

Versuchstier des Jahres 2020:

Der Hund in der Chemikalien- und Arzneimitteltestung

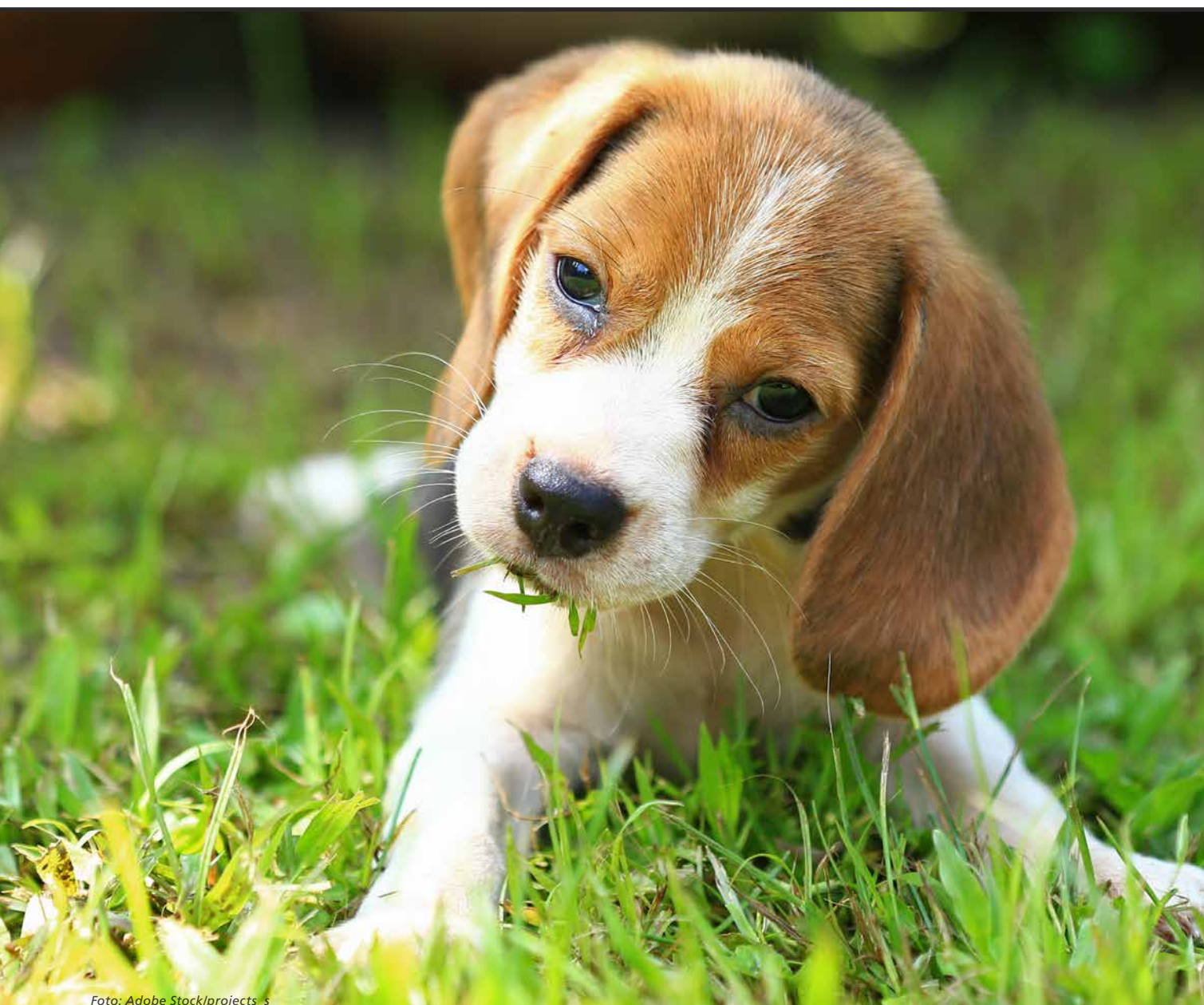


Foto: Adobe Stock/projects_5

Seit 2003 ernennt der Bundesverband Menschen für Tierrechte das „Versuchstier des Jahres“. Damit sollen Tierversuche an einer bestimmten Tierart öffentlich gemacht werden. Wir zeigen auf, welche Leiden den Tieren im Labor zugefügt werden und erörtern, welche tierleidfreien Möglichkeiten bereits existieren. Das Jahr 2020 ist dem Hund in der Chemikalien- und Arzneimitteltestung gewidmet. Er hat es verdient, weil trotz zahlreicher Entwicklungen in den letzten Jahren nicht viel umgesetzt wurde, um den Tierversuch mit Hunden abzulösen.

Inhalt

Versuchstier des Jahres 2020: Der Hund in der Chemikalien- und Arzneimitteltestung

Versuchstier des Jahres 2020: Der Hund in der Chemikalien- und Arzneimitteltestung	3
Zusammenfassung	3
1. Der Hund im Tierversuch: ein trostloses Leben	4
2. Der Hund in Zahlen	5
Wo sind die Versuchstierhochburgen für Hunde?	5
3. Zwecke der für Versuche eingesetzten Tiere	6
Begriffsbestimmung, Studiendauer	7
3.1 Toxikologische und pharmakologische Prüfungen	8
3.2 Welche Art gesetzlich vorgeschriebene Tierversuche mit Hunden wurden gemacht?...	10
3.3 Tierversuche an Hunden im Bereich der translationalen/angewandten Forschung	11
3.4 Der Hund in der Arzneimittelforschung und -entwicklung:	
Hund und Herz gehören zusammen	12
Aufbau und Physiologie des Herzens	13
3.5 Grundlagenforschung	16
4. Kritik am Tierversuch mit Hunden	16
4.1 Der Hund in der Pestizidtestung: die Argumente dagegen	16
4.2 Kritik an Hunden in der Zahnmedizin	17
Begriffsbestimmungen	17
4.3 Kritik am Tierversuch in der Sicherheitspharmakologie für Arzneimittelentwicklung ..	17
Begriffsbestimmungen	18
5. Welche Verfahren könnten den Tierversuch ersetzen?	19
5.1 Pestizidtestung	19
Warum der Hund?	19
5.2. Herztoxizität in der Arzneimittelentwicklung	20
5.2.1 Innovative Zellkultursysteme zur genauen Messung von Funktionen in Herzzellen oder -geweben	20
5.2.2 In-silico-Methoden	21
6. Tierversuchsfreie Zukunft: USA und die Niederlande gehen voran	21
Europäischer Green Deal: eine Landwirtschaft ohne chemische Pestizide	23
Literatur	23



Foto: Pixabay

Versuchstier des Jahres 2020: Der Hund in der Chemikalien- und Arzneimitteltestung

Der Bundesverband Menschen für Tierrechte ernennt jedes Jahr ein „Versuchstier des Jahres“. Damit wollen wir Tierversuche, die an einer bestimmten Tierart durchgeführt werden, öffentlich machen oder wieder daran erinnern, wenn wir den Eindruck gewonnen haben, dass sich trotz neuer Methoden zum Ersatz von Tierversuchen nichts geändert hat. Bereits 2013 war der Beagle als Vertreter des Hundes Versuchstier des Jahres. Und schon vor sieben Jahren hatten wir die wissenschaftlichen Diskussionen zu der Überflüssigkeit von Langzeittests mit Hunden bei der Pestizidtestung thematisiert. Was ist seitdem passiert? Und wann setzen sich die neuen Methoden zum Ersatz von Tierversuchen in der Herzgiftigkeitsprüfung endlich durch? Wir versuchen, Licht in das Dunkel zu bringen.

Zusammenfassung

Chemische Substanzen, zu denen auch Arzneimittel gehören, müssen auf Unbedenklichkeit getestet werden. Hierfür erfolgen Giftigkeitstests, um eine Sicherheitsbewertung vornehmen zu können. Bei den Arzneimitteln kommen noch Wirksamkeitstests dazu. Das bedeutet eine ein- oder wenig-malige (akute) orale, dermale oder/und inhalative Verabreichungen der Testsubstanz sowie tägliche Langzeittests (28 Tage, 90 Tage, 12 Monate oder länger) nicht nur an Nagetieren. Je nach Teststoff müssen dann neben Kaninchen und Affen auch Hunde als zweite, sogenannte Nicht-Nagerspezies in den Versuch. Häufig steht am Ende der Tod der Tiere und eine darauffolgende Entnahme ihrer Organe zur Untersuchung auf Veränderungen (Nekropsie und histopathologische Untersuchungen).

Was Giftigkeitstests bedeuten können, haben die Bilder im Laboratory of Pharmacology and Toxicology (LPT) im niedersächsischen Mienenbüttel (Landkreis Harburg) gezeigt: im Blut liegende, sich selbst überlassene Laborbeagles^(1,2).

Die Bilder illustrierten, was sich möglicherweise Jahr für Jahr in deutschen und europäischen Testlaboren abspielt, um Pestizide oder andere Stoffe auf ihre Sicherheit zu testen. War LPT am Ende nur die Spitze des Eisbergs? Neben Mienenbüttel gibt es noch weitere LPT-Labors wie Hamburg-Neugraben (wie Mienenbüttel inzwischen ebenfalls geschlossen), Löhndorf (bei Kiel) sowie zahlreiche andere Versuchslabore in Deutschland und EU-weit. Seit Jahren versuchen Wissenschaftler und Tierschützer, den Einsatz von Hunden in der Pestizidtestung zu beenden oder zumindest zu reduzieren. Im Gegensatz dazu haben jedoch die Zahlen von zu Testzwecken verwendeten Hunden im Jahr 2018 wieder zugenommen⁽³⁾. Die USA und die Niederlande gehen beim Ausstieg aus dem Tierversuch allen voran^(4,5,6). Und bei den Arzneimitteln gibt es für die Prüfung auf Herzgiftigkeit inzwischen eine weitaus bessere Alternative (CIPA-Initiative⁽⁷⁾). Diese Initiative stellen wir in Kapitel 5.2 näher vor.



Foto: Adobe Stock/Andrea Izzotti

Mit dem Versuchstier des Jahres 2020 wollen wir diese Ursachen und Hintergründe beleuchten und über den aktuellen Stand bei den Ersatzverfahren zu Versuchen mit Hunden berichten.

1. Der Hund im Tierversuch: ein trostloses Leben

Hunde sind Rudeltiere, allen voran der Beagle. Nach der europäischen Tierversuchsrichtlinie EU/63/2010 ist auch Hunden, die in den Tierversuch sollen, soweit möglich Auslauf im Freien zu bieten. Für den Tierversuch selbst und für das folgende Leid werden die Tiere jedoch häufig in Betonzwingern allein oder zu zweit mit Sichtkontakt durch Gitter gehalten⁽⁸⁾. Im Gegensatz zu ihren Artgenossen in Privathaltung kennen sie in der Regel keine natürlichen Gerüche, kein Gras, keinen Waldboden und müssen das erst kennenlernen, wenn sie die Versuchsanlage denn, wie im Fall von LPT Mienenbüttel, überleben.

Die Mindestfläche, auf der sich die Beagles oder Hunde vergleichbarer Größe aufhalten, ist lt. europäischer Tierversuchsrichtlinie⁽⁹⁾ äußerst bescheiden: 2 Quadratmeter Fläche bei 2 Metern Höhe für einen Hund mit einem Gewicht unter 20 kg, 4 Quadratmeter Fläche bei 2 Metern Höhe für einen Hund mit einem Gewicht über 20 kg. Hunde, die als Paar oder in Gruppen gehalten werden, können jeweils auf der Hälfte des für jedes Einzeltier zur Verfügung stehenden Gesamtplatzes untergebracht werden, wenn sie, wie in dieser Richtlinie definiert, Verfahren unterzogen werden und vorausgesetzt, diese Trennung ist aus wissenschaftlichen Gründen unerlässlich. Ein Hund darf höchstens vier Stunden ununterbrochen so beengt untergebracht werden.

2. Der Hund in Zahlen

Die Zahl der im Tierversuch verwendeten Hunde im Jahr 2018 hat gegenüber 2017 wieder zugenommen: Insgesamt mussten knapp 4.000 Hunde (3.993) in den Tierversuch⁽³⁾, das sind annähernd 20% mehr gegenüber 2017 (3.330)⁽¹⁰⁾. Sie ist sogar über das Niveau von 2016 gestiegen (3.964)⁽¹¹⁾.

Für die Versuche stammten nur 8,4 % der eingesetzten Hunde aus in der EU registrierten Einrichtungen. Mehr als 46% wurden aus dem außereuropäischen Ausland bezogen, 45,2% von nicht-registrierten Einrichtungen innerhalb der EU⁽³⁾. Das dürfte eigentlich nicht zulässig sein, denn nach Artikel 20, Absatz 1 der europäischen Tierversuchsrichtlinie EU/63/2010 haben die Mitgliedstaaten zu gewährleisten, dass alle Züchter, Lieferanten und Verwender von einer zuständigen Behörde zugelassen und dort registriert werden. Eine Zulassung wird nur dann erteilt, wenn der Züchter, Lieferant oder Verwender und seine Einrichtung den Anforderungen dieser Richtlinie genügen. Zumindest ein Teil dieser Tiere könnte von Haltern stammen, die nach einer Testbehandlung einer Tiererkrankung ihre Tiere wieder mit nach Hause genommen haben. Wie hoch der Anteil ist, ist unbekannt. Rund 47 Prozent der Hunde erleben einen Daueralptraum: Sie hatten aus früheren Versuchen überlebt und wurden in 2018 wiederholt in Tierversuchen eingesetzt (sogenannte Wiederverwendete).

