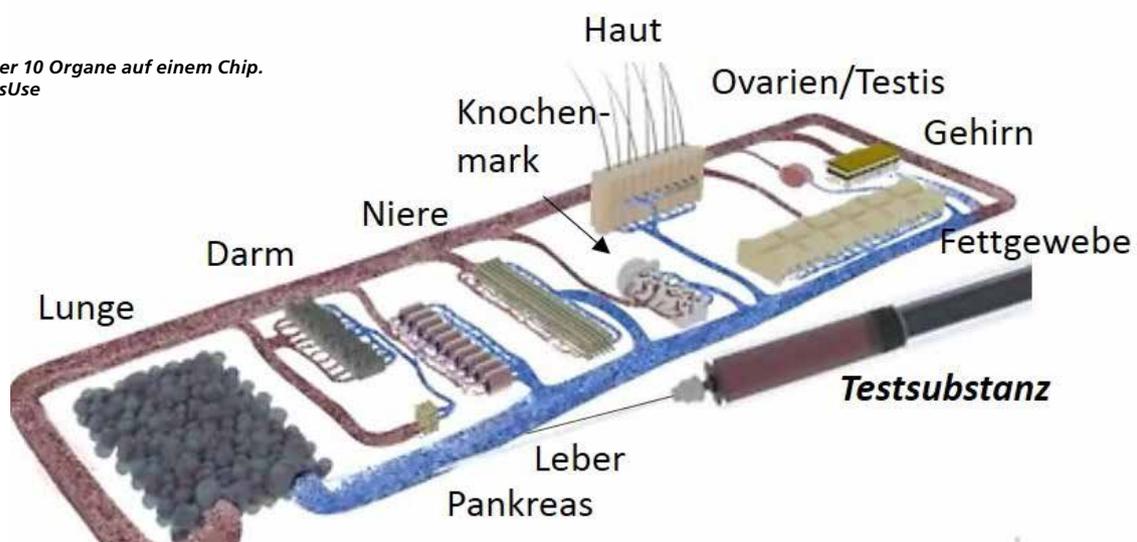
Ersatzverfahren für in-vivo-Langzeittoxizität

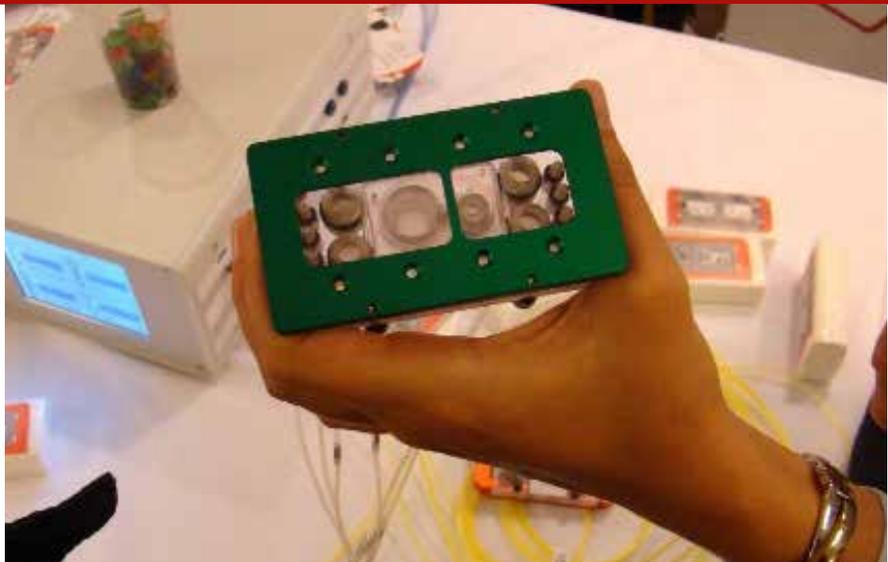
Derzeit gibt es keine anerkannten Ersatzverfahren zum Tierversuch für regulatorische Zwecke im Bereich der Langzeittoxizität. Es wurden zwar bereits zahlreiche in-vitro-Verfahren entwickelt und bestehende Modell verbessert, doch das Problem ist laut ECHA, dass diese Modelle zwar zur Untersuchung der Giftigkeitswirkung auf einzelne Organe und zur Bewertung mechanistischer Aspekte auf Gewebe-, Zell- und Molekularebene hilfreich sind, sie sind jedoch in ihrer Kapazität beschränkt. Es ist nach Meinung der Echa schwer, mithilfe der tierfreien Verfahren etwas zur Kinetik (Adsorption, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung der Substanz im Körper) oder der Biotransformation auszusagen und Werte wie den notwendigen No-Observed-Effekt-Level aus in-vitro-Systemen abzuleiten. Mechanistische Ergebnisse mit in-vitro-Systemen auf Basis gut charakterisierter Zielorgane werden jedoch als sinnvoll bei der Interpretation beobachteter Langzeittoxizitätseffekte (im Tier) angesehen⁽⁴⁹⁾.

Bezüglich der Einzelorgane konzentriert sich die Forschung stark auf die Entwicklung von Organoiden. Dies sind kugelige Gebilde, die alle Zelltypen besitzen, die auch im Originalorgan des Menschen vorkommen. Allerdings befinden sie sich noch in der Weiterentwicklung. Minilebern beispielsweise haben noch keine Mikrogefäße, das Immunsystem ist noch nicht integriert. Aufgrund begrenzter Lebensdauer sind die Modelle für Langzeitstudien noch nicht geeignet, berichtete Prof. Jan Hengstler vom Leibniz-Institut für Arbeitsforschung an der Technischen Universität in Dortmund im Dezember 2016 auf einem europäischen Kongress⁽⁵⁰⁾.

