



Wolfgang Sipos

Das Schwein in der biomedizinischen Forschung

Klinische Untersuchung und
Interventionen – Modell-
besprechungen – Veterinärrecht



Springer Spektrum

Das Schwein in der biomedizinischen Forschung

Wolfgang Sipos

Das Schwein in der biomedizinischen Forschung

Klinische Untersuchung
und Interventionen –
Modellbesprechungen – Veterinärrecht

 Springer Spektrum

Univ.Prof. Dr. Wolfgang Sipos, Dipl.ECPHM
Klinisches Department für Nutztiere
und Bestandsbetreuung
Veterinärmedizinische Universität Wien
Wien, Österreich

Tierarztpraxis Schwertfegen
Neulengbach, Österreich

ISBN 978-3-662-65843-7 ISBN 978-3-662-65844-4 (eBook)
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-65844-4>

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

© Der/die Herausgeber bzw. der/die Autor(en), exklusiv lizenziert an Springer-Verlag GmbH, DE, ein Teil von Springer Nature 2022

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von allgemein beschreibenden Bezeichnungen, Marken, Unternehmensnamen etc. in diesem Werk bedeutet nicht, dass diese frei durch jedermann benutzt werden dürfen. Die Berechtigung zur Benutzung unterliegt, auch ohne gesonderten Hinweis hierzu, den Regeln des Markenrechts. Die Rechte des jeweiligen Zeicheninhabers sind zu beachten.

Der Verlag, die Autoren und die Herausgeber gehen davon aus, dass die Angaben und Informationen in diesem Werk zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vollständig und korrekt sind. Weder der Verlag, noch die Autoren oder die Herausgeber übernehmen, ausdrücklich oder implizit, Gewähr für den Inhalt des Werkes, etwaige Fehler oder Äußerungen. Der Verlag bleibt im Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutionsadressen neutral.

Fotonachweis Umschlag: © Univ.Prof. Dr. Wolfgang Sipos, Dipl.ECPHM

Planung/Lektorat: Stefanie Wolf

Springer Spektrum ist ein Imprint der eingetragenen Gesellschaft Springer-Verlag GmbH, DE und ist ein Teil von Springer Nature.

Die Anschrift der Gesellschaft ist: Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany

Vorwort

Im vorliegenden Buch möchte ich meine mehr als 25-jährige Erfahrung als Tierarzt und Universitätslehrer am Gebiet der Großtier- und im Speziellen der Schweinemedizin sowie im Forschungsfeld der Biomedizin unter Verwendung des Schweines als Tiermodell in unterschiedlichen Fragestellungen mit dem interessierten Leserkreis teilen. Einerseits ist es meine Intention, wichtige Grundlagen der klinischen Untersuchung des Schweines sowie physiologische Referenzbereiche einer Reihe von essentiellen klinischen, blutchemischen, hämatologischen und immunologischen Parametern zusammenzufassen, damit dieses Buch dem in der Biomedizin tätigen Naturwissenschaftler und Mediziner als Nachschlagewerk und verlässlicher Partner im Versuchsstall dienen kann, andererseits hoffe ich, dem Leser einen holistischeren und nicht nur rein technischen Blick auf Tiermodelle in der Biomedizin und auf das Schwein im Speziellen geben zu können. Es sollte allen auf dem Gebiet tätigen Forschern klar sein, wie zentral der Gedanke des Kombinierens von humanmedizinischen, veterinärmedizinischen und zoologischen Aspekten für den erfolgreichen Einsatz eines Tiermodells und wie spannend die Beschäftigung mit dieser breiten Thematik ist. Ganz bewusst habe ich danach getrachtet, vor allem Sachverhalte und Studien dar- bzw. vorzustellen, die ich in persönlicher Erfahrung kennenlernen konnte. Dies macht meiner Meinung auch deshalb Sinn, da es im Rahmen dieses Formates soundso unmöglich gewesen wäre, sämtliche – bereits publizierte – Einsatzmöglichkeiten von Schweinemodellen anzuführen. Somit handelt es sich hier um eine persönliche Auswahl der vorgestellten Modelle, die aber aufgrund ihrer Mannigfaltigkeit gut geeignet sein sollten, der Leserschaft wertvolle Impulse für eigene kritische Gedanken zu liefern.

Ich selber, um ein paar persönliche Worte folgen zu lassen, bin bereits seit Kindertagen ein tierbegeisterter Mensch. Neben dem von Anfang an bestehenden Wunsch, Tierarzt zu werden, habe ich auch immer eine große Begeisterung für die Zoologie und im Speziellen für die phylogenetischen Beziehungen der Arten untereinander gehabt, was sich ebenfalls in meinen Kooperationen und Publikationen widerspiegelt. Auch dieser Aspekt wird – obwohl das der Leser vielleicht nicht primär erwarten würde – eine gewisse Rolle in diesem Buch spielen. Wie kam ich nun zur translationalen Medizin? Als sich bereits nach kurzer Zeit meiner Tätigkeit als damals noch junger Assistenzarzt an der II. Medizinischen Universitätsklinik für Klautiere (Buiatrik) an der

Veterinärmedizinischen Universität Wien abzuzeichnen begann, dass es mir neben der eigentlichen kurativen Tätigkeit, also der Behandlung der Patienten (Rinder, Schafe, Ziegen, Großkamele, Neuweltkamele und Schweine), besonders das Fach der Immunologie, das es damals noch nicht an unserer Universität gab, angetan hatte, wandte ich mich an die Medizinische Universität Wien (MUW), um dort nach Kooperationspartnern zu suchen, die die geeignete Laborausrüstung für meine geplanten Immunologiestudien hatten. Damals waren Durchflusszytometrie-Geräte noch etwas Besonderes. Am Institut für Pathophysiologie fand ich dann in Prof. Pietschmann einen wertvollen Unterstützer und lieben Freund, der mich bis zu meiner Habilitation für das Fach Großtiermedizin und Klinische Seuchenlehre (Buiatrik), mit Schwerpunkt der Klinischen Immunologie beim Schwein, und darüber hinaus begleitete.