Anzahl an Hunden im Tierversuch in den Jahren 2014-2018

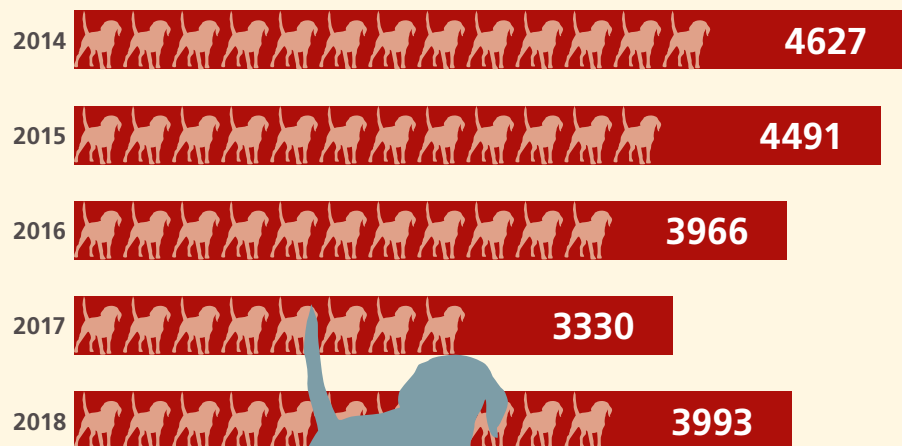


Abb. 1:
Anzahl an Hunden im Tierversuch
in den Jahren 2014-2018.

Quelle: Tierversuchsstatistiken BMEL 2014-189.

In einigen Fällen stammen sie von Harlan bzw. Envigo⁽¹²⁾ oder Marshall BioResources (die sogenannten Marshall Beagles⁽¹³⁾). Charles River ist ebenfalls ein Anbieter von Labor-Beagles.

Wo sind die Versuchstierhochburgen für Hunde?

Die Flächenländer Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen sind Hochburgen für Tierversuche an Hunden, gefolgt von Baden-Württemberg und Hessen⁽¹⁴⁾. In Niedersachsen könnten unter anderem die Tierversuche der tierärztlichen Hochschule Hannover eine Rolle gespielt haben.

Versuche mit Hunden in den Jahren 2014-2018 nach Bundesländern

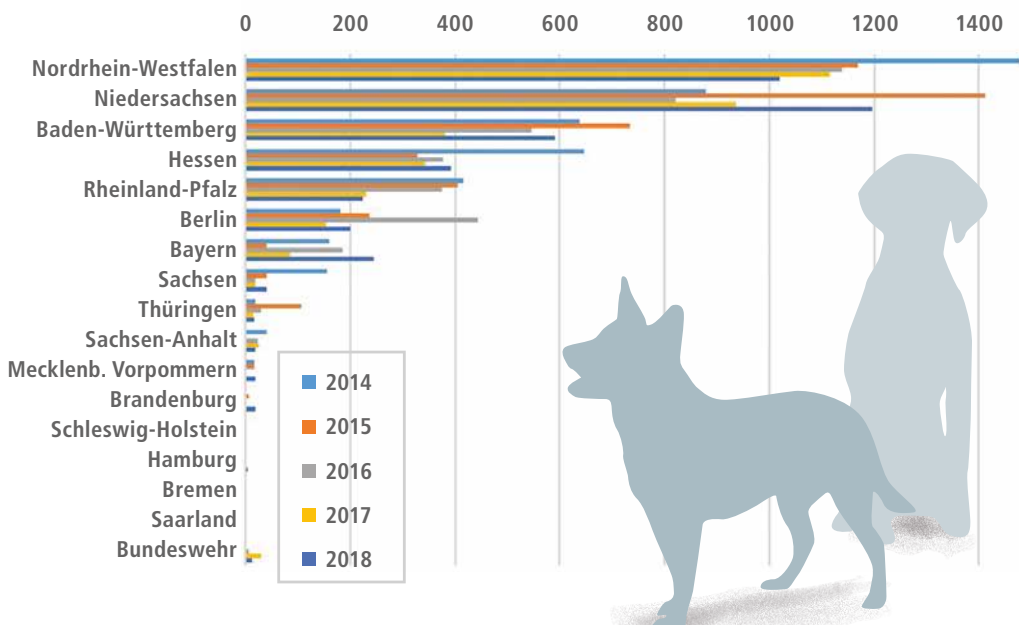


Abb. 2: Versuche mit Hunden in den Jahren 2014-2017 nach Bundesländern. Die Hochburgen der Versuche mit Hunden sind Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Baden-Württemberg.

(Quelle: Tierversuchs-Landesstatistiken BMEL)

In Niedersachsen-Mienenbüttel liegt auch das Labor von LPT: Dieses Labor ist durch die Undercover-Berichte der Soko Tierschutz zu trauriger Berühmtheit gelangt. Bilder über im Blut liegende Beagles mit nach Aussagen von Whistleblowern hohen Konzentrationen an Testgiften, evtl. vermischt mit einem die Blutgerinnung verzögernden oder hemmenden Mittel, sowie gefälschte Laborergebnisse bei Krebstests haben an dem Standort Mienenbüttel zu dessen Schließung geführt.

In Nordrhein-Westfalen sind die Standorte nicht so eindeutig ermittelbar. In den nicht-technischen Projektzusammenfassungen (NTPs), veröffentlicht in einer Datenbank beim Bundesinstitut für Risikobewertung⁽¹⁵⁾ wird der Ort der Tierversuche nicht angegeben. In den letzten Jahren war jedoch bekannt geworden, dass z. B. die Zahnmedizin der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf in Nordrhein-Westfalen Implantate und andere therapeutische Maßnahmen für den Menschen in Hunderversuchen erforschte⁽¹⁶⁾.

3. Zwecke der für Versuche eingesetzten Tiere

Der Hund ist neben der Ratte, der Maus und dem Kaninchen ein wichtiges Versuchstier in den gesetzlich vorgeschriebenen Tierversuchen (regulatorische Zwecke, Abbildung 3, blaue Balken). Er wird wie auch das Kaninchen als sogenannte Nicht-Nagerspezies eingesetzt, als zweite Versuchstierart nach einem Nagetier (meist Ratte), mit der in der Regel die gleichen Tests noch einmal im Langzeitversuch wiederholt werden.

In Tierversuchen verwendete Hunde 2014-2018, aufgliedert nach Zwecken.

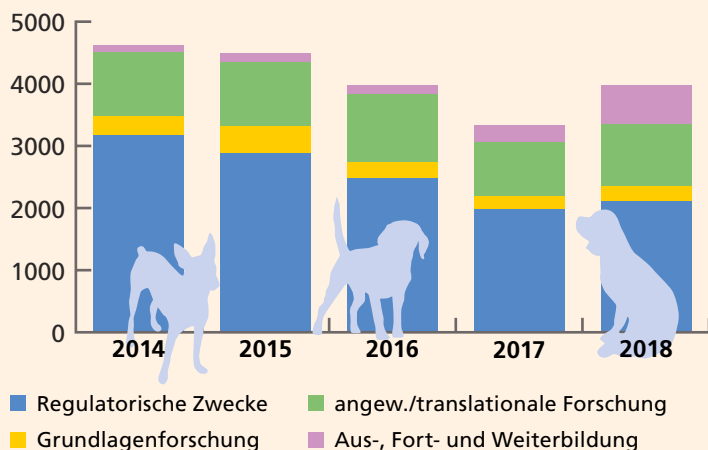


Abb. 3:
In Tierversuchen verwendete Hunde 2014-2018,
aufgliedert nach Zwecken.

(Quelle: Tierversuchsstatistik BMEL 2018)

Der Hund ist das Tier der gesetzlich vorgeschriebenen Tierversuche und nicht der Grundlagenforschung. Die Grafik (Abb. 3) verdeutlicht, dass im Jahr 2018 mehr als die Hälfte der Hunde (53%) in gesetzlich vorgeschriebenen Tierversuchen eingesetzt wurden, gefolgt von einem Viertel (25,1%) für die translationale/angewandte Forschung. 15,7% der Hunde wurden in der Hochschulausbildung verwendet, 6,2% zu Fragen der Grundlagenforschung.

Begriffsbestimmung, Studiendauer

Toxizitätstests Chemikaliertestung

- Akut: einmalige oder wenig malige Verabreichung, Auftreten des toxischen Effekts 1-2 Tage, ggfs. 14 Tage, Ziel: Bestimmung LD50 oder NOAEL (No observed adverse effect level)
- sub-chronisch: wiederholte, tägliche Verabreichung einer Substanz über 90 Tage. Ziel: toxische Wirkung als Ergebnis wiederholter Exposition.
- chronisch: toxische Wirkung, die durch über einen langen Zeitraum (12 Monate) verabreichte Substanz verursacht wird. Ziel: Erkenntnisse über eine Anhäufung.

Arzneimittelentwicklung, repeated-dose-Studien an Nicht-Nagern (Hund)

- im Vorfeld der klinischen Studien: 14 Tage (subakut) bis 9 Monate (chronisch; EU akzeptiert 6-Monats-Studie)
- in Abhängigkeit von einer beabsichtigten späteren Anwendungsdauer: 1 Monat, 3 Monate, 6 Monate, 9 Monate (EU akzeptiert 6-Monats-Studie)

3.1 Toxikologische und pharmakologische Prüfungen

Gesetzlich vorgeschriebene Versuche sind vor allem die Giftigkeitsprüfungen nach der REACH-Verordnung 440/2008⁽¹⁷⁾ und der Pestizid- und Durchführungsverordnung zur Pestizidverordnung 283/2013^(18,19). Wie die Tests durchzuführen sind, kann man den OECD Testrichtlinien (z. B. 409 (Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Non-Rodents), 417 (Toxicokinetics), 433 (Acute Inhalation Toxicity-Fixed Concentration Procedure) oder 452 (Chronic Toxicity Studies)) entnehmen⁽²⁰⁾. Für die Arzneimittelentwicklung gelten in Europa, den USA und Japan die ICH Guidelines für die Industrie (ICH=International Conference on Harmonisation). Sie werden vom ICH-Beratungsgremium herausgegeben. Geltende Testrichtlinien sind z. B. ICH S3B: Pharmacokinetic - Guidance for repeated dose tissue distribution studies⁽²¹⁾, ICH S4: Duration of Chronic Toxicity testing in Animals (Rodent and non-Rodent Toxicity Testing)⁽²²⁾, ICH S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals⁽²³⁾ oder S7B: The Non-Clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals⁽²⁴⁾, gültig auch für Versuche mit Hunden, sowie die Richtlinien für die Tierarzneiprüfung wie z. B. die VICH-Guideline VICH-Guideline GL43 (Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceutical Products⁽²⁵⁾).

Nach derart rechtlichen Vorgaben werden mit Hunden Substanzen sehr häufig auf ihre orale Toxizität geprüft. Dabei wird die Schädlichkeit des Stoffs nach längerer (sub-chronischer oder chronischer) täglicher Gabe untersucht. Eine Gruppe von Tieren erhält je nach Dosisgruppe eine unterschiedliche Dosis 90 Tage (subchronisch) oder sechs Monate (chronisch) lang die Testsubstanz. Die Prüfsubstanz wird dabei den Hunden täglich mit dem Futter, mit einem Pillengeber bzw. über eine Magensonde verabreicht. In derartigen Versuchen wird bevorzugt die Rasse Beagle eingesetzt, weil sie mit ihrem vertrauensvollen Naturell liebenswürdig und unkompliziert zu handhaben sind.

Die Hunde werden während der laufenden Versuche auf Vergiftungssymptome untersucht. Zu festgelegten Zeitpunkten werden auch Blutentnahmen durchgeführt. Gestorbene Tiere werden seziiert, alle überlebenden Tiere werden nach Abschluss des Prüfungszeitraums getötet und ebenfalls wie die bereits vorzeitig gestorbenen seziiert. Die bei der Tierbeobachtung sowie bei der Sektion gefundenen Symptome und Veränderungen werden protokolliert und ausgewertet.

Beagles sind in Tierversuchen mit Hunden neben Foxhounds wegen ihrer leichten Handhabung die bevorzugte Rasse.