Doch an den modernen Organ-on-a-Chip-Systemen wird fieberhaft gearbeitet. Bis Ende 2017 sollen alle notwendigen menschlichen Organe in Miniaturformat im Maßstab 1:100.000 auf dem Mikrochip verfügbar sein. Damit lassen sich dann möglicherweise auch die oben geforderten Untersuchungen zur Kinetik und Biotransformation durchführen. Derzeit gibt es bereits sechs Organe, die auf dem Chip über feinste Mikrokanälchen miteinander verbunden sind.

Konzept der 10 Organe auf einem Chip.
Grafik: TissUse





Der 4-Organ-Chip von TissUse.
Foto: Christiane Hohensee

Der 4-Organ-Chip, bestehend aus Mini-Haut, -Darm, -Niere und -Leber ist in der Industrie schon längst im Testeinsatz. Um dem Miniaturmenschen näher zu kommen, arbeiten Entwickler wie beispielsweise das Berliner Unternehmen TissUse bereits an der Integration des Immunsystems. Die Validierungsstudie soll im nächsten Jahr beginnen. Dann sollen die zehn wichtigsten menschlichen Organe auf dem Chip verfügbar sein. Mit dem Abschluss der Validierung soll dann die Anerkennung und Aufnahme dieser in-vitro-Verfahren in die Testrichtlinien erfolgen.

Ersatzverfahren für in-vivo-Inhalationstoxizität

Zur Untersuchung der Auswirkungen des Rauchens haben Forscher des Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering an der Harvard-Universität in Boston eine kleine "Mikrolunge auf dem Chip" mit menschlichen Bronchialepithelzellen mit einer Zigarettenrauchmaschine kombiniert und zu einem Mikrorespirator weiterentwickelt.

Es gibt zwar schon länger Rauchmaschinen, die in der Lage sind, den Rauch mit einem gewissen Anteil an Frischluft zu kombinieren und die Intensität der Inhalation beziehungsweise die Rauchstärke zu simulieren. Nun ist es den amerikanischen Forschern der Innovationsschmiede am Wyss-Institut gelungen, ihr Airway-on-a-Chip-Modell mit einer solchen Maschine zu kombinieren. Das Chipmodell mit den menschlichen Bronchiolar-Epithelzellen beherbergt menschliche Bronchialzellen mit Flimmerhärchen und Schleim in kleinen Mikrokanälen. Die Zellen werden von Medium umflossen, so dass es zu einer Luft-Flüssigkeits-Schnittstelle kommt. Die Zellen stammen ursprünglich von gesunden Probanden oder vom COPD-Patienten. Die Zellen der Minilunge werden außerdem mechanischer Dehnbewegungen ausgesetzt, wie es beim Ein- und Ausatmen auch der Fall ist. Das Rauchgerät atmet Zigarettenrauch ein- und aus wobei der Gasstrom zu den Zellen auf dem Chip geleitet werden. So lässt sich die Langzeit-Entwicklung einer Lungenerkrankung durch Rauchen in-vitro studieren. Die Intensität des Rauchens kann am Gerät eingestellt werden⁽⁴³⁾.

Aber auch andere Forscher entwickeln in-vitro-Inhalationstests. So führt das Unternehmen Cultex derzeit eine Validierungsstudie mit ihrem in-vitro-Inhalationstestsystem RFS durch (51). Das Schweizer Unternehmen Epithelix hat in-vitro-Lungenmodelle entwickelt, die bereits in der Langzeit-toxikologie eingesetzt werden können. Der Hersteller gibt an, dass die Zellsysteme bis zu einem Jahr lebensfähig sind⁽⁵²⁾.

Ersatzverfahren für in-vivo-Reproduktionstoxizität: noch nicht in Sicht

Das Kernproblem bei der Entwicklung neuer tierfreier Testmethoden ist, die komplexen Vorgänge und Wechselwirkungen im Körper nachzubilden. Beispiel Fortpflanzung: Die Untersuchung einer möglichen schädlichen Wirkung auf die Reproduktionsleistung besteht aus unzähligen Bausteinen. Um eine Antwort auf die Frage zu erhalten, ob sich eine Substanz schädlich auf Fruchtbarkeit und Nachkommen auswirkt, werden bisher umfangreiche Tests u. a. auf Störung der männlichen und weiblichen Fruchtbarkeit, Schädigungen der Organ-Entwicklung der Nachkommen in der Früh- und Spätphase der Trächtigkeit und nach der Geburt durchgeführt. Auch die Entwicklung und die Fruchtbarkeit der Jungtiere selbst wird in weiteren Tests untersucht. Diese Versuche werden vor allem an Ratten durchgeführt. Die Auswirkungen auf die Nachkommen lässt sich nicht mit einer Chip-Technologie simulieren. Wohl aber die Auswirkung auf die Reproduktionsorgane und die Auswirkungen beispielsweise auf die frühe Entwicklung von Organen inklusive Nervenzellgewebe. Daran arbeiten die Wissenschaftler von TissUse mit ihrer Organ-on-a-Chip-Technologie.

Im neuen EU-Flagship-Programm ToxRisk werden Machbarkeitsstudien mit dem 4-Organ-Chip eingesetzt, bei dem zum Beispiel ein Mini"hirn", das mit Leber-, Darm- und Nierenzellen kombiniert wird⁽⁵⁰⁾.