Dann kam eines zum anderen. Da mich immer der Blick über den Tellerrand interessierte, war es aufgrund meiner wissenschaftlichen Tätigkeit an der MUW naheliegend, mich mehr und mehr mit Fragestellungen der translationalen Medizin zu beschäftigen. Dabei kam mir zugute, dass die Schweine als Großtiermodelle aufgrund anatomischer und physiologischer Gegebenheiten für viele Fragestellungen als Modellspezies gut geeignet sind. Als bald bekannter „Exot“ an der MUW mit großem Forscherdrang kamen immer mehr unterschiedliche Arbeitsgruppen zu mir und fragten um Kooperationen an. Damals (in *statu habilitandi* sowie später als junger Professor) konnte ich noch nicht so gut Nein sagen (das lernt man erst, wenn man älter ist) und so war ich bald mit Arbeit komplett eingedeckt – durfte dafür aber viele tolle Kollegen und Kolleginnen kennenlernen. Außerdem liebte ich die Herausforderung, mich in die unterschiedlichsten Fragestellungen und Modelle hineinzudenken – und diese Begeisterung habe ich mir bis heute erhalten.

Ich hoffe, den Lesern ein wertvolles Werk an die Hand geben zu dürfen und vor allem, meine Begeisterung für das Arbeiten mit Tieren und die translationalen Aspekte der medizinischen Forschung vermitteln zu können. Auch möchte ich den Leser dabei unterstützen, ein Gefühl für die sinnvolle Anwendbarkeit von Tiermodellen zu entwickeln. Ich möchte mich bei allen Menschen, die mir bisher zur Seite gestanden sind und mich so großartig im Beruflichen wie Privaten unterstützt haben, von ganzem Herzen bedanken. Dazu gehören meine Frau Sabine (sie ist ebenfalls Tierärztin und wir arbeiten auch zusammen in unserer Großtierpraxis mit Schwerpunkt Schweinemedizin), meine beiden Kinder Mathias und Florian, die es nicht immer verstanden, dass Papa während der intensiven Zeit des Schreibens permanent am Laptop sitzen musste und nicht mit ihnen spielen konnte, und auch die vielen lieben Kolleginnen und Kollegen, mit denen ich zusammenarbeiten durfte.

Schwertfegen
im Juni 2022

Univ.Prof. Dr. Wolfgang Sipos, Dipl.ECPHM

Inhaltsverzeichnis

1 Vergleich von Schweinen, Schafen und Nagern aus biomedizinischer Sicht	1
1.1 Phylogenetische und veterinärmedizinische Aspekte	1
1.2 Eignung von Tiermodellen für die biomedizinische Forschung	8
Literatur	20
2 Die klinische Untersuchung des Schweines	23
2.1 Grundlagen der klinischen Diagnostik	23
2.2 Internistischer Untersuchungsgang	24
2.3 Neurologischer Untersuchungsgang	46
2.4 Dermatologischer Untersuchungsgang	54
Literatur	59
3 Diagnostische Techniken und Applikationsmodi beim Schwein	61
3.1 Blutentnahme, peripherer Venenverweilkatheter	61
3.2 Injektionstechniken	64
3.3 Liquorpunktion	71
3.4 BALF, TBS, Tonsillartupfer	73
3.5 Harngewinnung	73
3.6 Orale Applikation	74
Literatur	75
4 Blutchemie, Hämatologie und klinische Immunologie	77
4.1 Blutchemische Referenzwerte	77
4.2 Hämatologische Referenzwerte	78
4.3 Immunologische Referenzwerte	78
Literatur	84
5 Narkose, Analgesie und OP-Monitoring	87
5.1 Sedierung und Narkose	87
5.2 Intra- und postoperatives Monitoring	92
5.3 Euthanasie und Grundlagen der Sektionstechnik	95
Literatur	97
6 Tierversuchsgesetzgebung und Schweinehaltung	99
6.1 Rechtliche Grundlagen und ethische Aspekte zu Tierversuchen	99

6.2	Rechtliche Grundlagen zur Schweinehaltung	114
6.3	Gesundheitsprophylaxe im Bestand	121
	Literatur	127
7	Anzeigepflichtige seuchenhafte Erkrankungen des Schweines	129
7.1	Grundlagen der Seuchenmedizin und tierseuchenrechtliche Bestimmungen	129
7.2	Anzeigepflichtige Seuchen des Schweines	136
7.3	Das Schwein als Überträger von Zoonosen	152
	Literatur	156
8	Ausgewählte Beispiele von Schweinemodellen in der biomedizinischen Forschung	157
8.1	Schweine als Modelle in der Notfallmedizin	157
8.2	Schweine als Modell in der Osteoporoseforschung	165
8.3	Schweine als Modell in der Allergologie und Dermatologie	173
8.4	<i>Ex vivo</i> -Schweinemodelle	177
	Literatur	179
	Stichwortverzeichnis	183



Vergleich von Schweinen, Schafen und Nagern aus biomedizinischer Sicht

1

Zusammenfassung

Die Kenntnis der phylogenetischen Beziehungen und wichtigsten biologischen Merkmale der häufig verwendeten Versuchstierarten ist wichtig für eine erfolgreiche Interpretation von mithilfe dieser Tiere gewonnenen experimentellen Daten. Deshalb werden in diesem Kapitel die Evolutionsgeschichte sowie Eigenheiten der Physiologie und der Reproduktionsbiologie von Schwein, Schaf, Maus und Ratte genauer unter die Lupe genommen. Anschließend wird anhand des Beispiels der Osteoporoseforschung vorgestellt, welche Gedanken sich der Versuchsplaner über die Eignung einer Versuchstierart für eine bestimmte Fragestellung machen sollte.

