

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Das Tierversuchsprojekt beinhaltet drei eigenständige Projektziele über *in vitro* Experimente an isolierten Lungenzellen. Diese Zellen werden aus Rattenlungen gemäß Standardprotokollen isoliert. Zelllinien oder entsprechende Ersatzmodelle für primärkultivierte Zellen sind nicht vorhanden, und frisch entnommene Lungen zur Zeit die einzige Möglichkeit, solche Primärkulturen anzulegen und zu analysieren. Es handelt sich somit um Akutversuche mit dem Zweck einer Organentnahme am narkotisierten Tier.

1) Die Entwicklung und die Evaluierung eines neuartigen, optisch-mikroskopischen *in vitro* Verfahrens zur Analyse der Feinstruktur und der Struktur/Funktionsbeziehungen von zellulär gespeichertem pulmonalem Surfactant und seinen biophysikalischen Eigenschaften, und zur Beurteilung von Störungen im Surfactantsystem durch beispielsweise Medikamente, Chemikalien und physikalische Einwirkungen. Nutzen: Enorme Vereinfachung bisheriger und aufwändiger Messtechniken und damit gegebenenfalls neue Möglichkeiten in der experimentellen Diagnostik und der pharmakologischen Forschung sowie generell neue Erkenntnisse über Anreicherung und Ausscheidung diverser Chemikalien durch das Lungenepithel. Schaden: Keiner zu erwarten.

2) Weitere Charakterisierung von Intrazellulären Signalprozessen in epithelialen alveolären Typ II Zellen. Nutzen: Zunächst rein zellbiologische Basisforschung mit jedoch zu erwartenden, neuen Erkenntnissen über die bis dato unbekannte Wirkung von Expektorantien und Mukolytika in der distalen Lunge. Schaden: Keiner zu erwarten.

3) Entwicklung eines „Lung-on-a-chip“ *in vitro* Modells zur experimentellen Simulation einer Lungenalveole samt zugehöriger Blut-Luft-Schranke. Nutzen: Die Entwicklung von organtypischen Zell- und Gewebemodellen gehört zu den state-of-the-art Ansätzen in der physiologischen und pharmakologischen Forschung und ist eine direkte und notwendige Weiterentwicklung der klassischen Zellkultur. Nutzen: Verbesserte *in vitro* Modelle sind immer und in jeder Hinsicht von unschätzbarem Wert in Forschung und Entwicklung, und ein eventueller Schaden ist auch in diesem Projektziel nicht zu erwarten. Für dieses Tierversuchsprojekt (3 Jahre Laufzeit) werden 130 Sprague-Dawley Ratten beantragt. Die im Tierversuchsprojekt formulierten Projektziele 1-3 zielen letztlich alle auf eine Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung von Tierversuchen (3R) ab.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Kardiale Erkrankungen sind die Haupttodesursache in der westlichen Welt. Das Herz reagiert auf unterschiedliche Belastungen (zB. nach Herzinfarkt, oder anderen Störungen des Herzgewebes) mit einer Vergrößerung des Muskelgewebes, auch genannt Hypertrophie. Die physiologische Hypertrophie unterscheidet sich von der pathologischen Hypertrophie bei Erkrankungen des Herzens, wobei es zur Schädigung des Herzens kommt, die ultimativ in Herzmuskelschwäche (Herzinsuffizienz) übergeht. Die anfänglich kompensatorische Herzhypertrophie selbst führt dann bei fortschreitendem pathologischen Stimulus zu einer Schädigung und Dysfunktion des Herzens und führt so zur Herzinsuffizienz.

Ziel des Projektes ist es, die Entstehung einer kontraktilen Dysfunktion des Herzens bei Herzhypertrophie zu untersuchen. Im beantragten Projekt soll ein neuer Signalweg der Zelle auf die Rolle der Entstehung einer Muskelschwäche bei Herzhypertrophie untersucht werden. Zu diesem Zweck soll in Kontroll- und genetisch veränderten Mäusen zur Untersuchung des neuen Regulators der kontraktilen Dysfunktion eine Herzhypertrophie induziert werden und anschließend Druckmessungen des Herzens durchgeführt werden. Die Kenntnis über die Bedeutung und Wirkung eines neuen, bislang unbekanntes Signalwegs bei Entstehung einer Muskelschwäche eröffnet neue Behandlungsmethoden bei Herzhypertrophie und Insuffizienz. Dadurch sind die beantragten Versuche von hoher medizinischer Bedeutung.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 260 Mäuse

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Replacement, Reduce, Refinement, zu Deutsch Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Aufgrund der Komplexität der Herzhypertrophie, bei der lokale Druckverhältnisse sowie systemische Faktoren zusätzlich zur Herzmuskelzelle eine Rolle spielen, können die Fragestellungen, die in diesem vorliegenden Antrag adressiert werden sollen, nicht an isolierten Zellen oder Organen untersucht werden. Die zu untersuchenden Funktionen hängen direkt von der Ausprägung der Hypertrophie ab und können daher nicht mit in vitro oder ex vivo Versuchen erfasst werden. Die mechanistische Wirkungsweise des Signalwegs wurde bereits im Detail in vitro untersucht. Die Anzahl der Mäuse wird auf ein Minimum reduziert. Dies wird erreicht durch eine genaue Planung der Versuche abgeleitet aus in vitro Versuchen und bereits beschriebenen vergleichbaren Versuchen, damit mit wenigen Tieren eine statistische Signifikanz erreicht werden kann, und durch die genaue Planung der Zucht, sodass so wenige Tiere wie möglich geboren werden, die nicht in Versuche integriert werden. In den geplanten Versuchen soll das Wohlergehen der Tiere bestmöglich gewährleistet werden, indem diese verstärkt kontrolliert und versorgt werden. Des Weiteren werden die Tiere in Gruppen gehalten und es wird Enrichment in Form von Nestbaumaterial zur Verfügung gestellt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Die Rolle spezifischer Schlafstörungen bei der Entwicklung einer Posttraumatischen Belastungsstörung.

Eine posttraumatische Belastungsstörung (PTBS) ist als klinisches Symptom beschrieben, welches sich nach dem Erleben eines traumatischen Ereignisses entwickeln kann. Schlafstörungen, herangezogen als prognostische Signifikanz werden allgemein als Kardinalsymptom einer PTBS angesehen. Doch gestörter Schlaf ist möglicherweise mehr als nur ein sekundäres Symptom, da zunehmend Berichte publiziert werden, in denen fragmentierter Schlaf als pathophysiologischer Risikofaktor einer sich chronisch entwickelnder PTBS vermutet wird. Sollten sich diese Befunde im Tierexperiment nachweisen lassen, so würde dies die Grundlage für zielgerichtete Interventionen sein, mit dem Ziel, die Voraussetzung für entsprechende Behandlungsstrategien beim Menschen zu schaffen (translatonaler Ansatz). In dem vorliegenden Projekt werden wir ein Tiermodell zu fragmentiertem Schlaf zusammen mit einem etablierten Tiermodell zu PTBS verwenden, um folgende Hypothesen zu beleuchten:

- 1) Gestörter/fragmentierter Schlaf im Vorfeld eines traumatischen Ereignisses führt eher zur Entwicklung einer PTBS, verglichen mit der Situation eines gesunden Schlafverhaltens.
- 2) Gestörter Schlaf kann als Risikofaktor zur Ausprägung von PTBS nach einem traumatischen Ereignis angesehen werden.
- 3) Und die vielleicht wichtigste, direkt translationale Hypothese: Biomarker im Schlaf/Wach-EEG direkt nach Einwirkung eines traumatischen Ereignisses spiegeln das Risiko einer entstehenden PTBS wider.

Aufgrund unserer langjährigen Erfahrung mit Mäusen in Tiermodellen sowohl zu PTBS als auch in experimentellen Schlafstudien und in Ermangelung eines anderen etablierten Tiermodells werden wir auch in dem vorliegenden Antrag auf diese Tierart zurückgreifen. Labormäuse sind aktuell der internationale Standardorganismus zur Modellierung komplexer psychischer Erkrankungen des Menschen. Von Vorteil sind hierbei die ausgeprägten Homologien in neurochemischen, morphologischen und anatomischen Grundlagen von Angst und Furcht zwischen Maus und Mensch. Im Rahmen unserer für drei Jahre angesetzten Experimente und aufgrund der Europäischen Richtlinien zur Verwendung einer Minimalzahl an Tieren zum Erhalt statistisch signifikanter Aussagen sind für das vorliegende Projekt insgesamt 672 Mäuse beantragt. Leider ist es bei der Untersuchung komplexer psychiatrischer Erkrankungen und hochorganisierter Verhaltensmuster wie Schlaf nicht zu vermeiden, die Experimente auf Ebene der Säugetiere anzusiedeln. Die angegebene Anzahl an Labormäusen genügt gerade der Mindestanforderung zum Erhalt biologisch relevanter Aussagen und kann daher nicht weiter vermindert werden. Unser technischer/experimenteller Ansatz ist in allen Bereichen des Projekts „state of the art“ und in besonders sensiblen Belangen wie Tierhaltung und Stereotaxie über den gängigen Laboralltag hinaus entwickelt, so dass wir aufgrund dieser Verfeinerungen massiv auf eine Verringerung der Tierzahlen einwirken konnten.

Abschließend möchten wir darauf hinweisen, dass man in unseren Gesellschaften eine PTBS vor allem nach Erleben von allgemeiner Gewalt, kindlichem Missbrauch, Vergewaltigung, Verkehrsunfällen und Naturkatastrophen bei ca. 14% der betroffenen Personen feststellt.

Abgesehen von der immer noch inadäquaten Akzeptanz in unseren Gesundheitssystemen werden betroffene Patienten häufig noch von Versicherungsgesellschaften abgelehnt, sobald Ansprüche geltend gemacht werden. Neben einem Zugewinn im Erkenntnisstand zu dieser schwerwiegenden Erkrankung könnten unsere zu erwartenden Befunde auch dazu beitragen, den hier genannten gesellschaftlichen Nachteilen entgegenzuwirken. Darüber hinaus sind wir zuversichtlich, leistungsfähige Suszeptibilitätsfaktoren zu etablieren, welche weitreichende Aussagen zur Entwicklung einer PTBS bereits im Vorfeld bzw. unmittelbar nach einem traumatischen Ereignis treffen können.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen -Text hier eingeben
Erblich bedingter Haarausfall (AGA) ist die am häufigsten auftretende Form des Haarausfalls, von der jede dritte Mann ab 30 und jeder Zweite über 50 Jahren, sowie ca. jede dritte Frau ab 40 und jede zweite Frau über 60 Jahren betroffen ist. Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre haben eine Vielzahl pathophysiologisch, diagnostisch und therapeutisch bedeutsamer Erkenntnisse hervorgebracht. Neue Entwicklungen zu Haarfollikelstammzellen lassen hoffen, dass sich neue Therapieoptionen entwickeln. Seit vielen Jahren ist bekannt, dass Zellen der Haarwurzel (sog. dermale Papille, Papillenzellen) in der Lage sind nach Zellkultur und Reinjektion in die Haut neue Haare wachsen zu lassen. Man nimmt an, dass es sich um sog. adulte mesenchymale Stammzellen des Haares handelt, die Haarwuchs generell steuern. Es ist daher zu hoffen, dass mit diesen Zellen ein einfacheres und deutlich weniger belastendes Verfahren entwickelt werden kann, um in der Zukunft die aufwendige Haartransplantation abzulösen.

2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben
25 NOD SCID Mäuse

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) -Text hier eingeben
Um die Anzahl der Tierexperimente bestmöglich zu vermeiden, wurden im Vorfeld möglichst viele in vitro Versuche in der Zellkultur durchgeführt, die Verwendung von Tierexperimenten ist für die oben beschriebene Fragestellung jedoch unumgänglich. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Anzahl der verwendeten Tiere auf ein Minimum zu reduzieren, so dass noch statistische Signifikanz mit der erwarteten Effektgröße erreicht wird. Zusätzlich werden die Tiere über den gesamten Versuchsverlauf sorgfältig beobachtet (allgemeiner Eindruck, Gewicht, eventuelle Anzeichen von Schmerzen oder Leiden) und gegebenenfalls Gegenmaßnahmen eingeleitet. Wir sind sehr bemüht, Stress und Schmerzen zu vermeiden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Projektziel ist die Funktionsaufklärung eines funktionell vielseltigen Proteins das an der neuromuskulären Synapse (motorische Endplatte) angereichert vorkommt. Mutationen in diesem Protein führen beim Patienten zu abnormaler neuromuskulärer Funktion, die schließlich in Muskelschwäche (muskulärer Dystrophie) und frühzeitigem Tod endet. Der Mechanismus, wie das zu untersuchende Protein die Morphologie und Funktion der Endplatte reguliert, ist bisher unbekannt. Zur Klärung dieser Fragen stehen der Arbeitsgruppe Mäuse zur Verfügung, denen dieses Protein fehlt (im weiteren als KO-Mäuse bezeichnet). Da eine abnormale Relzübertragung an der neuromuskulären Synapse die Muskelaktivität beeinflusst, ist im vorliegenden Projekt geplant, die Funktion und Stärke der Muskelfasern von KO-Mäusen sowie das motorische Koordinationsvermögen dieser Tiere zu testen. Darüberhinaus soll untersucht werden, ob die motorische Leistungsfähigkeit dieser Tiere durch Training verbessert werden kann. Es ist zu erwarten, dass die Ergebnisse aus diesen Versuchen zur Aufklärung der Mechanismen führen, die bestimmten Formen von muskulärer Dystrophie zugrunde liegen. Somit tragen diese Versuche auch das Potential zur Entwicklung therapeutischer Ansätze in sich.

2. Art und Anzahl der Tiere

Um die Funktion des zu untersuchenden Proteins als Bestandteil der neuromuskulären Synapse präzise untersuchen zu können, stehen 2 genetisch modifizierte Mausstämmen zur Verfügung, bei denen das zu untersuchende Protein entweder im Nervengewebe (präsynaptischer Mangel) oder im Muskel (postsynaptischer Mangel) fehlt. Für die im Projekt geplanten Tierversuche ist die Verwendung von maximal 270 Tieren, einschließlich von genetisch unveränderten (normaler Wild-Typ) Tieren, vorgesehen.

3. Erfüllung der "3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vorangegangene, mit Muskel-Zellkulturen durchgeführte (ex vivo) Versuche deuteten darauf hin, dass die Dysfunktion des im vorliegenden Projekt zu untersuchenden Proteins zu strukturellen Veränderungen der neuromuskulären Synapse führt. Ob diese Veränderungen die Funktionsfähigkeit der Synapse und somit die Muskelfunktion des Tieres beeinträchtigen, konnte im Zellsystem nicht untersucht werden. Muskelkraft, Ausdauer, motorische Koordination und Geschicklichkeit sind charakteristische Eigenschaften von Lebewesen, die weder in vitro noch ex vivo untersucht werden können. Daher sind im vorliegenden Projekt Messungen der Muskelstärke und Leistungsfähigkeit von KO-Mäusen, unter Verwendung von streng kontrollierten Versuchsanordnungen und unter Bedingungen die die Signifikanz der Ergebnisse gewährleisten, geplant. Die in diesem Antrag beschriebenen Experimente können mit keinem anderen System als mit lebenden Tieren durchgeführt werden. Sämtliche Experimente werden unter Bedingungen durchgeführt, die das Wohlergehen der Tiere weitgehendst garantieren und invasive Prozeduren minimalisieren. Die Anzahl der für die Versuche verwendeten Tiere ist einerseits so hoch gewählt, dass eine wissenschaftlich gesicherte (durch Statistik untermauerte) Aussage möglich ist, die Tiere also nicht „umsonst“ verwendet werden, andererseits werden nach Erreichen der für die wissenschaftliche Aussagekraft ausreichenden Tierzahl die Experimente unverzüglich beendet. Gegebenenfalls wird so die oben genannte maximale Tierzahl unterschritten.

Projektziel ist die Impfstoff- Freigabe und Stabilitätsanalyse zur Vorbeugung von Lyme Borreliose. Lyme Borreliose ist die am weitesten verbreitete Zoonose in der nördlichen Hemisphäre, und wird durch den Stich infizierter Schildzecken (*Ixodes ricinus*) auf den Menschen übertragen. In Österreich sind regional bis zu 30 % der Zecken infiziert. Auslöser für die multisystemische Infektionskrankheit sind Borrelien, schraubenförmig gewundene gram-negative Bakterien aus der Familie der Spirochäten. Immunisierungen zur Verhinderung einer Borrelieninfektion stehen nicht zur Verfügung. Gemäß den behördlichen Vorgaben sind in der Impfstoff- Freigabe und Stabilitätsanalyse nicht nur Parameter, wie Identität, Gehalt, Reinheit und Sicherheit zu überprüfen, sondern auch der Nachweis der Biologischen Wirksamkeit („Potency“) ist zu erbringen. Der Wirkmechanismus der meisten Impfstoffe beruht auf der Induktion eines spezifischen, schützenden (protektiven) Antikörpertiters. Für die frühe Phase der klinischen Entwicklung sollen Methoden zum Nachweis der spezifischen Immunantwort auf die geimpften Antigene etabliert werden. Die Belastung der Versuchstiere wird als geringgradig eingestuft.

Art und Anzahl der Tiere:

Für die Entwicklung und schlussendlich notwendige Anwendung des entsprechenden „Potency Assay“ werden maximal 6800 Wildtypmäusen unterschiedlicher Stämmen (BALB/c oder C3H oder NMRI) deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens 6 Lebenswochen beträgt verwendet.

Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die geplanten Versuche basieren auf behördliche Forderungen (ICH Harmonized Tripartite Guideline: Stability Testing of new Drug Substances and Products Q1A) unter Verwendung eines gut etablierten und international akzeptierten Mausmodell. Um das Ablaufdatum für die nach den Regeln der „Good Manufacturing Practice (GMP)“ hergestellten Chargen mit Echtzeitdaten belegen zu können werden diese gemäß einem in Stabilitätsprogrammen festgelegten Zeitplan wiederholt getestet. Es werden alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung berücksichtigt. Für die Erhaltung von aussagekräftigen Resultaten ist die Versuchstierzahl basieren auf einer Statistischer Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Projektziel ist die Funktionsaufklärung eines Proteins, das in relativ hoher Konzentration im Nervensystem, vor allem im Hippocampus, vorhanden ist. Unsere Arbeitsgruppe verfügt über Mäuse, denen dieses Protein fehlt (im weiteren als KO-Mäuse bezeichnet). Mäuse dieses Typs zeigen ein vermindertes Erkundungsverhalten (erhöhte Passivität) sowie eine Reduktion der Nervenreizleitung. Da der Hippocampus zu jenem Teil des Gehirns zählt der für das räumliche Gedächtnis verantwortlich ist, und da wir ferner gefunden haben, dass das von uns untersuchte Protein mit Proteinen verwandt ist, die Alzheimersche Krankheit verursachen, planen wir, mit den KO Mäusen Verhaltenstests durchzuführen, die über ihr Lernvermögen und ihre Gedächtnisbildung Aufschluss geben. Wir erwarten, dass die Ergebnisse dieser Untersuchungen maßgeblich zum Verständnis des Entstehungsmechanismus humaner neurodegenerativer Erkrankungen beitragen, sowie Möglichkeiten für die Behandlung und therapeutische Ansätze bestimmter Krankheiten dieser Art aufzeigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die in diesem Projekt geplanten Tierversuche ist die Verwendung von maximal 120 Mäusen einschließlich des KO- und (normalen) Wild-Typs vorgesehen.