Ersatzverfahren für in-vivo-Entwicklungsneurotoxizitätstests

Die Arbeitsgruppe um Prof. Ellen Fritsche vom Leibniz-Institut für umweltmedizinische Forschung in Düsseldorf hat ein sogenanntes Neurosphären-Modell entwickelt. Es handelt sich dabei um ein dreidimensionales in-vitro-Testsystem aus humanen neuronalen Vorläuferzellen (NPCs), die sich zu Nervenzellen weiterentwickeln. In Substanztests mit diesem Modell können Störungen grundlegender Prozesse der Gehirnentwicklung aufgedeckt werden. Darüber hinaus können mechanistische Studien auf Zell- und Molekularebene durchgeführt werden, um die Veränderungsprozesse zu charakterisieren, die durch chemische Substanzen verursacht wurden. Das Testsystem soll später einmal mit anderen Methoden in einem abgestuften Testansatz gemeinsam mit weiteren Tests eingesetzt werden^(53,54).

Toxikokinetik

Die EU förderte zwischen 2011 und 2015 das Projekt SEURAT-1. Ein Teilprojekt von SEURAT1 war COSMOS. Im Rahmen von COSMOS wurden auf Physiologie basierende Kinetikmodelle entwickelt (PBK Modelle), die von der europäischen Validierungsbehörde ECVAM begutachtet und in eine Datenanalyseplattform eingegliedert wurden. Mathematische PBK-Modelle ermöglichen Vorhersagen der Aufnahme, Verteilung, Verstoffwechslung und Ausscheidung von Substanzen sowohl im Menschen als auch im Tier. In Ergänzung durch in-vitro-Verfahren können sie die Toxikokinetik im lebenden Organismus vorhersagen. Das Joint Research Center der Europäischen Kommission hat zudem ein virtuelles in-vitro-Programm (Virtual Cell Based Assay, CBA) entwickelt, das mit den PBK-Modellen kombiniert wird und bessere Vorhersagen erlaubt^(55,56). Die Programme sind frei verfügbar und auf der Webplattform abrufbar⁽⁵⁷⁾.

Genotoxizität in-vitro

In-vivo Tests werden dann, durchgeführt, wenn sich positive Befunde aus den in-vitro-Mutagenitäts- und Klastogenitätstests in Bakterien (Ames-Test, OECD 471) oder aus einem in-vitro-Genmutationstest mit Säugetierzellen (OECD 476) ergeben haben. Die europäische Validierungsbehörde EURL ECVAM hat einen Hühneri-Mikrokern-Test (HET-NM) validiert und schlägt vor, ihn in eine Teststrategie mit aufzunehmen für die Fälle, in denen eine Substanz in in-vitro-Tests positiv auf Genotoxizität getestet wurde^(57,58).

Rodent Dominant Lethal Test nach OECD 478 soll wegfallen

Wegen begrenzter Aussagekraft (wenig spezifisch und sensitiv) und bedingt durch die Tatsache, dass der Test sehr kosten- und zeitaufwändig ist, sehr viele Tiere verbraucht werden und kaum Laborexpertise in Europa vorliegt, hat sich die europäische Validierungsbehörde für die Abschaffung dieser Testrichtlinie ausgesprochen. Die benötigten Daten können auch aus anderen Tests wie beispielsweise aus einem in-vitro-Keimzell-Genotoxizitätstest bezogen werden⁽⁵⁶⁾.

Ersatzverfahren in der translationalen Forschung

Die Umsetzung von Erkenntnissen aus der Grundlagenforschung in konkrete Anwendungen und Therapien für Patienten bezeichnet man als translationale Forschung (59). Dazu zählt beispielsweise die Durchführung von Wirksamkeitsprüfungen im Rahmen der Entwicklung eines neuen Medizinproduktes oder eines Arzneimittels⁽¹⁸⁾.

Zur Erforschung der Wirksamkeit von Arzneimitteln werden immer häufiger Krankheitsmodelle in der Petrischale verwendet. Dabei ist es nach dem heutigen Stand schon möglich, aus einer Hautzelle eines Patienten zum Beispiel ein völlig anderes Organengewebe herzustellen und damit in-vitro-Untersuchungen anzustellen.

So wie die CRISPR/Cas9-Technik genutzt wird, um transgene Tiere herzustellen, lässt sich diese Technik auch nutzen, um Stammzellen für die Produktion kranken Gewebes in der Petrischale oder auf dem Mikrochip zu verändern, wenn die entsprechende Patientenhautspende nicht zur Verfügung steht.

Beispiele sind die Erforschung der Schizophrenie mittels eines multiregionalen Brain-on-a-Chip-Modells^(60,61), in-vitro-Studien zur nicht-alkoholischen Fettleber (62, 63) oder Lungenkrebsstudien in-vitro (52). Die Möglichkeiten sind mittlerweile äußerst umfangreich. Fast täglich gibt es neue Meldungen über Entwicklungen auf dem Chip.

Bis Ende 2017 wird es möglich sein, mittels des 10-Organ-Chips einen Minimenschen auf dem Chip mit einzelnen Organerkrankungen abzubilden. Perspektivisch besteht aber auch die Möglichkeit, einen multimorbiden, alten Menschen auf dem Chip zu simulieren und hier Arzneimittel zu testen. Dies ist sicherer als die Tests an gesunden Ratten, die bisher im präklinischen Stadium durchgeführt werden. Auch Hormon- und Immunsystem werden dann integriert sein. Der bekannte 4-Organ-Chip, entwickelt von TissUse in Berlin wird bereits als Krankheitsmodell genutzt.