Foto: Pixabay



Zweck verwendeter Hunde 2018 nach Bundesländern

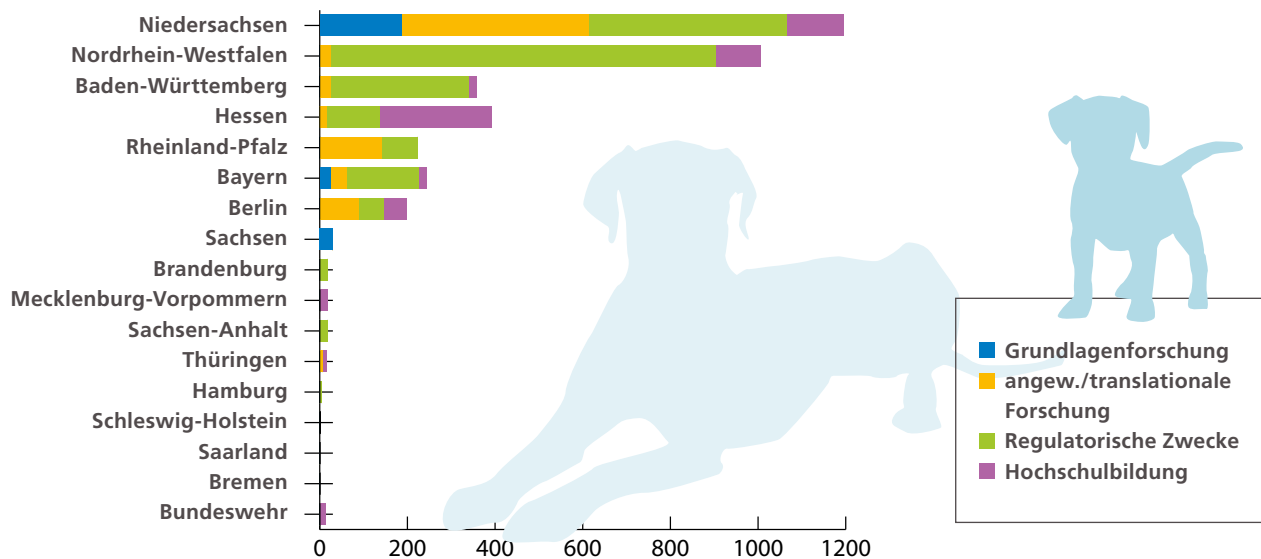


Abb. 4: Zweck verwendeter Hunde 2018 nach Bundesländern. Besonders viele regulatorische Tests werden in Nordrhein-Westfalen durchgeführt (grauer Balkenbereich Abb.), gefolgt von Niedersachsen und Baden-Württemberg.

Quelle: Landeszahlen BMEL (Versuche an Hunden)

Bei den gesetzlich vorgeschriebenen Tierversuchen werden Hunde hauptsächlich in Langzeittoxizitätstests (Abb. 5, orange) und bei (toxiko-)kinetischen Studien eingesetzt (Abb. 5, graues Feld). Bei Letzteren wird der Konzentrationsverlauf des Stoffes im Organismus untersucht und die Geschwindigkeit von dessen Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung gemessen. Die Pharmakodynamik (Abb. 5, gelbes Feld) dagegen untersucht den Einfluss des Arzneistoffes auf den Organismus (Rezeptor-Wirkung). Es ist auffällig, dass die Zahl verwendeter Tiere für Tiersicherheitstests unterrepräsentiert ist, d.h. dass der überwiegende Teil der Studien (weit über 90%) der menschlichen Sicherheit dient.

In der Guideline ICH S4, die bereits im Jahr 1998 verabschiedet worden war, hatte sich eine Experten-Arbeitsgruppe der drei Regulationsbehörden der EU, der Vereinigten Staaten USA und Japans darauf geeinigt, dass Toxizitätsstudien von 12-monatiger Dauer gegenüber einer 9-monatigen Testdauer keine zusätzlichen Erkenntnisse brächte⁽²²⁾.

Abb 5: Studienziele bei den gesetzlich vorgeschriebenen Toxizitäts-, Wirkungs- und Toleranztests und anderen Sicherheitstestungen mit Hunden in 2018.

(Quelle: Tierversuchstatistik BMEL 2018)

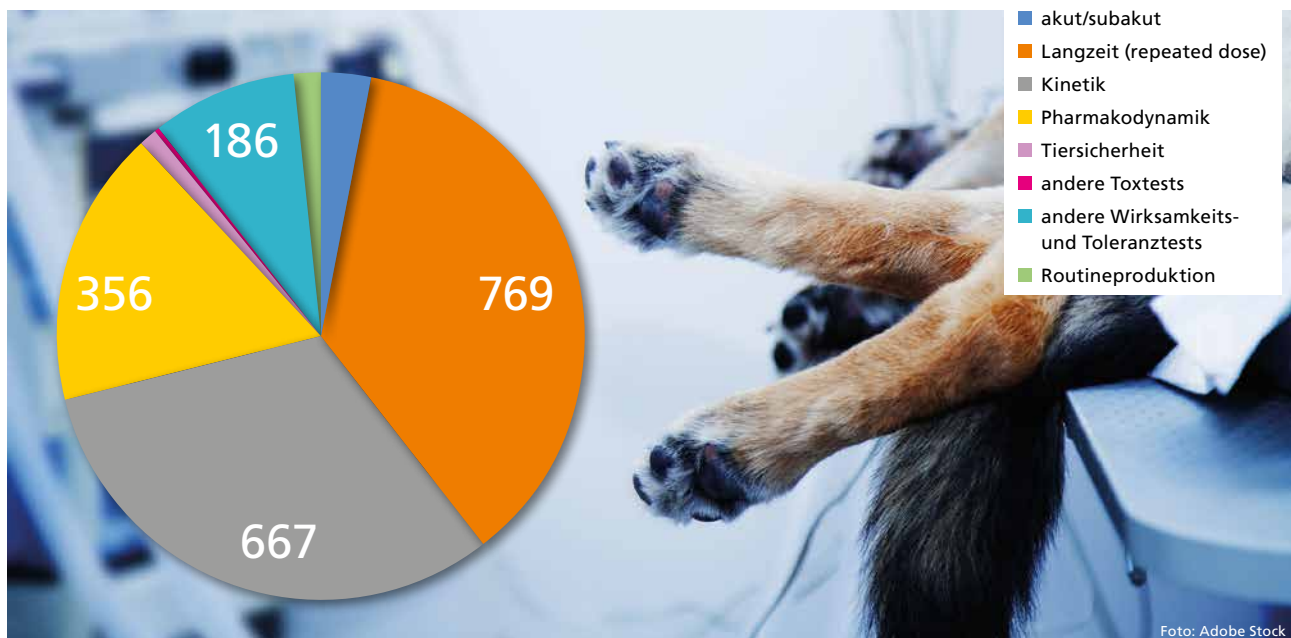


Foto: Adobe Stock

3.2 Welche Art gesetzlich vorgeschriebene Tierversuche mit Hunden wurden gemacht?

Da aus den Versuchstierzahlen 2018 des BMEL nicht mehr Informationen zu entnehmen sind, wurden für diese Untersuchung die nicht-technischen Projektzusammenfassungen (NTPs), die beim Bundesinstitut für Risikobewertung in einer Datenbank veröffentlicht werden, hinzugezogen⁽¹⁵⁾. Die NTPs müssen bei der Antragstellung der genehmigenden Behörde mitgeliefert werden und spätestens 12 Monate nach Genehmigung des Tierversuchsantrages in die Datenbank aufgenommen worden sein. Um einen Überblick zu gewinnen, woran mit Hunden geforscht wird, wurden die NTPs der Jahre 2016 bis 2018 studiert. Grund dafür ist, dass derartige Anträge immer für mehrere Jahre bewilligt werden und das Genehmigungsjahr des Antrages den behördlich veröffentlichten Tierversuchszahlen nicht zugeordnet werden kann.

Zum Beispiel wurde 2016 ein Antrag zur Untersuchung des Einflusses einer Trägersubstanz (Proteine oder pharmazeutische Hilfsstoffe) auf das kinetische Verhalten der Wirksubstanz (Antikörper) mit 300 (!) Hunden genehmigt. Dabei wurde die Substanz auf den verschiedensten Wegen verabreicht: oral per Schlundsonde, als Kapsel oder spezielle Formulierung via Futter oder Trinkwasser, intravenös, über Haut, Muskulatur, Auge, Gelenk, Scheide, das Nervensystem oder das Rektum. Die Konzentrationen wurden über Blut, Urin, Hirn- und Gelenkflüssigkeit und post mortem in Organen gemessen⁽¹⁵⁾.

Aus einer Publikation im Jahr 2018⁽²⁶⁾ war zu entnehmen, dass Beagles z. B. verwendet wurden, um zu untersuchen, ob ein Medikament gegen Herzinsuffizienz sicher ist und bei Patienten mit Herzerkrankungen angewendet werden kann. Dafür wurden Beagle-Hunden verschiedene Dosierungen der Testsubstanz verabreicht. Dies erfolgte als Infusion über 1 Stunde und dann jeden zweiten Tag als Injektion. Bei allen Tieren wurden dreimal täglich klinische Untersuchungen durchgeführt. Die Tiere wurden nach 14 bzw. 28 Tagen getötet und einer Autopsie unterzogen. In einer folgenden Sicherheitsstudie erhielten Beagle-Hunde dann über einen Zeitraum von sechs Monaten einmal monatlich je nach Dosisgruppe verschiedene Konzentrationen dieser Testsubstanz. Die Studie dauerte sieben Monate, bis die Tiere getötet wurden.

2017 wurden 495 Hunde für toxikologische Tests von Pestiziden (Pflanzenschutzmitteln) genehmigt. Dabei wurden die Tiere bis zur maximal tolerierbaren Dosierung exponiert. Die Tierzahlen wurden für fünf Jahre, also 2018-2022, bewilligt. Toxikologische Tests bei der frühen Entwicklung von Chemikalien mit dem Hund waren 2018 genehmigt worden. Andere Untersuchungen waren Unbedenklichkeitsprüfungen von Arzneimitteln, nachdem es zu Hirnläsionen bei einer Vorläuferprüfsubstanz gekommen war, oder Untersuchungen für die

Veterinärmedizin, wie eine Dosisbestätigungsstudie gegen Infektionen mit dem caninen Lungenwurm, Wirksamkeits- und Verträglichkeitsprüfungen eines Suprelorin-Implantats (Kastrations-Chip) zu Zwecken der Auslandsvermarktung oder allgemein Pharmakokinetik- und Metabolismusstudien von Arzneimitteln⁽¹⁵⁾.



Foto: Pixabay

3.3 Tierversuche an Hunden im Bereich der translationalen/angewandten Forschung

Zu ungefähr einem Viertel wurden Hunde in der translationalen oder angewandten Forschung eingesetzt (Abb. 6). Das sind Untersuchungen, in denen ursprüngliche Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung für eine medizinische Anwendung erprobt werden⁽²⁷⁾. Sie dienen 2018 überwiegend der Bekämpfung von Tiererkrankungen (Abb. 6, hellblaue Fläche), in diesem Fall zur Erforschung von Erkrankungen des Hundes.

Zwecke der translationalen/angewandten Forschung mit Hunden

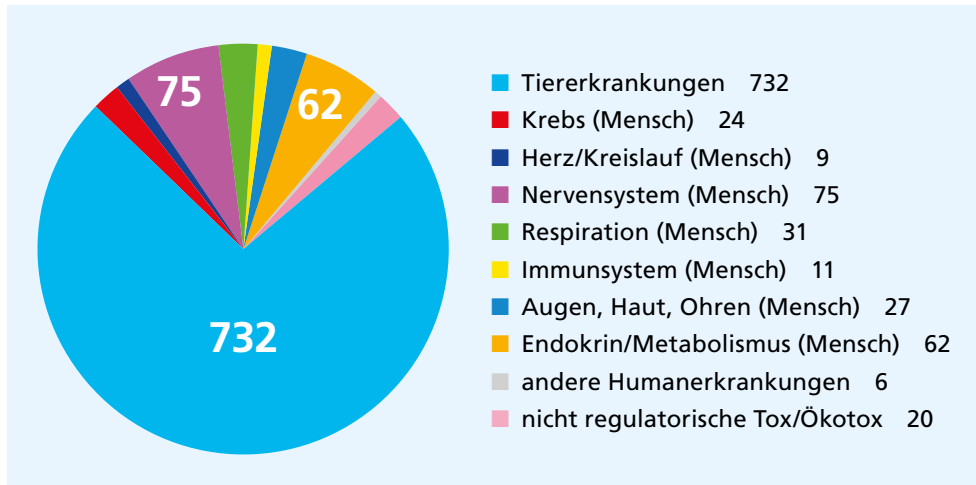


Abb. 6: Zwecke der translationalen/angewandten Forschung mit Hunden. Die meisten Tiere wurden zur Erforschung von Erkrankungen des Hundes eingesetzt.

(Quelle: Tierversuchstatistik BMEL 2018)

Dazu gehörte die Allergiediagnostik, die Gewinnung MRT-Bildgebungsbiomarkern oder die Parasiten- und Bakterienbekämpfung sowie die Behandlung von Zahnerkrankungen oder Arzneimittelstudien gegen Kardiomyopathien. Ein weiteres, wichtiges Untersuchungsgebiet war die Ernährung, wie z. B. Futtermittelunverträglichkeitsstudien, Untersuchungen zur Wirkung von aus zugelassenen Futtermitteln hergestellten Eiweißbruchstücken auf das Herz-Kreislaufsystem, die Verfügbarkeit von Vitamin D-Metaboliten aus pflanzlichen Quellen oder Studien zu den Auswirkungen bei Überversorgung mit Phosphaten und Kalzium durch Fertigfutter. Der Hund kam in der translationalen/angewandten Forschung jedoch auch bei der Entwicklung von Arzneimitteln des Menschen zum Einsatz, wie z. B. beim Studium zur Verteilung von Kontrastmitteln oder in Untersuchungen zum Einfluss von Medikamenten, die den Blutdruck steigern oder den Sauerstoffverbrauch senken. 2016 waren noch die berühmten Implantatversuche dabei: Die Forscher untersuchten extrahierte Zahnwurzeln als Knochenersatzmaterial zur Vorbereitung von Implantierungen nach Zahnverlust. Bei acht Hunden wurden dafür zunächst Kieferkammdefekte im Unterkiefer erzeugt, nach einer Heilungsphase dann Titanimplantate eingesetzt. Alle Tiere wurden zwei Wochen nach Implantatsetzung getötet.⁽¹⁵⁾

Immer schön lächeln: noch 2016 wurden Tierversuche mit Hunden für die Implantatforschung genehmigt.