1.1 Phylogenetische und veterinärmedizinische Aspekte

1.1.1 Verwandtschaftsverhältnisse zwischen Menschen und Versuchstierarten

Die biomedizinische Forschung ist nicht so neu, wie es uns der relativ aktuell geprägte Begriff der Biomedizin glauben macht. Worum geht es in diesem Forschungszweig? Einerseits wird unter der translationalen Medizin das Kombinieren von biologischen Forschungsarbeiten mit medizinischen Aspekten bzw. das Aufzeigen von medizinischen Anwendungsmöglichkeiten der biologischen Grundlagenforschung verstanden. Andererseits ist auch das Extrapolieren von mithilfe von Tiermodellen gewonnenen Daten in einen humanmedizinischen Kontext gemeint. Der Begriff Tiermodell wird ebenfalls unterschiedlich gebraucht. So werden bestimmte Tierarten oder -rassen *per se* bereits als Modell für ein Forschungsvorhaben bezeichnet, oder aber der Modellbegriff

wird erst auf das artifiziell induzierte, exakt beschriebene und auf seine humanmedizinische Relevanz überprüfte Krankheitsbild angewandt. Bei Modellen *sensu stricto* geht es einerseits darum, konkrete Interventionen, mit denen ein bestimmtes klinisches beziehungsweise pathologisches Bild ausgelöst werden kann, zu testen, um dadurch etwas über die pathophysiologischen Grundlagen zu erfahren, andererseits ist es ein Ziel, mit solchen Modellen neue Therapieoptionen zu testen. Jedes auch noch so gute Modell hat Schwachpunkte. Unterschiedliche Organismen reagieren unterschiedlich auf therapeutische Interventionen. Außerdem reagiert ein Organismus mit einem künstlich induzierten pathologischen Symptomenkomplex von vornherein anders auf eine therapeutische Intervention. Und drittens gelingt es meist auch in den besten Modellen nicht, komplexe Erkrankungen – wie im nächsten Kapitel exemplarisch dargestellt – so in einem Modell darzustellen, dass die Situation im Menschen exakt nachgebildet werden kann. Somit bleibt ein Modell eben immer nur ein Modell und nichts ist so gut wie das Original (in diesem Fall der Mensch). Die Kunst in der Etablierung von Tiermodellen besteht nun darin, solche Modelle zu generieren, die sich in möglichst vielen Punkten dem gewünschten humanmedizinischen Bild nähern, und die in einem solchen Modell gewonnenen Daten auch auslesen und sinnvoll extrapolieren zu können. Dies gilt umso mehr in Modellen, die weiter vom gewünschten Bild entfernt sind. Dafür muss man nicht nur die jeweilige Tierart gut kennen, sondern sich auch im Vorfeld über die prinzipielle Tauglichkeit der gewählten Spezies einige Gedanken gemacht haben. Grundlage dafür sind sowohl ein zoologisches Grundverständnis wie auch etwas Fingerspitzengefühl.

Aus den genannten Gründen sollen folgend die wichtigsten zoologischen Eckdaten von Hausschweinen (*Sus domesticus*), Schafen (*Ovis aries*) und zum Vergleich die der beiden am häufigsten in Tierversuchen eingesetzten Spezies, der Hausmaus (*Mus musculus*) und der Wanderratte (*Rattus norvegicus*), vorgestellt werden. Wenn im Folgenden von Schweinen, Schafen, Mäusen und Ratten die Rede ist, sind immer die eben angegebenen Spezies gemeint.

Schweine gehören zur Familie der Suidae, diese zur Ordnung der Cetartiodactyla und diese wiederum zur Überordnung der Laurasiatheria. Die Ordnung der Cetartiodactyla umfasst die Paarhufer samt den Walen, deren nächste Verwandte die Flusspferde sind, mit denen sie gemeinsam in die Unterordnung der Cetancodonta (oder Whippomorpha) gestellt werden. Noch vor einigen Jahren wurden die Flusspferde gemeinsam mit den Altweltschweinen und den Nabelschweinen in die Unterordnung der Suiformes gestellt. Für die neuen Erkenntnisse vor allem der Kladistik innerhalb der Wirbeltierklassen haben molekularphylogenetische Studien in den letzten rund 20 Jahren faszinierende Beiträge geleistet und viele klassische Ansichten über die diversen Verwandtschaftsverhältnisse über den Haufen geworfen. Nun ist vieles klarer, andererseits sind auch neue Fragen aufgetaucht. Die Schweineartigen (Suina) dürften sich vor knapp 80 Mio. Jahren, wie Untersuchungen zur Evolution des X-Chromosoms der Cetartiodactyla nahelegen, als erste Gruppe von den Cetartiodactyla abgespalten haben, bald gefolgt von den Tylopoden (Kamelen), sodass die Cetruminantia, das gemeinsame Taxon der Wiederkäuer (Ruminantia) und der Cetancodonta, den dritten Hauptzweig

dieser Ordnung bildeten [1]. Noch vor einiger Zeit ging man davon aus, dass die Hauptradiation der Cetartiodactyla im frühen Eozän vor rund 56 Mio. Jahren stattfand.