Grundlagenforschung: Ethische Erwägungen versus Forschungsfreiheit?

Die Grundlagenforschung hat sich bislang nicht maßgeblich in den Prozess der Entwicklung von Ersatzverfahren eingebracht. Sie verweist darauf, dass dies Sache der anwendungsbezogenen Forschung sei. Begründung: die Entwicklung humanspezifischer Verfahren habe ein konkretes Ziel, nämlich den Ersatz des Tierversuchs.

In der Grundlagenforschung war es bislang schwierig, das Gros der Wissenschaftler von den tierversuchsfreien Verfahren zu überzeugen. Viele pochen auf ihre Forschungsfreiheit nach Grundgesetz Artikel 5 Absatz 3. Wenn es um die Verteilung der Mittel geht, begründeten manche Geldgeber ihre Unzuständigkeit damit, dass es sich bei der Entwicklung tierversuchsfreier Methoden (nur) um eine Methodenentwicklung handele – und eine Methodenentwicklung gehöre in die angewandte Forschung und somit in einen anderen Fördertopf. Mechanistische Erkenntnisse werden gerne zur Kenntnis genommen und gegebenenfalls berücksichtigt, so wie die angewandte Forschung ebenfalls gerne die Ergebnisse aus dem Tierversuch berücksichtigt, beispielsweise bei der Entwicklung von Computersimulationsprogrammen.

In der Grundlagenforschung wird zudem gerne in Anspruch genommen, dass die zweckfreie Forschung einen intrinsischen Wert an sich habe⁽⁶⁷⁾. Wenn es um die Kosten-Nutzen-Abwägung für die Beurteilung der ethischen Vertretbarkeit des Tierversuchs geht, wird jedoch mit dem potenziellen Nutzen zur Heilung von menschlichen Erkrankungen, also mit der Perspektive einer Translationalität, argumentiert, um den Nutzen der Forschung zu betonen und um die Belastung für das Tier zu rechtfertigen.

In Artikel 3 (Definitionen) Nr. 1 heißt es ganz eindeutig: Im Sinne dieser Richtlinie bezeichnet der Ausdruck „Verfahren“ jede invasive oder nicht invasive Verwendung eines Tieres zu Versuchszwecken oder anderen wissenschaftlichen Zwecken mit bekanntem oder unbekanntem Ausgang“. Und im Anhang VII (Befugnisse und Aufgaben des Referenzlabors der Union (EC-VAM)) Nr. 2 wird unter a) aufgezählt: „...Koordinierung und Förderung der Entwicklung und Verwendung von Alternativen zu Verfahren, darunter auch in den Bereichen der Grundlagenforschung und der angewandten Forschung und der gesetzlich vorgeschriebenen Versuche“ (68). Das bedeutet, dass auch in der Grundlagenforschung die Verwendung von Ersatzverfahren zum Tierversuch in Erwägung gezogen werden müssen.

In ihrem White Paper⁽⁶⁷⁾ hat sich die Max-Planck-Gesellschaft verpflichtet, Tierversuche durch die Förderung und Finanzierung alternativer Versuchsmethoden zu vermeiden. Vor diesem Hintergrund, wäre es zielführend, einen Etat auszuweisen und ergebnisoffen an der Entwicklung von Ersatzverfahren zu arbeiten.

Bewertung

In den letzten zehn Jahren hat sich auf dem Gebiet der Ersatzverfahren zum Tierversuch viel getan. Schon die Vielfalt von neuen Methoden für die regulatorische Toxikologie lässt erahnen, weshalb die Niederlande davon überzeugt ist, dass es möglich ist, bis zum Jahr 2020 im bestimmten Bereichen der Toxikologie aus dem Tierversuch aussteigen zu können⁽⁶⁴⁾.

Da auch die Industrie ein großes Interesse an humanspezifischen Verfahren hat, arbeitet die Forschung auch an Lösungen für den besonders komplizierten systemischen Ansatz. Erfolge gibt es u. a. im Bereich der Stammzellforschung, der Chiptechnologie und der bildgebenden

Verfahren. Diese werden zu einer Beschleunigung der Entwicklungen insgesamt beitragen. Erfreulicherweise schließt das EU-ToxRisk-Projekt ab 2016 nahtlos an die Ergebnisse der Projekte ReproTect und Seurat an, mit dem konkreten Ziel, Machbarkeitsstudien und Umsetzungsmöglichkeiten zu erarbeiten. Dies wird die Entwicklung von tierfreien Verfahren auch in den Bereichen Langzeitstudien, Reproduktionstoxikologie und Inhalationstoxikologie entscheidend voranbringen. Und sind die Verfahren erst einmal entwickelt, können sie oft auch in Forschungsbereichen jenseits der Toxikologie, wie der translationalen/angewandten Forschung dazu beitragen, Tierversuche abzulösen. Entscheidend für die Entwicklung leistungsfähiger tierversuchsfreier Verfahren ist und bleibt jedoch, dass in diesen Bereich konsequent weiter investiert wird, um die Forschung voranzubringen.