Foto: Pixabay.



3.4 Der Hund in der Arzneimittelforschung und -entwicklung: Hund und Herz gehören zusammen

In einer anderen Untersuchung wurde mit Beagles ein Herzüberwachungsgerät für das Telemonitoring von Herzversagen getestet. Dabei operierten die Forscher den betäubten Tieren einen Herzschrittmacher sowie einen neuen Sensor ins Herz, um den diastolischen Blutdruck am Herzen zu messen. Die Geräte wurden über die Achselvene bzw. Halsarterie eingebracht, bis zum Herzen geschoben und dort verankert. Mit dem Sensor wurde der Blutdruck der Tiere gemessen, indem eine Antenne von außen an den Brustkorb gehalten wurde. Sieben Tage nach der Operation wurde der Schrittmacher dazu verwendet, die Herzfrequenz auf 220 Schläge pro Minute am wachen Hund zu erhöhen. (Die normale Herzfrequenz eines Beagles liegt etwa bei 80-100). Dadurch kam es bei den Tieren zu einer Herzinsuffizienz, was sich u. a. über einen erhöhten Blutdruck und vergrößerte Herzkammern bemerkbar machte. Am Tag der Operation, sowie 21 und 35 Tage nach der Operation wurden Messungen mit dem Sensor durchgeführt. Dabei wurden den Tieren unter Anästhesie nacheinander die zwei Substanzen gespritzt, die den Blutdruck bzw. das Schlagvolumen erhöhten. 35 Tage nach der Operation wurden die Tiere getötet und untersucht⁽²⁸⁾.

Weiteres Beispiel: Ein neues „Tierversuchsmodell“ für die Testung von Bluthochdruck-Medikamenten sollte gefunden werden. Bisher wurden derartige Tests an narkotisierten Tieren durchgeführt. Da die Narkose starke Effekte auf den Hund haben, so dass keine relevanten Ergebnisse gemessen werden können⁽²⁹⁾, wurde geprüft, ob man dies auch am wachen Hund durchführen kann. In Narkose wurde dafür den Tieren der Brustkorb einseitig aufgeschnitten, um Sensoren für die späteren Messungen des Blutdruckes am Herzen anzubringen – ein extrem schmerzhafter Eingriff. Weitere Sensoren wurden in Halsschlagader und Aorta geschoben. Die Sensoren wurden an ein Messgerät zur Herzaktivität (Elektrokardiogramm, EKG) angeschlossen, welches unter die Haut zwischen die Schulterblätter implantiert wurde. Zum Test verabreichten die Wissenschaftler den Hunden das Medikament Sildenafil, das zu Lungenhochdruck führt. Anschließend wurden die Hunde nacheinander in einer Schlinge hängend für 30 Minuten in eine Plexiglaskammer mit einer sauerstoffarmen Umgebung gesperrt⁽²⁹⁾.

Der Hund wird auch in der Sicherheitspharmakologie eingesetzt, in der Schlüsseffekte auf die Vitalorgane (kardiovaskulär, respiratorisch und zentralnervös) untersucht werden.

In der Arzneimittelentwicklung unterscheidet man die präklinische und die klinische Entwicklung. Die präklinische Entwicklung umfasst in vitro-Ansätze und Tierversuche. In der klinischen Phase wird ein potenzielles neues Medikament schrittweise an Menschen getestet. Potenzielle Arzneimittel, die sich z. B. als kardiotoxisch (herzschädlich) erweisen, stellen ein Ausschlusskriterium für die weitere Entwicklung dar. Von allen abgebrochenen Arzneimittelentwicklungen sind 35 Prozent auf toxikologische Ereignisse in



Ein Hund wird zur Operation vorbereitet.

Foto: Aspen.rock, Fotolia.com

der vorklinischen Phase zurückzuführen. Kardiotoxizität ist auch ein Grund für das vorzeitige Ende vieler Arzneimittel in der klinischen Phase⁽³⁰⁾. Hinzu kommt, dass auch verschiedene, bereits auf dem Markt befindliche Arzneimittel wieder zurückgezogen werden mussten, weil sie sich im Nachhinein als herzscheidigend herausstellten^(31,32).

Mit den Tests auf Herztoxizität nach ICH S7B soll der Grad der Verzögerung der Repolarisation in den Herzmuskelzellen und der Aktionsmechanismus, der hinter der Verzögerung steckt, bestimmt werden. Methoden dafür sind *in vitro*-Tests an einem Kaliumkanal von Herzmuskelzellen (hERG patch clamp), *in vivo*-Tests mit Kaninchenherzen sowie EKG-Tests an Hunden. Hunden, z. B. Beagles, werden telemetrische Geräte eingesetzt, um die Auswirkungen verabreichter Arzneimittel auf das QT-Intervall in Echtzeit messen zu können (Kammersystole (siehe Abb. 10 im Kasten)). Das Telemetrie-System besteht aus einem Transmitter, einem Receiver und einem Datenaufzeichnungssystem. Unter Narkose werden den Hunden auf der linken Seite des Körpers der Transmitter sowie EKG-Elektroden unter die Haut implantiert.

Während der Messungen (in nicht betäubtem Zustand) werden die Tiere einzeln gehalten und neben den telemetrisch übertragenen Daten auch Videoaufzeichnungen angefertigt. Zur Messung des Blutdrucks wird zudem ein Katheter in die Schienbeinarterie einoperiert und bis zur Aorta vorgeschoben. Jeder Beagle erhält entweder mehrere Dosen der Testsubstanz in wöchentlichen Abständen oder als Negativkontrolle nur das Lösemittel. Am Ende der Versuche erhalten alle Hunde noch eine Positivkontroll-Substanz⁽³³⁾, also ein Antiarrhythmikum, welches die Kaliumkanäle schließt, wodurch sich das Aktionspotenzial und die Refraktärzeit verlängern⁽³⁴⁾. Gemessen werden online verschiedene EKG-Parameter in wachen oder narkotisierten Tieren wie das PQ-Intervall (die Zeit, die die Erregung von den Herzvorhöfen zu den Ventrikeln benötigt), QRS- (Zeit der Depolarisation beider Kammern), oder QT-Intervall (Kammersystole) (siehe Abb. 10)⁽³⁵⁾ sowie Blutdruck und Herzfrequenz. Verwendet werden häufig fünf Hunde pro Konzentration zzgl. Kontrolle (bei 5 Konzentrationen sind ca. 25-30 Hunde).

Aufbau und Physiologie des Herzens

Das Herz ist ein 4-kammeriges Hohlorgan, dessen Pumpenfunktion auf der rhythmischen Erschlaffung und Kontraktion der Herzmuskulatur beruht (Abb. 7). In der sogenannten Diastole füllen sich die Herzkammern (Ventrikel) mit Blut. In der Systole werfen sie es in die großen Arterien aus. Ein Rückstrom wird durch die Herzklappen verhindert. Jedem Ventrikel ist ein Vorhof vorgeschaltet. Der gesamte Pumpmechanismus wird durch die Erregungsausbreitung des Myokards (Herzmuskulatur) gesteuert.

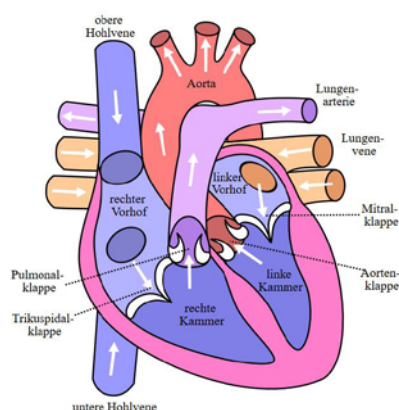


Abb. 7: Schema eines menschlichen Herzens. Die weißen Pfeile zeigen den Blutfluss an.

Grafik: Jakov, Wikipedia.

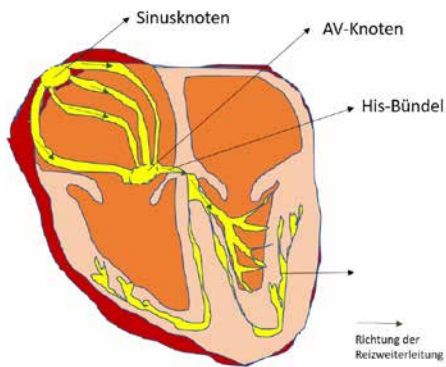
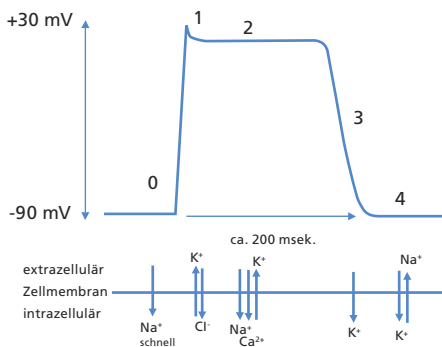


Abb. 8: Wesentliche Strukturen des Erregungs- und Reizweiterleitungsmyokards.

Grafik: C. Hohensee

Abb. 9:



Das menschliche ventrikuläre Aktionspotential besteht aus fünf aufeinander folgenden Phasen:

- Phase 0: Der Aufschlag des Aktionspotentials ist in erster Linie eine Folge eines schnellen, vorübergehenden Zuflusses von Natrium-Ionen über Natrium-Kanäle.
- Phase 1: Die Beendigung der Aufwärtsbewegung des Aktionspotentials und der frühen Repolarisationsphase resultiert aus der Inaktivierung der Natrium-Kanäle und einem transienten Ausfluss von Kalium-Ionen durch Kalium-Kanäle.
- Phase 2: Das Plateau des Aktionspotentials ist ein Spiegelbild eines Gleichgewichts zwischen dem Zufluss von Kalzium-Ionen durch Kalziumkanäle des L-Typs Ca^{2+} Kanäle und den Ausfluss repolarisierender Kalium-Ionen Ströme.
- Phase 3: Der anhaltende Abwärtshub des Aktionspotentials und die späte Repolarisierungsphase resultieren aus dem Ausfluss von Kalium über verzögerte Gleichrichter-Kalium-Kanäle.
- Phase 4: Das Ruhepotential wird durch den einwärts gerichtete Kalium-Ionen-Strom aufrechterhalten.

Schema nach Parsi und Parsi, 2000.

Es gibt das Erregungs-/Reizweiterleitungsmyokard und das Arbeitsmyokard (Abb. 8). Das Erregungsmyokard besteht aus den vier Strukturen Sinusknoten, AV-Knoten, His-Bündeln und Purkinjefasern. Die Muskelfasern werden ähnlich erregt wie Nervenzellen: Sie haben ein Ruhepotential und können nach Erregung ein Aktionspotential weiterleiten. Spontane Erregungen entstehen normalerweise im Sinusknoten - sozusagen als Herzschrittmacher - eine Stelle am rechten Vorhof an der Einmündung der oberen Hohlvene. Von hier breitet sich die Erregung zunächst über das Arbeitsmyokard der Vorhöfe aus und gelangt dann zum Atrioventrikularknoten (AV-Knoten). Hier ist die Reizleitungsgeschwindigkeit wegen des geringeren Faserdurchmessers geringer, wodurch die Systole der Ventrikel erst nach der Vorhofsystole erfolgt. Danach erreicht die Erregung die sogenannten His-Bündel, die erregungsleitende Verbindung zwischen Vorhöfen und Herzkammern. Das Bündel teilt sich in zwei Kammerschenkel, an deren Ende die Purkinje-Fasern liegen⁽³⁶⁾. Auch die anderen Erregungsleitstrukturen können als Schrittmacher fungieren: Wenn der Sinusknoten ausfällt, kann der AV-Knoten die Funktion übernehmen. Auch das His-Bündel kann zudem im Notfall noch als Teil der Erregungserzeugung funktionieren, wenn Sinus- und AV-Knoten z. B. aufgrund einer Nervenvergiftung ausgefallen sind⁽³⁷⁾. Eine Störung der Erregungsleitung führt zu Herzrhythmusstörungen (Arrhythmien).

Das Aktionspotential ist eine vorübergehende Abweichung vom Membranpotential einer Zelle. Die Potentialdifferenz besteht aufgrund eines bestimmten Verhältnisses von Ionen zwischen dem Zellinneren und dem Zelläußeren. Das Ruhepotential beträgt -90 mV. Durch eine Depolarisation um nur 15-20 mV aufgrund eines Natriumioneneinstroms kommt es zu einem schnellen Potenzialanstieg in der Zelle, die positiv geladen wird (30 mV) und erst nach einer Plateauphase wieder auf den Ausgangswert zurücksinkt. Hier spielt sich ein komplizier-

tes Wechselspiel zwischen der Durchlässigkeit von positiven und negativ geladenen Salzen, die durch Ionenkanäle ins Zellinnere und -äußere ein- bzw. ausströmen, ab (siehe Abb. 9).