3. Erfüllung der "3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vorversuche mit Neuronen, die aus KO-Mäusen isoliert wurden, haben gezeigt, dass das Fehlen des im vorliegenden Projekts zu untersuchenden Proteins zu drastischen strukturellen Veränderungen des intrazellulären Mikrotubuli-Zytoskeletts sowie dessen dynamischen Verhalten führt. Es wird angenommen, dass die Dynamik des Zytoskeletts eine wesentliche Rolle beim Lernprozess sowie der Gedächtnisbildung spielt. Diesbezüglich Experimente können jedoch mit isolierten Neuronen nicht durchgeführt werden, da Lernen und Gedächtnis charakteristische (verhaltensabhängige) Eigenschaften von Lebewesen sind, die weder *in vitro* noch *ex vivo* untersucht werden können. Daher könnten die in diesem Antrag beschriebenen Experimente auch mit keinem anderen System als mit lebenden Tieren durchgeführt werden. Dieser Vorgabe entsprechend, konnten wir in Versuchen mit KO-Mäusen bereits eine Verminderung der Nervenreizleitungsgeschwindigkeit feststellen.

Sämtliche der im Antrag vorgesehenen Experimente werden unter Bedingungen durchgeführt die das Wohlergehen der Tiere weitgehendst garantieren und invasive Prozeduren minimalisieren. Die Anzahl der für die Versuche verwendeten Mäuse ist einerseits so hoch gewählt, dass eine wissenschaftlich gesicherte Aussage möglich ist, die Tiere also nicht „umsonst“ verwendet werden, andererseits werden nach Erreichen der für die wissenschaftliche Aussagekraft ausreichenden Tierzahl die Experimente unverzüglich beendet. Gegebenenfalls wird so die oben genannte maximale Tierzahl unterschritten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Wie wichtig die Erforschung der Funktion der Raf Kinasen ist, wurde erst kürzlich eindrucksvoll bewiesen: ein Inhibitor, der gegen die häufig in Melanomen vorkommende, mutierte Form von B-Raf (B-RafV600E) entwickelt wurde, erzielte in Phase I Studien nie da gewesene Erfolge. 70% der behandelten Melanom-Patienten sprachen auf den Inhibitor an. Gleichzeitig mussten jedoch negative Nebenwirkungen, insbesondere die Entwicklung von kutanen Plattenzellkarzinomen, festgestellt werden. Obwohl ihr Nutzen bei der Behandlung von Melanomen unwiderlegbar ist, belegen diese Daten, dass Raf Inhibitoren mit Vorsicht eingesetzt werden müssen. Tatsächlich wurde vor kurzem gezeigt, dass Stoffe wie Sorafenib, PL4032/PLX4720 and GDC-0879, zwar die hyperactive, mutierte B-Raf Form V600E erfolgreich inhibieren, gleichzeitig aber in wildtyp Zellen oder in Zellen mit aktiviertem Ras zur Stimulierung von Raf-1 führen. Die paradoxe Folge davon ist eine Stimulierung des ERK Signalwegs, d.h. genau jenes Signalweges, den man eigentlich zu inhibieren versucht. Dies wiederum könnte zu einer vermehrten Zellproliferation und als Folge dessen zu einer Entwicklung von Therapie-induzierten Tumoren führen.

Ziel dieses Projekts ist, die molekularen Mechanismen der Funktion von Raf in der Entwicklung von Ras-induzierten epidermalen Tumoren zu erforschen.

Dazu werden wir primäre Zellen (Keratinocyten) von Mäusen verwenden, in denen die Aktivierung von endogenem Ras in der Epidermis mit dem gezielten Abschalten von Raf-1 und/oder B-Raf kombiniert werden kann. Die aus den Mäusen gewonnenen Zellen werden mittels biochemischer Methoden charakterisiert um so die molekularen Mechanismen zu ergründen, die zu den in vivo auftretenden Phänotypen führen. Die genauere Untersuchung der Signaltransduktionskette wird nicht nur zu unserem Verständnis von fundamentalen Prozessen wie die Zellproliferation, Apoptose und Differenzierung erweitern, sondern könnten auch zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze besonders in der Tumorbekämpfung führen.

Im Tumormodell verursacht die Aktivierung von Ras in der Epidermis die Entwicklung von Tumoren hauptsächlich an Ohren und Schwanz. Die Tiere werden jedoch vor dem Eintreten einer Belastung getötet und ihre Organe für in vitro Versuche verwendet. Der Zustand der Tiere wird täglich kontrolliert unter Verwendung der Score Sheets, welche die von der GV-SOLAS empfohlene Parameter berücksichtigen. Unter Berücksichtigung der 3R-Regeln wird die geringst mögliche Anzahl der Tiere (1000 Mäuse) verwendet.

Projektziel ist die Impfstoff-Freigabe und Stabilitätsanalyse zur Vorbeugung von Lyme Borreliose. Lyme Borreliose ist die am weitesten verbreitete Zoonose in der nördlichen Hemisphäre und wird durch den Stich infizierter Schildzecken auf den Menschen übertragen. Auslöser für die multisystemische Infektionskrankheit sind Borrelien, Immunisierungen zur Verhinderung einer Borrelieninfektion stehen nicht zur Verfügung.

Gemäß den behördlichen Vorgaben sind in der Impfstoff-Freigabe und Stabilitätsanalyse nicht nur Parameter wie Identität, Gehalt, Reinheit und Sicherheit zu überprüfen, sondern auch der Nachweis der Biologischen Wirksamkeit (Potency) zu erbringen .

Für die frühe Phase der klinischen Entwicklung sollen Methoden zum Nachweis der spezifischen Immunantwort auf die geimpften Antigene etabliert werden. Die Belastung der Versuchstiere wird geringgradig eingestuft.

Für die Entwicklung und schlussendlich notwendige Anwendung des entsprechenden „Potency Assay“ werden maximal 6800 Wildtypmäuse unterschiedlicher Stämme, deren Alter bei Versuchsbeginn mindestens sechs Lebenswochen beträgt, verwendet.

Die geplanten Versuche basieren auf behördliche Forderungen unter Verwendung eines gut etablierten und international akzeptierten Mausmodells. Um das Ablaufdatum für die nach den Regeln der „Good Manufacturing Practice“ hergestellten Chargen mit Echtzeitdaten belegen zu können, werden diese gemäß einem in Stabilitätsprogrammen festgelegten Zeitplan wiederholt getestet. Es werden alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung berücksichtigt. Für die Erhaltung von aussagekräftigen Resultaten ist die Versuchstierzahl basierend auf einer statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Die weltweit zunehmende Aufhellung des Nachthimmels (Lichtverschmutzung) hat zahlreiche negative biologische Auswirkungen, wie z.B. gestörte soziale Interaktionen im Bereich Entwicklung und Fortpflanzung bzw. veränderte Räuber-Beute-Beziehungen. Das so genannte "Dunkel-Hormon" Melatonin reguliert die Anpassung der Körperfunktionen auf den natürlichen Tag-Nacht-Rhythmus. Seine Rolle in Bezug auf die negativen Auswirkungen der Lichtverschmutzung wird immer deutlicher. Ziel des Projektes ist die Durchführung einer Radiometabolismusstudie um grundlegende Informationen über die Metabolisierung und Ausscheidung von Melatonin bei Gänsen zu gewinnen. Melatonin wird aus Serotonin in der Zirbeldrüse produziert und nach der Leberpassage in Form von sulfatierten oder glucuronidierten Derivaten über den Urin ausgeschieden. Bei Menschen und einigen anderen Säugetierarten erfolgt der Nachweis von Melatonin im Serum oder Speichel mittels RIA oder ELISA. Bei Vögeln sind derartige Informationen bzw. Analysemethoden zurzeit nicht vorhanden.

In diesem Projekte soll überprüft werden, ob es möglich ist, eine Methode zur Bestimmung von Melatoninmetaboliten in den Ausscheidungsprodukten von Hausgänsen zu etablieren (bei Vögeln werden Kot und Harn gemeinsam ausgeschieden). Dafür ist eine einmalige intravenöse Verabreichung von ³H-Melatonin an 4 Hausgänse (2 je Geschlecht) notwendig. Anschließend sollten 24 Stunden lang alle Ausscheidungsprodukte unmittelbar nach dem Absetzen eingesammelt und sofort bei -20°C eingefroren werden, um später den Prozentsatz, sowie den zeitlichen Verlauf der Ausscheidung der Radioaktivität mittels Flüssigszintillationszähler zu messen. Da die Eliminationskinetik des Melatonins eine kurze Halbwertszeit aufweist und Gänse eine geringe Darm-Passage-Zeit aufweisen, ist die vorgesehene Sammelzeit für die quantitative Beschreibung der ausgeschiedenen Metabolitenmuster bei weitem ausreichend. Die geschlechtsreifen Versuchstiere für das Projekt werden von einem heimischen Gänsehalter erworben und anschließend an der Tierversuchseinrichtung in Freilandhaltung gehalten. Ausschließlich während des Experiments werden die Tiere einzeln in Volieren (ca. 3x3 m.) mit Sicht- sowie akustischem Kontakt zu den anderen Tieren gehalten. Wasser und Futter werden ad libitum zur Verfügung gestellt, der Boden wird mit saugfähigem Material bedeckt um das vollständige Einsammeln aller Ausscheidungsprodukte zu erlauben. Um Stressreaktionen bei den Tieren zu vermeiden, werden sie habituiert, es wird ihnen erlaubt, schon vor dem Experiment die „Versuchs-Volieren“ zu nutzen und dort zu fressen. Eine erneute Verwendung der Gänse für einen weiteren Tierversuch, sowie die Tötung der Tiere nach dem Abschluss des Projekts ist weder vorgesehen noch erforderlich. Die Schweregrade dieses Experiments wird als gering eingeschätzt, da durch die intravenöse Verabreichung des ³H-Melatonins (Dauer weniger als eine Minute pro Tier) nur kurzzeitig Schmerzen verursacht werden und weder das Wohlergehen noch der Allgemeinzustand der Tieren wesentlich beeinträchtigt werden. In diesem Sinne ist der Einsatz von Anästhesie und anderen schmerzlindernden Maßnahmen nicht notwendig. Desgleichen wird die 24 Stunden Isolation nach Habituation in Kontakt mit den anderen Gänsen kaum Stressreaktionen verursachen. Das Experiment ist Voraussetzung für die Entwicklung einer nicht-invasiven Bestimmungsmethode für das Hormon Melatonin, was z.B. langfristig das wiederholte Fangen und Blutabnahme bei freilebenden Tieren vermeidet. In der Tat eignen sich Hausgänse hervorragend als Modelltiere bei der Methodenentwicklung, insbesondere für weitere Gänse-Arten. Diese wurden schon in der Vergangenheit erfolgreich eingesetzt. So etwa bei der Entwicklung eines Enzymimmuno assays zur nichtinvasiven Messung von Stressbelastung bei Graugänsen. Im Kontrast zu den minimalen Beeinträchtigungen der Versuchstiere, ist daher der Nutzen von großer Bedeutung, vor allem im Bereich der Chronobiologie aber auch der Verhaltens-Ökologie und des Naturschutzes. Dieses Projekt entspricht der Leitlinie der 3R-Forschung, in dem sowohl eine Reduzierung der Zahl der notwendigen Tierversuche und der Menge der dafür eingesetzten Versuchstiere angestrebt wird, als auch die Verfeinerung und Verbesserung der Versuchsabläufe.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Studie zur Optimierung von Laserparametern eines neuartigen Lasers für die Hornhautchirurgie liefert einen wesentlichen Beitrag zur Verfeinerung und Verbesserung der Praktikabilität von refraktiven Hornhauteingriffen. Dazu zählt insbesondere auch die Laser-in-situ-Keratomileusis (LASIK), eine beim Menschen häufig durchgeführte Augenoperation zur Korrektur optischer Fehlsichtigkeiten. Es handelt sich dabei um einen Routineeingriff der unter Lokalanästhesie (Augentropfen) durchgeführt wird. Mit dieser Studie sollen nun die optimalen technischen Schnittparametereinstellungen (Dosisfindung) für den Einsatz des neuen Lasers in der refraktiven Hornhautchirurgie definiert und mit einem anderen gängigen Lasermoden verglichen werden. Die über die Laserparameter erreichte Dosis wurde bereits an toten Schweineaugen getestet. Vor der Einführung des neuartigen Lasers für klinische Anwendungen am Menschen, ist jedoch die Testung am lebenden Tiermodell unumgänglich. Nur so können ganz klar Risiken und tatsächliche Vorteile des Lasers eingeschätzt werden. Nach dem derzeitigen Wissensstand -basierend auf technischen Versuchsanordnungen und Experimenten mit toten Schweineaugen -ist kein Schaden zu erwarten. Es muss jedoch ausgeschlossen werden, dass es am lebenden Auge zu photochemischen Schäden in der Hornhaut kommt. Daher wird außerdem eine post-operative Verlaufsstudie, über die eventuelle Langzeitschäden ausgeschlossen werden können, durchgeführt. Die Einführung des neuartigen Lasers in die Hornhautchirurgie würde potentielle Schnittfehler, die bei der Operation auftreten könnten deutlich reduzieren und den Eingriff sogar kostengünstiger machen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Durchführung der Versuche sind insgesamt 90 juvenile Chinchilla Bastard Kaninchen eingeplant. Die Augen dieser Tierart kommen aufgrund der Pigmentierung dem menschlichen Auge sehr nahe und sind daher ein geeignetes Modell für die angestrebten Untersuchungen.

3.. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vor der Planung der vorliegenden Studie wurden alle technischen Details der Lasereinstellungen an technischen Versuchsanordnungen und in-vitro an entnommenen toten Schweineaugen erfolgreich getestet und eine umfangreiche Risikoabschätzung vorgenommen, sofern dies mit diesen Methoden abgedeckt werden kann. Zur Untersuchung der Anwendbarkeit am humanen Auge ist nun eine Optimierung der Laserschnittparameter am lebenden Auge unerlässlich. Kaninchen wurden bereits bei anderen Anwendungs- und Vergleichbarkeitsstudien von Lasern verwendet. Die Ergebnisse aus der vorliegenden Studie können daher mit Testungen anderer Laserarten und mit älteren Daten verglichen werden, was eine verfeinerte Vorteils- und Risikoeinschätzung ermöglicht. Da das Kaninchen als Modell für Laseruntersuchungen bereits etabliert ist, kann von einer guten Aussagekraft und einer möglichst geringen erforderlichen Fallzahl ausgegangen werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Physiologische Informationen aus hämatologischen Parametern wie Leukozytenzahl und Hämatokrit können für intraspezifischer Studien in verschiedenen Bereichen der Biologie von Nutzen sein, zum Beispiel bei der Untersuchung von Prozessen der Anpassung an exogene Faktoren wie z.B. Jahreszeit, Temperatur, bzw. endogenen, wie Alter, Sex und Verwandtschaftsgrad.

Ziel der beantragten Studie ist die Fortsetzung und Erweiterung des Langzeit-Monitorings einer freilebenden und an Menschen habituierte Graugansschar. Die Probennahme soll insgesamt mindestens bis Ende des Jahres 2015 laufen und das mehrmalige Beprobieren derselben Tiere erlauben, um individuelle saisonale Muster der verschiedenen Parameter zu untersuchen. Der Zeitpunkt der Probennahme soll den wichtigen saisonalen Phasen des "Jahres der Graugänse" entsprechen. Die Versuchstiere sollten über einen Zeitraum von über 2 Jahren bis zu 6-mal gefangen werden.

Dieser Antrag dient der Erweiterung eines Datensatzes, um alle sozialen Kategorien bzw. Altersgruppen und saisonalen Phasen abzudecken. Die Ergebnisse werden ein integratives Bild des Zusammenspiels zwischen endogenen Faktoren (Alter, Geschlecht, Verwandtschaftsgrad) und exogenen (sozialer Status, Jahreszeit) in einer freilebenden Vogelpopulation liefern. Das erfordert eine einmalige Abnahme einer geringen Blutmenge, um im Labor die Erstellung eines Blutbildes durchführen zu können. Bei Gänsen, die zum ersten Mal gefangen werden soll ein Teil des Blutes auch für eine genetische Analyse verwendet werden.

Das Ansuchen betrifft eine Querschnittuntersuchung einer freifliegenden, aber gut an Menschen habituierte Graugansschar von derzeit ca. 150 Vögeln. Das Procedere umfasst schonendes Fangen per Hand sowie die Blutabnahme aus der Beinvene. Die insgesamt erforderliche Probenmenge ist mit 1 ml für einen Vogel dieser Größe (3-5 kg) gering, die eigentliche Blutabnahme dauert nur wenige Sekunden und die Blutung lässt sich durch leichten Druck an die Vene sofort stillen. Derartige Blutabnahmen stellen eine Standardmethode von verhaltensökologischen und avifaunistischen Untersuchungen dar. Zudem soll das Fangen für die Blutabnahme wann immer möglich, im Rahmen der Beringung der Jungtiere vor dem Flüggewerden, bzw. mit der Nachberingung von Tieren, die Ringe verloren haben, kombiniert werden. Inklusive Beringung, Blutabnahme und, im Falle von Jungtieren, Wiegen und Messen dauert das Procedere vom Fangen bis zum Wiederentlassen weniger als 5 Minuten. Die Unterbringung sowie eine Tötung der Tiere nach dem Abschluss des Projekts sind weder vorgesehen noch erforderlich.

Der Schweregrad dieses Experiments schätzen wir als gering ein, da durch den Nadelstich in die Beinvene nur kurzzeitig Schmerzen verursacht werden und weder das Wohlergehen noch der Allgemeinzustand der Tiere wesentlich beeinträchtigt werden. In diesem Sinne ist der Einsatz von Anästhesie und anderen schmerzlindernden Maßnahmen nicht notwendig, sondern würde die Tiere durch die längere Dauer des Handlings mehr belasten. Im Gegensatz zu den minimalen Beeinträchtigungen der Versuchstiere, ist daher der Nutzen von großer Bedeutung, vor allem im Bereich der Verhaltensökologie und in die Zusammenhänge zwischen Blutparametern, Saison und sozialen Bedingungen. Diese Zusammenhänge sind auch im Sinne des Managements halbzahmer und wilder Gänsepopulationen tierschutzrelevant. Dieses Projekt entspricht der Leitlinie der 3R-Forschung, in dem sowohl eine Reduzierung der Zahl der notwendigen Tierversuche und der Menge der dafür eingesetzten Versuchstiere angestrebt wird, als auch der Verfeinerung und Verbesserung der Versuchsabläufe.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens:

Im Rahmen eines Projekts sollen „Fitnessfaktoren bei Arten mit komplexen Lebenszyklen“ untersucht werden. Dafür sind Experimente im Freiland in Französisch Guyana, aber auch Paarungs- und Verhaltensversuche im Labor vorgesehen. Das generelle Ziel des Projektes ist es, Faktoren, welche die Fitness der Froschart *Allobates femoralis* in allen Lebensstadien beeinflussen, zu identifizieren. Im Speziellen sollen Auswirkungen von elterlicher Verwandtschaft und Brutpflege auf das individuelle Überleben der Nachkommen untersucht werden. Die für die DNA-Gewinnung notwendige Entnahme von Gewebe in Form eines Zehenclips wurde von uns bereits seit 2008 bei *A. femoralis* im Freiland in Französisch Guyana durchgeführt. In all diesen Jahren konnten keinerlei negative Auswirkungen auf das Überleben der Tiere oder auf die betroffenen Gewebestellen beobachtet werden, und sind daher auch für die geplante Durchführung im Labor nicht zu erwarten.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Im Zuge des Projektes sollen maximal 500 adulte *Allobates femoralis* im Zeitraum bis Ende 2016 genetisch beprobt werden.

Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung):

Um genetisches Material jedes Individuums zu gewinnen, soll allen Adulttieren jeweils ein kleiner Teil der mittleren Zehe von beiden Hinterextremitäten mit einer scharfen sterilisierten Schere entnommen werden. Durch den nur wenige Sekunden dauernden Eingriff, wird die Handhabung pro Tier auf ein Minimum reduziert. Nach dem Eingriff werden die Tiere noch 10 Minuten in ein sauberes Behältnis gesetzt, um einen raschen Wundverschluss zu gewährleisten. Um den Kreislauf der Tiere möglichst wenig zu belasten, wird vor der Entnahme auf der entsprechenden Zehe ein lokales Anästhetikum aufgetragen werden (die Wahl und Dosierung erfolgt in Absprache und Kontrolle des im Formular angegebenen Tierarztes). Blutungen kommen an der Schnittstelle nur in Ausnahmefällen vor und die Tiere zeigen innerhalb weniger Minuten wieder ihr gewohntes Verhalten (z.B. Territoriales Rufen der Männchen, Balz). Die Regeneration der Zehe setzt nach ca. 2 Monaten ein, und nach einem Jahr sind die Zehen sowie auch die Zehenscheiben bis fast zur Gänze nachgebildet. Der oben angeführte Eingriff wurde von uns bereits seit 2008 bei über 1500 Tieren im Freiland in Französisch Guyana durchgeführt. Genehmigungen dafür wurden von den zuständigen französischen Behörden ausgestellt. Die Entnahme zeigte auch keine negativen Auswirkungen auf das Überleben der Tiere. Es gibt keine andere Möglichkeit, die DNA der Tiere zu gewinnen, da es sich bei *Allobates femoralis* um eine sehr kleine Froschart handelt (ca 2 cm Kopf-Rumpf-Länge), ein Umstand, der Mundhöhlenabstriche unmöglich macht. Durch die geringe Körpergröße ist auch die Mundöffnung dementsprechend klein, und somit ist mit einem erheblichen Verletzungsrisiko im Mundbereich im Zuge einer Speichel-Probennahme zu rechnen. Auch Kloakenabstriche sind auf Grund der geringen Körpergröße nicht praktikabel. Da der Eingriff lediglich dem Sammeln von genetischem Material dient, ist dies auch nur ein einziges Mal für jedes Individuum durchzuführen.

Projektziel ist die Entwicklung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten beim Menschen. Durch den Versuchsablauf kann es zu einer mittleren Belastung der verwendeten Tiere (Schweine, max. 250 Tiere) kommen, der zu erwartende Schaden ist durch eine sorgfältige Güterabwägung durch den zu erwartenden Nutzen gerechtfertigt. Eine Belastung des einzelnen Tieres wird durch Anwendung des 3-R-Prinzips vermieden bzw. möglichst niedrig gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Feldhamster (*Cricetus cricetus*) zeigen in ihrem Jahreszyklus verglichen mit anderen Winterschläfern erstaunlich viele fakultative Aspekte. Dies betrifft einerseits die Fortpflanzung, die in Bezug auf Anzahl der Würfe und Nachkommen pro Jahr individuell sehr stark variiert. Aber auch in ihren Überwinterungsstrategien scheinen Feldhamster äußerst flexibel zu sein, allerdings ist bisher wenig darüber bekannt welche Faktoren für diese Unterschiede maßgeblich sind.

Für die geplante Studie werden 30 weibliche, aus einer Zucht stammenden, Feldhamster (15 Tiere pro Gruppe) verwendet. Die Körpertemperatur wird durch einen kleinen Datalogger subkutan aufgezeichnet. Die Tiere werden in geräumigen Käfigen, ausgestattet mit künstlichen Bauten mit mehreren Kammern, gehalten, die sich bei früheren Überwinterungen bereits bestens bewährt haben. Die Kammern sind durch ein Röhrensystem verbunden und verfügen über Dachkonstruktionen die leicht geöffnet werden können um Vorräte oder auch die Hamster selbst zu kontrollieren. Vor Winterschlafbeginn erhalten die Hamster eine fettreiche Diät um genügend Körperfettreserven anlegen zu können. Zusätzlich werden Vorräte zum Einlagern in eine der Kammern angeboten. Die Tiere haben also einerseits genügend interne Reserven um eine Winterschlafsaison ohne Vorräte problemlos durchhalten zu können, aber auch genügend Vorräte um ohne den energiesparenden Winterschlaf auszukommen. Die Frage die in diesem Versuch beantwortet werden soll ist, ob unter diesen Umständen Winterschlaf vermieden wird, oder ob trotz der günstigen Vorratssituation eine Hibernationsphase gezeigt wird. Letzteres könnte den Tieren ermöglichen, aufgrund der geringeren energetischen Kosten während des Winters, die Vorräte im Frühjahr effizienter nutzen zu können. Die zweite Gruppe, ebenfalls mit hohen Körperfettreserven, erhält eine tägliche Futterrationsration aber keine Vorräte. Auch diese Tiere könnten auf Winterschlaf verzichten, haben aber keine Vorräte als Reserve. Wenn also das Auftreten bzw. die Dauer von Winterschlaf mit der Menge an Vorräten zusammenhängt, wären bei dieser Gruppe längere Winterschlafphasen zu erwarten als bei den Hamstern die Nahrungsreserven einlagern konnten. Da die Winterschlafmuster individuell stark variieren sollte die Anzahl der Tiere pro Gruppe nicht zu gering sein um die Ergebnisse statistisch absichern zu können. Falls ein Tier gesundheitliche Probleme haben sollte, wird es aus dem Versuch genommen, bei 20°C gehalten und entsprechend medizinisch versorgt. Die Ergebnisse dieser Studie könnten wesentlich zum Verständnis der sehr hohen Variation an Überwinterungsstrategien bei dieser Tierart beitragen, was für die Planung und Implementierung von geeigneten Schutzmaßnahmen von hoher Bedeutung wäre.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens, Kalzium wirkt im Dickdarm krebsspräventiv. Wir vermuten, dass ein spezieller Rezeptor dafür verantwortlich ist. Dieser Rezeptor verschwindet während der Tumorentstehung.

In diese Studie wollen wir einerseits klären, ob ein Defizit an Nahrungskalzium die Menge des Rezeptors im Darm beeinflusst. Andererseits möchten wir prüfen, ob hohe Mengen des aktiven Rezeptors die tumorbildende Fähigkeit von Krebszellen vermindert und ob eine inaktive Form diese tumorbildende Fähigkeit weiter steigert.

Falls unsere Hypothese stimmt, könnte die Präsenz des Rezeptors im Darm ein Zeichen für wirksame antitumorogene Antwort auf Kalziumeinnahme sein. Weiter könnten Medikamente für die Aktivierung des Rezeptors entwickelt werden, welche in der Behandlung von Dickdarmkrebs eingesetzt werden könnten.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere,

30 weibliche NIH white swiss Mäuse

46 weibliche SCID Mäuse

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Vermeidung: Um den komplexen Effekt von Nahrungskalzium zu untersuchen und um den Einfluss des Kalziumrezeptors auf Tumorwachstum zu zeigen benötigen wir in vivo Studien. Daher ist die Verwendung unseres Mausmodells gerechtfertigt und kann nicht durch Zelllinienexperimente ersetzt werden.

Verminderung: Alle Versuchsbedingungen werden standardisiert. Durch eine gewissenhafte Probengrößenberechnung haben wir die geringste Anzahl an Tieren gewählt, die zu einem signifikanten Ergebnis unserer Studie führt.

Verfeinerung: Um unnötige Tumorbelastung zu verhindern, wird in einem Vorversuch die Zellzahl eruiert, die zur Bildung von Tumoren notwendig ist.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Depression gehört weltweit zu den häufigsten und schwerwiegendsten psychischen Erkrankungen, die nicht nur für den Patienten und seine Angehörigen besonders belastend ist, sondern auch bedeutende sozio-ökonomische Auswirkungen mit sich bringt. Die zugrunde liegenden neurobiologischen Grundlagen sind derzeit nur unvollständig erforscht. Bekannt ist, dass Veränderungen in einer Reihe von Hirnregionen bei dieser Krankheit auftreten, eine davon sind die für Gefühl und Stimmung verantwortliche Region der Amygdala.

In einem vorangegangenen Projekt konnten wir zeigen, dass in den Amygdala der Maus alle bisher bekannten Gene des zirkadianen Rhythmus (clock gene) vorhanden sind und viele davon eine tageszeitliche Schwankung aufweisen. Wir machten die interessante Beobachtung, dass diese tageszeitliche Schwankung in einem Mausmodell für Depression, welches auf chronischem Stress beruht, unterdrückt wird. In dem hier vorgeschlagenen Projekt sollen ausgehend von diesen Resultaten folgende zusätzliche Fragen geklärt werden:

a. Sind die beschriebenen Veränderungen der tageszeitliche Schwankung der clock genes in den Amygdala der Maus auch in einem auf sozialem Stress beruhenden Depressionsmodell (Chronic social defeat) nachweisbar?

b. Lässt sich die auf den vorhergegangenen Daten basierende Hypothese der Interaktion zwischen dem zirkadianen Rhythmus und dem Emotionssystem für die Pathogenese der Depression auch im Umkehrschluss zeigen? Dafür sollen mögliche Veränderungen des zirkadianen Verhaltens in einem genetischen Mausmodell für Depression untersucht werden.

c. Ist das Gen *cry2* kausal mit Depression in Zusammenhang stehend? Dafür soll der Phänotyp von Mäusen, welche das Gen *cry2* nicht besitzen, mittels spezifischer Verhaltenstests untersucht werden. Nutzen: Ergebnisse dieser weiterführenden Studie können neue Einblicke in die Pathophysiologie der Depression vermitteln und durch das Aufzeigen der involvierten Moleküle eventuell zusätzliche therapeutische Ziele für pharmakologische Substanzen zur Bekämpfung der Krankheit aufzeigen.

2. Anzahl und Art der zu verwendende Tiere: 310 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Wissenschaftliche Untersuchungen zu den neurobiologischen Grundlagen von psychischen Erkrankungen umfassen notwendiger Weise die Beurteilung es zugehörigen Verhaltensphänotyps, welche, per definitionem, nur am lebenden Tiere erfolgen kann. Entsprechend dem Anspruch des TV-Gesetzes werden also nur solche Fragen im tiermedizinischen Experiment untersucht, welche sich nicht in in vitro-Zellkulturmodelle überprüfen lassen. Die Erforschung der molekularen Grundlagen psychischer Erkrankungen, wie hier beschrieben für Depression, soll aber in der Zukunft dazu beitragen, dass einzelne Aspekte dieser Krankheit auch ohne lebende Tiere, unter Verwendung von Ersatzmethoden, untersucht werden können.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wird auch gering gehalten, da wir Tiere aus einem homogenen genetischen Background verwenden, die unter standardisierten Bedingungen gehalten werden. Gleiches gilt für den Ablauf der Experimente, die unter ebenfalls standardisierten Bedingungen durchgeführt und ausgewertet werden. Weiters ermöglicht eine a priori Fallzahlberechnung die Zahl der Tiere so gering wie möglich zu halten, um noch aussagekräftige Ergebnisse mit statistischer Relevanz liefern zu können.

Verfeinerung: Die oben beschriebenen Tests zur Verhaltensuntersuchung stellen weithin etablierte Methoden dar, die in unserem Labor mit langer Erfahrung und ausgewiesener Expertise nach international anerkannten Protokollen durchgeführt werden.

1. Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012):

Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in Z. 2 genannten Ziele erforderlich ist (§ 5 Z. 3 TVG 2012)

Die wichtigste Behandlungsmethode der Gelenksarthrose des Knies ist die Behandlung mit speziellen viskösen Substanzen, die direkt in das Gelenk appliziert werden müssen. Vorliegende Studie untersucht die Möglichkeit eines neuen Derivats von Hyaluronsäure. Hyaluronsäure ist ein Wirkstoff, der schon langjährig zur Therapie der Kniegelenksarthrose in Verwendung ist und sich bewährt hat. Die zu untersuchende Substanz verspricht eine deutliche Reduktion der Frequenz der Verabreichung, was eine deutliche Verbesserung der medizinischen Praxis bedeuten könnte. Das Ziel dieses Tierversuches ist es, die verlängerte Verweildauer im Kniegelenk zu demonstrieren.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

5 Kaninchen (Rasse: Newzealand White)

3. Angaben über die Erfüllung der "3R" (Replacement, Reduction, Refinement):

Replacement - Vermeidung:

Es gibt zur Zeit keine Möglichkeit ein Kniegelenk, als ganze anatomische und physiologische Entität, in vitro, als Computermodell und durch sonstige denkbare Modelle zu ersetzen.

Reduction - Verminderung:

Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersehbar. Um das Tierleid möglichst wenigen Individuen aufzubürden, ist dieser Versuch als Vorversuch mit der geringstmöglichen Anzahl an Tieren vorgesehen. Erst nach Beurteilung der Ergebnisse, wird über die weitere Vorgehensweise entschieden.

Refinement - Verfeinerung:

Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung der Kaninchen, als für die eigentliche Durchführung der Experimente sämtliche nötigen infrastrukturellen Güter vorhanden. Das betrifft insbesondere ausreichend geschultes Fachpersonal mit langjähriger Erfahrung, als auch alle Hilfsmittel, die zur Abwehr von psychischem und physischem Leid der anverantworteten Versuchstiere dienen können.

Für die Durchführung der Experimente selbst, ist langjährige Expertise vorhanden. Die Technik für die spezielle Applikationstechnik wurde zuerst an Kaninchenleichen ausgiebig geübt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Morphinähnliche Substanzen, die Opioide, bilden den Goldstandard für die Therapie starker und mittlerer Schmerzen. Der klinische Nutzen der Opioide kann jedoch durch die Entstehung paradoxer, durch Opioide ausgelöster Schmerzen, der sogenannten Opioid-induzierten Hyperalgesie (OIH), geschmälert werden oder ganz verloren gehen. Eine zelluläre Ursache der OIH ist eine langanhaltende Verstärkung der synaptischen Übertragung auf Rückenmarksebene.

Buprenorphin gilt als besonders sicheres Opioid, da es eine geringere sedierende und euphorisierende Wirkung hat als andere Opioide und die Wahrscheinlichkeit von körperlicher Abhängigkeit, Sucht und Überdosierung gering ist. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass Buprenorphin auch Auslöser einer OIH sein kann. Es soll daher die Wirkung von Buprenorphin auf die synaptische Übertragung im Rückenmark eingehend untersucht werden.

Das vorrangige Ziel ist, die zellulären Ursachen für mögliche schmerzfördernde Effekte von Buprenorphin aufzuklären, um daraus resultierende Nebenwirkungen beim Patienten zu vermindern. Wir erwarten von dieser Forschungsrichtung eine langfristige Verbesserung der Therapiestandards von Schmerzpatienten mit Opioiden.

2. Art und Anzahl der Tiere - 351 Ratten (Sprague Dawley)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Ziel des Forschungsvorhabens ist es, die Effekte von Buprenorphin auf die synaptische Übertragung im Rückenmark zu untersuchen. Durch eingängige Versuchsplanung werden nicht zielführende Experimente vermieden. Die Untersuchungen werden in tiefer Allgemeinanästhesie und in einem klar begrenzten Segment des Rückenmarks (L4-L5, Lamina 1-11) durchgeführt. Dieser Bereich spielt nachgewiesenermaßen eine wichtige Rolle bei Opioid-induzierter Analgesie und Hyperalgesie. Dadurch wird einerseits die Relevanz der gewonnenen Daten drastisch erhöht und andererseits die zu erwartende Varianz der Daten aufgrund der homogenen Untersuchungsbedingungen vermindert, was zu einer Reduzierung der Versuchszahl führt. Die Anzahl der Tiere wurde durch eine Fallzahlberechnung auf das statistisch erforderliche Mindestmaß reduziert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Eine Verminderung der Blutbildung (Anämien) sind eine klinisch bedeutsame Komplikation in einer Reihe von Erkrankungen wie zB bei chronischer Niereninsuffizienz oder Krebs. Makrophagen sind wichtige Zellen für die Immunantwort, aber sie spielen auch eine essentielle Rolle bei der Erythropoese (Blutbildung). Die zellulären Signaltransduktionswege in Makrophagen, die die Erythropoese regulieren, sind jedoch ungenügend erforscht. Die Projektidee zielt darauf ab, die Rolle von Signaltransduktionswegen in Makrophagen zu erforschen, die für eine effiziente Blutbildung verantwortlich sind. Die daraus gewonnen Erkenntnisse sollen klären, ob eine gezielte Modulationen dieser Signaltransduktionskaskaden in Makrophagen die Erythropoese verbessern und damit einen potenziellen therapeutischen Ansatz bei chronischen Anämien darstellen kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse: Stamm C57BL/6; maximal 300 Tiere

3. Erfüllung der "3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Alle Experimente dieses Projektes wurden unter Einhaltung des „3R“-Prinzips geplant. Zu dieser Fragestellung gibt es keine in-vitro Alternativen. Aufgrund der ausgiebigen in vitro und ex vivo Analyse im Rahmen unseres Projektes können die erwartbaren Unterschiede relativ genau kalkuliert werden, und damit kann die benötigte Tierzahl (sample size) minimiert werden. Es werden auch immer littermates als Kontrollen verwendet, dadurch tritt eine verminderte Streuung auf und die Gruppengrößen können weiter minimiert werden. Die Studien werden engmaschig überwacht und kontrolliert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Ad 1: Die Arthrose ist die häufigste Gelenkerkrankung und betrifft mehr als die Hälfte aller Menschen über 65 Jahren. Allein in Deutschland leiden derzeit rund zehn Millionen Menschen an OA. Derzeit werden jährlich sechs Millionen OA-Patienten medizinisch behandelt (medikamentöse Versorgung oder Operation). Nach Angaben der WHO entstehen allein in Deutschland durch orthopädische Erkrankungen Kosten von rund 20 Milliarden Euro, die volkswirtschaftliche Gesamtbelastung beträgt 30 Milliarden Euro. Eine Erforschung der Ursachen dieser Erkrankung ist daher von enormer Bedeutung. MicroRNAs sind kurze, nicht kodierende RNAs, deren Rolle in vielen Belangen noch ungeklärt ist, die jedoch eine wichtige Rolle in der Genregulation und bei diversen immunologischen Prozessen spielt. Es konnte gezeigt werden, dass ein Vertreter der microRNAs - die microRNA-155 (miR-155) - verstärkt in der Synovia (Gelenksschmiere) von Patienten mit rheumatoider Arthritis und Osteoarthritis nachweisbar ist und entzündliche Prozesse u.a. die Zytokinsekretion verschiedener Immunzellen beeinflusst. Da die Rolle dieser microRNA in der Entstehung von Osteoarthritis sowie in der Knorpelbiologie bislang noch nicht beleuchtet wurde, soll im Rahmen dieses Projekts der Einfluss einer miR-155 Defizienz auf die Entstehung einer experimenteller Osteoarthritis untersucht werden.