Rehoming: nicht nur für Affen, Katzen und Hunde möglich

Was passiert mit den Ratten nach dem Tierversuch oder mit denen, die nur als Kontrolle dienen oder zur Zucht zu alt geworden sind? Nach dem deutschen Tierschutzgesetz ist es verboten, ein Tier ohne vernünftigen Grund zu töten (Art. 1). Aber Ausnahmen sind zulässig (siehe Kasten). Die EU-Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU ermöglicht aber auch eine private Unterbringung (sogenanntes Rehoming). Im Erwägungsgrund Nr. 26 der europäischen Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU heißt es: „Am Ende des Verfahrens sollte im Hinblick auf die Zukunft des Tieres die angemessenste Entscheidung auf Grundlage des Wohlergehens der Tiere und der möglichen Risiken für die Umwelt getroffen werden.“ Im Falle einer Unterbringung müssen Züchter, Lieferanten und Verwender über ein Programm für die private Unterbringung verfügen (Art. 29 der europäischen Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU).

Entgegen diesen rechtlichen Ausführungen werden Ratten und Mäuse dagegen in der Regel getötet und anderen Instituten als "Material", wie beispielsweise den sogenannten Schnippekursen in der Biologie oder der Toxikologie zur Verfügung gestellt. Es gibt dennoch einige wenige Versuche, auch Kleinsttiere zu vermitteln. Praktiziert wird dies zum Beispiel von der österreichischen Organisation „SaveMYlife“, dem Verein zur Rettung der Labortiere mit Sitz in Wien.

Die Organisatorinnen pflegen regen Kontakt zu österreichischen Tierversuchslabors und schaffen es, jeden Monat Tiere im zweistelligen Bereich innerhalb Österreichs aber auch nach Deutschland oder der Schweiz zu vermitteln. zweimal im Jahr werden gesunde Wistar-, Long Evans- aber auch Hairless-Ratten von Laboren abgeholt und in ein neues Zuhause vermittelt. Klassische Tierschutzvereine kommen für solche Vermittlungsaktionen meist nicht in Frage, weil sie in der Regel durch die Aufnahme anderer „Notfälle“ in ihren Kapazitäten ausgelastet sind.

Das Dilemma der überzähligen Versuchstiere

Nach britischen Angaben sollen ungefähr 85 Prozent mehr Tiere bei der Erzeugung und Erhaltung einer genetischen Linie anfallen, als am Ende in Tierversuchen eingesetzt werden. Dies ist beispielsweise darauf zurückzuführen, dass sie nicht über den gewünschten Phänotyp verfügen⁽⁶⁵⁾. Dies könne auch über eine sorgsame Zuchtplanung nicht verhindert werden. Zwar haben sich die Bedingungen in dieser Hinsicht inzwischen stark verbessert - bei der Erhaltungszucht werden viele transgene Tiere erst bei tatsächlichem Bedarf erzeugt und ihr genetisches Material bis dahin kryokonserviert gelagert.

Doch was passiert mit den überzähligen Tieren? Es sind ja nicht nur genetisch veränderte Tiere, sondern auch die vielen Zuchttiere, die im Rahmen nicht-gentechnischer Versuche zum Beispiel aufgrund ihres Alters oder Geschlechts überzählig sind. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat sich eingehender mit der Frage befasst, unter welchen Umständen ein vernünftiger Grund vorliegt, überzählige Versuchstiere zu töten⁽⁶⁵⁾.

Eine Vermittlung an Privatpersonen wird wegen der hohen Tierzahlen als praktisch nicht umsetzbar angesehen. Auch gäbe es keine Kapazitäten, sie im eigenen Institut bis zu ihrem natürlichen Tod zu halten. Die Unterbringung in den Wissenschaftseinrichtungen würde den Wissenschaftsbetrieb zum Erliegen bringen und da das im Grundgesetz garantierte Grundrecht auf Forschungsfreiheit vorbehaltlos gelte, würde durch eine Pflicht zur Haltung überzähliger Tiere ein schwerwiegender Eingriff in den Kernbereich der Wissenschaftsfreiheit vorliegen. Und noch etwas: die Staatszielbestimmung im Grundgesetz Art. 20a, sei nur ein objektives Gebot, das keine durchsetzbaren subjektiven Rechte begründe. Es handelt sich nach der Einschätzung des BfR nur um eine Art „Untermaßverbot“, wonach der Gesetzgeber ein bestimmtes Mindestniveau an Tierschutz zu gewährleisten habe. Daraus könne man ableiten, dass der Wissenschaftsfreiheit ein höheres Gewicht zukäme als dem Tierschutz. Die Tötung von überzähligen Versuchstieren sei also dann gerechtfertigt, wenn die Zucht sorgfältig geplant und alle Maßnahmen zur Verminderung des Tierüberschusses ergriffen wurden.

In Deutschland kümmert sich auch die Initiative Hilfe für Labortiere Berlin e.V.⁽⁶⁶⁾ um die Vermittlung von Ratten, die aus dem Labor kommen. Pro Jahr können rund 50 Ratten vermittelt werden. Dabei wirkt es sich positiv im Sinne der Tiere aus, dass die genehmigende Kommission nach § 15 Tierschutzgesetz Auflagen machen kann, dass bestimmte Tiere nach Abschluss der Versuche zur Vermittlung freizugeben sind. Das ist zwar nur ein Tropfen auf dem heißen Stein – das Vorgehen zeigt aber, dass es vermeidbar ist, gesunde Ratten aufgrund von wirtschaftlichen Gründen automatisch zu töten.

Maßnahmenpaket umsetzen

Der Bundesverband Menschen für Tierrechte setzt sich auf wissenschaftlicher, politischer und gesellschaftlicher Ebene für die Abschaffung des Tierversuchs ein. Das Versuchstier des Jahres ist ein Mittel, mit dem der Verband die Öffentlichkeit aufklärt und konkrete Lösungsmöglichkeiten aufzeigt.