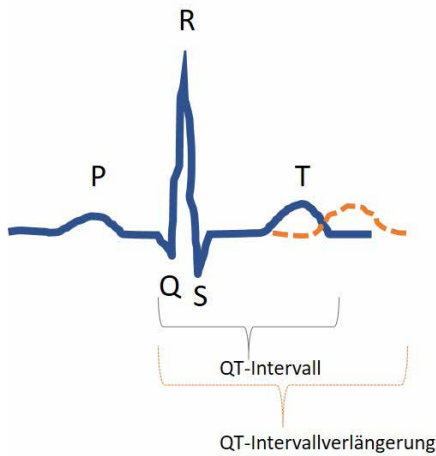


Abb. 10:
Darstellung eines EKG eines gesunden Herzens. Die Dauer der Ausbildung der Strecke zwischen Q und T spielt bei der Beurteilung von durch Arzneimittel bedingte Herzrhythmusstörungen eine Rolle.

Grafik: C. Hohensee

Das QT-Intervall (Zeitspanne vom Beginn des QRS-Komplexes bis zum Ende der T-Welle) des Elektrokardiogramms (EKG) ist ein Maß für die Dauer der ventrikulären Depolarisation und Repolarisierung (Abb. 10). Die QT-Intervallverlängerung kann angeboren oder erworben (z. B. pharmazeutisch induziert) sein. Wenn die ventrikuläre Repolarisation verzögert und das QT-Intervall verlängert wird, besteht ein erhöhtes Risiko für ventrikuläre Tachyarrhythmie, einschließlich Torsade de pointes, insbesondere in Kombination mit anderen Risikofaktoren (z. B. Hypokaliämie, strukturelle Herzkrankheit, Bradykardie).

Die ventrikuläre Repolarisation, die durch die Dauer des kardialen Aktionspotenzials bestimmt wird, ist ein komplexer physiologischer Prozess. Es ist das Nettoergebnis der Aktivitäten vieler Membranionen, Kanäle und Transporter. Unter physiologischen Bedingungen sind die Funktionen dieser Ionenkanäle und Transporter stark voneinander abhängig. Die Aktivität jedes Ionenkanals oder Transporters wird von mehreren Faktoren beeinflusst, so z.B. von intrazellulären und extrazellulären Ionenkonzentrationen, Membranpotential, von elektrischer Kopplung von Zelle zu Zelle, Herzfrequenz und Aktivität des autonomen Nervensystems. Wichtig sind auch der Stoffwechselzustand (z. B. Säure-Basen-Haushalt) sowie Lage und Typ der Herzzellen⁽³⁸⁾.

Die Aktionspotential-Morphologie variiert zwischen Vorhöfen und Ventrikeln und auch in der Wand des Herzgewebes. Die Ionenkanäle in den verschiedenen Herzregionen sind unterschiedlich ausgeprägt, was sich auch in den Aktionspotenzialen zeigt. Zellen der äußeren Herzwand (Epikard) z. B. weisen in Phase 1 des Aktionspotenzials eine Kerbe („notch“) auf, welche in der Herzzinnenhaut (Endokard) viel weniger ausgeprägt ist. Purkinje- und midmyokardiale Zellen (sog. M-Zellen) weisen ein erheblich längeres Aktionspotenzial auf⁽³⁹⁾.

Aufgrund einer Störung der Erregungsbildung und -leitung im Herzmuskel kann es zu einer Störung der normalen Herzfrequenz kommen. Dabei kann die Herzfrequenz erhöht (Tachykardie, ab 100 Herzschläge pro Minute) oder erniedrigt sein (Brachykardie, mit weniger als 60 Herzschlägen pro Minute).

3.5 Grundlagenforschung

In der Grundlagenforschung sollen Hunde insbesondere zur Behandlung von Krebs eingesetzt worden sein (Abb. 11, blauer Bereich). Das könnte auf die Untersuchungen zur Entwicklung eines Tumorerummarkers bei Nasenausfluss beim Hund durch Nasentumore zurückzuführen sein (Quelle: Animaltestinfo, BfR⁽¹⁵⁾). Allerdings lassen sich die Zahlen den veröffentlichten nicht-technischen Projektzusammenfassungen nicht eindeutig zuordnen. Eine andere Krebsgrundlagenforschung wurde bereits im Jahr 2015 genehmigt, in der es um gutartige Prostatavergrößerungen ging.

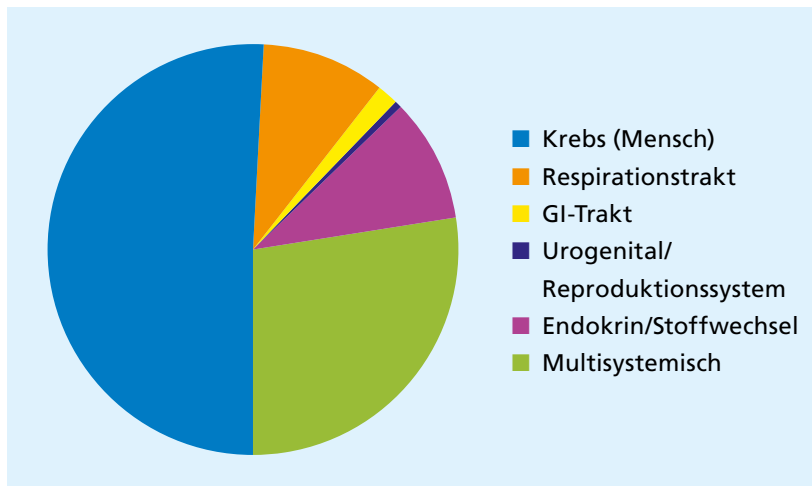


Abb. 11
Zwecke der Grundlagenforschung mit Hunden.
Die meisten Hunde dienen in der Krebsforschung.

(Quelle: Tierversuchsstatistik BMEL 2018).

4. Kritik am Tierversuch mit Hunden

4.1 Der Hund in der Pestizidtestung: die Argumente dagegen

In vielen Fällen erscheint der Hund empfindlicher als die Ratte, da er schon bei niedrigeren Dosen einen Effekt anzeigt. Diese Empfindlichkeit hat jedoch auch einen Einfluss auf Ergebnisse mit Arzneimitteln: Dadurch, dass beim Hund leicht Krämpfe auftreten können, kann die Testdosis nur begrenzt werden. Der Hund neigt auch leicht zum Erbrechen, was eine unzureichende Aufnahme des Testmittels bedeutet bzw. zu einer unregelmäßigen Dosierung und damit unbrauchbaren Ergebnissen führen kann. Die Gabe von nicht-steroidalen entzündungshemmenden Medikamenten können zu Läsionen im Gastrointestinalbereich führen, Vasodilatoren & Anti-Hypertonika können Schäden in den Arterien und eine Kardiotoxizität auslösen, um nur einige der Beispiele zu nennen⁽⁴⁰⁾.



Um ein Pestizid auf den Markt zu bringen, müssen zuvor unzählige Ratten und Hunde in den Tierversuch.

Foto: Pixabay.

Es ist schwierig zu bestimmen, inwieweit Hunde und andere Tiere in ihrer toxischen Reaktion dem Menschen ähneln⁽⁴¹⁾.

4.2 Kritik an Hunden in der Zahnmedizin

Als Argument für Versuche an Hunden für die Implantologie argumentieren Wissenschaftler⁽⁴²⁾, dass Hunde eine ihnen eigene, natürliche Bakterienflora im Mund aufwiesen und der Unterkieferknochen strukturell dem Unterkiefer des Menschen ähnele. Es gebe zwar keine 1:1-Übertragung des Tiermodells auf den Menschen, dennoch könne es wertvolle Erklärungen für klinische Beobachtungen, biologische Prinzipien und pathologische Mechanismen liefern⁽⁴²⁾. Kritiker bemängeln, dass die meisten Entwicklungen in der Zahnmedizin auf die Modifikationen von bereits vorhandenen Methoden abzielten (für die Daten aus Tierversuchen bereits vorliegen). Sowohl Anatomie als auch Immunsystem haben sich im Laufe der Jahrtausende mit den Tieren an den jeweiligen Lebensraum angepasst: Für das Abreißen von Fleisch oder das Benagen von Knochen benötigt der Hund im Gegensatz zum Menschen starke Kräfte, die Kaumuskeln sind beim Hund sehr gut ausgeprägt und die Knochendichte höher als beim Menschen. Daher lassen sich Implantat-Versuchsergebnisse mit dem Hund gar nicht auf die menschliche Situation übertragen. Gravierende Unterschiede gibt es auch bei der Entwicklung des Immunsystems, das beim Tier völlig anders auf entzündliche Prozesse reagiert als das menschliche Immunsystem⁽⁴²⁾.

Begriffsbestimmungen

- **Pharmakologie:** untersucht die Wechselwirkungen zwischen Stoffen und Lebewesen. Zur Pharmakologie gehören die
 - Pharmakodynamik:** untersucht den Effekt eines Arzneimittels auf ein Lebewesen
 - Pharmakokinetik:** untersucht den Umgang des Körpers mit dem Arzneimittel mit der Zeit
- **Sicherheitspharmakologie:** untersucht unerwünschte Effekte von Arzneimitteln auf die Vitalorgane Herz, Lunge und das Zentralnervensystem
- **Toxikologie:** untersucht die Schädigungen von Stoffen auf Zellen, Gewebe oder den Organismus.

4.3 Kritik am Tierversuch in der Sicherheitspharmakologie für Arzneimittelentwicklung

a) Präklinische Sicherheitsstudien modellieren nicht den erkrankten Patienten

Die meisten präklinischen Sicherheitsstudien werden an jungen, gesunden Tieren durchgeführt, während die meisten Medikamente an Patienten fortgeschrittenen Alters mit Bluthochdruck, Dyslipidämie, Atherosklerose, Diabetes und anderen Krankheiten verabreicht werden⁽⁴³⁾. Dazu kommen eventuell vorhandene Einschränkungen der Leber- oder Nierenfunktion. Dementsprechend werden unvorhergesehene negative Auswirkungen von Medikamenten oft erst in der klinischen Anwendung auftreten.

Ebenso werden unerwünschte kardiovaskuläre Effekte, die in klinischen Studien oder nach dem Inverkehrbringen auftreten, wie Durchblutungsstörungen des Herzens oder eine Verschlechterung einer bereits bestehenden Erkrankung, nicht modelliert, da die verwendeten Tiere im Allgemeinen nicht anfällig für ischämische Verletzungen (mangelhafte bzw. keine Durchblutung bestimmter Herzregionen) sind und keine Vorerkrankungen aufweisen, welche dagegen aber in der Zielpatientenpopulation vorkommen⁽⁴³⁾.

b) Speziesunterschiede

Abgesehen von Unterschieden beim Krankheitshintergrund können in der Präklinik eingesetzte Tierarten physiologische Unterschiede zu menschlichen Patienten aufweisen. Neben der Tatsache, dass Ratten und Mäuse für die Charakterisierung der QT-Verlängerung ungeeignet sind, haben viele Tierarten z. B. Apolipoprotein-Profile (Apolipoproteine sind Lipoproteine, die im Blut zirkulieren), die sich stark von denen des Menschen unterscheiden und dadurch die Modellierung von Arzneimittel-assoziierten Veränderungen in Serum-Lipid-Profilen erschweren. Darüber hinaus kann der Kalziumaustausch der Herzmuskelzellen sehr unterschiedlich sein⁽⁴³⁾.

c) Sicherheitsstudien (meist mit einmaliger Verabreichung) und Langzeitstudien (wiederholte Verabreichung) modellieren nicht die Langzeiteinnahme des Menschen

Kurzfristige präklinische Sicherheitsstudien modellieren keine chronischen Ergebnisse. Sie seien nicht sensitiv genug, um subtilere oder subklinische Effekte anzuzeigen, kritisieren Forscher. Bei Langzeitstudien (9 Monate mit Hunden) werden zwar zu erwartende Veränderungen der kardiovaskulären Funktion (QT-Verlängerung, Blutdruck, Herzfrequenz) durch Medikamente untersucht, medikamentös induzierte Verletzungen der Herzmuskulatur beim Menschen durch teilweise jahrzehntelange Einnahme werden damit aber nicht dargestellt. Andererseits: Viele der Medikamente, die durch Langzeitstudien in Tiermodellen Läsionen verursachen, kommen erst gar nicht in klinische Studien, wären aber beim Menschen wirksam und unschädlich gewesen⁽⁴³⁾. Zudem erlaubt der Tierversuch keine Risikoabwägung; bei einer schweren Herzerkrankung kann es im Sinne des Patienten sein, auch ein Medikament mit höherem Risiko für Nebenwirkungen einzusetzen.

Begriffsbestimmungen

- **In-vitro:** Untersuchungen, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden, die Testung mit Zellkulturen.
- **In-vivo:** Untersuchungen, die im lebenden Organismus ablaufen, also im Tierversuch.
- **In-silico:** Reaktionen bzw. Abläufe, die in der Computersimulation unter Verwendung von speziellen Programmen bzw. Algorithmen stattfinden.
- **QSAR (quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehung):** Mit Hilfe von Rechenverfahren wird aus physikalisch-chemischen Daten und Strukturelementen die biologische Wirkung/Toxizität einer Substanz abgeschätzt.