Maus und Ratte, beides Mitglieder der Familie der Langschwanzmäuse (Muridae) innerhalb der Ordnung der Rodentia, gehören gemeinsam mit den Primaten und somit auch dem Menschen – und anders als Schweine und Schafe – zur Überordnung der Euarchontoglires. Die Laurasiatheria und die Euarchontoglires trennten sich vor rund 97 Mio. Jahren, also bereits zu einer Zeit, als noch die Dinosaurier das (terrestrische) Leben auf der Erde dominierten. Nur knapp danach vor rund 91 Mio. Jahren trennten sich dann innerhalb der Euarchontoglires die Glires (Nager, Hasen) von den Primatomorpha (Primaten, Spitzhörnchen, Riesengleiter). Das zeigt, dass Menschen und Nager aus phylogenetischer Sicht näher miteinander verwandt sind als Menschen und Schweine bzw. Schafe. Phylogenetische (und genetische) Verwandtschaften sind aber nicht alles. Es geht (auch) um den Phänotyp. Natürlich ist eine engere genetische Verwandtschaft ein starkes Argument für die Bevorzugung einer Spezies für die Wahl als Modell gegenüber einer anderen Spezies mit einer höheren evolutionären Distanz zur Referenzspezies. Andererseits verlangen einige Modelle, z. B. solche mit einer biomechanischen Fragestellung, auch physische Ähnlichkeiten, also etwa gleiche Körpermasse oder Knochenstruktur. Dann sind auch noch Aspekte des Metabolismus, der Arbeitsweise des Immunsystems, endokrinologische Parameter und andere bei einer Modellwahl zu beachten. Erschwerend kommt noch das Phänomen der konvergenten Evolution ins Spiel, das auch bei phylogenetisch entfernter verwandten Arten unter dem Einfluss ähnlicher Umwelteinflüsse (Habitate, Nahrungsspektrum etc.) dafür sorgt, dass (manchmal verblüffend) ähnliche (analoge) Phänotypen bzw. Merkmale evolvierten. Konvergente Entwicklungen haben überhaupt oft für Kopfweh bei den Systematikern gesorgt, da anatomische Ähnlichkeiten sehr leicht phylogenetische Distanzen zwischen zwei Spezies maskieren können. Man denke nur an die früher soundso fälschlicherweise als Zahnarme (Edentata) bezeichnete Säugergruppe, die neben den Nebengelenkern (Xenarthra), also den Ameisenbären, Faultieren und Gürteltieren, auch die Erdferkel umfasste, die aber gemeinsam mit Elefanten, Seekühen, Schliefern und anderen Taxa zu einer anderen Überordnung, nämlich den Afrotheria, gehören. Fälschlicherweise einerseits deshalb, da Edentata „die Zahnlosen“ heißt und nicht „die Zahnarmen“ und zweitens, da nicht alle Edentata tatsächlich zahnlos sind – nur die Ameisenbären haben keine Zähne.

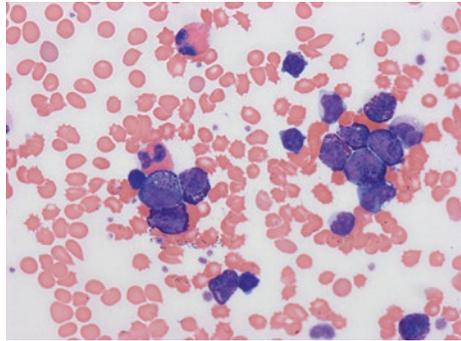
1.1.2 Bemerkungen zur Physiologie der Versuchstierarten

Im Folgenden sollen wesentliche zoologische Eckdaten der Schweine (abseits ihrer taxonomischen Einordnung) näher vorgestellt und den Nagern aufgrund ihrer herausragenden Bedeutung für die biomedizinische Forschung gegenübergestellt werden. Da Schafe auch immer wieder Eingang in biomedizinische Versuche finden, werden einige Besonderheiten der Physiologie der Wiederkäuer ebenso erwähnt.

Hausschweine haben ein Geburtsgewicht von rund 1,5 kg. Adulte Sauen können bis 250 kg und Eber bis 350 kg schwer werden. Auch diverse Minipigschläge erreichen locker ein Körpergewicht von mehr als 100 kg. Mäuse erreichen hingegen ein Gewicht von 20–30 g und Ratten bis 300 g. Wie der Mensch sind Schweine, sowie Mäuse und Ratten, Monogastrier und Allesfresser, was für viele Stoffwechselprozesse ein wichtiges Kriterium ist. Im Gegensatz zu Schweinen sind nämlich die auch immer wieder als Großtiermodelle herangezogenen Schafe Wiederkäuer, haben also ein Vormagensystem und können ohne funktionierendes Pansenmikrobiom nicht überleben – was nicht heißen soll, dass nicht auch die Monogastrier auf ein funktionierendes Darmmikrobiom angewiesen sind, aber eben nicht in dem unmittelbar überlebensnotwendigen Verhältnis zu diesem stehen wie die Wiederkäuer. Dies bedingt einerseits, dass Wiederkäuer, bzw. ihre Darmflora, viele oral aufgenommene Gifte detoxifizieren können (wie es beispielsweise auch praktische Relevanz bei der Tierfütterung hat, da Wiederkäuer viele Mykotoxine, die in Jahren mit entsprechend feucht-warmer Witterung im Sommer die Futtermittel kontaminieren, weit besser vertragen als Monogastrier) und andererseits, dass die Hauptenergiequelle für Monogastrier kurzkettige Zucker sind, während Wiederkäuer ihre Darmmikroben mit Proteinen (und auch Nicht-Protein-Stickstoff) und Rohfaser füttern müssen. Diese wiederum spalten einerseits die zugeführten Proteine zu Aminosäuren, Peptiden und Ammoniak und gewinnen andererseits durch das Aufspalten der β -glykosidischen Bindungen der Zellulose Glukose, die ihnen zum Aufbau kurzkettiger Fettsäuren (Azetat, Propionat, Butyrat) als Hauptenergeträger für ihren Wirt dient. Letzteres hat zur Folge, dass Wiederkäuer physiologischerweise einen niedrigeren Blutzuckerspiegel haben als Monogastrier. So liegt der Normwert bei Kälbern, die ja noch funktionelle Monogastrier sind, da die Wiederkäuer erst nach der Entwöhnung von der Milchnahrung tatsächlich zu Wiederkäuern werden, die rohfaserreiche Nahrung verwerten können, bei 3,9–6,6 mmol/l, während adulte Rinder Werte von 2,3–3,3 mmol/l aufweisen. Der Blutzuckerspiegel beim (nüchternen) Menschen und ebenso beim Schwein bewegt sich bei rund 5,5 mmol/l.