Um sein Ziel zu erreichen, hat der Verband einen umfangreichen Maßnahmenkatalog zusammengestellt und fordert von der Politik eine Gesamtstrategie für eine tierleidfreie Wissenschaft. Ganz oben auf der Liste der notwendigen Maßnahmen steht der massive Ausbau der tierversuchsfreien Forschung, insbesondere durch die Erhöhung der Forschungsgelder innerhalb Deutschlands und in der EU. Wer ernsthaft eine erfolgreiche Entwicklung der neuen Methoden verfolgt, muss für diesen Wissenschaftszweig innerhalb der Lebenswissenschaften einen mindestens gleich hohen Etat ausweisen wie für die tierexperimentelle Forschung. Ebenso unentbehrlich sind neue Kriterien bei der Vergabe von Fördermitteln sowie die Förderung von Nachwuchswissenschaftlern. Deshalb ist die Einrichtung von Lehrstühlen und Professuren für eine tierversuchsfreie Wissenschaft, Lehre und Ausbildung ein absolutes Muss. Eine weitere wichtige Begleitmaßnahme ist das Verbot bestimmter Tierversuche. Verbotsregelungen für bestimmte Tierversuche sind schon heute EU-rechtlich möglich, auch wenn noch keine tierversuchsfreien Methoden vorhanden sind. Hierzu gehört insbesondere das ausnahmslose Verbot schwerbelastender Tierversuche, von denen auch Ratten betroffen sind.

Auf Ebene der behördlichen Anerkennungsverfahren muss die drastische Verkürzung der Prüf- und Anerkennungszeiten für tierversuchsfreie Methoden ermöglicht werden. Derzeit dauert diese Phase zwischen sechs und 15 Jahren! Im Rahmen seines Projektes Invitro+Jobs stellt der Bundesverband Menschen für Tierrechte tierversuchsfreie Verfahren und Wissenschaftler vor. So trägt das Wissenschaftsportal dazu bei, die wichtige Vernetzung in diesem Bereich voranzutreiben.

Wir freuen uns, dass Sie sich für unsere Arbeit interessieren. Um die Abschaffung des Tierversuchs zu erreichen, sind wir als gemeinnütziger Verein auf Ihre Mithilfe angewiesen. Bitte unterstützen Sie unsere Arbeit mit einer Mitgliedschaft oder Spende. Vielen Dank!

Literatur

- (1) Gebhard, U. (2013): Die Bedeutung der Natur für die psychische Entwicklung. Springer Verlag, 4. Auflage. DOI 10.1007/978-3-658-01805-4
- (2) Deutsche Forschungsgemeinschaft (1993): Denkschrift "Tierversuche in der Forschung", VCH-Verlag Weinheim.
- (3) Helmut Appl in: Tierversuche früher und heute.
<http://paedpsych.jk.uni-linz.ac.at/INTERNET/ORGANISATIONORD/HEINRICH/UE8.pdf>
- (4) <https://www.tierversuche-verstehen.de/tierarten-und-ihr-einsatz-in-der-forschung/>
- (5) OECD Testrichtlinien, Sektion 4: Gesundheitseffekte: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788
- (6) Blatt, C. & Resch, S. (2017): Wanderratte - *Rattus norvegicus*. In: Internethandbuch über Kleinsäugerarten im mitteleuropäischen Raum: Körpermerkmale, Ökologie und Verbreitung. kleinsaeuger.at, Salzburg.
<http://kleinsaeuger.at/rattus-norvegicus.html>
- (7) <http://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/ghoerorgane/4134>
- (8) Eibl-Eibesfeldt, I. (1978): Grundriß der vergleichenden Verhaltensforschung. 5. Auflage. Piper Verlag, München.
- (9) Dröscher, V. B. (1968): Die freundliche Bestie. Stalling Verlag, Hamburg.
- (10) The Mammal Society (o. J.): Species Fact Sheet: Brown Rat (*Rattus norvegicus*). www.mammal.org.uk
- (11) Dietze, A. & Zinke, O. (2007): Aktuelle Nachweise der Hausratte (*Rattus rattus* (L. 1758) aus der westlichen Oberlausitz – ein Beitrag zur Säugetierfauna der Oberlausitz. Kamenz.
- (12) <https://www.tierversuche-verstehen.de/haltung-von-versuchstieren/>
- (13) Commission Recommendation on Guidelines for the Accomodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes. 30.7.2007. Anhang II der EU-Tierversuchsrichtlinie 2010/63/EU.
- (14) Verordnung (EG) Nr. 440/2008 zur Festlegung von Prüfmethoden gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), Teil B: Methoden zur Bestimmung der Toxizität und sonstiger Auswirkungen auf die Gesundheit <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:142:0001:0739:de:PDF>
- (16) Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft: Tierversuchszahlen 2014. http://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Tier/Tierschutz/2014-TierversuchszahlenGesamt.pdf?__blob=publicationFile
- (17) Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft: Tierversuchszahlen 2015. http://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/_texte/TierschutzTierforschung.html?nn=310198¬First=false&docId=8596776
- (18) Durchführungsbeschluss der Kommission vom 20. Dezember 2013 zur Berichtigung von Anhang II des Durchführungsbeschlusses 2012/707/EU zur Festlegung eines gemeinsamen Formats für die Vorlage der Informationen gemäß der Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. AktZ.: C (2013) 9220. Ausführliche Anweisungen für die Angabe Statistischer Daten über die Verwendung von Tieren für wissenschaftliche Zwecke gemäß Artikel 54 Absatz 2, Nr. 9, Punkt iii)
- (19) REACH-Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH).
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:136:0003:0280:de:PDF>
- (20) Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:353:0001:1355:de:PDF>
- (21) <https://www.umweltbundesamt.de/themen/chemikalien/chemikalien-reach/rechtliche-regelungen>
- (22) EMA (2011): ICH guideline S6 (R1) – preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002828.pdf