5. Welche Verfahren könnten den Tierversuch ersetzen?

In den letzten Jahren wurden unzählige Verfahren zum Ersatz von Tierversuchen entwickelt. So haben die Organentwicklungen im Miniaturformat zusammen mit den mikrofluidischen Systemen stark an Aussagekraft gewonnen und zeigen häufig bessere Ergebnisse als der Tierversuch. Das amerikanische Unternehmen MatTek™ aus Ashland z. B. hat einen Assay mit humanem Darmmikrogewebe entwickelt. Gemessen wird der transepitheliale Widerstand. Dieser gilt als Marker für die Durchlässigkeit der Darmbarriere. Eine Vielzahl von Medikamenten wurde bereits getestet und ihre gastrointestinale-Toxizität zutreffend vorhergesagt. Es konnte ein Schwellenwert ermittelt werden, ab dem von einer Diarrhöeinduktion gesprochen werden kann. Die Wissenschaftler konnten zudem ein mathematisches Modell entwickeln, das die zeitliche Dynamik von Barrierschäden und deren Wiederherstellung beschreiben kann. Das Modell kann eine Diarrhoe sogar zuverlässiger vorhersagen als Tierversuche mit Ratten und Hunden⁽⁴⁴⁾.

Ein amerikanisches Wissenschaftlerteam hat in einer Studie mit einem Leber-on-a-Chip-Modell untersucht, ob die Toxizität von Medikamenten frühzeitig erkannt werden kann. Die Zellen des Chipmodells umfassten menschliche Hepatozyten, die die eigentliche Chemiefabrik in der Leber repräsentieren, endotheliale Zellen der Sinusoide, die ebenfalls stoffwechselaktiv sind, Kupffer-Zellen, die als Makrophagen zum Immunsystem gehören, und die Sternzellen (Ito-Zellen), die bei Reparaturarbeiten aktiv werden. Mit dem Arzneimittel zur Behandlung einer pulmonalen arteriellen Hypertonie konnten sie Nebenwirkungen in Form eines Gallenstaus beobachten, eine Komplikation, die in tierexperimentellen Studien mit Ratten und Hunden nicht entdeckt worden war⁽⁴⁵⁾.

5.1 Pestizidtestung

90-Tage-Studien am Hund sollen dazu dienen, schädigende Wirkungen einer Substanz in einer Säugetierspezies nach längerer und wiederholter Exposition zu bestimmen. Dabei soll überprüft werden, welche Effekte bei einer langen Latenzzeit und ggfs. einer Ansammlung der Testsubstanz im Körper auftreten.

Warum der Hund?

Im Allgemeinen ist die Verwendung einer zweiten Säugetierart zusätzlich zu einem Nagetier vorgeschrieben⁽⁴⁶⁾. Traditionell wird der Hund als Nicht-Nagetierart der ersten Wahl betrachtet, da Beagles zweckmäßig gezüchtet und leicht verfügbar sind und das Wissen über ihre Physiologie umfangreich ist. In vergleichenden Untersuchungen war der Hund im Vergleich zu Ratten in etwa 15% aller Fälle die empfindlichere Spezies, weshalb die Hundestudien zur Definition der maximalen Dosis oder Konzentration eines gefährlichen Stoffes, bei dem gerade noch kein Effekt zu beobachten ist (NOAEL=no observed adverse effect level) herangezogen werden⁽⁴⁰⁾. Ziel ist es, die Substanzmenge zu ermitteln, der ein Anwender bei typischer Exposition (bspw. Inhalation) maximal täglich ausgesetzt sein kann, ohne dass sich dies langfristig negativ auf dessen Gesundheit auswirkt (acceptable operator exposure level (AOEL)), basierend auf dem NOAEL aus der oralen Toxizitätsstudie (typischerweise eine 90-Tage-Studie; oder gelegentlich eine einjährige Studie am Hund) zu ermitteln⁽⁴⁷⁾.

Aber bei der Langzeitstudie von Chemikalien mit Hunden hat sich bereits etwas getan. Es gibt sie zwar noch, die Guideline über die Ein-Jahres-Studie mit Hunden. Allerdings ist nach der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung OECD die Verwendung von Hunden in Ein-Jahres-Studien nicht explizit vorgeschrieben und es wird auf die Testrichtlinie 409 (90-Tage-Studie) verwiesen. Der Grund dafür ist die jahrelange Überzeugungsarbeit von Tierschutzorganisationen und Wissenschaftlern, die belegen konnten, dass die chronische Ein-Jahres-Studie keine zusätzlichen Erkenntnisse bringt und eine Studie über 13 Wochen hinaus keinen Einfluss auf die Ableitung der maximal akzeptierbaren Dosis (RfD) des Pestizids zur Risikobewertung von Pestiziden hat. Allerdings gibt es in der Guideline zur Ein-Jahres-Studie den Hinweis, dass eine Nicht-Nager-Spezies unter regulatorischen Regimen außerhalb der OECD weiterhin gefordert sein könnte. In bestimmten außereuropäischen Ländern wie Taiwan oder Argentinien könnte die Ein-Jahres-Studie noch verlangt werden und so lange nicht alle Märkte harmonisiert sind, könnte die Langzeitstudie am Hund weitergehen⁽⁴⁸⁾.

Durch in vitro-Methoden in Kombination mit bereits vorliegenden Informationen, Gruppierung von chemischen Stoffen für den Rückschluss auf ihre Eigenschaften, mit Datenbanken, epidemiologischen Informationen sowie in silico-Methoden in einer abgestuften Teststrategie könnten auch die 90-Tage-Studien in der Chemikaliertestung beendet werden.

5.2. Herztoxizität in der Arzneimittelentwicklung

Es gibt eine aktuelle Initiative unter dem Namen Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay (CiPA). Ziel der Initiative ist ein neues, zeitgemäßes Sicherheitsscreening⁽⁴⁹⁾. Sie wurde vom amerikanischen Health and Environmental Sciences Institute (HESI), der Food and Drug Administration (FDA) und der Safety Pharmacology Society (SPS) vorangetrieben. Die CiPA-Initiative zielt darauf ab, von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSC) abgeleitete Testlösungen zur Identifizierung von Herzrhythmusstörungen als Nebenwirkung von Arzneimitteln zu validieren. Letztendliches Ziel ist es, diese tierleidfreie Technologie in die regulatorische ICH S7B-Richtlinie aufzunehmen.

5.2.1 Innovative Zellkultursysteme zur genauen Messung von Funktionen in Herzzellen oder -geweben

Da inzwischen ein tieferes Verständnis für die Faktoren vorliegt, die substanzbedingte Herzrhythmusstörungen auslösen, werden von der Wissenschaft, der Industrie und den Regulatorien neue tierversuchsfreie Verfahren in Form einer abgestuften Teststrategie favorisiert. Diese Methoden schließen aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSC) gewonnene Herzzellen und in-silico-Methoden ein.

Die CiPA-Teststrategie sieht vor, die Wirkung von Arzneimittelkandidaten auf die wichtigsten sieben Ionenkanäle des Herzens zu untersuchen und am Computer mit virtuell rekonstruierten menschlichen Herzmuskelzellen des Ventrikels dahingehend zu simulieren, ob sich proarrhythmische Marker finden lassen. Mit humanen Herzmuskelzellen wird dann überprüft, ob die in-silico-Schlussfolgerungen stimmen⁽⁵⁰⁾. Entwickelte Tests (Assays) mit Herzmuskelzellen aus humanen Stammzellen sollen dann die rekonstruierten in-silico-Ergebnisse durch reale elektrophysiologische Effekte bestätigen und mögliche Erkenntnislücken schließen^(49,51).

In Validierungsstudien mit Pharmaherstellern wird mittlerweile dreidimensionales Herzmikrogewebe, abgeleitet von hiPSC, verwendet. Die aus derartigen Stammzellen entwickelten Herzzellen oder -gewebe⁽⁶⁸⁾ haben sich als vielversprechend herausgestellt. In zahlreichen Validierungsstudien mit Medikamenten konnten bekannte kardiale Nebenwirkungen nachgewiesen werden⁽⁵²⁾. Wissenschaftler haben daraufhin den Fokus auf die Qualitätsstandards gelegt. Um den herzscheidenden Effekt von Krebsmitteln oder anderer Arzneimittel zu untersuchen, verwenden Forscher entweder kommerziell erhältliche hiPSC oder von den National Institutes of Health (NIH) geprüfte Stammzellen. Derartige Zellen können in alle wichtigen Zelltypen, wie Herzkammerzellen, Atrium- oder nodale Subtypen differenziert werden⁽⁵³⁾.

In Europa haben Wissenschaftler zur Einrichtung von Qualitätsstandards eine europäische Zellbank für induzierte pluripotente Stammzellen (EBiSC) angelegt. Mit dieser Plattform werden hochwertige Stammzellen charakterisiert, gespeichert und weltweit zugänglich gemacht⁽⁶⁹⁾. Ein weiteres Projekt ist STEMBANCC (Stem cells for biological assays of novel drugs and predictive toxicology)⁽⁵⁴⁾.

Derartige Zellen oder Gewebe wachsen auf Microelectrode-Arrays (MEAs) zur hochspezifischen und sensitiven Messung von Spannungswerten, die durch die Zellen ausgelöst werden⁽⁵⁵⁾. Die Arrays können mit verschiedenen elektrischen Beobachtungs- bzw. Aufzeichnungsgeräten verbunden werden⁽⁵⁶⁾. Impedanzmessungen können auch im 96-well-Plattenformat vorgenommen werden, in das Elektroden eingebaut sind⁽⁵⁷⁾. Andere Forscher bringen die Zellen zum Testen auf Plattformen mit kleinen 32 Silizium-Freischwingern mit angeschlossenem Laser- und Fotodetektorsystem auf⁽⁵⁸⁾.

5.2.2 In-silico-Methoden

Zur Vorhersage der Blockierung verschiedener Kanäle der Herzzellen wie des hERG und des Ca₂ oder L-Typs haben Wissenschaftler Computermodelle und Expertensysteme entwickelt^(59,60). Die Forschungsergebnisse fließen in eine Modelldatenbank über Quantitative Struktur-Wirkungs-Beziehungen (QSAR) des Joint Research Centers (JRC) ein. Derartige QSARs sollen bei der Bewertung von Chemikalien hilfreich sein⁽⁶¹⁾. Ein vielversprechendes in-silico-Modell ist auch das „Living Heart“-Projekt der Universität Hohenheim, mit dem die Auswirkungen von Arzneimitteln auf die Herzfunktion simuliert werden kann⁽⁶²⁾.

Trotz zahlreicher Entwicklungen, Qualitätsstandards und Arbeitsgruppentreffen ist die Teststrategie zum Ersatz der ICH Guideline S7B noch nicht in eine Guideline umgesetzt worden.

6. Tierversuchsfreie Zukunft: USA und die Niederlande gehen voran

Als erstes waren 2009 die USA mit dem Programm *Toxicology in the 21st Century (Tox21c)* überzeugt, dass eine Wissenschaft ohne Tierversuche möglich ist⁽⁶³⁾, gefolgt von den Niederlanden: Das Niederländische Nationale Komitee zum Schutz von Versuchstieren (NCad) hatte im Dezember 2016 eine Schrift veröffentlicht und ein Ausstiegsszenario entworfen, nach dem bis 2025 Tierversuche für gesetzlich vorgeschriebene Testungen beendet werden können⁽⁴⁾. Dafür muss eine Gesamtstrategie festgelegt und eine europäische bzw. internationale Zusam-

menarbeit erfolgen. Die Lösung liegt dabei nicht in einem Eins-zu-eins-Ersatz, sondern in einem Übergang hin zu einer Kombination von einer Vielzahl an innovativen, tierfreien Methoden, rechnerischen Ansätzen und menschlichen Daten⁽⁶⁴⁾. NCad unterteilte die Zielsetzungen bei Tierversuchen in unterschiedliche Bereiche (bspw. Toxikologie, Grundlagenforschung) und beurteilte ihr jeweiliges Potential zur Reduktion von Tierversuchen bis zum Jahr 2025. Danach könnten Tierversuche für Regulatorische Sicherheitstests für Chemikalien, Lebensmittelzusätze, Pestizide und (Tier-) Medizinprodukte unter Einhaltung des gleichen Sicherheitsniveaus bis 2025 beendet werden. Auch für biologische Produkte wie zum Beispiel Impfstoffe sei dies möglich. In der angewandten Forschung sieht das Komitee Möglichkeiten, viel schneller beim Ausstieg aus dem Tierversuch voranzukommen als dies derzeit der Fall ist. Konkret empfiehlt es, sich im Bereich der Entwicklung von menschlichen Krankheitsmodellen auf tierversuchsfreie Methoden wie Organ-Chips zu konzentrieren.