Aus hämatologischer/immunologischer Sicht soll hervorgehoben werden, dass bei einer Interpretation des Blutbildes berücksichtigt werden muss, dass Paarhufer und in noch stärkerer Ausprägung die Labornager ein lymphozytäres Blutbild haben, während beim Menschen die neutrophilen Granulozyten im Differentialblutbild überwiegen. Ein weiterer wichtiger Punkt in diesem Zusammenhang ist die betont starke Ausbildung der Peyer'schen Platten in der Dünndarmmukosa der Huftiere, die bei Wiederkäuern das bursaäquivalente Organ darstellen, während die primäre Differenzierung der B-Zellen bei Mensch und Maus im Knochenmark stattfindet. Ein nicht nur für den Molekularbiologen, sondern auch für den Veterinärmediziner spannendes Thema sind die Veterinär-onkologie und hier im Besonderen die hämatologischen Malignitäten, bei deren Erforschung, auch in Bezug auf neue Therapieoptionen, in den letzten Jahren vor allem in der Kleintiermedizin rasante Fortschritte gemacht wurden. Aber auch bei den Schweinen konnten mithilfe der Immunphänotypisierung leukämischer Zellen neue Erkenntnisse in diesem Bereich gewonnen werden (Abschn. 4.3). An dieser Stelle sei erwähnt, dass bei einem

Abb. 1.1 Zytologisches Bild einer Mastzelleukämie (modifizierte Wright-Färbung) bei einem 3-jährigen Göttinger Minipig



Minipigpatienten mit einer Mastzelleukämie chemotherapeutisch gemäß einem Vinblastin-Prednisolon-Protokoll für Hunde mit kutanen Mastzelltumoren eine partielle Remission mit einem Absinken der Leukozytenzahl von 30,6 auf 25,3 G/l und der Mastzellzahl von 18,1 auf 10,6 G/l erreicht werden konnte [2]. Abb. 1.1 zeigt das zytologische Bild des Patienten bei der Vorstellung.

Bei einer Blutentnahme für Versuchszwecke ist zu bedenken, dass pro Entnahme nicht mehr als 10 % des Blutvolumens bzw. nicht mehr als 20 % bei mehreren Entnahmen innerhalb von 2 Wochen entnommen werden sollen, da ein Volumenverlust dieser Größenordnung vom gesunden Tier noch gut kompensiert werden kann und das Herz nicht übermäßig belastet wird. Eine Maus mit einem Körpergewicht von 20 g hat ein Gesamtblutvolumen von 1,4–1,6 ml und somit sollten einmalig nicht mehr als 150 µl venöses Blut entnommen werden bzw. innerhalb von 2 Wochen nicht mehr als 300 µl. Bei einer Ratte mit 300 g und einem Gesamtblutvolumen von 15–21 ml betragen die beiden Entnahmewerte folglich 1,5 bzw. 3 ml. Einem Schwein mit 30 kg und einem Gesamtblutvolumen von rund 2 L könnten theoretisch problemlos 200 ml Blut entnommen werden. Die absolute Blutmenge, die bei einer einmaligen Venenpunktion entnommen werden kann, ist schon aus labortechnischen und versuchsplanerischen Gründen eine wichtige Überlegung, da beispielsweise beim Cell Sorting oft größere Volumina benötigt werden.

1.1.3 Reproduktionsbiologie der Versuchstiere

Ein aus mehrerer Hinsicht wesentlicher Punkt ist die speziesspezifische Reproduktionsbiologie und Sexualendokrinologie. Einerseits ist eine hohe Reproduktionsrate bei den meisten Haustieren erwünscht und auch in der Versuchstierzucht in der Regel gerne gesehen, man denke nur an die Schaffung und den Aufbau von bestimmten Knock-out-Mauspopulationen, und andererseits hat das Endokriniem einen wesentlichen Einfluss auf die allermeisten grundlagenbiologischen Fragestellungen. Aus diesem Grund wollen wir uns diesem Thema ebenfalls überblicksmäßig widmen.

Abb. 1.2 Weiblicher Genitaltrakt der Sau. Charakteristisch sind die langen Cornua uteri und die lange Zervix



Maus und Ratte besitzen einen Uterus duplex, besitzen also getrennte Uteri, aber eine gemeinsame Vagina. Dieser Uterustyp ist als primitiver als der Uterus bicornis der Huftiere (Abb. 1.2) anzusehen, der anatomisch eher dem Uterus simplex der Primaten (und des Menschen) mit der ungeteilten Gebärmutterhöhle entspricht. Andererseits haben die Nager wie die Primaten eine Placenta hämochorialis, bei der das mütterliche Blut die Chorionzotten umgibt und Immunglobuline vom mütterlichen in den fetalen Kreislauf übertreten können. Im Detail gibt es dennoch Unterschiede, da Primaten (und Meerschweinchen) eine Placenta hämomonochorialis als höchstentwickelte Plazentaform und Mäuse bzw. Ratten eine Placenta hämotrichorialis besitzen. Bei Schweinen und Wiederkäuern verhindert die Placenta epitheliochorialis einen diaplazentaren Übertritt maternaler Antikörper. Ferner haben Schweine und Wiederkäuer eine adeziduate Plazenta (das Endometrium bleibt nach der Geburt ohne große Gewebeverluste und flächige Blutungen erhalten), Mensch und Labornager aber eine deziduate Plazenta.

Männliche Schweine werden im Alter von etwa 5 Monaten geschlechtsreif (Minipigeber durchaus deutlich früher), die „tierzüchterische“ Zuchtreife erlangen sie dann mit rund 7 Monaten und 120 kg Lebendmasse. Die volle biologische Zuchtreife tritt aber erst mit Abschluss des Knochenwachstums mit rund 2,5 Jahren ein. Keiler, wie insgesamt die Mehrheit männlicher Säugetiere, die mit Rivalen Kommentkämpfe auszufechten haben, müssen auch noch die soziale Reife beim Messen im Kampf mit erfahreneren Männchen erreichen.