Ad 2: Für die experimentelle Klärung der Fragestellung wird ein international etabliertes Osteoarthritis Mausmodell verwendet. Für die Fragestellung sollen daher insgesamt 72 mir-155 transgene Mäuse und 72 WT Mäuse verwendet werden.

Ad 3: Die Pathogenese der Osteoarthritis (OA) ist ein sehr komplexes Geschehen und lässt sich nicht unter in vitro Bedingungen, sondern nur am lebenden Organismus darstellen. Der hier angewandte Versuchsaufbau gehört zu den fachlich anerkannten Methoden in der Erforschung der OA. Durch standardisierte Haltung- und Versuchsbedingungen sowie durch eine genaue Fallzahlbestimmung wird die Anzahl der benötigten Tiere so klein wie möglich gehalten. Auf entsprechende Anästhesie- und Analgesie-Verfahren wird strikt geachtet.

Ausgangslage

Der Sterlet ist heute die einzige von ursprünglich fünf an der oberen Donau und ihren Zuflüssen vorkommenden Störarten. Zwar ist auch diese Art in Österreich aus der March und Thaya, der Mur, dem Inn und der Salzach sowie aus dem überwiegenden Teil der Donau ganz verschwunden. Im Bereich der Stauwurzel des Donaukraftwerks Aschach (Grenzstrecke zu Bayern; bei Engelhartzell) konnte sich aber eine reproduzierende Population erhalten. Es handelt sich dabei um den einzigen reproduzierenden Bestand Österreichs und Deutschlands. Aufgrund der wahrscheinlich sehr geringen Bestandszahl und des beschränkten Lebensraums ist allerdings auch dieser Bestand sehr verletzlich.

Enorme Wissensdefizite

Über die Ursache, wieso sich der Sterlet nur hier bzw. gerade hier halten konnte, kann man zum derzeitigen Wissensstand nur spekulieren. Möglicherweise ist die Sondersituation, dass an der Sohle dieser Stauwurzel eine stark überströmte Felsformation ansteht („Jochensteiner Kachlet“) dafür Ausschlag gebend. In der Literatur gibt es Hinweise, dass derartige Bereiche als Laichplätze für Acipenseriden dienen. Trotzdem ist schwer verständlich, wieso die Art im übrigen ehemaligen Verbreitungsgebiet ausgestorben ist, das ehemals sehr weitläufige Gewässerstrecken umfasste. Erst in der ungarische-slowakischen Donau und in der Theiß sind wieder Sterletbestände zu finden.

In den letzten Jahren laufen verstärkt Anstrengungen zur Re-Etablierung von Störbeständen durch wissenschaftlich begleitete Besatzmaßnahmen, sei es von anadromen Arten (wie im Rheingebiet) oder vom Sterlet im bayerischen Donauebiet. Allerdings sind derartige Anstrengungen nur als Versuche zu sehen, solange nicht grundlegende Fragen über notwendige Habitate und Wanderbewegungen von Stören zwischen diesen Teilhabitaten beantwortet sind.

Sterlet-Projekt in Oberösterreich

Diese Fragen können in Bezug auf den Sterlet in Mitteleuropa derzeit nur am Standort Engelhartzell/Jochenstein geklärt werden. Derzeit besteht über die oben genannten Vermutungen hinaus weder über die Populationsgröße, Gefährdungsfaktoren, über Laichplätze, Jungfischhabitate noch die Habitatnutzung bzw. Wanderungen im Jahresverlauf Wissen, das über Vermutungen hinausgeht. Es handelt sich beim Sterlet also nicht nur um eine der am stärksten gefährdeten heimischen Fischarten, sondern wahrscheinlich auch um jene mit den größten Wissensdefiziten.

Daher wurde 2013 ein Projekt gestartet, das für den Schutz oder die Re-Etablierung von Sterletbeständen grundlegende Informationen liefern soll. In diesem Jahr werden dazu Vorversuche durchgeführt und methodische Fragen geklärt.

In den darauf folgenden zwei Jahren werden unterschiedliche Methoden angewendet, die von Driftnetzerhebungen, individuellen Markierungen (mittels implantierter Chips) bis hin zur telemetrischen Verfolgung von mit Sendern versehenen Fischen reichen sollen.

Beschreibung der praktischen Durchführung der Besenderung

Für den Vorversuch werden maximal 10 adulte Barben, die im Zuge von standardmäßigen Elektrofischungen im Rahmen anderer Projekte in der Donau gefangen werden, verwendet. Sind die Vorversuche erfolgreich abgeschlossen, werden im Rahmen der kommerziellen Netzfischerei gefangene Sterlets für die weiteren Versuche verwendet. Eine Intensivierung des Fangaufwandes ist dazu nicht nötig, da im Zuge der seit Jahrzehnten betriebenen Netzfischerei im Unterwasser des Kraftwerks Jochenstein jedes Jahr mehrere Dutzend Sterlets gefangen werden. Die Sterlets werden ebenfalls im oben genannten Becken für den Zeitraum von etwa einer Woche zwischengehalten, um sicherzugehen, dass sie durch den Netzfang nicht weiter beeinträchtigt sind. Insgesamt sollen maximal 20 Individuen besendert werden, die tatsächliche Anzahl richtet sich allerdings nach der Menge an verfügbaren Fischen geeigneter Größe.

Vor der Besenderung werden die Fische betäubt, wofür sie in einem dafür geeigneten Behälter mit Nelkenöl, welches zuvor in Ethylalkohol gelöst wird, gegeben werden. Das zusätzlich antibakteriell und pilz-hemmend wirkende Nelkenöl wird im Bereich der Fischökologie aufgrund seiner geeigneten Wirksamkeit sehr häufig als Anästhetikum eingesetzt und empfohlen.

Die Telemetriesender werden in die Bauchhöhle der Versuchstiere implantiert. Der Operationsvorgang erfolgt nach vollständigem Verlust der Reaktionsfähigkeit in einer V-förmigen Rinne an der Luft. Während der Operation werden die Kiemen des Fisches über einen Schlauch mit Wasser versorgt, um die Beatmung während des Eingriffs sicher zu stellen. Die Bauchdecke wird mit einem etwa 2 cm langen Schnitt geöffnet und der Sender implantiert. Die Antenne des Senders wird über ein mittels Kanüle (Venflon) gestochenes Loch etwa 3 cm hinter der offenen Wunde aus der Bauchhöhle geführt. Nach erfolgter Senderapplikation wird die Wunde mit 2 Nähten mittels chirurgischen Fadens verschlossen. Anschließend wird die Wunde desinfiziert und dem Fisch – um Entzündungen vorzubeugen – ein Breitbandantibiotikum verabreicht.

Die Dauer des chirurgischen Eingriffs (ohne Betäubungs- und Aufwachzeit) beträgt maximal 5 Minuten. Nach der Operation wird der Fisch in ein Becken mit frischem Wasser versetzt, bis das Narkotikum seine Wirkung völlig verloren hat (maximal 20 Minuten). Anschließend wird der Fisch für etwa 10 Tage im Rundstrombecken gehalten bis die Wunde vollständig verheilt ist und dann im Uferbereich der Donau bei Engelhartzell frei gelassen. Die Ortsveränderungen des Tieres können bis zu zwei Jahre verfolgt werden. Da sich der Sender im Körperinneren befindet entsteht keine maßgebliche Beeinträchtigung des Schwimmvermögens des Fisches, was bei beiden verwendeten Arten aufgrund ihrer Bevorzugung von sehr stark strömenden Habitaten von eminenter Bedeutung ist.

Beschreibung der praktischen Durchführung der Markierung

Sterlets, die nicht die notwendige Mindestgröße für die Telemetrie aufweisen, wird einmalig ein Chip (PIT-tag, passive integrated transponder) mittels Spritze in die Rückenmuskulatur implantiert. Nach etwa 10 Tagen Quarantäne werden die Fische in die Donau zurückgesetzt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Defiziente oder überschießende Blutgefäßbildung ist wesentlich bei vielen schweren Krankheiten beteiligt. Eine Normalisierung der Blutgefäße ist daher ein wichtiges therapeutisches Ziel. Zum Beispiel wäre es bei ischämischer Kardiomyopathie, wie sie nach einem Herzinfarkt auftreten kann, wünschenswert, die Blutgefäße zum Wachsen zu bringen und damit eine Regeneration des defekten Herzmuskels anregen zu können. Alternativ kann eine Reduktion der Blutgefäßbildung bei vielen Krebserkrankungen zu einer Hemmung des Tumorwachstums führen. In diesem Antrag werden zwei neu detektierte Faktoren getestet, welche in zellulären *in vitro* Systemen fördernd zur Gefäßbildung beitragen, ob sie die Blutgefäßbildung *in vivo* anregen können und umgekehrt, ob eine Hemmung der Faktoren pathologische Gefäßbildung inhibieren könnte. Wir verwenden dazu das einfachste *in vivo* Modell, welches Aufschluss über eine solche Aktivität gibt, den sogenannten Plug-Assay. Wir versprechen uns davon bei entsprechender Wirkung die Entwicklung von potentiellen Therapiemöglichkeiten für ischämische Kardiomyopathie und eventuell für Krebserkrankungen vorantreiben zu können. Dies sind grösstenteils schwere Krankheiten mit vielfach tödlichen Ausgang und zur Zeit gibt es dafür meist nur unzureichende Behandlungsmöglichkeiten.

2. Als Versuchstiere sind 200 C.B-Igh1b/lcrHsd-Prkdcscid Mäuse vorgesehen.

3. Replacement (Vermeidung): Alle ausgeschöpften zellulären *in vitro* Verfahren zur Untersuchung der Blutgefäßbildung spiegeln nur individuelle Schritte der angiogenen Kaskade wieder. Es kommt zu keiner Bildung von reifen funktionellen Gefäßen. Um die Komplexität des Angiogenese-Prozesses zu untersuchen, sind daher *in vivo* Verfahren an einem Gesamtorganismus notwendig. Der hier angewendete Plug-Assay stellt ein einfaches *in vivo* Verfahren dar, das es uns ermöglicht, die Bildung reifer, durchbluteter Gefäße zu untersuchen bzw. zu modulieren.

Reduction (Verminderung): Um eine unnötig hohe Anzahl an Versuchstieren zu vermeiden, wurde die Fallzahl unter der Annahme einer Differenz der Mittelwerte der MVD/mm² zweier Versuchsgruppen von 10 und einer Standardabweichung (Sigma) von 10 berechnet (Inference for Means: Comparing Two Independent Samples; $\alpha=0,05$, $\text{power}=0,80$).

Refinement (Verfeinerung): In diesem einfachen, etablierten *in vivo* Modell ist die Belastung der Tiere als geringgradige Belastung einzustufen. Die s.c. Injektion des Plugs entspricht dem Setzen eines s.c. Depots.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Das Ziel der Studie ist es, die Ursache für die Entstehung von allergischem Asthma aufzuklären. Allergisches Asthma ist eine der häufigsten chronisch entzündlichen Erkrankungen von der zwischen 4 bis 10% der Bevölkerung betroffen sind. In vielen Studien konnten Lymphozyten aus dem Lungengewebe isoliert werden, die durch ihre Gedächtnisfunktion wahrscheinlich für den chronischen Verlauf dieser Erkrankung verantwortlich sind. Die Rolle dieser Gedächtniszellen in der Lunge soll hier weiter untersucht werden und geklärt werden, warum diese Zellen zeitlebens in der Maus vorhanden sind. Wir hoffen, Wege zur Entfernung dieser speziellen T-Lymphozyten zu finden und dadurch allergisches Asthma ursachenseitig zu behandeln.

Zu diesem Zwecke wird in Mäusen durch Allergene allergisches Asthma ausgelöst. Nach verschiedenen Stadien des allergischen Asthmas (akut oder chronisch) werden diese Gedächtniszellen isoliert und deren Funktion charakterisiert.

Anzahl der Tiere

1136 Mäuse

Bezugnahme auf RRR: Die Maus ist die Säugetierart, die die beste Bandbreite immunologischer und molekularer Untersuchungsmöglichkeiten bietet. Mausmodelle für allergisches Asthma werden seit 1994 verwendet, eine Provozierung allergischer Krankheiten beim Menschen ist nicht erlaubt. Es gibt keine alternativen *in vitro* Modelle, die alle Elemente des Immunsystems von Säugetieren vereinen und keine Alternative, die die Komplexität der Mechanismen simuliert, wie sie bei Asthma vorkommen. Im Moment ist zu wenig Wissen über dieses System vorhanden, um Computersimulationen zu verwenden. Die Anzahl der Tiere wurde durch Poweranalysen auf ein Minimum reduziert, die Techniken so verfeinert, um den Tieren möglichst wenig Leid zu verursachen. Durch standardisierte Tierhaltung und methodisches Vorgehen wird zudem die Streuung der Ergebnisse gering gehalten. Wo es möglich ist, werden *in vivo* Untersuchungen durch solche mit geringerer Beeinträchtigung ersetzt oder *in vitro* Methoden angewendet. Alle Verfahren, die angewendet werden, entsprechen den wissenschaftlichen Kriterien.

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad schwer lt. TVG12 §3 (1) zuzuordnen. Die zu untersuchenden Tiere sind 2720 CD-1 Mäuse. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose, Analgesie und Antibiose, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst verhindert werden.

Die rückblickende Bewertung findet zumindest in den nächsten drei Jahren in jährlichen Intervallen jeweils am 24. Juli statt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Das Auge ist eines der wichtigsten Sinnesorgane beim Menschen. Eine der häufigsten Erblindungsursachen in der westlichen Welt ist die sogenannte diabetische Retinopathie, eine häufige Folgeerscheinung der Zuckerkrankheit. Die diabetische Retinopathie ist vor allem durch Blutungen und abnorme Flüssigkeitsansammlungen im Auge gekennzeichnet, die in Folge für die Sehverschlechterung verantwortlich sind. Die genaue Entstehung dieser Erkrankung ist noch unbekannt, jedoch haben Studien gezeigt, dass es bereits vor Auftreten gravierender Schäden zu Veränderungen des Blutflusses und der Blutflussregulation kommt. Diese frühzeitigen Veränderungen sollen im Rahmen dieses Projekts gemessen und damit eine frühzeitige Diagnose ermöglicht werden. Dafür soll ein neu entwickeltes Gerät, das auf optischer Kohärenztomographie basiert getestet und verwendet werden. Der Vorteil dieser Methode liegt vor allem darin, dass diese Technik berührungslos arbeitet und die Untersuchungen deshalb sehr schonend für Mensch und Tier sind. Diese Methode wird im vorliegenden Projekt zur Messung an gesunden und diabetischen Ratten verwendet.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für das Projekt werden 58 Ratten (*Rattus norvegicus*) der Stämme Sprague Dawley (Albino) und Long Evans (pigmentiert) verwendet.

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Replacement, Refinement, Reduction)

Vor Beginn des Projekts wurden bereits *in vitro* Vorversuche durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Tests vermindern die Gesamtzahl der Versuchstiere. Das verwendete Verfahren ist im Vergleich zu anderen Methoden zur Blutflussmessung berührungslos und deshalb schonender für die Versuchstiere. Weiters haben *in vitro* Experimente gezeigt, dass das Verfahren eine deutlich höhere Genauigkeit aufweist, als die bisher verwendeten Methoden, was zu einer Verringerung der Fallzahlgröße führen kann. Alle Messungen finden ausschließlich unter tiefer Narkose statt.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel dieses Projektes ist es, durch Blockierung des inflammatorischen Leukotriene-Signalweges die Neurogeneserate im Gehirn alter Ratten zu modulieren, sowie die Neurogenese und die kognitiven Fähigkeiten in adulten Ratten eines Streptozotizin-Induzierten Diabetes Typ-1 Modells, zu verbessern. Die Effekte des Leukotrienrezeptor-Antagonisten Montelukast in alten Ratten (20 Monate) werden hinsichtlich morphologischer Veränderungen der Stammzellnischen im Gehirn, Veränderungen des neuroinflammatorischen Zustandes im Hippocampus und hinsichtlich geänderter Blut-Hirn-Schranken-Integrität untersucht. Um die optimale Dosis zu ermitteln, werden drei verschiedene Wirkstoff-Konzentrationen getestet. Weiters werden die Effekte von Montelukast auf die Proliferationsrate im Hippocampus und auf die Lern- und Gedächtnisleistungen von adulten (12 Monate) Tieren eines Rattenmodells Streptozotizin-Induzierten Diabetes Typ-1 Ratten untersucht. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Tiere keinen Schaden von den Behandlungen tragen werden. Die Tiere erfahren im Laufe dieser Versuche keine Leiden, die über den Schmerz eines Nadelstichs hinausgehen. Aufgrund der bereits publizierten positiven Effekte von Montelukast auf die Proliferation neuronaler Vorläuferzellen *in vitro* (Huber et al., 2011), sowie aufgrund einer vielversprechenden Anwendung von Montelukast in einem Vor-Experiment *in vivo*, wird in den Versuchstieren eine Stimulation der Neurogeneserate erwartet. Weiters wird eine Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten in diesen Tieren, die durch eine verminderte Lern- und Gedächtnisleistung gekennzeichnet sind, erwartet. Eine Regulation der adulten Neurogenese auf diesem Weg könnte eine Basis für neuronale Reparatur und Plastizität im gealterten und diabetischen Gehirn bieten und dabei helfen, Therapien zur Behandlung von altersbedingten kognitiven Verluste und für Demenzen zu entwickeln.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden F-344 DCX-Promoter-DsRed transgene Ratten verwendet, die im Tierlabor gezüchtet werden. Insgesamt wird für das vorliegende Projekt somit eine Gesamtanzahl von 82 Ratten benötigt.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Um eine unnötige Verwendung von Tieren zu vermeiden, wurden im Vorhinein bereits so viele Versuche als möglich in der Zellkultur *in vitro* durchgeführt. Die Verwendung von Tieren ist für dieses Projekt jedoch unumgänglich, da mögliche positive Effekte von Montelukast auf die Lern- und Gedächtnisleistungen von alten und diabetischen Ratten untersucht werden sollen. Die Anzahl der verwendeten Tiere kann dabei jedoch auf ein Minimum reduziert werden, da der praktische Ablauf des Experiments in einem vorhergehenden Versuch bereits erfolgreich getestet werden konnte. So zeigte etwa eine Konzentration von 10 mg/kg Montelukast eine positive Wirkung auf Neurogenese und Verhalten, so dass diese Dosis als Ausgangswert für das vorliegende Experiment verwendet werden kann und das Austesten eines breiten Rahmens von Konzentrationen vermieden werden kann. Eine Verbesserung und Verminderung des Leidens der Tiere wird insofern gewährleistet, als dass etwa die Verabreichung des Medikaments oral und nicht intraperitoneal (*i.p.*) per Nadelstich erfolgt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen:

Diese Studie dient dazu, das Traumamodell Lateral Fluid Percussion (LFP) an der Maus zu etablieren. Das Modell wird von uns an der Ratte bereits eingesetzt. Der Einfluss spezifischer Faktoren auf die Regeneration nach Schädelhirntrauma kann eindeutig nur mit Knock-Out Mäusen untersucht werden. Durch die Etablierung des LFP an der Maus können die Ergebnisse der Versuche aus Ratten und genetisch veränderten Mäusen verglichen werden und die Ergebnisse besser interpretiert werden. Durch unsere Erfahrung mit dem LFP kann die Zahl der Mäuse gering gehalten werden. Sollte das LFP Modell an der Maus nicht durchführbar sein, ist geplant, das Controlled Cortical Impact (CCI) Modell einzusetzen. Ziel ist es, die Ergebnisse translational für die Entwicklung regenerativer Therapien nach Schädelhirntrauma zu nutzen.