Auch die USA sind überzeugt: Nach dem *Frank R. Lautenberg Chemical Safety Act of the 21st Century* sollen gemäß §2603 rechnergestützte Toxikologie und Bioinformatik, Hochdurchsatz-Screeningmethoden; QSAR-Methoden, Prüfung von Kategorien chemischer Substanzen, abgestufte Teststrategien und In-vitro-Studien durchgeführt werden, um die Anzahl von Wirbeltieren in der Toxizitätstestung so weit wie möglich zu reduzieren⁽⁶⁵⁾. Dass dies ein ernst zu nehmendes Ziel ist, zeigt auch der *Strategic Plan to Promote the Development and Implementation of Alternative Test Methods Within the TSCA Program* der amerikanischen Environmental Protection Agency (EPA) vom 28. Juni 2018^(5,7). (TSCA steht für Toxic Substances Control Act). Er sieht vor, Tests an Wirbeltieren für Chemikalien durch die so genannten Methoden des neuen Ansatzes (New Approach Methodologies oder NAMs) zu reduzieren. Darunter werden jedwede Technologien, Methoden, Vorgehensweisen oder Kombinationen verstanden, die verwendet werden können, um Informationen zur Gefahren- und Risikobewertung von Chemikalien ohne Verwendung lebender Tiere zu gewinnen. Der Prozess wird mehrere Jahre benötigen und die Annahme und Integration von NAMs wird schrittweise erfolgen. Dabei werden die neuen Methoden zunächst identifiziert, fehlende entwickelt und in abgestufte Teststrategien integriert. Hiernach wird Vertrauen hinsichtlich der wissenschaftlichen Zuverlässigkeit und Relevanz der neuen Methoden für die Chemikalienregulierung aufgebaut. Am Ende erfolgt die Umsetzung der zuverlässigen und relevanten NAMs für TSCA-Entscheidungen. Dafür wurde vom *NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM)* und vom *U.S. Interagency Coordinating Committee for the Validation of Alternative Methods (ICCVAM)* 2018 eine strategische „Roadmap“ für die Etablierung neuer Ansätze zur Bewertung der Sicherheit von Chemikalien und Medizinprodukte veröffentlicht⁽⁶⁾. Es folgte eine Richtlinie im September 2019, nach der die Behörde angewiesen worden ist, Tierversuche für die Chemikaliensicherheitsbewertungen bis 2025 um 30% zu reduzieren und bis 2035 alle Anträge auf Säugetierstudien auszuschließen⁽⁶⁶⁾.

Der Bundesverband Menschen für Tierrechte fordert ebenfalls einen Masterplan zum Ausstieg aus dem Tierversuch ein. Dieser Masterplan sollte unter Federführung der Bundes- und Länderregierungen unter Beteiligung von Vertretern aller Stakeholder (Wissenschaft, Industrie, Behörden, Tierschutz/Tierrechte) erstellt werden. Er muss folgende Einzelmaßnahmen enthalten:

- Massive Erhöhung der Forschungsgelder für tierversuchsfreie Verfahren in Deutschland und in der EU, Festlegung von Forschungsbereichen, für die am dringendsten solche Verfahren entwickelt werden müssen
- Ausweitung der Verbotsregelungen bestimmter Tierversuche: Durch erste Sofortmaßnahmen müssen Tierversuche in bestimmten Bereichen gesetzlich verboten werden wie z. B. das Verbot von Tierversuchen für Haushaltsprodukte sowie durch ein EU-weites Vermarktungsverbot, Verbote von Tierversuchen der Kategorie „schwer“ und ein Verbot des Tierverbrauchs im Studium.

- Lehre und Forschung: Ausweitung der tierversuchsfreien Wissenschaft: Die Einrichtung von Lehrstühlen und Professuren für tierversuchsfreie Verfahren, die Etablierung tierversuchsfreier Studiengänge und die Einführung weiterer Forschungspreise für tierversuchsfreie Verfahren
- Erfolgskontrolle über die Zunahme tierversuchsfreier Verfahren und Abnahme der Tierversuche: Dazu ist eine Reform der Versuchstiermeldeverordnung (Erfassen aller betroffenen Tiere), die Einführung einer Jahresstatistik über Entwicklung und Anwendung tierversuchsfreier Methoden und eine rückblickende Bewertung in Form einer Schaden-Nutzen-Analyse für alle durchgeführten Tierversuche notwendig
- Einrichtung eines nationalen Kompetenzzentrums als Auskunftsstelle für Behörden und Wissenschaftler
- Ergänzende Maßnahmen: Drastische Verkürzung der zeitlichen Prozesse für Prüf- und Anerkennungsverfahren für tierversuchsfreie Verfahren, Einführung der Tierschutz-Verbandsklage auf Länder-, bzw. Bundes- und EU-Ebene.

Europäischer Green Deal: eine Landwirtschaft ohne chemische Pestizide

Vielleicht werden ja in absehbarer Zeit Hunde in der Pestizidtestung obsolet sein: Am 23. Februar dieses Jahres wurde in Paris eine gemeinsame Absichtserklärung „Auf dem Weg zu einer chemiepestizidfreien Landwirtschaft“ unterzeichnet. 24 europäische Forschungsinstitute unter deutsch-französischer Leitung haben diese Forschungsinitiative initiiert, um den agroökologischen Übergang zu einer Landwirtschaft ohne Pestizide, die auf Chemikalien basieren, auf dem ganzen Kontinent zu schaffen⁽⁶⁷⁾.

Literatur:

- (1) Watson (2019). Deutsches Versuchslabor lässt Tiere qualvoll verenden – Spuren führen in die Schweiz. [online] Available at: <https://www.watson.ch/international/schweiz/228877654-versuchslabor-lpt-laesst-tiere-qualvoll-verenden-schweizer-firma-beteiligt> [26. Februar 2020]
- (2) mdr aktuell (2019). Tierschutzskandal in Niedersachsen Ex-Mitarbeiterin von LPT erklärt: „Ich habe Dokumente gefälscht“. [online] Available at: <https://www.mdr.de/nachrichten/panorama/tierversuche-tierversuchslabor-lpt-niedersachsen-harburg-neu-wulmstorf-veterinaeramt-kontrolle-108.html> [26. Februar 2020]
- (3) Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2019). Versuchstierzahlen 2018. [online] Available at: https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/_texte/Versuchstierzahlen2018.html [26. Februar 2020]
- (4) Netherlands National Committee for the protection of animals (2016). Opinion provided by NCad as to how the Netherlands can become a pioneer in non-animal research. [online] Available at: <https://english.ncadierproevenbeleid.nl/latest/news/16/12/15/ncad-opinion-transition-to-non-animal-research> [26. Februar 2020]
- (5) Environmental Protection Agency (2018). Response to Comments on the Draft Strategic Plan to Promote the Development and Implementation of Alternative Test Methods. https://www.epa.gov/sites/production/files/2018-06/documents/response_to_comments_on_altteststratplan_06-22-18.pdf
- (6) National Toxicology Program. U.S. Department of Health and Human Services (2018). A Strategic Roadmap for Establishing New Approaches to Evaluate the Safety of Chemicals and Medical Products in the United States. [online] Available at: https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/niceatm/natl-strategy/index.html?utm_source=direct&utm_medium=prod&utm_campaign=ntpgolinks&utm_term=natl-strategy [26. Februar 2020]
- (7) Environmental Protection Agency (2018). Strategic Plan to Promote the Development and Implementation of Alternative Test Methods Within the TSCA Program. EPA Document# EPA-740-R1-8004. https://www.epa.gov/sites/production/files/2018-06/documents/epa_alt_strat_plan_6-20-18_clean_final.pdf
- (8) Reportagen ARTE Junior (2019). [online] Available at: <https://www.youtube.com/watch?v=NI2E6IqIimE> [26. Februar 2020]
- (9) Richtlinie 2010/63/EU Des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2010 zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere. [online] Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063&from=EN> [26. Februar 2020]

- (10) Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2018). Verwendung von Versuchstieren im Jahr 2017. [online] Available at: https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/_texte/Versuchstierzahlen2017.html [26. Februar 2020]
- (11) Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2017). Verwendung von Versuchstieren im Jahr 2016. [online] Available at: https://www.bmel.de/DE/Tier/Tierschutz/_texte/Versuchstierzahlen2016.html [26. Februar 2020]
- (12) Envigo (2020). Beagles. [online] Available at: <https://www.envigo.com/products-services/research-models-services/models/research-models/other-animals/canine/beagles/hre-beagle/> [20. Februar 2020]
- (13) Marshall Bioresources (2020). Marshall Beagles ©. [online] Available at: <https://www.marshallbio.com/marshall-beaglesr> [26. Februar 2020].
- (14) Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (2019). Versuchstierstatistik, Länder-Auswertung 2018. Auf Anfrage.
- (15) Bundesinstitut für Risikobewertung (2020). Datenbank Animaltestinfo. [online] Available at: <https://www.animaltestinfo.de/> [26. Februar 2020]
- (16) RP online (2017). Ein Besuch im Tierversuchslabor der Uni Düsseldorf. [online] Available at: https://rp-online.de/nrw/staedte/duesseldorf/duesseldorf-einblicke-in-das-tierversuchslabor-der-universitaet_aid-17055457 [26. Februar 2020]
- (17) Verordnung (EG) Nr. 440/2008 vom 30. Mai 2008 zur Festlegung von Prüfmethode gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH). [online] Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/ALL/?uri=CELEX%3A32008R0440> [26. Februar 2020]
- (18) Verordnung (EU) Nr. 283/2013 vom 1. März 2013 zur Festlegung der Datenanforderungen für Wirkstoffe gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln. [online] Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:093:0001:0084:DE:PDF> [26. Februar 2020]
- (19) Verordnung (EG) Nr. 1107/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. Oktober 2009 über das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln und zur Aufhebung der Richtlinien 79/117/EWG und 91/414/EWG des Rates. [online] Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/ALL/?uri=CELEX%3A32009R1107> [26. Februar 2020]
- (20) OECD (2020). Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects. [online] Available at: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788 [26. Februar 2020]
- (21) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2020). Pharmacokinetics: Guidance for Repeated Dose Tissue Distribution Studies S3B. [online] Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S3B_Guideline.pdf [26. February 2020]
- (22) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2020). Duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Non Rodent Toxicity Testing) S4. Current Step 4 Version. [online] Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S4_Guideline.pdf [26. February 2020]
- (23) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (2020). Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals S7A. [online] Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Guideline.pdf [26. February 2020]
- (24) ICH Topic S7B The nonclinical Evaluation of the Potential for delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals. [online] Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-s-7-b-nonclinical-evaluation-potential-delayed-ventricular-repolarization-qt-interval_en.pdf [26. February 2020]
- (25) International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH) (2020). VICH GL 43 - Target Animal Safety for Veterinary Pharmaceutical Products. Adopted Step 7. [online] Available at: <https://www.vichsec.org/en/component/attachments/attachments/310.html?task=download> [26. February 2020]
- (26) Valerie Boivin-Jahns, Kerstin Uhland, Hans-Peter Holthoff, Niklas Beyersdorf, Vladimir Kocoski, Thomas Kerkau, Götz Münch, Martin J. Lohse, Martin Ungerer & Roland Jahns (2018). Cyclopeptide COR-1 to treat beta1-adrenergic receptor antibody-induced heart failure. *PLoS One* 13/8, doi: 10.1371/journal.pone.0201160
- (27) Senatskommission für tierexperimentelle Forschung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (2016). Tierversuche in der Forschung. https://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/geschaeftsstelle/publikationen/tierversuche_forschung.pdf
- (28) Thomas Mondritzki, Philip Boehme, Jason White, Jin Woo Park, Jessica Hoffmann, Julia Vogel, Peter Kolkhof, Stuart Walsh, Peter Sandner, Erwin Bischoff, Wilfried Dinh, Jörg Hüser & Hubert Truebel (2018). Remote left ventricular hemodynamic monitoring using a novel intracardiac sensor. *Circulation and Cardiovascular Intervention* 11/5, Doi: 10.1161/CIRCINTERVENTIONS.117.006258. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29748220>
- (29) Thomas Mondritzki, Philip Boehme, Lena Schramm, Julia Vogel, Ilka Mathar, Peter Ellinghaus, Peter Kolkhof, Erwin Bischoff, Jörg Hüser, Winfried Dinh, Peter Sandner & Hubert Truebel (2018). New pulmonary hypertension model in conscious dogs to investigate pulmonary-selectivity of acute pharmacological interventions. *European Journal of Applied Physiology* 118/1: 195-203. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29159668>