Jungsauen erreichen die Geschlechtsreife mit rund 6 Monaten, werden aber erst mit etwa 8 Monaten und einem Gewicht von 130–140 kg zum ersten Mal belegt. Sauen sind asaisonal polyöstrisch mit einer Zyklusdauer von rund 21 Tagen, die Hauptbrunst („Vollrausche“) dauert rund eineinhalb Tage und ist zu erkennen an der geröteten und geschwollenen Vulva, dem sogenannten Duldungsreflex, bei dem die Circumflexio des Ebers durch Flankengriff bzw. Druck auf den Rücken imitiert wird und bei dem die brünstige Sau in sägebockartiger Stellung stehen bleibt,

und am typischen Verhalten, dem sogenannten Minnesang und dem verträumten Gesichtsausdruck mit den gespitzen Ohren beim Blick zurück Richtung sprungbereitem Eber. Der Ovulationszeitpunkt fällt in den Übergang vom mittleren in das letzte Drittel der Hauptbrunst. Eine Sau wirft ungefähr $2,2 \times$ im Jahr bei einer durchschnittlichen Tragezeit von 114 Tagen und mindestens 14 lebend geborenen (Geburtsgewicht: 1,2–1,5 kg) und 12–13 abgesetzten Ferkeln pro Wurf, wobei die Ferkel je nach Reproduktionsrhythmus nach 3 oder 4 Wochen mit einer Körpermasse von rund 7 bzw. 10 kg abgesetzt werden. Würde die Säugezeit nicht vom Menschen künstlich unterbrochen werden, so dauerte sie wie bei der Bache rund 3 Monate. Im Schnitt 5–6 Tage nach dem Absetzen wird die Sau wieder rauschig. In der Altersklasse nach dem Absetzen bis zum Mastbeginn, mit rund 10 Wochen entsprechend 25–30 kg Körpermasse, werden die Schweine als Absetzer oder Läufer bezeichnet. Das ist die Gruppe, die in den biomedizinischen Versuchseinrichtungen am häufigsten verwendet wird. Bei der Versuchsplanung und -durchführung (z. B. Medikamenten- oder Versuchssubstanzdosierungen) gilt zu bedenken, dass die Tiere in dieser Alterskategorie Tagesgewichtszunahmen von rund 440 g haben und damit nach einer beispielsweise dreiwöchigen Versuchsdauer sozusagen andere Tiere sind als zu Versuchsbeginn.

Schafe sind rasseabhängig ganzjährig oder saisonal polyöstrisch mit einer Sexualzykluslänge von annähernd 17 Tagen. Der Proöstrus dauert 2–3 Tage, der Östrus 1–2 Tage. Die Ovulation fällt in die zweite Brunsthälfte. Die saisonal züchtenden Rassen gehören zur Tiergruppe der *short-day-breeders*. Durch die abnehmende Tageslichtlänge im Herbst wird verstärkt Melatonin aus der Epiphyse freigesetzt und stimuliert über eine Aktivierung des Hypothalamus (GnRH) das Sexualzyklusgeschehen. Die Geschlechtsreife erlangen Schafe mit rund 6–9 Monaten. Die Trächtigkeitsdauer beträgt im Schnitt 150 Tage. Die einer Geburt folgende Brunst tritt nach 3–5 Wochen (oder in der nächsten Saison) ein. Rasseabhängig tendieren Schafe entweder zu Einzel- oder zu Zwillinggeburten, aber auch Drillinge kommen vor.

Den spontanen Ovulationen bei Schwein und Schaf steht die induzierte Ovulation bei Maus und Ratte gegenüber, was bedeutet, dass bei diesen Tierarten der Paarungsakt ausgeführt werden muss, damit es durch die taktilen Stimulationen zur Ovulation kommt. Ratten (Männchen wie Weibchen) erreichen die Geschlechtsreife mit 6–8 und die Zuchtreife ab einem Alter von etwa 12 Wochen. Der Zyklus dauert bedeutend kürzer als bei den Huftieren, nämlich nur 4–5 Tage, der Östrus selber 14 h. Die Dauer der Gravidität beläuft sich auf gute 3 Wochen. Es werden 6–12 Junge geworfen, welche ein Geburtsgewicht von rund 5 g aufweisen. Wie bei Mäusen (nächster Absatz) auch, kommt es innerhalb von 24 h p.p. zur erneuten Brunst. Im Alter von 3 Wochen werden die Jungen bei einem Gewicht von 40–50 g entwöhnt. Adulte weibliche Ratten erreichen ein Gewicht von bis 300 g, Männchen können doppelt so schwer werden. Die reproduktive Seneszenz tritt typischerweise im Alter von 15–18 Monaten ein und geht einher mit erniedrigten Östrogenspiegeln bis zum hohen Alter von 2 Jahren, ohne dass die Tiere azyklisch werden müssen. Daher kann nicht von einer Menopause im Sinne der Humanbiologie gesprochen werden.

Mäuse, ebenfalls beide Geschlechter, erreichen die Geschlechtsreife mit rund 5 und die Zuchtreife mit rund 10 Wochen. Der Zyklus dauert 3–9 Tage und der Östrus 13 h. Die mittlere Tragzeit ist mit 19 Tagen etwas kürzer als bei der Ratte. Die Wurfgröße entspricht mit 6–12 (–15) Jungen der der Ratte. Das Geburtsgewicht liegt im Bereich von 1,0–1,5 g und die Säuglinge werden im Alter von rund 3 Wochen bei einem Gewicht von 10 g entwöhnt. Erwachsene Mäuse erreichen ein Gewicht von 20–40 g. Ab etwa einem Jahr tritt die reproduktive Seneszenz ein, wie bei der Ratte können aber oft noch bis zum hohen Alter von 2 Jahren niedrige Östrogenwerte nachgewiesen werden.

Allein dieser kurze Exkurs in einige tierartliche Besonderheiten von Schweinen, Schafen und Labornagern zeigt, wie viele unterschiedliche Parameter für die Auswahl eines für die jeweilige Fragestellung geeigneten Modells eine Rolle spielen.

1.2 Eignung von Tiermodellen für die biomedizinische Forschung

Es ist unmöglich, im Rahmen dieses Buches alle möglichen Einsatzgebiete für die eben besprochenen Tierarten als Modellspezies im Detail abzuhandeln. Einige Beispiele über den Einsatz von Schweinen in bestimmten experimentellen Szenarien werden in Kap. 8 beschrieben. Dieses Kapitel hat zum Ziel, anhand des Einsatzes von Versuchstieren in Forschungsarbeiten am Gebiet der postmenopausalen Osteoporose (Abschn. 8.2) die konkreten Überlegungen vorzustellen, die man sich im Vorfeld der Auswahl einer Modellspezies durch den Kopf gehen lassen sollte. Dies mit dem Ziel, den Versuch, auch in Hinblick auf die 3R-Regel (Abschn. 6.1), möglichst effizient an einer geeigneten Spezies durchzuführen. Abschließend wird dann auch die Entscheidung erläutert, das Schwein für eine bestimmte endokrinologisch-osteologische Fragestellung aufgrund der angesprochenen Überlegungen entgegen dem ursprünglichen Plan nicht zu verwenden.