- (23) OECD Testguideline No. 413 (2009): Subchronic Inhalation Toxicity. 90-day Study. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-413-subchronic-inhalation-toxicity-90-day-study_9789264070806-en
- (24) Europäische Chemikalienagentur (ECHA): Two recently approved in vivo Genotoxicity test guidelines. https://echa.europa.eu/documents/10162/21650280/oecd_test_guidelines_genotoxicity_en.pdf
- (25) OECD Testrichtlinie 488: Transgenic rodent (TGR) somatic and germ cell gene mutation assays. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-488-transgenic-rodent-somatic-and-germ-cell-gene-mutation-assays_9789264203907-en
- (26) Maximal tolerierte Dosis. <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-13-00809>
- (27) OECD Testrichtlinie 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-489-in-vivo-mammalian-alkaline-comet-assay_9789264224179-en
- (28) OECD Testrichtlinie 486: Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells In Vivo. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-486-unscheduled-dna-synthesis-uds-test-with-mammalian-liver-cells-in-vivo_9789264071520-en
- (29) Gennaro Giordano & Lucio G. Costa (2012): Developmental Neurotoxicity: Some Old and New Issues. Reviewartikel des International Scholarly Research Network, ISRN Toxicology, Volume 2012, Article ID 814795, 12 pages. doi:10.5402/2012/814795
- (30) <http://www.schwimmen-bis-zur-verzweiflung.de/versuche.html#schwimmen>
- (31) OECD Test No. 426: Developmental Neurotoxicity Study. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-426-developmental-neurotoxicity-study_9789264067394-en
- (32) Kaley MacFadyen, Rebecca Loveless, Brandon DeLucca, Krystal Wardley, Sumeet Deogan, Cameron Thomas & Joanna Peris (2016): Peripheral oxytocin administration reduces ethanol consumption in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 140: 27–32. doi: 10.1016/j.pbb.2015.10.014
- (33) Michael T. Bowen, Sebastian T. Peters, Nathan Absalom, Mary Chebib, Inga D. Neumann & Iain S. McGregor (2016): Oxytocin prevents ethanol actions at δ subunit containing GABAA receptors and attenuates ethanol induced motor impairment in rats. *PNAS* 112/10: 3104–3109. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1416900112
- (34) <https://www.mpg.de/9209981/Primatenforschung>
- (35) Houman Safaai, Ricardo Neves, Oxana Eschenko, Nikos K. Logothetis & Stefano Panzeri (2015): Modeling the effect of locus coeruleus firing on cortical state dynamics and single-trial sensory processing. *PNAS* 112/41: 12834–12839.
- (36) https://de.wikipedia.org/wiki/Locus_caeruleus
- (37) A.K. Suokas, D.R. Sagar, P.I. Mapp, V. Chapman & D.A. Walsh (2014): Design, study quality and evidence of analgesic efficacy in studies of drugs in models of OA pain: a systematic review and a meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage* 22/9: 1207-1223. [http://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584\(14\)01124-8/abstract](http://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584(14)01124-8/abstract)
- (38) Thomas Pitcher, João Sousa-Valente & Marzia Malcangi (2016): The Monoiodoacetate Model of Osteoarthritis Pain in the Mouse. Videoartikel. *Journal of Visualized Experiments* 111, e53746, doi:10.3791/53746. <http://www.jove.com/pdf/53746/jove-protocol-53746-the-monoiodoacetate-model-of-osteoarthritis-pain-in-the-mouse?language=German>
- (39) Chapman, V (2016): Tiermodelle für Schmerzen bei Arthrose. *Internationale Gesellschaft zum Studium des Schmerzes*. http://www.dgss.org/fileadmin/pdf/pdf_2/Material_der_Internationalen_Schmerzgesellschaft/4_German_Formatted.pdf
- (40) Bundesinstitut für Risikobewertung: Datenbank Animaltestinfo zu nicht-technischen Projektzusammenfassungen. <https://www.animaltestinfo.de/>
- (41) P. Caplazi, M. Baca, K. Barck, R. A. D. Carano, J. DeVoss, W. P. Lee, B. Bolon & L. Diehl (2015): Mouse Models of Rheumatoid Arthritis. *Veterinary Pathology* 52/5: 819-826. DOI: 10.1177/0300985815588612
- (42) Jonatan Tuncel, Sabrina Haag, Markus H. Hoffmann et al. (2016): Animal Models of Rheumatoid Arthritis (I): Pristane-Induced Arthritis in the Rat. *PLOS ONE* DOI: 10.1371/journal.pone.0155936.
- (43) Kambez H. Benam, Richard Novak, Janna Nawroth, Mariko Hirano-Kobayashi, Thomas C. Ferrante, Young-jae Choe, Rachele Prantil-Baun, James C. Weaver, Anthony Bahinski, Kevin K. Parker and Donald E. Ingber (2016): Matched-Comparative Modeling of Normal and Diseased Human Airway Responses Using a Microengineered Breathing Lung Chip. *Cell Systems* 3/5: 456–466.e4. [http://www.cell.com/cell-systems/pdfExtended/S2405-4712\(16\)30322-2](http://www.cell.com/cell-systems/pdfExtended/S2405-4712(16)30322-2)
- (44) <http://www.netdoktor.de/krankheiten/chorea-huntington/>
- (45) Veronika Lippross (2015): Objektive, nicht-invasive bildgebende Diagnostik der Neurodegeneration in transgenen Huntington-Ratten – eine Follow-up-Studie mit Kleintier-PET und - MRT. Inaugural Dissertation an der Tierärztlichen Hochschule Hannover.
- (46) Thomas Luechtefeld, Alexandra Maertens, Daniel P. Russo, Costanza Rovida, Hao Zhu & Thomas Hartung (2016): Analysis of Public Oral Toxicity Data from REACH Registrations 2008-2014. *ALTEX* 33(2): 111-122.
- (47) Andrea Gissi, Kimmo Louekari, Laurence Hoffstadt, Norbert Bornatowicz and Alberto Martin Aparicio (2016): Alternative acute oral toxicity ALTEX Online first published November 8, 2016. <https://doi.org/altex.1609121>
- (48) Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology (2016): Guidance Document on Considerations for Waiving or Bridging of Mammalian Acute Toxicity Tests. Series on Testing & Assessment Nr. 237. ENV/JM/MONO(2016)32.