2. Art und Anzahl der Tiere:

Für diese Tiere werden männliche Mäuse vom Wildtyp C57BL/6N verwendet. Die Auswirkungen der beiden unterschiedlichen Traumamodelle werden sowohl 3, als auch 21 Tage nach der Verletzung untersucht. Daraus ergibt sich folgende Tierzahl:

LFP: 24 Tiere

CCI: 24 Tiere (werden nicht eingesetzt, wenn LFP etabliert werden kann)

Sham/Gesundkontrollen: 24

Eine potentielle 20% Ausfallsrate wurde berücksichtigt.

Gesamtanzahl: 86

3. Erfüllung der N3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung): Die Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur in vivo zu beantworten sind. Die Versuche erfolgen in kleinstmöglichen Versuchsgruppen. In dieser Pilotstudie soll analysiert werden, ob das LFP, das in unserer Einheit bisher erfolgreich für Ratten angewendet werden konnte, auch für Mäuse etabliert werden kann. Sollte es in der Pilotstudie Probleme mit der Etablierung des LFP in der Maus geben, muss auf den Einsatz des CCI zurückgegriffen werden. Sollte sich das LFP aber als mögliche Alternative erweisen, kann auf das CCI verzichtet werden. Auf diese Art und Weise kann die Tierzahl bedeutend verringert werden. In diesem Projekt werden die Opferungen der Tiere außerdem nur an zwei Zeitpunkten durchgeführt, wodurch die Tierzahl zusätzlich noch gering gehalten werden kann.

1, Angaben über Projektziele einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Therapie von subkutanen Tumorenografts in athymischen Nacktmäusen: Diese Studie dient der Entwicklung von adjuvanten Therapien, die das Reduzieren der in der klinischen Anwendung befindlichen hoch toxischen Chemotherapie in ermöglichen. Hier wird sowohl die Auswirkung auf die Tumordynamik festgehalten, als auch molekulare Mechanismen, die zu dieser Beeinflussung führen. Getestet werden nur bereits für andere Einsätze validierte Substanzen, die sowohl im Tierversuch, als auch bereits in der Klinik Anwendung finden und bei der eingesetzten Dosierung ein sehr mildes Nebenwirkungsspektrum zeigen. Mögliche Schäden sind eine verstärkte Gewichtsabnahme, welche jedoch zweimal wöchentlich kontrolliert und dokumentiert wird. Weiters wird auf mögliche Nebenwirkungen wie Hypoglykaemien und gastrointestinale Störungen geachtet.

2, Art und Anzahl der Tiere

Eingesetzt werden 628 athymische Mäuse des Stammes CDI® Nude Mice. Die Anzahl unterliegt einer ständigen Evaluierung um eine weitere Verringerung der Versuchstieranzahl durchführen zu können. Ergibt der Vorversuch keinen Therapieeffekt wird die gesamte Versuchsreihe nicht durchgeführt um die Anzahl weiter zu verringern.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Erfüllung der 3 R wurden folgende Maßnahmen getroffen: Der Antrag folgte aufbauend auf signifikante in vitro Daten, welche den dargestellten Wirkmechanismus unterstützen und den Einsatz im Tiermodell rechtfertigen. Dies betrifft sowohl Daten unserer Arbeitsgruppe, als auch bereits veröffentlichter Publikationen. Zur Verminderung der eingesetzten Versuchstiere erfolgte eine statistische Optimierung der Anzahl sowie eine Vermeidung von doppelter Versuchsdurchführung. Das gewählte Modell des subkutanen Xenografts vermindert die Belastung der Versuchstiere und erlaubt eine nichtinvasive Dokumentation der Tumordynamik nach einmaligem Eingriff zur Injektion. Dieser wird zur Belastungsverminderung unter adäquater Anästhesie durchgeführt. Es wird größter Wert darauf gelegt, dass die Tiere sanft behandelt werden und sie minimal in ihrem täglichen Rhythmus gestört werden. Die gewählten Therapeutika sind ausnahmslos sowohl in Mausmodellen, als auch klinisch validiert und zeigen eine sehr gute nebenwirkungsarme Verträglichkeit. Um die Verträglichkeit zu dokumentieren werden zweimal wöchentlich Untersuchungen des Gesundheitszustandes nach einem standardisierten Katalog durchgeführt. Durch die Definierung von strikten Abbruchkriterien, welche sich sowohl auf das Ergebnis dieser Gesundheitsevaluierung, als auch auf die Tumorgöße beziehen, wird die Belastung für die Versuchstiere minimiert. Die Tötung, wenn nötig, erfolgt schmerzfrei nach Tierversuchs-Verordnung 2012 -TVV 2012 § 20; Zulässige Methoden zur Betäubung und Tötung von Tieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Untersuchung der Effekte einer Splenektomie auf die Nephrotoxische Serumnephritis

1. Angaben über die Projektziele

Bei der nephrotoxischen Serumnephritis handelt es sich um das Tiermodell einer beim Menschen als Glomerulonephritis bekannten entzündlichen Erkrankung der Niere. Glomerulonephritis stellt eine uneinheitliche Gruppe von Erkrankungen dar, welche in Summe relativ häufig bei Menschen aller Altersgruppen auftritt, und oft mit einer starken Einschränkung oder sogar mit dem Verlust der Nierenfunktion endet. Nierenfunktionseinschränkungen gehen mit massiven Einbußen an Lebenserwartung und Lebensqualität einher und neue Therapieansätze, für diese oft schwer zu behandelnden Erkrankungen, könnten die Situation vieler betroffener Patienten verbessern. Die Milz als Ort der Vermehrung und der Reifung verschiedenster weißer Blutkörperchen spielt eine wichtige Rolle in der Steuerung entzündlicher Vorgänge, wie sie auch bei der Glomerulonephritis auftreten. Die Entfernung der Milz (Splenektomie) ist bei einer Reihe von Erkrankungen eine therapeutische Option. Ob eine Splenektomie auch bei Patienten mit Glomerulonephritis, bei denen zurzeit verfügbare Therapien keinen oder einen nicht ausreichenden Effekt haben, eine mögliche Therapie sein könnte, wird in dem hier vorliegenden Projekt untersucht. Zusätzlich zur operativen Entfernung der Milz, wird in einer anderen Gruppe von Mäusen auch ein Medikament untersucht, von dem aus der Anwendung beim Menschen bekannt ist, dass es ähnliche Effekte haben kann wie die Entnahme der Milz. Zurzeit gibt es noch keine genauen Daten über die Rolle der Milz in der Entstehung dieser Gruppe von Erkrankungen sowie einen möglichen Nutzen der Entnahme der Milz.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für diese Untersuchungen werden männliche, eigens für die Forschung gezüchtete C57BL/6J Mäuse verwendet. Um eine ausreichende statistische Aussagekraft erreichen zu können werden in diesen Experimenten maximal 140 Mäuse verwendet.

3. Angaben über die Erfüllung der „3“ (Vermeidung, Verminderung, Verfeinerung)

Die Mäuse erhalten während und nach der Operation angemessene Schmerztherapie sowie antibiotische Behandlung. Zudem werden die Mäuse während des gesamten Zeitraums der Untersuchung auf Zeichen von Stress oder Schmerzen beobachtet. Sollten Zeichen von Schmerzen auftreten, wird zunächst versucht, den Mäusen mit Schmerzmitteln Linderung zu verschaffen. Wenn dieser Versuch fehlschlägt, wird das Experiment beendet und die entsprechende Maus in Vollnarkose euthanasiert. Zusätzlich zu Standardmaßnahmen der Labortierhaltung wird den Mäusen auch ausreichend Nestbaumaterial und Spielzeug zur Verfügung gestellt.

Da es sich bei der Glomerulonephritis um eine komplexe immunologische Erkrankung handelt, die heutzutage noch nicht durch andere Methoden ersetzt werden kann, verlangt unsere Fragestellung die Durchführung dieser Versuche in der Maus. Bei der Planung des Tierversuches wurde wo immer möglich besonderes Augenmerk darauf gelegt, möglichst wenige Tiere zu verwenden. Dabei wird darauf geachtet, ausreichend statistische Aussagekraft beizubehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind derzeit die zweithäufigste Todesursache in den entwickelten Ländern. Die aktuellen Behandlungsstrategien sind mäßig wirksam und zeigen häufig schwere Nebenwirkungen. Das Ziel dieses Projektes ist es, einen tieferen Einblick in die molekularen Signalwege, die in frühen Stadien der Herz-Kreislauf-Erkrankung aktiviert sind und die die Entwicklung und das Fortschreiten der Erkrankung in der Maus regulieren, zu gewinnen. Diese präklinischen Ergebnisse können dann für die menschliche Krankheit genutzt werden und dienen dem Zweck der Entwicklung neuer, Nebeneffekt-reduzierter Therapien für Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt 96.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Herz-Kreislauf-Krankheiten umfassen eine komplexe Gruppe von Krankheiten, die verschiedene Organe betreffen. Das hämodynamische Wechselspiel zwischen diesen Organen, neurohormonale Aktivierung und der Beitrag der verschiedenen Zelltypen, machen Tierversuche unerlässlich, um diese Krankheiten zu studieren, da keine Alternativen ausser dem Einsatz von Tierversuchen in diesem Bereich veröffentlicht sind. Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu verringern, schlagen wir einen experimentellen Aufbau vor, der die Anzahl der Kontrollgruppe reduziert. Darüber hinaus ist die Anzahl der Tiere pro Gruppe durch die Erhöhung der Anzahl der verschiedenen Parameter, die von einem einzelnen Tier gemessen werden, gesenkt. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und Schmerzfreen Bedingungen gehalten.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Eine Verletzung des Rückenmarks zieht in den allermeisten Fällen eine Reihe von signifikanten Einschränkungen für den jeweilig Betroffenen mit sich. Durch den Fortschritt in der Primärversorgung konnte die Überlebensrate von anfänglich 5% zu Beginn des zweiten Weltkrieges auf heutige 95% ansteigen. Therapeutische Ansätze, die versuchen der komplexen Pathophysiologie kausal entgegenzuwirken, existieren bis dato nicht, sodass die Patienten je nach Lokalisation und Ausmaß der Verletzung mit schwerwiegenden, lebenslangen Folgeschäden zurückbleiben. Der Parenchymverlust mit der konsekutiven Ausbildung zystischer intraspinaler Höhlen -sogenannte Syring -spielt neben der Formierung fibroglialem Narbengewebes, dem Mangel an wachstumsfördernden molekularen Faktoren (neurotrophe Faktoren, Zelladhäsionsmoleküle) und unzureichender (Re-) Myelinisierung eine entscheidende Rolle für die nicht zufrieden stellende strukturelle und funktionelle Wiederherstellung nach Rückenmarksschädigungen. Es ist daher ein vorderdringliches Ziel, ein geeignetes Substrat zu etablieren, welche das zerstörte Rückenmarksparenchym ersetzt und damit die Überbrückung der Syring gewährleistet. Die Zellersatztherapie stellt hier a priori einen vielversprechenden Ansatz dar. Diverse Ansätze fanden bereits Einzug in die klinische Anwendung. Ex vivo prästimuliert Neurale Vorläuferzellen (NPCs: neural progenitor cells) stellen hierbei eine geeignete Zellpopulation zur Transplantation in das läionierte Rückenmarks dar. Die Versuchstiere werden in unserer Versuchsanordnung einer bilateralen Transektion der Hinterstränge unter Vollnarkose unterzogen. Dies führt zu Störungen der Tiefensensibilität und der Feinmotorik. Höhergradige Paresen, Blasen- und Mastdarmstörungen sowie exzessive postoperative Schmerzen sind nicht zu erwarten und werden soweit möglich auch vorgebeugt. Postoperativ wird eine ausreichende Analgesie über eine Woche fortgesetzt und eine Antibiose über den identen Zeitraum eingeleitet. Die Tiere werden des Weiteren diversen motorischen Verhaltensanalysen unterzogen. Keine von diesen ist für das Versuchstier mit Schmerzen oder erhöhten Stressleveln verbunden. Eine geringe Anzahl an Tieren wird pro Gruppe wird einem zweiten Eingriff 7 Wochen nach der Primärläsion unterzogen. Hierbei wird die Ratte beidseitig eine Farblösung in den motorischen Kortex injiziert. Nach weiteren 2 Wochen kann dann im Rahmen der histologischen Auswertung der Regenerationserfolg analysiert werden. Die Versuchstiere erhalten eine entsprechende prä-, peri- und postoperative Versorgung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden 60 Tiere benötigt. Diese sind 45 Fischer 344 Ratten und 15 Mäuse.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Durch das Design des Versuchsaufbaus wurde versucht, die Anzahl der Tiere auf jenes Minimum zu senken, welches noch erlaubt statistisch relevante Aussagen zu treffen. Den Tieren wird zu jedem Zeitpunkt ein ad libido Zugang zu Wasser und Futter gewährleistet. Prä-, peri- und postoperativ wird auf eine ausreichende Analgesie geachtet. Ebenso wird sichergestellt, dass eine zufriedenstellende Narkosetiefe erreicht wird. Die gewählte Anästhesiemischung ist antagonistisierbar. Dies bedeutet, dass unmittelbar nach Beendigung der Operation das Versuchstier wieder aufgeweckt wird. Dieser Schritt dient der Reduzierung der peri- und postoperativen Komplikationen. Nach den Operationen wird eine unmittelbare Analgesie und Infektionsprophylaxe für eine Woche eingeleitet. Die genannten Schritte erfolgen unter veterinärmedizinischer Observanz.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Ziel des Projektes ist die Erhaltung des bereits etablierten transplantablen Xenograftmodells benignen menschlichen Schilddrüsengewebes (Adenom) in der athymischen Nacktratte. Dieses Modell wurde direkt aus nativem Gewebe (frisches chirurgisches Material) gewonnen und reproduziert deswegen sind sämtliche Strukturen und Prozesse viel besser als z.B. Zellkulturen. Das ist für zukünftige experimentelle Untersuchungen menschlicher Schilddrüsenerkrankungen vom großen Nutzen. Den Tieren als Modellträgern entsteht dabei kein wesentlicher Schaden. Die Xenograften werden subkutan am Rücken implantiert, wo sie kaum stören, sie wachsen sehr langsam (unter 1 cm im Durchmesser pro Jahr) und verursachen erfahrungsgemäß kein Schmerzen oder andere Krankheitssymptome. Als Empfänger der Xenograften werden 7 athymische Nacktratten benötigt. Das ist die absolute Mindestzahl, die für sichere Erhaltung des Modells erforderlich ist. Die Implantationen erfolgen unter analgetischer Vorbehandlung und Narkose, auch nach der Implantation werden die Tiere analgetisch versorgt. Anschließend werden sie nur beobachtet, weitere Manipulationen oder Experimente werden nicht durchgeführt. Die Implantationstechnik wurde von uns bereit in Vorversuchen optimiert. So beträgt die durchschnittliche Dauer der Implantation lediglich 7 Minuten und der Narkose 10 Minuten. Die OP-Wunden an Rücken sind sehr klein und heilen innerhalb von wenigen Tagen aus, wobei während dieser Zeit die Tiere kontinuierlich analgetisch versorgt werden. In weiterer Folge weisen die Tiere keine Zeichen des Leidens auf (übliche Gewichtskurven, normale Trinkmenge, keine Änderung des allgemeinen Aussehens oder des Verhaltens). Die Lebensdauer der Tiere mit Xenograften beträgt über 1,5 Jahre, was der normal zu erwartenden Lebensdauer der Nacktratten in der SPF-Haltung entspricht oder diese sogar übertrifft. Zum Wohl der Tiere steht ihnen neben der standardisierten SPF Gruppen-Haltung in IVC-Käfigen Enrichment in Form von Nestpaks und Zellstoff zur Verfügung.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere
7 athymische Nacktratte Foxn 1rnu

Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Im Kontext unseres Modells ist es leider nicht möglich, den Einsatz der Versuchstiere zu vermeiden. Solche *in vivo* Modelle sind heutzutage sowohl für die Grundlagenforschung als auch für translationale Forschung unabkömmlich. Die Anzahl der Versuchstiere wird aber im aktuellen Projekt auf das absolut Nötigste vermindert (zur Kalkulation siehe Abschnitt d.). Hinsichtlich der Verbesserung der Verwendung der Tiere sei erwähnt, dass sämtliche Parameter und Techniken schon während unserer vorigen Versuche optimiert wurden. So beträgt die durchschnittliche Dauer der Implantation lediglich 7 Minuten und der Narkose 10 Minuten. Die OP-Wunden an Rücken sind sehr klein und heilen innerhalb von wenigen Tagen aus, wobei während dieser Zeit die Tiere kontinuierlich analgetisch versorgt werden. In weiterer Folge weisen die Tiere keine Zeichen des Leidens auf (übliche Gewichtskurven, normale Trinkmenge, keine Änderung des allgemeinen Aussehens oder des Verhaltens). Die Lebensdauer der Tiere mit Xenograften beträgt über 1,5 Jahre, was der normal zu erwartenden Lebensdauer der Nacktratten in der SPF-Haltung entspricht oder diese sogar übertrifft. Keine einzige Ratte ist bisher durch das Xenograftwachstum gestorben. Für das Wohl der Tiere wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment, wie Nestbaumaterial in Form von Nestpaks und Zellstoff bereitgestellt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. ANGABEN ÜBER PROJEKTZIELE, EINSCHLIEßLICH ZU ERWARTENDER SCHADEN UND NÜTZEN

Bei 7-10% der Schwangerschaften ist das Wachstum des ungeborenen Kindes verzögert, dies wird klinisch als intrauterine Wachstumsretardierung (IUWR) bezeichnet. Der häufigste Grund dafür ist eine Plazentainsuffizienz, z.B. durch Zigarettenkonsum der Mutter. In vielen Fällen ist der Fötus in der Lage, sich an die mangelnde Blutversorgung anzupassen, indem das Wachstum zurückbleibt, die spontane Aktivität vermindert wird und das Blut zu den lebenswichtigen Organen umverteilt wird, nämlich Lunge und Herz. Die Überlebensrate einer fötalen IUWR hat sich dank Früherkennung durch Ultraschalluntersuchungen des fötalen Kreislaufs verbessert. Trotzdem stellt die IUWR einen Hauptrisikofaktor für die perinatale Mortalität und Langzeit-Morbidität betroffener Kinder dar. Epidemiologische Studien zeigen, dass dies wesentlich mit einer Minderfunktion des Herzens assoziiert ist, und dass IUWR einen starken Prädiktor von Herz-Kreislauf-Erkrankungen im Erwachsenenalter darstellt, indem langfristig die Funktion des Herzens beeinträchtigende Umbauprozesse induziert werden.