1.2.1 Pathophysiologie der Osteoporose

In der Veterinärmedizin spielt die Osteoporose keine besonders große Rolle. Wenn, dann betrifft sie vielleicht unsere nächsten Verwandten und könnte somit Zootierärzte beschäftigen. Was aber sehr wohl auch für Tierärzte eine Rolle spielt, sind andere, der Osteoporose zum Teil ähnliche Krankheitsbilder, die ebenfalls mit einer Abnahme der Knochendichte einhergehen, dann aber als Osteopenien bezeichnet werden. Die Osteoporose betrifft rund 40 % der westlichen Frauen nach der Menopause, bei älteren Männern sind es nur etwa 13 %. Es handelt sich also um eine vor allem bei Frauen weit verbreitete Erkrankung mit teilweise schwerwiegenden klinischen Folgen, wie Wirbel- und Hüftgelenksfrakturen, die bei älteren Patienten zu Schmerzen und aufgrund von Komorbiditäten auch

zum Tod führen können. Die Osteoporose ist deshalb aus medizinischer Sicht so interessant, da sie eine so vielschichtige Erkrankung ist, die per definitionem im Gegensatz zu Osteopenien nicht nur mit einer Knochendichteabnahme, sondern auch mit einer veränderten Knochenarchitektur und einem erhöhten Frakturrisiko verbunden ist. Die Ursachen, die zur Osteoporose führen, sind vielfältig, aber weitgehend geklärt. Vor allem spielen die sinkenden Sexualhormonspiegel – vor allem der Östrogene – bei älteren Frauen und Männern eine Rolle. Es gibt aber eine ganze Reihe weiterer Faktoren, die das Entstehen einer Osteoporose begünstigen (z. B. bestimmte Medikamente, Bewegungsmangel und übermäßiger Alkoholkonsum) oder aber auch hinauszögern oder verhindern können (wie gesunde Ernährung und adäquate sportliche Aktivität). Auf zellulärer Ebene sehen wir beim osteoporotischen Patienten, dass die knochenabbauenden Zellen, die Osteoklasten, vermehrt aktiv sind und die knochenaufbauenden Zellen, die Osteoblasten, eine verminderte Aktivität aufweisen [3, 4]. Auch der gesunde Knochen wird permanent umgebaut („bone remodelling“), um die Kortikalisdicke und die Trabekelstruktur an die jeweiligen Erfordernisse anzupassen. Das heißt, die Osteoklasten und die Osteoblasten sind permanent aktiv. Bei der Osteoporose ist dieses Gleichgewicht jedoch zu Ungunsten der Osteoblasten verschoben. Diese Ansicht ist noch nicht so lange unter den Klinikern verbreitet, da bis noch vor gar nicht allzu langer Zeit nur eine pharmakologische Hemmung der Osteoklastenaktivität angestrebt wurde und dabei übersehen wurde, dass es für eine Gesundung und Gesunderhaltung der Knochen nicht reicht, nur deren Abbau zu verhindern, sondern dass gleichzeitig auch danach getrachtet werden muss, den Knochenaufbau anzukurbeln. Andernfalls ist das Endergebnis ein mehr oder weniger konservierter Knochen, in dem sich Fissuren anhäufen, die nicht mehr repariert werden können, was genauso ungünstig ist.

1.2.2 Spezifische Eignung von Tiermodellen

In erster Instanz ist zu überprüfen, ob die grundlegenden Voraussetzungen eines Modells für eine bestimmte Fragestellung gegeben sind. Im Falle von Studien im Themenfeld der Osteologie müssen die prinzipiellen makro- und mikroanatomischen Knochenstrukturen der Modelltierarten mit denjenigen des Menschen zusammenpassen. Einen Überblick über die Skelette der hier besprochenen Spezies gibt Abb. 1.3a–c. Ebenso ist Augenmerk auf die Ausbildung eines prinzipiell ähnlich strukturierten trabekulären und kortikalen Knochens zu legen. Bei letzterem ist das Vorhandensein der sogenannten Haver'schen Kanäle, die das Zentrum der Osteone – also der funktionellen Grundeinheiten der Kortikalis – bilden, ein entscheidendes Kriterium für die Übertragbarkeit der an den langen Röhrenknochen erhobenen Daten. Ebenso sind die im vorigen Abschnitt besprochenen sexualendokrिनologischen Besonderheiten der einzelnen Tierarten zu berücksichtigen [5, 6].

Während die Huftiere, wie der Mensch, ein Haver'sches Remodelling aufweisen, weist die Kortikalis der Labornager keine Haver'schen Kanäle auf. Damit