- (49) ECHA (2016): Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.7a: End-point specific guidance. Draft version 6.0, Mai 2016.
- (50) <http://www.invitrojobs.com/index.php/de/neuigkeiten/news-archiv/item/2539-wissenschaftlicher-kongress-der-europaeischen-kommission-non-animal-approaches-the-way-forward>
- (51) <http://www.invitrojobs.com/index.php/de/neuigkeiten/news-archiv/item/361-cultex-symposium-erwartungen-erfuellt>
- (52) <http://www.oncotheis.com/products/other-lung-models>
- (53) <http://www.iuf-duesseldorf.de/ag-fritsche.html>
- (54) <https://www.efsa.europa.eu/en/events/event/161018b>
- (55) Bois FY, Ochoa JG, Gajewska M, Kovarich S, Mauch K, Paini A, Péry A, Benito JV, Teng S & Worth A (2016): Multiscale modelling approaches for assessing cosmetic ingredients safety. Toxicology <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27267299>
- (56) EURL ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches (2016) <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X16300890>
- (57) <https://knimewebportal.cosmostox.eu/com.knime.enterprise.server/#login>
- (58) Greywe D, Kreuzt J, Banduhn N, Krauledat M, Scheel J, Schroeder KR, Wolf T & Reisinger K. (2012): Applicability and robustness of the hen's egg test for analysis of micronucleus induction (HET-MN): results from an inter-laboratory trial. Mutat Res. 747/1: 118-134. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571812001635>
- (59) <http://www.interpharma.ch/forschung/2040-translazionale-forschung>
- (60) Stephanie Dauth, Ben M Maoz, Sean P Sheehy, Matthew A Hemphill, Tara Murty, Mary Kate Macedonia, Angie M Greer, Bogdan Budnik, Kevin Kit Parker (2016): Neurons derived from different brain regions are inherently different in vitro: A novel multiregional brain-on-a-chip. DOI: 10.1152/jn.00575.2016. <http://jn.physiology.org/content/early/2016/12/28/jn.00575.2016>
- (61) <http://www.invitrojobs.com/index.php/de/neuigkeiten/news-archiv/item/2610-wyss-institut-multiregionales-brain-on-a-chip-modell-zum-studium-vom-schizophrenie>
- (62) Graffmann N, Ring S, Kawala MA, Wruck W, Ncube A, Trompeter HI, et al. (2016): Modelling NAFLD with human pluripotent stem cell derived immature hepatocyte like cells reveals activation of PLIN2 and confirms regulatory functions of PPARalpha. Stem cells and development. <http://online.liebertpub.com/doi/10.1089/scd.2015.0383>
- (63) <http://www.invitrojobs.com/index.php/de/neuigkeiten/news-archiv/item/2296-in-vitro-studie-zur-nicht-alkoholischen-fettleber-publiziert>
- (64) <https://english.ncadierproevenbeleid.nl/>
- (65) Justyna Chmielewska, Bettina Bert, Barbara Grune, Andreas Hensel, Gilbert Schönfelder (2015) Der „vernünftige Grund“ zur Tötung von überzähligen Tieren. Eine klassische Frage des Tierschutzrechts im Kontext der biomedizinischen Forschung. NuR 37: 677–682.
- (66) <http://labortiereberlin.de/>
- (67) Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e. V. (2017): White Paper: Tierversuche in der Max-Planck-Gesellschaft. München.
- (68) Richtlinie 2010/63/EU des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. http://www.forschung3r.ch/data/news/Directive_2010_63_d.pdf

BLEIBEN SIE INFORMIERT

Abonnieren Sie unter: www.newsletter.tierrechte.de unseren Tierrechte-Newsletter und folgen Sie uns auf Facebook: www.facebook.com/menschenfuertierrechte

SPENDEN

Der Bundesverband ist seit über 30 Jahren als gemeinnützig und besonders förderungswürdig anerkannt. Spenden und Mitgliedsbeiträge sind steuerlich absetzbar.

Sparkasse Aachen

IBAN DE02 3905 0000 0016 0079 73

SWIFT-BIC AACSD33

KONTAKT

Geschäftsstelle:

Roermonder Straße 4a, 52072 Aachen

Tel. 0241 - 15 72 14 | Fax 0241 - 15 56 42

info@tierrechte.de | www.tierrechte.de



Menschen für Tierrechte
Bundesverband der Tierversuchsgegner e. V.