Die klinische Forschung hat durch detaillierte Echokardiographie die nicht-invasive Erfassung von Herz-Kreislauf-Veränderungen bei IUWR verbessert. Untersuchungen direkt am Herzen, z.B. durch Herzkatheteruntersuchungen wie bei Erwachsenen und die Probengewinnung durch Biopsien sind aber beim ungeborenen Kind naturgemäß nicht möglich. Wir haben daher ein Tiermodell bei trächtigen Kaninchen entwickelt, welches die IUWR bei Menschen und die für die langfristige Prognose wichtigen Umbauprozesse im Herzen nachstellt. Dieses Modell ermöglicht die Gewinnung von Herzmuskelgeweben, an denen die Mechanismen der Herzschwäche im Detail untersucht werden können. Daraus sollen Behandlungsansätze spezifisch für Kinder abgeleitet werden. Dies ist vor allem deshalb von Bedeutung, da bei Erwachsenen risikofreie Medikamente bei Kindern deutliche Nebenwirkungen haben können.

2. ART UND ANZAHL DER TIERE

16 trächtige weiße Neuseeland Kaninchen, älter als 32 Wochen, weiblich, im Gestationsalter von 25 Tagen; 160 Föten.

3. ERFÜLLUNG DER "3R" (VERMEIDUNG, VERMINDERUNG UND VERFEINERUNG)

Es ist nicht möglich, den komplexen Umbauprozess bei IUWR z.B. in einer Zellkultur nachzustellen. Jedoch ist durch die Versuchsplanung die beantragte Anzahl der Tiere minimiert. Dazu trägt bei, dass aus jedem trächtigen Tier Föten sowohl aus der Kontrollgruppe als auch aus der IUWR gewonnen werden können. Alle chirurgischen Verfahren inklusive der Anästhesie und postoperativen Analgesie sind seit langem etabliert, wodurch ein Leiden der Tiere verhindert und die Regenerationszeit minimiert wird.

In der Eingewöhnungszeit werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an das Tierpflegepersonal und an die Umgebung gewöhnt. Zum Wohl der Tiere sind diese in Gruppen in Bodenhaltung untergebracht, als Enrichment stehen ihnen Heu, Nagehölzer und Höhlen/Häuschen zur Verfügung.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände

1) Endoparasiten stellen weltweit das größte gesundheitliche Problem in der Haltung von weidenden Tieren dar. Der verstärkte Einsatz von Entwurmungsmitteln kann zu einem vermehrten Auftreten von Resistenzen führen. Forschungen der letzten Jahre beschäftigen sich daher mit dem Einsatz von Alternativen, wie zum Beispiel dem Verfüttern von Kräutermischungen. Effektive Mikroorganismen (EM) werden vor allem im Pflanzenbau eingesetzt, zu Parasitenproblemen in der Tierhaltung gibt es nur wenige Untersuchungen. Ein Praxisbericht aus Australien beschreibt eine Reduktion der Eiausscheidung bei Schafen, wobei die EM sowohl auf die Weide aufgebracht, als auch ins Trinkwasser eingemischt wurden. Andere Berichte befassen sich mit dem Verfüttern von EM an Milchkühe. Zur Verfütterung von EM an Schafe gibt es bisher keine Untersuchungen. Ziel dieses Versuches ist es, die Auswirkungen der Zufütterung von EM an Schafe auf klinische, parasitologische und Blutparameter zu evaluieren.

2) Es werden 24 institutseigene Waldschafe für den Versuch verwendet.

3) Replace: Die Auswirkungen einer Zufütterung von EM an Schafe können nur durch einen Fütterungsversuch festgestellt werden, weil die isolierte Betrachtung der Auswirkungen auf einzelne Organsysteme nicht die komplexe Natur des Stoffwechsels und des Parasitengeschehens inkludieren.

Reduce: Der Versuch wird mit 3 Gruppen zu je 8 Tieren durchgeführt. Dies stellt die unterste Tierzahl dar, damit statistisch auswertbare Aussagen gemacht werden können.

Refine: Die Tiere werden gemäß guter landwirtschaftlicher Praxis im Stall gehalten und kommen täglich, soweit es die äußeren klimatischen Umstände zulassen, für 3-6 Stunden auf die Weide.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Zweck des Tierversuchs Angststörungen stellen für die Gesellschaft eine große sozioökonomische Belastung dar. *Angst* ist definiert als ein anhaltender Zustand, der durch eine gesteigerte Vorahnung einer potentiellen Bedrohung charakterisiert ist. *Furcht* hingegen stellt eine kurzzeitige Alarmreaktion, ausgelöst durch eine eindeutig identifizierbare, unmittelbar bevorstehende Bedrohung dar. Durch Modifikation von verschiedenen Neurotransmitter und deren Rezeptoren im zentralen Nervensystems kann emotionales Verhalten entscheidend beeinflusst werden.

Ziel des geplanten Projekts ist die Untersuchung von Neurokininen (peptidgerge Neurotransmitter) in der Amygdala, einer Gehirnregion die eng mit emotionalem Verhalten assoziiert ist.

Dazu stehen uns transgene Mäuse, und entsprechende virale Vektoren zur Verfügung, mit deren Hilfe bestimmte Neurone während der Durchführung von Verhaltenstest untersucht werden können. Wir wollen vor allem den Einfluss dieser Neuronengruppe in der Modulation von Angst, Furcht und der Extinktion von Furcht untersuchen. Dies wird wertvolle Hinweise auf deren Funktion und letztendlich der Transmittersysteme selbst liefern und so neue Therapiekonzepte für Angst und Depressionserkrankungen aufzeigen.

Die dabei zugrundeliegenden Verhaltensanalysen stellen für die Tiere eine kurzzeitige milde Belastung dar. Es werden standardisierte Verhaltenstests, wie zum Beispiel "Elevated plus maze", "Light dark test" und "Open field test" angewandt. Dabei besteht immer die Auswahl zwischen einem sicheren (z. B. geschützte Kammer) und einem unsicheren Ort (z. B. offene Kammer), wobei die Aufenthaltsdauer im jeweiligen Bereich als Maß für das Angstverhalten herangezogen wird. Angstkonditionierungstests andererseits stellen eine kurzzeitige mittlere Belastung dar und beruhen auf dem Prinzip der Assoziation zwischen einem neutralen Stimulus und einem aversiven Stimulus (Luftstoß, milder elektrischer Reiz). Diese Untersuchungen sind sowohl im Tiermodell als auch für menschlichen Probanden gleichermaßen standardisiert. Dabei kommt es zu einem Erschrecken durch eine elektrische Stimulierung, jedoch zu keinen Schmerzzuständen. Es ist mit keinerlei Verletzungen bzw. Folgeschäden zu rechnen. Dies ist auch im Sinne der darauffolgenden Furcht Extinktion (=Verlernen der Angst), die durch Präsentation des Tons alleine erreicht wird unbedingt zu vermeiden.

Art und Anzahl der beteiligten Versuchstiere

Da das Hauptziel der Untersuchungen die Erforschung neuer Behandlungsmöglichkeiten für Angststörungen ist, können die Versuche nicht an Zellkulturen oder *in vitro* durchgeführt werden, bauen jedoch auf solchen Untersuchungen auf. Pro Versuchsreihe wird eine Gruppengröße von 10-15 Tieren angestrebt. Da hierbei Veränderungen im Verhalten der Tiere beobachtet werden sollen ist diese Anzahl für die nachfolgende statistische Auswertung nötig, jedoch bereits sehr niedrig angesetzt. Es sind bis zu maximal 5 Versuchsreihen (mit jeweils mehreren Gruppen) innerhalb eines Zeitraums von 2 Jahren geplant, wobei hier eine Maximalanzahl von 314 Mäusen veranschlagt wird. Die Versuche sind jedoch so konzipiert, dass sie aufeinander aufbauen und deshalb erfahrungsgemäß die Anzahl der beantragten Tiere deutlich unterschritten werden wird.

Ziel des Projekts ist die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen. Der Versuch bedingt keine Operationen. Die Belastung der 2840 eingesetzten Mäuse wird als gering eingestuft. Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter Umgebung gehalten. Dem 3R-Konzept wird durch die Verwendung verschiedener in vitro-Versuche im Vorfeld und geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere Rechnung getragen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Zucht gentechnisch veränderter Mausmodelle

Die Fettleibigkeit oder Adipositas stellt in westlichen Gesellschaften ein enormes gesundheitliches Problem dar und die Tendenz ist stark steigend. Auch in Österreich hat die Zahl in den letzten Jahren stark zugenommen und es sind immer mehr Kinder und Jugendliche betroffen. Abgesehen von der gesellschaftlichen Stigmatisierung bei der Fettleibigkeit oft mit Schwäche assoziiert wird, birgt die Adipositas ein hohes Risiko an Typ 2 Diabetes zu erkranken. Auch das Risiko von schweren Herz-Kreislaufkrankungen, Leberverfettung sowie einigen Krebserkrankungen steigt durch die Adipositas markant an. Genetische Untersuchungen haben gezeigt, dass die Gene bei der Entstehung von Fettleibigkeit und den damit assoziierten Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielen. Zum Beispiel wird die Körpergröße mit einer ähnlichen Wahrscheinlichkeit wie das Körpergewicht von den Eltern auf die Kinder übertragen. Natürlich spielen Psycho-soziale Komponenten ebenfalls eine bedeutende Rolle.

Im vorliegenden Projekt wird angesucht, verschiedene Mausmodelle mit dem Verlust („Knock-out Mäuse) oder erhöhter Bildung von Fett-abbauenden Enzymen oder Ko-Faktoren die den Fettabbau regulieren (sog. Transgene Mäuse), zu züchten. Der Generierung dieser Mausmodelle sind mannigfache Experimente in der Zellkultur vorausgegangen, und es wurden jene Gene in der Maus gentechnisch deletiert oder überexprimiert, die im Zellkulturexperiment markante Veränderungen im Fettabbau zeigten. Da der Fettabbau durch das Zusammenspiel mehrerer Organe reguliert wird, sind die gewonnenen Daten aus Zellkulturexperimenten nicht auf den gesamten Organismus zu übertragen. Zum Beispiel wird der Appetit durch eine Kommunikation zwischen Fettgewebe und Gehirn bzw. dem Hypothalamus reguliert. Die Leber hat die Aufgabe, dass mit der Nahrung aufgenommene Fett an verschiedene Organe wie das Fett- und Muskelgewebe, zu verteilen. Änderungen bzw. Mutationen in den Genen die den Fettabbau durchführen oder regulieren, können die Entstehung der Fettleibigkeit verursachen, wobei es zur Verfettung mehrerer Organe führen kann, einschließlich dem Herzen und der Leber. Als Beispiel soll die Herstellung und Charakterisierung von Mäusen mit Verlust der sog. „Adipose triglyceride lipase“ (ATGL) erwähnt werden. Basierend auf den phänotypischen Veränderungen dieses Mausmodells wurde analysiert, ob Menschen mit Mutationen im ATGL Gen ebenfalls eine Herzverfettung entwickeln. Menschen mit einem Defekt der ATGL Funktion entwickeln im Alter von 30 Jahren eine schwere Herzverfettung welche in den meisten Fällen eine Herztransplantation erfordert. Im ATGL-defizienten Mausmodell konnte die Ursache, die zur Herzverfettung führt, auf molekularer Ebene aufgeklärt werden und lieferte dadurch eine mögliche Therapie zur Behandlung von Menschen mit Veränderungen im ATGL Gen. Im Mausmodell konnte eine mögliche Therapie getestet werden und die diätische Abgabe eines bestimmten Agonisten konnte die Herzverfettung in Mäusen rückgängig machen und die Herzfunktion wieder herstellen. Basierend auf dieser Studie wurden Menschen mit einem bereits genehmigten Agonisten behandelt, welcher die Herzfunktion dieser Patienten verbesserte.

Im eingereichten Antrag wurde angesucht, Mausmodelle mit Verlust oder Überexpression verschiedener Fettabbauender Proteine (Lipasen) oder regulatorischer Proteine (Ko-Faktoren) zu generieren. Wir haben in diesem Projektantrag um die Generierung von insgesamt 2304 Mäusen angesucht. Davon gelten 449 Mäuse durch die genetische Veränderung als gering (oder vorläufig gering) belastet. Jedoch sind die gesamten Tiere durch eine Schwanzspitzenbiopsie (ca. 2mm der Schwanzspitze im Alter von 2-3 Wochen) gering belastet. Die Schwanzspitzenbiopsie mit nachfolgender Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist die gängigste und sicherste Methode für die eindeutige Zuordnung des Genotyps. Eine alternative Methode zur Gewinnung von Proben (Ohrstanze) für die Genotypisierung wird getestet.

Selbstverständlich versuchen wir Stress und Anzahl der Tiere zu minimieren. Außerdem wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum

beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment ab und liegt im Normalfall zwischen 3 und 10 Tieren.

Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet, sodass die Leiden der eingesetzten Versuchstiere stark vermindert werden und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewonnen werden können. Durch die gewissenhafte Planung der Versuchsreihe können die Mauszahlen ebenfalls reduziert werden, da Experimente nicht wiederholt werden müssen.

Nichttechnische Projektzusammenfassung

„Behandlung von transgenen alpha-Synuclein (PDGF) Mäusen zur Etablierung eines Medikaments gegen die Parkinson Krankheit“

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen transgene Parkinson Mäuse intraperitoneal bzw. oral mit je zwei alpha-Synuclein Phosphorylationshemmern, small molecules bzw. Anti-alpha-Synuclein Antikörpern behandelt werden. Die Tiere werden teilweise im Nest Building Test charakterisiert und in der Antikörperstudie wird einmalig Blut über die Vena facialis entnommen. Im Anschluss an die Behandlungen und den Verhaltenstest werden die Tiere euthanasiert um Blut, Gehirnlüssigkeit und Gehirn zu gewinnen. Durch die Behandlung mit den unterschiedlichen Substanzen sollen die Symptome der Parkinson Erkrankung, wie z.B. motorische Defizite und die alpha-Synuclein Hirnpathologie verringert werden. Durch diese Studien soll es möglich sein ein neues Arzneimittel gegen die Parkinson Erkrankung zu entwickeln.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Parkinson Krankheit ist eine langsame fortschreitende neurologische Erkrankung. Die Erkrankung beginnt meist zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr. Die Krankheit zeichnet sich durch allgemeine Bewegungsstörungen-bzw. Bewegungsarmut aus. Sie macht sich bei allen Bewegungen bemerkbar. Neben diesen Symptomen kann es auch zu psychischen Störungen und vegetativen Veränderungen kommen. Trotz Kenntnis der Symptomatik von PD sind die Krankheitsmechanismen noch weitgehend unverstanden. Daher ist es nicht möglich, den Ausbruch der Krankheit zu verhindern oder den Zelltod zu verlangsamen bzw. zu stoppen. Die Krankheit ist somit noch nicht heilbar.

Die Mäuse, die für dieses Projekt verwendet werden sind genetisch verändert. Die Tiere zeigen keine lebens einschränkende Symptome und die motorischen Defizite können nur in speziellen Verhaltenstest erkannt werden.

Die Tiere erfahren in diesem Projekt nur eine geringe Beeinträchtigung und keine Schmerzen. Da es noch keine effizienten Therapiemöglichkeiten gegen die Parkinson Erkrankung gibt, soll durch dieses Projekt ein neues Medikament gegen die Parkinson Erkrankung entwickelt werden.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 350 transgene Parkinson Mäuse und 80 nicht transgene Mäuse beantragt.

Nachweis über die Erfüllung der Anforderung von Vermeidung, Verminderung und Verbesserung:

Um die Parkinsonerkrankung erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Nur durch die Verwendung von Parkinsonmäusen kann es möglich sein, neue und effiziente Medikamente gegen die Parkinson Erkrankung zu testen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Fettleibigkeit, Diabetes und Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen in westlichen Zivilisationen Massenerkrankungen dar. In Westeuropa sind mehr als 50% der Bevölkerung übergewichtig und mit ca. 15 Mio. Todesfällen pro Jahr sterben ungefähr doppelt so viele Menschen weltweit an Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie Herzinfarkt und Gehirnschlag als an Krebs. All diesen Erkrankungen liegen unter anderem Fettstoffwechselstörungen zugrunde, die zur massiven Einlagerung von Fetten in Körperzellen und zur Ablagerung von Cholesterin in der Arterienwand führen.

Fette dienen dem Körper nicht nur als Langzeitspeicher von Energie, sie sind auch wichtige Botenstoffe und Signalmoleküle im Körper. Deshalb wird Fett nicht nur im Fettgewebe, sondern zu einem kleinen Teil in fast allen Körperzellen gespeichert. Um gespeichertes Fett zu mobilisieren, besitzt der Körper spezielle fettspaltende Enzyme, sogenannte Lipasen. Jede Lipase ist für einen ganz bestimmten Schritt im Abbau verantwortlich. Der Körper besitzt ein äußerst kompliziertes Steuerungs- und Regelsystem, mit dem er jeden einzelnen Zellprozess sehr fein abstimmen kann.

Zur Untersuchung des Energie- und Fettstoffwechsels werden neben Zellkulturexperimenten auch Modellorganismen herangezogen, wie z.B. Würmer, Insekten oder Fische. Jedoch können diese Modelle häufig nicht direkt mit einem Säugetier verglichen werden. Daher werden in der Forschung nach wie vor Mausmodelle hergestellt und untersucht. Die Maus hat einen komplexen Organismus und der weist Stoffwechselmechanismen auf, welche in allen Säugetieren ident sind. Dadurch können wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, die Ansatzpunkte für die Prävention und Behandlung von Krankheiten bieten. Wir sind an der biologischen Charakterisierung von Enzymen interessiert, die den Abbau von Lipiden in Säugerzellen katalysieren. Diese lipolytischen Enzyme spielen eine wichtige Rolle in vielen biologischen und pathologischen Prozessen, da sie die Verfügbarkeit von Lipiden sowohl für die zelluläre Energieproduktion, als auch für Synthese- und Signaltransduktionsreaktionen kontrollieren. Es existieren zahlreiche genetische Erkrankungen, die einen Defekt im Phospholipid-, Triglyzerid-, oder Cholesterinester-Abbau aufweisen. Darüber hinaus können Veränderungen von lipolytischen Aktivitäten auch die Entstehung von häufig vorkommenden Stoffwechselerkrankungen beeinflussen, wie z.B. Fettleibigkeit, Dyslipidämien, Typ 2 Diabetes, Atherosklerose, und auch Tumor-induzierte Kachexie. Dennoch sind viele Lipasen unzureichend charakterisiert oder unentdeckt. Ziel unserer Forschung ist es neue Lipasen zu identifizieren und deren biologische Funktion mithilfe von biochemischen, zell- und molekularbiologischen Methoden zu erklären. Um die Funktion von einem Enzym in einem komplexen Organismus zu verstehen, sind jedoch Tierversuche unumgänglich.

Wir haben in diesem Tierversuchsantrag um die Züchtung und Genotypisierung von insgesamt 5.600 Mäusen und vier Kaninchen angesucht, die von vier Arbeitsgruppen verwendet werden.

Selbstverständlich versuchen wir Stress und Anzahl der Tiere zu minimieren. Entsprechend internationalen Standards werden Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus. Der Tierversuch wird ausschließlich als Proof-of-Principle Experiment gesehen, das eine aus in vitro Experimenten entstandene Hypothese bestätigt oder verwirft. Auch in der Lehre werden nur tierversuchsfreie Verfahren eingesetzt.

Außerdem wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment und liegt im Normalfall zwischen 3 und 10 Tieren.

Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet, sodass die Leiden der eingesetzten Versuchstiere stark vermindert werden und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewonnen werden können.

Nichttechnische Projektzusammenfassung

„Evaluierung eines HSP70 Protein Agonisten in wildtyp Mäusen“

Ziel: Für diese Studie werden wildtyp Mäuse im Alter von 3 Monaten einmalig mit einer Testsubstanz oder einer Kontrollsubstanz behandelt. Die Tiere werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Behandlung euthanasiert und Blut, Gehirne und Zerebrospinalflüssigkeit werden zur biochemischen Untersuchung und zur Konzentrationsbestimmung des HSP70 entnommen.

Schaden und Nutzenabklärung: Alzheimer ist eine neurodegenerative Erkrankung, die in ihrer häufigsten Form bei Personen über dem 65. Lebensjahr auftritt und für ungefähr 60% der weltweit etwa 24 Millionen Demenzerkrankungen verantwortlich ist. Sie ist durch eine zunehmende Verschlechterung der Leistungsfähigkeit charakterisiert, außerdem geht sie mit Verhaltensauffälligkeit und neuropsychologischen Symptomen einher. Aufgrund der Häufigkeit des Auftretens und der Schwere der Erkrankung, ist es notwendig neue Medikamente zu entwickeln, die ein Voranschreiten der Krankheit verhindern.

Der Schweregrad des Tierversuches wird als „gering“ eingestuft, da die Tiere nur einmalig intraperitoneal behandelt werden und im Anschluss daran zu unterschiedlichen Zeitpunkten euthanasiert werden. Die Konzentration und Anreicherung des HSP70, das durch die Testsubstanz gefördert werden soll, soll im Blut, Zerebrospinalflüssigkeit und in den Hirnrealen analysiert werden. Da die Substanz einen positiven und protektiven Effekt auf das TAU Protein hat, könnte sie in einem weiteren Schritt bei genetisch veränderten Alzheimer Mäusen ausgetestet werden. Dadurch soll es in naher Zukunft möglich sein, neue und effiziente Medikamente gegen die Alzheimer Krankheit auf den Markt zu bringen.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden insgesamt 156 wildtyp Tiere beantragt.

Nachweis über die Erfüllung der Anforderung von Vermeidung, Verminderung und Verbesserung:

Um die Alzheimer Krankheit erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Testsubstanzen müssen Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Zucht transgener Mäuse

Fettleibigkeit/Adipositas stellt in der heutigen Gesellschaft ein enormes gesundheitliches aber auch ökonomisches Problem dar und die Tendenz ist stark steigend. In Österreich ist die Zahl der fettleibigen Jugendlichen stark zunehmend und jene der fettleibigen Erwachsenen stetig zunehmend. Abgesehen von der gesellschaftlichen Stigmatisierung bei der Fettleibigkeit oft mit Schwäche assoziiert wird, birgt die Adipositas ein hohes Risiko an Typ 2 Diabetes zu erkranken. Auch das Risiko von schweren Herz-Kreislaufkrankungen, Leberverfettung sowie einigen Krebserkrankungen steigt durch die Adipositas markant an. Genetische Untersuchungen haben gezeigt, dass Gene bei der Entstehung von Fettleibigkeit und den damit assoziierten Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielen. Bereits 40-70% sollen genetisch bedingt sein. Natürlich spielen auch Ernährung, sowie psychosoziale Komponenten eine bedeutende Rolle.

Ein Schwerpunkt dieser Forschung besteht in der Charakterisierung genetisch veränderter Mausmodelle.

2. Art und Anzahl der Tiere

200

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Im vorliegenden Projekt wird angestrebt, verschiedene Mausmodelle mit dem Verlust ("Knock-out" Mäuse) oder erhöhter Bildung (sog. Transgene Mäuse) von Fett- und Glukosestoffwechsel beeinflussenden Genen zu züchten. Der Generierung dieser Mausmodelle sind sehr viele Experimente in der Zellkultur vorausgegangen, und es wurden nur jene Gene in der Maus gentechnisch deletiert oder überexprimiert, die im Zellkulturexperiment markante Veränderungen im Lipidaufbau oder -abbau zeigten. Da der Energiemetabolismus in vivo durch das Zusammenspiel mehrerer Organe reguliert wird, sind die gewonnenen Daten aus Zellkulturexperimenten nicht auf den gesamten Organismus zu übertragen. Zum Beispiel wird Hunger/Sättigung durch eine Kommunikation zwischen Fettgewebe und Gehirn reguliert. Änderungen bzw. Mutationen in den Genen die die Fettzellentwicklung regulieren, können die Entstehung der Fettleibigkeit verursachen, wobei es zur Verfettung mehrerer Organe führen kann. Im Mausmodell konnte eine mögliche Therapie getestet werden. Wir haben in diesem Tierversuchsantrag um die Generierung von insgesamt 200 gentechnisch veränderten Mäusen angestrebt. Selbstverständlich versuchen wir Stress und Anzahl der Tiere zu minimieren. Außerdem wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment ab und liegt im Normalfall zwischen 3 und 8 Tieren. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet, sodass die Leiden der eingesetzten Versuchstiere stark vermindert werden und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewonnen werden können. Durch die gewissenhafte Planung der Versuchsreihe können die Mäusezahlen ebenfalls reduziert werden, da Experimente nicht wiederholt werden müssen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Adipositas ist ein Hauptrisikofaktor für zahlreiche Erkrankungen, wie Diabetes, Fettleber, Arteriosklerose, Bluthochdruck, Schlaganfall und bestimmte Krebsformen. Weltweit sind derzeit mehr als 1,5 Milliarden Menschen übergewichtig, davon mehr als 300 Millionen fettleibig (WHO, 2012). Adipositas ist dadurch zu einer der größten Herausforderungen für nahezu alle Gesundheitssysteme der Welt geworden.

Ziel des Tierversuches mit dem Titel „Metabolische Rolle der Hämoxxygenase-1 in Leberzellen – Einfluss auf Adipositas und Diabetes“ ist es, neue Therapieansätze für die Behandlung von Adipositas und Typ 2 Diabetes zu identifizieren. Dem Enzym Hämoxxygenase-1 (HO-1) wird eine große Bedeutung als Schutzfaktor mit zahlreichen anti-inflammatorischen Eigenschaften zugeschrieben. Interessanterweise konnten Studien auch zeigen, dass eine mit Chemikalien erzielte systemische HO-1 Aktivierung Adipositas und Diabetes in Mäusen und Ratten bessern kann. Diese Daten lassen vermuten, dass HO-1 eine wichtige Rolle im Sauerstoffwechsel spielen könnte. Im Gegensatz dazu zeigen rezente Daten die mit einem Leber-Irs1/Irs2 Doppelknockout-Mausmodell erzielt wurden, dass erhöhte HO-1 Spiegel sich nachteilig auf die Funktion der Leberzellen auswirken. Insgesamt gesehen sind die gegenwärtig verfügbaren Daten also sehr widersprüchlich. Alle bisher durchgeführten Studien haben aber schwere Limitationen: (i) die systemische (i.e. nicht organ-/zelltyp-spezifische) und (ii) die nicht HO-1 spezifische Wirkung der verwendeten Chemikalien; sowie (iii) die hohe Wahrscheinlichkeit der Aktivierung oder Inhibierung zusätzlicher Gene und Signalwege im Irs1/Irs2 Doppelknockout-Mausmodell.

Im vorgelegten Tierversuch planen wir, mit einem konditionalen Mausmodell das Gen HO-1 gezielt in den Leberzellen der Maus auszuschalten. Dadurch wird es erstmals möglich, die (patho)physiologische Rolle des Moleküls in der Entstehung von Adipositas, Typ 2 Diabetes sowie der Fettleber zu verstehen. Von diesem besseren Verständnis erwarten wir uns als Nutzen des Tierversuches im besten Fall auch Grundlagen für die Entwicklung neuer Medikamente zur Behandlung dieser stark zunehmenden Krankheitsbilder. Der Tierversuch bedingt keine Operationen oder länger anhaltende Schmerzen. Die Belastung der Mäuse ist als „gering“ einzustufen.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Als Versuchstiere werden insgesamt maximal 104 genetisch manipulierte Mäuse eingesetzt. Die Mäuse der Versuchsgruppen werden durch Kreuzung des konditionalen HO-1^{f/f} Stammes mit einer Albumin-Cre Mauslinie gezüchtet. Zur Züchtung der 104 männlichen experimentellen Tiere werden statistisch 416 Nachkommen benötigt. Da es zu einer leicht abweichenden Verteilung der Geschlechter und Genotypen bei den Nachkommen kommen kann, werden für das Projekt 500 Mäuse veranschlagt.

Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Vermeidung - Replacement

Ziel der Studie ist es, den Einfluss der Leberzell-Hämoxxygenase auf Adipositas und Diabetes zu studieren. Im Tierreich ist die Hämoxxygenase-1 nur bei Plazentatieren zu finden. Mäuse sind die am niedrigsten entwickelten Tiere, an denen daher die geplanten Versuche vorgenommen werden können. Nur im Gesamtorganismus bestehen die komplexen zellulären und molekularen Signal-Netzwerke, welche die Homöostase des Energiestoffwechsels positiv bzw. negativ beeinflussen. Somit können komplexe Stoffwechselvorgänge des menschlichen Körpers wie Typ 2 Diabetes nur in einem intakten Wirbeltierorganismus simuliert werden, und Zellkulturen das Mausmodell nicht ersetzen. Daher existieren für den vorgelegten Tierversuch keine alternativen experimentellen Ansätze.

Verminderung – Reduction

Um die Variabilität der Ergebnisse möglichst gering zu halten, werden alle Versuche standardisiert durchgeführt. Diese Vorgangsweise garantiert nicht nur eine internationale wissenschaftliche

Vergleichbarkeit, sondern ermöglicht auch eine Reduktion der Anzahl benötigter Mäuse. Unterstützt von der Verwendung geeigneter statistischer Methoden hilft diese Vorgangsweise - unter Einhaltung der gebotenen wissenschaftlichen Sorgfalt - die Anzahl der benötigten Tiere möglichst gering zu halten. Wo immer möglich ist die Verwendung von Zell-Kultursystemen geplant, um die in vivo Effekte auf zellulärer Ebene zu validieren.

Verbesserung – Refinement

Die Versuche werden unter möglichst stressfreien Bedingungen durchgeführt. Eine soziale Anreicherung der Umgebung, Nagehölzer, die Betreuung durch „bekannte“ Gesichter sowie die Sicherstellung einer möglichst vertrauten Umgebung (Geräusche, Gerüche, Licht, Luftfeuchtigkeit) sollen Dystress jeglicher Art möglichst vermeiden helfen. Damit einher gehen auch eine deutlich niedrigere Varianz der Ergebnisse, eine erhöhte Qualität und somit auch eine Reduzierung der Anzahl benötigter Versuchstiere.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Adipositas, eine komplexe Stoffwechselerkrankung, ist aufgrund der steigenden Prävalenz Gegenstand intensiver Forschungsprojekte. Präklinische Studien haben gezeigt, dass die Aktivierung von braunem Fettgewebe durch Wärmeentwicklung (Thermogenese) den Energieumsatz steigern und somit Adipositas entgegenwirken kann. Braunes Fettgewebe ist eine spezielle Form des Fettgewebes, dessen Zellen eine Vielzahl an uncoupling Protein 1 (UCP-1) positiver Mitochondrien besitzen und somit in der Lage ist, durch Entkopplung der Atmungskette von der Adenosintriphosphat (ATP)-Synthese, Wärme zu produzieren (Thermogenese). Obwohl aktives braunes Fett in Erwachsenen nachgewiesen wurde, existieren derzeit noch keine pharmakologischen Strategien um braune Fettgewebsaktivität therapeutisch zu nutzen. Deshalb ist es von essentieller Bedeutung die molekularen Mechanismen, welche zu einer chronischen Aktivierung von braunem Fett führen, aufzuklären. Seit kurzem ist bekannt, dass der Vitamin A Stoffwechsel ein wichtiger Regulator des Energiehaushaltes durch Effekte auf Leber, weißes Fettgewebe und möglicherweise auch braunes Fettgewebe ist. Vitamin A wird hauptsächlich in der Leber gespeichert und kann je nach Bedarf zu den jeweiligen Zielorganen transportiert werden. Die spezifische physiologische Rolle des Vitamin A Stoffwechsels in der Aktivierung von braunem Fettgewebe und der adaptiven Thermogenese ist derzeit jedoch noch nicht bekannt. Folglich ist es von großer Bedeutung die Rolle von Retinoiden in der Regulation von thermogenen Prozessen zu studieren um damit neue therapeutische Targets für eine mögliche Behandlung von Adipositas und den damit assoziierten Erkrankungen zu identifizieren. Basierend auf vorläufigen Daten aus unserem Labor in Kombination mit wissenschaftlichen Publikationen anderer Forscher, stellen wir die Hypothese auf, dass endogene Retinoide thermogene Prozesse in braunem Fett induzieren und die Leber, als thermogenes Reservoir, einen großen Stellenwert in der Aktivierung von braunem Fett einnimmt Zur Beantwortung folgender Fragestellungen (A) die Bedeutung des Retinoidstoffwechsels für die Thermogenese in braunem Fett, (B) die Regulierung des Retinoidstoffwechsels als Reaktion auf einen adrenergen Stimulus und (C) die Rolle der Leber in der adaptiven Thermogenese, sind Versuche am Tier unverzichtbar. Die daraus resultierenden Ergebnisse könnten somit maßgeblich zur Entwicklung neuer pharmakologischer Strategien für die Behandlung von Adipositas beitragen.

Insgesamt werden 756 Mäuse als Versuchstiere unterschiedlichen Genotyps benötigt (Teil A: 126 C57BL/6J Mäuse, 64 129/Sv x C57BL/6J Mäuse, 69 129/Sv x C57BL/6J-Rbp^{-/-} Mäuse und 37 129/Sv x C57BL/6J-Lrat^{-/-}/Rbp^{-/-}; Teil B: 170 C57BL/6J Mäuse und 60 Tg(RARE-Hspa1b/lacZ)12Jrt/J (RARE-LacZ) Mäuse; Teil C: 190 C57BL/6J und 40 Tg(RARE-Hspa1b/lacZ)12Jrt/J (RARE-LacZ) Mäuse).

In dem Projekt werden sehr gut etablierte und international akzeptierte Mausmodelle verwendet und es werden alle Anforderungen zu Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen berücksichtigt. **Vermeidung:** Wenn möglich, werden *in vitro* Versuche durchgeführt. Daher konnte zur Beantwortung einiger Fragestellungen unseres Projektes eine relative Replacement Strategie mit isolierten Hepatozyten, Kupffer'schen Sternzellen sowie braunen Adipozyten für mechanistische Studien gewählt werden. **Verminderung:** Durch ein adäquates Studiendesign wurde die minimale Anzahl an Versuchstieren zur Testung der jeweiligen Hypothesen mit statistisch signifikanter Aussagekraft, mit Hilfe des Java basierten *Sample Size Calculator*

berechnet. Des Weiteren wird großer

Wert auf standardisierte Haltungs- und Versuchsbedingungen gelegt um eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse zu erzielen. **Verbesserung:** Durch die Verwendung von geeigneten Anästhetika und Analgetika werden Schmerzen und Leid der Versuchstiere vermindert.

Der beantragte Tierversuch dient dem Zweck die neurobiologischen Grundlagen der Wahrnehmung untersuchen zu können. In speziellen soll hierbei der Einfluss des Lernens auf die Repräsentationen von Tönen in Form von neuronalen Aktivitätsmustern untersucht werden.

Im weiteren sollen optogenetische Stimulationstechniken benutzt werden um die essentiellen Elemente neuronaler Aktivitätsmuster zu identifizieren, die der Wahrnehmung von Tönen zugrundeliegen. Zu diesem Zweck werden Labormäuse in einer auditorischen Unterscheidungsaufgabe trainiert um die subjektive Wahrnehmung von Tönen im Verhalten messen zu können. Gleichzeitig sollen mit mikroskopischen Methoden neuronale Aktivitätsmuster gemessen oder induziert werden.

Daher ist ein operativer Eingriff erforderlich, der einen optischen Zugang zum auditorischen Kortex zu ermöglicht. Um mögliche Schmerzen durch den Eingriff für das Versuchstier zu vermeiden wird eine bewährte Kombination von Anästhetika und Analgetika angewendet. Des Weiteren werden im Versuchsablauf begleitende Auswertungen angewendet um biologische Effekte mit einer minimalen Gruppengröße, die eine statistisch solide Aussage ermöglicht, zu detektieren. Somit wird die Anzahl der Versuchstiere so klein wie möglich gehalten. In Summe wird eine maximale Anzahl von 1800 Labormäusen (C57/Bl6 und transgen) auf eine Laufdauer von drei Jahren beantragt.

Mit den beantragten Tierversuchen können fundamentale Erkenntnisse zu den Prozessen der auditorischen Wahrnehmung gewonnen werden und somit Grundlagen geschaffen werden für die Entwicklung von Behandlungsmöglichkeiten von sensorischen Fehlleistungen wie sie in Kontext des Tinnitus syndroms oder psychotischer Erkrankungen beobachtet werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Zucht von PPAR α -Knockout Mäusen. In diabetischen Schwangerschaften scheint eine Störung des Lipidstoffwechsels neben der Hyperglykämie eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der zahlreichen Komplikationen zu spielen. Der Peroxisomen Proliferator Activator Rezeptor α (PPAR α) spielt im Lipidstoffwechsel eine zentrale und entscheidende Rolle. Ein Schwerpunkt dieses Projektes besteht daher in der Charakterisierung der Rolle von PPAR α in der diabetischen Schwangerschaft, deren Zucht den Inhalt dieses Projektes darstellt.

2. Art und Anzahl der Tiere

200

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus stehen bzw. die in vivo Situation darstellen, sind knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Entzündungen gehören zu den häufigsten Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts, der ständig einer Bedrohung durch krank machende Mikroorganismen und giftige Substanzen in der Nahrung ausgesetzt ist. Studien haben gezeigt, dass Darmentzündungen mit Schmerz, erhöhter Schmerzempfindlichkeit und psychischen Störungen verbunden sind. Obwohl dieser Zusammenhang auf präklinischen und klinischen Beobachtungen beruht, sind die genauen Mechanismen der Wechselwirkung zwischen Darm und Gehirn nur unzureichend bekannt. Es wird jedoch vermutet, dass die wechselseitige Kommunikation zwischen Darm und Gehirn über Nerven, Hormone und Entzündungsmediatoren erfolgt. Die Wechselwirkung zwischen Darm und Gehirn ist deshalb ein wichtiges Forschungsgebiet der Neurogastroenterologie, von der neue Impulse für das Verständnis und die Therapie entzündungsbedingter psychischer Störungen erwartet werden.

Jüngst wurde postuliert, dass eine krankhaft erhöhte Durchlässigkeit der Darmschleimhaut im Zuge einer chronischen Darmentzündung zur Entwicklung von chronischem Erschöpfungssyndrom und Depression beiträgt. Diese Hypothese basiert auf der Annahme, dass durch eine durchlässige Darmschleimhaut vermehrt Bakterien in die Darmwand eindringen können, was zunächst zu einer lokalen Entzündung führt und in weiterer Folge über Entzündungsmediatoren in der Blutbahn krankhafte Prozesse im Gehirn auslöst. Depression liegt auch häufig zusammen mit dem Reizdarmsyndrom vor und geht oft mit einer Aktivierung des Immunsystems und einer geringgradigen Entzündung im Darm einher. Außerdem ist die Zusammensetzung der Mikroorganismen im Darm krankhaft verändert.