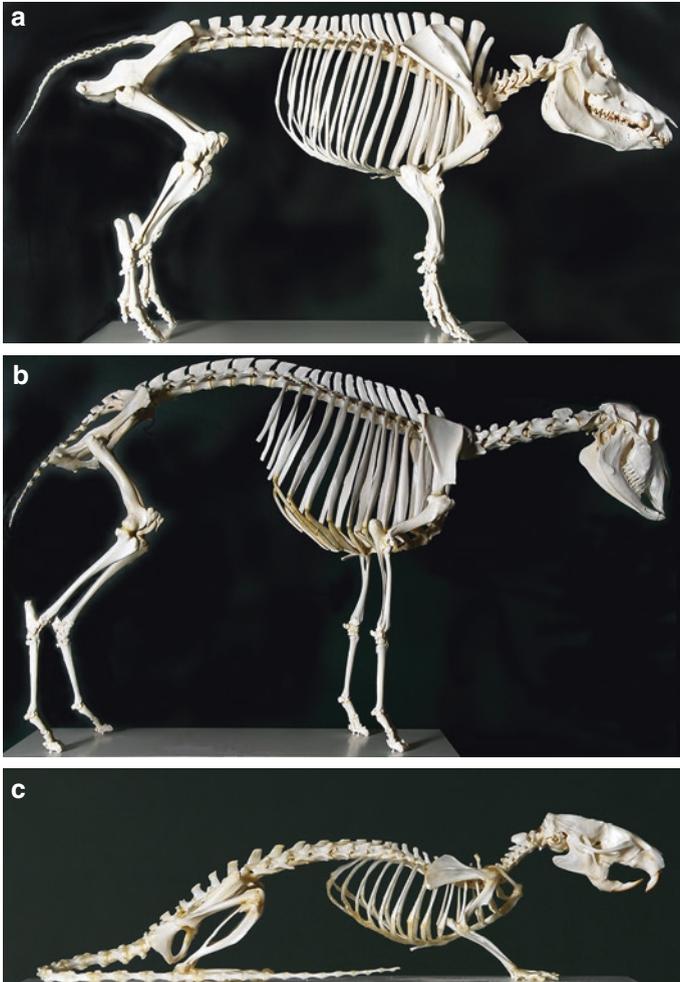


Abb. 1.3 Skelette von a Schwein, b Schaf, c Ratte (Aus Sipos, 2016, Springer Verlag)

findet bei diesen auch kein intrakortikales Remodelling statt. Der kompakte Knochen ist bei jüngeren Schafen und Schweinen noch plexiform. Gut entwickelte Haver'sche Kanäle mit sekundären Osteonen entwickeln sich bei Schafen erst ab einem Alter von 7–9 Jahren, bei Schweinen schon früher.

Ein weiteres grundlegendes Ziel der Osteoporoseforschung ist, die molekularen Signalwege aufzuklären, die die Aktivitäten von Osteoklasten und Osteoblasten sowie deren Vorläuferzellen steuern. Diese wiederum werden unter anderem von Zytokinen moduliert. Bevor also mit der Arbeit mit Tiermodellen zur Pathophysiologie und zur pharmakologischen Beeinflussung der postmenopausalen Osteoporose begonnen werden konnte, musste untersucht werden,

ob die entsprechenden molekularen Regelkreisläufe auch in den Versuchstierspezies vorkommen. Grundlegend war davon auszugehen, dass der Knochenmetabolismus und daher auch die basalen Regelkreisläufe bei allen Vertebraten hoch konserviert sein müssten [7]. Das Wissenschaftsgebiet, das sich mit der hochkomplexen Interaktion von Mediatoren und Zellen des Immunsystems und des Knochenapparats beschäftigt, und das bei allen folgenden Überlegungen eine zentrale Rolle spielt, ist die Osteoimmunologie [8–10]. Eine Schlüsselrolle für die Osteoklastenaktivierung kommt hierbei der RANKL-RANK-OPG-Achse zu, die bei bisher allen untersuchten Spezies, so auch bei Labornagern, Schafen und Schweinen, beschrieben wurde. RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand), welcher die Osteoklastogenese aktiviert, ist ein Zytokin aus der Tumornekrosefaktor-Superfamilie und wird von Osteoblasten, Osteozyten, aktivierten T- und B-Lymphozyten und anderen Zellen produziert. RANK ist der kognate Rezeptor auf den Osteoklastenvorläuferzellen und OPG (Osteoprotegerin) fängt als *decoy receptor* zirkulierenden RANKL ab und supprimiert folglich die Osteoklastogenese. OPG wird primär von Osteoblasten, aber unter anderem auch von Epithelzellen des Gastrointestinaltraktes, der Lunge, der Mamma, sowie auch von Endothelzellen und B-Zellen synthetisiert. Der Wnt/ β -Catenin-Signalweg (mit seinen Regulatoren Dkk-1 und vor allem dem von den Osteozyten produzierten Sclerostin) sowie die BMPs (BMP, Bone Morphogenetic Protein) wiederum sind die Treiber der Osteoblastogenese. Neben der Osteoporose wird eine Verschiebung des RANKL-OPG-Gleichgewichts bei vielen rheumatologischen Erkrankungen, wie bspw. auch bei der ankylosierenden Spondylitis beobachtet und als Ansatzpunkt für therapeutische Interventionen in Betracht gezogen [11–16].

Gleichzeitig mit dem osteoporotischen Knochenbefund, gemessen an Hüfte und L1–4 mittels DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) und definiert als Abnahme der BMD (Bone Mineral Density = Knochenmineraldichte, angegeben in g/cm^2) mit einem T-Score unter $-2,5$ SD, wobei der T-Score den Dichtewert der gemessenen Person mit dem eines normalen jungen Erwachsenen im Alter von 20–30 Jahren vergleicht, der eine maximale Knochendichte hat, machen sich aber auch Änderungen in der Funktion diverser Leukozyten bemerkbar, sodass hier von einem komplexen systemischen Geschehen auszugehen ist. Auch dieser osteoimmunologische Konnex sollte sich idealerweise im Modell widerspiegeln.

Die Osteoporose als systemische Erkrankung mit der charakteristischen Kombination aus Osteopenie, Knochenstrukturveränderungen und erhöhter Frakturneigung kommt nach derzeitigem Wissensstand nur beim Menschen vor. Säugetiere können zwar, wie bereits erwähnt, auch osteopenische Veränderungen aufweisen, wie sie unter anderem beim sekundären alimentären Hyperparathyreoidismus bei falsch gefütterten Fleischfressern oder Schweinen beobachtet werden können, entwickeln aber natürlicherweise keine Osteoporose im Sinne der Humanmedizin [17]. Zudem ist die Osteoporose primär sexualendokrino-logischen Ursprungs und tritt vor allem bei Frauen in der Postmenopause, einhergehend mit dem relativ rapide einsetzenden Hypoöstrogenismus, auf. Dazu kommen noch Veränderungen im Life-Style sowie Ernährungsfehler in den westlichen Zivilisationen, die das osteoporotische Geschehen begünstigen. Östrogene