- (30) Roche Diagnostics GmbH (2011). Risikobestimmung für medikamenteninduzierte Proarrhythmie mit dem xCELLigence RTCA Cardio Instrument von Roche und Kardiomyozyten aus pluripotenten Stammzellen. [online] Available at: <https://www.pressebox.de/pressemitteilung/roche-diagnostics-gmbh/Risikobestimmung-fuer-medikamenteninduzierte-Proarrhythmie-mit-dem-xCELLigence-RTCA-Cardio-Instrument-von-Roche-und-Kardiomyozyten-aus-pluripotenten-Stammzellen/boxid/437141> [26. Februar 2020]
- (31) EU Pharmacy Info (2020). [online] available at: <https://www.eu-pharmacy.info/reductil/> [26. Februar 2020]
- (32) Glasser, S. P (ed.) (2014). Essentials of Clinical Research. 2. ed. Springer International Publishing Switzerland, pp. 111-112.
- (33) Toyoshima, S., Kanno, A., Kitayama, T., Sekiya, K., Nakai, K., Haruna, M., Mino, T., Miyazaki, H., Yano, K. and Yamamoto, K. (2005). QT PRODACT: In Vivo QT Assay in the Conscious Dog for Assessing the Potential for QT Interval Prolongation by Human Pharmaceuticals. *Journal of Pharmacology Sciences* 99, pp. 459 – 471.
- (34) DocCheck Flexikon [2020]. Sotalol. [online] Available at: <http://flexikon.doccheck.com/de/Sotalol> [26. Februar 2020].
- (35) DocCheck Flexikon (2020). Elektrokardiogramm [online] Available at: <http://flexikon.doccheck.com/de/Elektrokardiogramm> [26. Februar 2020].
- (36) Thews, G. und Vaupel. P. (2005). Vegetative Physiologie. 5th ed., Heidelberg-Springer, pp. 100-120.
- (37) Gesundpedia (2018). His-Bündel. [online] Available at <http://gesundpedia.de/His-B%C3%BCndel> [26. Februar 2020].
- (38) Peinkofer, G., Burkert, K., Urban, K., Krausgrill, B., Hescheler, J., Saric, T. & Halbach, M. (2016). From early embryonic to adult stage: Comparative study of action potentials of native and pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Stem Cells and Development* 25(19), pp. 1397-1406.
- (39) Chaudhari, U., Nemade, H., Wagh, V., Gaspar, J. A., Ellis, J. K., Srinivasan, S. P., Spitkovski, D., Nguemo, F., Louise, J., Bremer, S., Hescheler, J., Keun, H. C., Hengstler, J. G. and Sachinidis, A. (2016). Identification of genomic biomarkers for anthracycline-induced cardiotoxicity in human iPSC-derived cardiomyocytes: an in vitro repeated exposure toxicity approach for safety assessment. *Archives of Toxicology* 90/11, pp.2763-2777. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1623-5>
- (40) Nina Hasiwa, Jarrod Bailey, Peter Clausing, Mardas Daneshian, Marianne Eileraas, Sándor Farkas, István Gyertyán, Robert Hubrecht, Werner Kobel, Goran Krummenacher, Marcel Leist, Hannes Lohi, Ádám Miklósi, Frauke Ohl, Klaus Olejniczak, Georg Schmitt, Patrick Sinnett-Smith, David Smith, Kristina Wagner, James D. Yager, Joanne Zurlo & Thomas Hartung (2011). Critical Evaluation of the Use of Dogs in Biomedical Research and Testing in Europe. *Altex* 28: 326-340.
- (41) D. Krewski, M. E. Andersen, M. G. Tyshenko, K. Krishnan, T. Hartung, K. Boekelheide, J. F. Wambaugh, D. Jones, M. Whelan, R. Thomas, C. Yauk, T. Barton-Maclaren & I. Cote (2019). Toxicity testing in the 21st century: progress in the past decade and future perspectives. *Archives of Toxicology* 94: 1–58. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02613-4>
- (42) dzw – Portal für dentales Praxiswissen (2020). Pro / Contra Tierversuche in der Zahnmedizin. [online] Available at: <https://www.dzw.de/tierversuche-der-zahnmedizin> [26. Februar 2020]
- (43) Berridge, B. R., Hoffmann, P., Turk, J. R., Sellke, F., Gintant, G., Hirkaler, G., Dreher, K., Schultze, A. E., Walker, D., Edmunds, N., Halpern, W., Falls, J., Sanders, M. and Pettit, S. D. (2013). Integrated and translational nonclinical in vivo cardiovascular risk assessment: Gaps and opportunities. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 65: 38-46.
- (44) Peters, MF, Landry, T, Pin, C, Maratea, K, Dick, C, Wagoner, MP, Choy, AL, Barthlow, H, Snow, D, Stevens, Z, Armento, A, Scott, CW & Ayehunie, S (2018). Human 3D Gastrointestinal Microtissue Barrier Function as a Predictor of Drug-Induced Diarrhea. *Toxicol Sci.* 2018 Oct 26. doi: 10.1093/toxsci/kfy268.
- (45) Kyung-Jin Jang, Monicah A. Otieno, Janey Ronxhi, Heng-Keang Lim, Lorna Ewart, Konstantia R. Kodella, Debora B. Petropolis, Gauri Kulkarni, Jonathan E. Rubins, David Conegliano, Janna Nawroth, Damir Simic, Wing Lam, Monica Singer, Erio Barale, Bhanu Singh, Manisha Sonee, Anthony J. Streeter, Carl Manthey, Barry Jones, Abhishek Srivastava, Linda C. Andersson, Dominic Williams, Hyounghsin Park, Riccardo Barrile1, Josiah Sliz, Anna Herland, Suzzette Haney, Katia Karalis, Donald E. Ingber & Geraldine A. Hamilton (2019). Reproducing human and cross-species drug toxicities using a Liver-Chip. *Science Translational Medicine* 11/517, eaax5516. DOI: 10.1126/scitranslmed.aax5516.
- (46) OECD Library (2020). Test No. 409: Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents. https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-409-repeated-dose-90-day-oral-toxicity-study-in-non-rodents_9789264070721-en
- (47) European Commission , Health & Consumer Protection Directorate-General (2006). Draft Guidance for the setting and application of acceptable operator exposure levels (AOELs). SANCO 531 - rev.10. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_ppp_app-proc_guide_tox_accpt-exp-levs-2006.pdf
- (48) Patricia Bishop, Humane Society International (2018). Global Harmonization of Regulatory Testing and the 3Rs. CLA & RISE Regulatory Conference April 27, 2018. <https://static1.squarespace.com/static/59b55b2b37c581fbf88309c2/t/5aea1a538a922d8e14b8d241/1525291606509/Series+IV%2C+Studio+D+--+Toxicity+Testing+and+Risk+Assessment+for+Human+Health+--+BISHOP.pdf>
- (49) CIPA (2018). About CIPA. [online]. Available at: <http://cipaproject.org/about-cipa/> [26. Februar 2020]
- (50) Caverio, I. and Holzgreve, H. (2014). Comprehensive in vitro Proarrhythmia Assay, a novel in vitro/in silico paradigm to detect ventricular proarrhythmic liability: a visionary 21st century initiative. *Journal Expert Opinion on Drug Safety* 13/6, pp. 745-758.

- (51) Colatsky, T., Fermini, B., Gintant, G., Pierson, J. B., Sager, P., Sekino, Y., Strauss, D. G. and Stockbridge, N. (2016). The Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay (CiPA) initiative — Update on progress. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 81, pp. 15–20.
- (52) Ivan Kopljär, Hua Rong Lu, Karel Van Ammel, Martin Otava, Fetene Tekle, Ard Teisman, & David J. Gallacher (2018). Development of a Human iPSC Cardiomyocyte-Based Scoring System for Cardiac Hazard Identification in Early Drug Safety De-risking. *Stem Cell Reports* 11: 1365-1377.
- (53) Wang, Y. I., Carmona, C., Hickman, J. J. and Shuler, M. L. (2017). Multiorgan Microphysiological Systems for Drug Development: Strategies, Advances, and Challenges. *Adv. Healthcare Mater.* 2017, 1701000.
- (54) IMI (Innovatives Medicine Initiative). (2018a). STEMBANCC. [online] Available at: <http://www.imi.europa.eu/projects-results/project-factsheets/stembancc> [26. Februar 2020]
- (55) Reppel, M. and Hescheler, J. (2010). Pharmakologisches Screening unter Verwendung von aus humanen embryonalen Stammzellen abgeleiteten Kardiomyocyten. Abgeschlossenes Förderprojekt 039, 2006-2008. http://www.stiftung-set.de/fileadmin/user_upload/herunterladen/Projekt-pdf/P039-Reppel.pdf
- (56) Natarajan, A., Stancescu, M., Dhir, V., Armstrong, C., Sommerhage, F., Hickman, J. J. and Molnar, P. (2011). Patterned Cardiomyocytes on Microelectrode Arrays as a Functional, High Information Content Drug Screening Platform. *Biomaterials* 32(18), pp. 4267–4274.
- (57) Stephan Fleischer, Heinz-Georg Jahnke, Enrico Fritsche, Mathilde Girard & Andrea A. Robitzki (2019). Comprehensive human stem cell differentiation in a 2D and 3D mode to cardiomyocytes for long-term cultivation and multiparametric monitoring on a multimodal microelectrode array setup. *Biosensors and Bioelectronics* 126: 624-631. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566318308790?via%3DIihub>
- (58) Smith, A., S., T., Long, C. J., McAleer, C., Bobbitt, N., Srinivasan, B. and Hickman, J. J. (2014). Utilization of Microscale Silicon Cantilevers to Assess Cellular Contractile Function In Vitro. *Journal of Visualized Experiments* 92. doi:10.3791/51866
- (59) Wiśniowska, B., Mendyk, A., Fijorek, K., Glinka, A. Polaka, S. (2012). Predictive model for L-type channel inhibition: multichannel block in QT prolongation risk assessment. *Journal of Applied Toxicology* 32/10, pp. 858-866.
- (60) Adler, S., Basketter, D., Creton, S. et al. (2011): Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects—2010. *Arch Toxicol* 85: 367–485.
- (61) JCR (Joint Research Centre). (2018). Welcome to the JRC QSAR Model Database [online] Available at: <https://qsar.db.jrc.ec.europa.eu/qmrf/> [26. Februar 2020].
- (62) Universität Hohenheim (2017). Living Heart Project: Virtuelles Herz für bessere Medikamententests & weniger Tierversuche. [online] Available at: https://www.uni-hohenheim.de/pressemitteilung?tx_ttnews%5Btt_news%5D=35393&cHash=1cff49d7d72c10984f6530d2fbc2b0bb [26. Februar 2020]
- (63) National Toxicology Program (US Department of Health and Human Sciences). Toxicology in the 21st Century (Tox21). [online] available at: https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/tox21/index.html?utm_source=direct&utm_medium=prod&utm_campaign=ntpgolinks&utm_term=tox21 [2. März 2020]
- (64) Menschen für Tierrechte (2017). Interview mit Dr. Koeter: „Wir glauben fest daran, dass der Ausstieg machbar ist!“ <https://www.tierrechte.de/2018/02/13/interview-mit-dr-koeter-wir-glauben-fest-daran-dass-der-ausstieg-machbar-ist/>
- (65) Environmental Protection Agency (2020). Test Guidelines for Pesticides and Toxic Substances. <https://www.epa.gov/test-guidelines-pesticides-and-toxic-substances>
- (66) Environmental Protection Agency (2019). Directive to Prioritize Efforts to Reduce Animal Testing. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2019-09/image2019-09-09-231249.txt>
- (67) Inrae (2020). <https://www.inrae.fr/en/news/alternatives-chemical-pesticides-24-european-research-institutes-undertake-ambitious-roadmap>. <https://www.inrae.fr/en/news/alternatives-chemical-pesticides-24-european-research-institutes-undertake-ambitious-roadmap>
- (68) Marta Lemme, Bärbel M. Ulmer, Marc D. Lemoine, Antonia T.L. Zech, Frederik Flenner, Ursula Ravens, Hermann Reichenspurner, Miriam Rol-Garcia, Godfrey Smith, Arne Hansen, Torsten Christ & Thomas Eschenhagen (2018). Atrial-like Engineered Heart Tissue: An In Vitro Model of the Human Atrium. *Stem Cell Reports* 11: 1378–1390.
- (69) IMI (Innovatives Medicine Initiative). (2020) <http://www.imi.europa.eu/projects-results/project-factsheets/ebisc>

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!

Tiere haben Rechte – wir fordern sie ein!

Trotz Tierschutzgesetz und Staatsziel Tierschutz leiden jeden Tag Millionen Tiere in Tierversuchen, in der industriellen Landwirtschaft, auf Transporten und Schlachthöfen. Hinzu kommen artwidrig gehaltene Haus- und Wildtiere in Privathaushalten, in Zoo und Zirkus, „Pelztiere“ und unzählige Tiere, die jährlich Opfer der Jagd werden. Um dieses millionenfache Leid zu beenden, setzen wir uns aktiv für den Ausstieg aus dem Tierversuch und der „Nutztier“-Haltung sowie gegen jeglichen Missbrauch von Tieren ein. Um diesen Systemwechsel einzuleiten, brauchen wir einen Masterplan für den Abbau von Tierversuchen und eine Kehrtwende in der Landwirtschaft von der tierischen zur pflanzlichen Eiweißproduktion. Unser langfristiges Ziel: Das Mensch-Tier-Verhältnis muss sich grundsätzlich ändern. Tiere haben ein Recht auf Leben, auf Freiheit und auf Unversehrtheit. Der Weg zur Anerkennung dieser Rechte ist beschwerlich – wir gehen ihn pragmatisch, schrittweise und konsequent.

Unterstützen Sie uns bei unserem Kampf für die Tiere! Werden Sie Mitglied oder unterstützen Sie unsere Arbeit durch eine Spende!
Danke!

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



HINWEIS

Im Juli zieht unsere Geschäftsstelle um.
Die neue Adresse:
Severinusstr.52
53909 Zülpich
Tel. 02252 - 830 12 10
Fax 02252 - 830 12 11

KONTAKT

Geschäftsstelle:
Mühlenstr. 7a | 40699 Erkrath
Tel. 0211 - 22 08 56 48 | Fax 02252 - 830 12 11
info@tierrechte.de | www.tierrechte.de

 **Menschen für Tierrechte**
Bundesverband der Tierversuchsgegner e. V.