Der Antragsteller hat schon in vorangegangenen Projekten wichtige Beiträge zur Thematik der Darm-Gehirn-Kommunikation erarbeitet und will im vorliegenden Projekt neue kausale Zusammenhänge der Wechselwirkung zwischen Darm und Gehirn aufdecken. Die Anzahl der bestehenden Erkrankungen von funktionellen Magen- und Darmerkrankungen, wie sie das Reizdarmsyndrom darstellt, und psychischen Störungen wie Depression, chronischem Erschöpfungssyndrom und Burn-Out-Syndrom ist im Zunehmen. Die begrenzten Therapiemöglichkeiten bei vielen dieser Syndrome unterstreichen den dringenden Forschungsbedarf, der in diesem Bereich besteht. Es gilt insbesondere aufzuklären, wie denn eine Entzündung im Bauchraum psychische Vorgänge beeinflussen kann und wie man psychische Veränderungen, die durch eine Darmentzündung ausgelöst werden, verhindern oder behandeln kann.

Im vorliegenden Projekt werden daher Verhaltensstörungen (Ängstlichkeit, verringerte Motivation, depressives Verhalten) nach experimenteller Auslösung einer geringgradigen Darmentzündung oder nach kurzzeitigem psychischem Stress untersucht. Unter diesen Versuchsbedingungen werden die Kommunikationswege zwischen dem Bauchraum und dem Gehirn untersucht. Nachdem es für das Verständnis der Kommunikation zwischen Darm und Gehirn neben molekularen Fragestellungen immer um die Wechselwirkung zwischen zwei komplexen Organsystemen (dem Darm und dem Gehirn) geht und dies nicht mit anderen wissenschaftlichen Methoden untersucht werden kann, ist für die Projektarbeit der Tierversuch unverzichtbar. Daher werden für das vorliegende Projekt, Mäuse des Stamms C57BL/6 verwendet. Bei allen Versuchen wird auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet, und die Versuchstiere werden hinsichtlich ihres Gesundheitszustandes ständig überwacht. Aufgrund dieses Versuchsaufbaus sollte ein größtmöglicher wissenschaftlicher Nutzen bei möglichst geringer Belastung der Versuchstiere erzielt werden. Außerdem wurde großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Unter diesem Gesichtspunkt werden für 7 verschiedene Versuchsreihen lediglich 305 Tiere veranschlagt. In dieser Versuchsplanung fanden die 113R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) größtmögliche Berücksichtigung.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das hepatozelluläre Karzinom (HCC) ist der häufigste primäre maligne Lebertumor und das dritthäufigste Karzinom weltweit. Neben Virus-induziertem HCC nehmen auf Steatohepatitis (SH) beruhende Lebertumoren an Bedeutung zu. SH ist morphologisch durch entzündliche Veränderungen in einer Fettleber, Ballooning von Hepatozyten, das Auftreten von Aggregaten im Zytoplasma von Hepatozyten, den sogenannten Mallory-Denk-Körpern (MDBs) und perizellulärer Fibrose charakterisiert. SH wird in Zukunft eines der wesentlichen Gesundheitsprobleme darstellen, sie betrifft gegenwärtig im Jahr 2010 etwa 3 % der Weltbevölkerung. Abhängig von den kausalen Faktoren tritt sie als alkoholische (ASH) oder nichtalkoholische SH (NASH) im Rahmen einer nichtalkoholischen Fettleber-Krankheit (NAFLD) auf. Es besteht ein deutlicher Unterschied des individuellen Risikos eine SH zu entwickeln und zur Zirrhose fortzuschreiten (z.B. 20 % von schweren Alkoholkern, 50% von fettleibigen Diabetes Typs II-Patienten entwickeln eine SH). Diese Unterschiede scheinen von der Existenz von Suszeptibilitäts- und Modifikationsgenen in Kooperation mit Lifestyle-Faktoren abzuhängen. Bestimmte Eigenschaften der SH können in verschiedenen Tiermodellen durch unterschiedliche Behandlungen reproduziert werden. Darüber hinaus sind Modelle mit dem spontanen Auftreten einer SH verfügbar. Diese Krankheitsphänotypen ändern sich stark in Abhängigkeit vom genetischen Hintergrund und dem Geschlecht der Mäuse, was der menschlichen Situation mit großen Schwankungen in der Empfänglichkeit der Individuen ähnelt. K8/K18-Aggregate, die sogenannten MDBs sind für verschiedene Leber-Schäden, einschließlich der ASH und NASH charakteristisch. p62 (sequestosome 1), das unter bestimmten Bedingungen induziert wird, und spezifisch an falsch gefaltete und ubiquitinierte Keratine bindet, wurde als ein obligater Bestandteil von MDBs identifiziert. Keratins 8 und 18 (K8/K18) sind die Hauptintermediärfilament-Proteine der im Verdauungstrakt vorkommenden Epithelien, mit skeletalen und nicht-skeletalen Funktionen. K8/K18-Varianten machen Mäuse anfällig für Leberschaden und machen Menschen empfänglich für die Entwicklung einer Lebererkrankung und deren Fortschreiten. p62 fungiert als Adapter in einer Signaltransduktionskaskade (z.B. TNF α - und IL-1-Signalweg, der zu NF- κ B Aktivierung führt), die für die Leberkrebsentstehung wesentlich ist, es ist in die Sequestration von Proteinen und der Beseitigung von Proteinaggregaten durch Autophagie involviert. Das Ziel dieser Studie ist es, den Einfluss von angeborenen und erworbenen Modifizierungen der hepatozellulären K8/K18-Architektur zu bestimmen, um die molekularen Folgen der K8/K18-Desorganisation in Bezug auf die HCC-Entwicklung zu definieren.

Unsere Studie wird das Verständnis der Rolle von K8/K18 für SH und die Entstehung von Leberkrebs erhöhen. Die neu gewonnenen Einblicke sollten zu neuartigen therapeutischen Ansätzen führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die geplanten Fragestellungen sind nur durch Untersuchungen im Tiermodell zu beantworten, da das Zusammenwirken der genetischen Veränderungen und dessen Einfluss auf die Homöostase der einzelnen Organe und des Immunsystems mit der zu erwartenden Tumorentwicklung von entscheidender Bedeutung sein dürfte. Die Tiere werden ausschließlich gealtert und werden mit einer normalen Diät gefüttert, um den zeitlichen Verlauf einer spontanen Tumorerkrankung zu beobachten. Die Untersuchungen betreffen die direkte Wirkung des jeweiligen genetischen Knockouts bzw. der Überexprimierung des jeweiligen Gens auf die Leber. Die Untersuchungen mittels State-of-the-Art-Methoden sollen an insgesamt 650 Versuchstieren pro folgenden Mauslinien erfolgen:

1. K18(knockout)-Tg(PDGFc); OlaP2-BL6/J-Mixed
2. K8(knockout)-Tg(PDGFc); OlaP2-BL6/J-Mixed
3. MDR2(knockout)-Tg(PDGFc); FVB/N-BL6/J-Mixed
4. p62(knockout)-Tg(PDGFc); BL6/JMixed
5. Tg(K8)-Tg(PDGFc); FVB/N-BL6/J-Mixed
6. Tg(p62)-Tg(LT2); DAB-BL6/J-Mixed
7. Tg(K8); FVB/N

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur *in vivo* zu beantworten sind. Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Versuchsgruppengrößen, um u.a. durch die im jeweiligen Versuch gewonnenen Daten die notwendigen Versuchstierzahlen des nächsten Versuches möglichst gering halten zu können. Kontrollgruppen werden mitgeführt, um einen direkten Vergleich zwischen den unterschiedlichen Genotypen herstellen zu können. Da wir einen spontanen, alterungsbedingten Phänotyp charakterisieren wollen, verzichten wir auf die Gabe von tumorpromovierenden Substanzen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2018 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Chronische metabolische Lebererkrankungen wie Steatohepatitis sind die Hauptursachen für chronische Leberschäden in der westlichen Welt. Sie können bei einer maßgeblichen Zahl der Patienten in der Folge zu Leberzirrhose und später zu hepatozellulärem Karzinom führen. Bei Swiss Albino Mäusen, die mit DDC-versetztem Futter gefüttert werden entwickelt sich eine der humanen Steatohepatitis sehr ähnliche Leberschädigung, die insbesondere die Succinatdehydrogenase, ein Enzym der mitochondrialen Atmungskette, betrifft. Wir haben in solchen Mäusen kürzlich massive Veränderungen im Energiestoffwechsel der Leber, wie sie auch für Steatohepatitis beschrieben wurden, beobachtet. Sie habe unter anderem zur Folge, dass Hämoxxygenase 1 in Mitochondrien einwandert und dort auch aktiv ist. Die biologische Bedeutung dieses Vorgangs liegt wahrscheinlich in der Kompensation des Ausfalls der Succinatdehydrogenase, der die mitochondriale ATP-Produktion stark einschränkt, und damit den Energiestoffwechsel der Leber massiv beeinträchtigt. Jüngste Untersuchungen haben außerdem gezeigt, dass die für die Reaktion der mitochondrialen Hämoxxygenase 1 benötigten Elektronen direkt von der Atmungskette der Mitochondrien bereitgestellt werden, was bioenergetisch für die Aufrechterhaltung der Leberfunktion von Vorteil ist. Um mehr Einsicht in den Schädigungs- und Kompensationsmechanismus zu erhalten ist es nunmehr nötig, einerseits die Art und Lokalisation des Schadens an der Succinatdehydrogenase zu spezifizieren, sowie den Mechanismus des Elektronentransports von Atmungskette zu Hämoxxygenase 1 aufzuklären. Beide Resultate können mit denselben Tierversuchen erhalten werden und werden besseres Verständnis und allenfalls neue Konzepte der Therapie humaner Steatohepatitis erlauben. Der Schweregrad der Experimente (DDC Fütterung) wird als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Experiment werden 20 Swiss Albino Mäuse verwendet (2 Stadien zu 2 x 5 Tieren), als Kontrollen (kein Tierversuch) sind 2 x 5 Tiere vorgesehen.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Vermeidung: Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben. Der Schweregrad der Experimente ist als gering anzusetzen.

Verminderung: Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so, dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist.

Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

Der Tierversuch wird zum Zweck der Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten durchgeführt. Auch der Nutzen des Tierversuchs wird in der Entwicklung eines Tierarzneimittels und der offensichtlichen damit einhergehenden Verbesserung der Lebensqualität gesehen. Als Schaden wird die sechsmalige Blutentnahme innerhalb von 5 Wochen angegeben. Es werden ca. 30 Katzen verwendet. Die Anforderungen von Vermeidung, Verminderung und Verbesserung werden erfüllt. Die angestrebte Zielsetzung kann nicht durch wissenschaftlich aussagekräftige verfügbare und behördlich anerkannte Ersatzmethoden erreicht werden. Die Tiere verbleiben in privaten Besitz und können daher weiter in ihrer häuslichen Umgebung leben.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Neue Arzneimittel-Träger-Moleküle für die zielgerichtete Behandlung schwerer Entzündungen stellen vermehrt ein allgemeines Gesundheitsproblem dar, sie sind Begleiterscheinungen schwerer Erkrankungen, und eine erfolgreiche Behandlung bleibt für viele Patienten unerreichbar. Effektive Behandlungen zur Reduktion von Entzündungen sind oft mit schweren Nebenwirkungen verbunden. Wenn solche etablierten Therapien direkt und ausschließlich an den Entzündungsherd gebracht werden könnten, würde eine drastische Reduktion der Nebenwirkungen möglich sein.

Die ersten Schritte zur Entwicklung neuer anti-inflammatorischer Ansätze können anhand von Zellkulturen und Gewebeproben *ex situ* erprobt werden. Jedoch, spätere Schritte, in denen die neuen, zielgerichteten Therapeutika sowohl auf ihre Pharmakokinetik wie auch auf ihre Pharmakodynamik getestet werden sollen, sind auf die Verwendung lebender Tiere angewiesen.

Dieses Projekt wird hierfür mit einem Maus-Modell arbeiten. Folgende Ziele sollen dabei erreicht werden:

1- Die gegenwärtigen anti-inflammatorischen Forschungen werden durch die Entwicklung neuer Therapieformen gestärkt, welche die ersten Anzeichen von Entzündungen aufspüren, detektieren und diagnostizieren.

2- Die Auswirkungen dieser neuen Arzneiform auf gesundes Gewebe soll getestet werden.

3- Die Effizienz wie auch die Pharmakologie (Pharmakokinetik, Pharmakodynamik) soll untersucht werden.

4- Eine Plattform zur Entwicklung bildgebender Verfahren für die Darstellung humaner Entzündungen im Tiermodell soll zur Verfügung gestellt werden. Diese neue Formulierung wurde eingehend in Zellkulturen und *in vitro* getestet, nun ist jedoch die Verwendung von Tieren (Mäusen) notwendig. Sowohl die sorgsame Planung der Experimente, als auch sorgsames Sampling der murinen Gewebeproben *post mortem* werden dazu beitragen, die Anzahl der Tiere zu vermindern und die erhaltene Information zu maximieren. Um Tierleid zu minimieren werden die Tiere narkotisiert, die geringst mögliche Dosis an entzündungsverursachendem Agens sowie die kleinstmöglichen Nadeln zur Injektion der neuen Formulierung verwendet. Das Projekt beachtet das „3R“-Konzept des Tierschutzes (replace, reduce, refine). Ein weiterer Vorteil in der Verwendung von Mäusen für dieses Projekt liegt darin, daß das vaskuläre System der Mäuse ähnlich dem des Menschen ist. Die geschätzte Anzahl an Mäusen für den Verlauf des Projekts von 3 Jahren wird ungefähr bis zu 80 betragen. Die Erkenntnisse aus diesem Projekt können auch zur Entwicklung anderer zielgerichteter, bildgebender Therapeutika (zum Beispiel gegen Krebs) verwendet werden.

Dieses Projekt, bei dem die therapeutische Effizienz anti-inflammatorischer Therapeutika gesteigert sowie deren Nebenwirkungen minimiert werden sollen, wird einen Weg ebnen, der die Grundlagenforschung noch näher an die klinische Relevanz heranbringt, wodurch die Behandlung von Patienten mit akuten oder chronischen Entzündungen erheblich schonender und besser werden kann.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Nichttechnische Projektzusammenfassung: Mikrozirkulation und Gerinnung

Als Mikrozirkulation bezeichnet man das Netzwerk der kleinsten Gefäße des menschlichen Organismus. Hier findet neben zahlreichen Stoffwechselfvorgängen und Immunologischen Prozessen z.T. auch die Kontrolle der Blutgerinnung statt. Alle Blutgefäße des Körpers sind von Endothelzellen ausgekleidet, die durch Freisetzung verschiedener Botenstoffe die zahlreichen Prozesse, die sich in der Mikrozirkulation abspielen, regulieren. Eine Gruppe von Botenstoffen, auch Mediatoren genannt, aktiviert die Blutgerinnung, kann diese aber auch hemmen. Krankhafte Zustände, die zu Störungen der Endothelzellfunktion führen, wie generalisierte Entzündungen (im Rahmen von schwerer kritischer Erkrankung wie Sepsis) oder schwerer Flüssigkeitsmangel (z.B. Blutungsschock) mit daraus folgender Minderdurchblutung der Gewebe und Sauerstoffmangel, können damit auch zum Ausgangspunkt für komplexe Gerinnungsstörungen werden, die dann wiederum den gesamten Organismus mit allen seinen Organen gefährden. Beispielhaft für derartige Störungen können die disseminierte intravasale Gerinnungsstörung (DIC, disseminated intravascular coagulation) oder die Trauma induzierte Koagulopathie (TIC, trauma induced coagulopathy) genannt werden. Bei beiden Krankheitsbildern handelt es sich um Zustände, bei denen physiologische Regelkreise der Blutgerinnung in der Mikrozirkulation so gestört werden, dass die Auswirkungen für den Organismus unter Umständen fatal sein können und es einerseits zu Massivblutung, aber andererseits auch zu überschießender Blutgerinnung mit Mikrothrombosen kommen kann.

Ziel dieses Projekts ist,

- (a) diese krankhaften Gerinnungsprozesse in der Mikrozirkulation sichtbar und messbar zu machen,
- (b) dadurch die zu Grunde liegenden Mechanismen besser zu verstehen, um
- (c) letzten Endes PatientInnen mit den genannten Störungen besser behandeln zu können.

Die hierzu notwendigen Versuche werden an dreihundert 6-8 Wochen alten Syrischen Goldhamstern bzw. an einhundertfünfzig 4-6 Wochen alten Mäusen durchgeführt. Diese Tiere besitzen eine gut dehnbare Nackenhaut in die, unter Narkose, ein Sichtfenster zur Beobachtung der kleinsten Gefäße einoperiert wird. Zusätzlich wird den Hamstern und Mäusen ein Mikrokatheter je in ein arterielles und ein venöses Gefäß am Hals einoperiert, worüber einerseits Medikamente injiziert, andererseits Blutabnahmen gemacht und verschiedene Messungen durchgeführt werden können. Zur Untersuchung der Mikrogefäße werden die Tiere dann 3-4 Tage später in einer Plexiglasröhre unter einem Mikroskop untersucht. Das Spezielle einer intravitalmikroskopischen Untersuchung ist, dass die mikroskopischen Bilder „live“ und in Bewegung sind. Dies ist ein großer Unterschied zu den nicht lebenden fixierten histologischen Präparaten und eröffnet eine völlig andere, funktionelle Sichtweise. Mit Hilfe von verschiedenen intravitalmikroskopischen Techniken können nun u.a. Gefäßdurchmesser, Blutflussgeschwindigkeiten und die Durchblutung des Kapillarbetts in der Mikrozirkulation erfasst und gemessen werden sowie durch gezielte Laserbestrahlung der Gefäßwand die Bildung eines Blutgerinnsels (Thrombus) ausgelöst und direkt unter dem Mikroskop beobachtet, in seiner Zusammensetzung analysiert und vermessen werden.

Im Rahmen eines Versuchs werden entsprechend dem jeweiligen Versuchsprotokoll alle genau vordefinierten, intravitalmikroskopischen Parameter unter Kontrollbedingungen erfasst und zu den jeweiligen Versuchszeitpunkten an vorher definierter Stelle erneut gemessen (z.B. nach Gabe von Substanzen, die die Blutgerinnung unterstützen oder auch hemmen). So kann ein direkter Vergleich zur Ausgangssituation hergestellt werden.

Durch die Verwendung von bestimmten genetisch veränderten Mäusen (sog. knock out Mäuse) ist es außerdem möglich, ganz spezielle Gerinnungsdefekte und ihre Folgen auf die Thrombusbildung und Blutungsneigung in der Mikrozirkulation zu untersuchen.

Am Ende eines Versuchs werden die Tiere in tiefer Narkose euthanasiert.

Bis heute ist es nicht möglich, die Bildung/Auflösung eines Thrombus direkt am Patienten sichtbar zu machen und damit besser zu verstehen, welche Prozesse hierbei ablaufen. Das Einzigartige an

diesem Tiermodell am Hamster bzw. an der Maus ist die direkte und gleichzeitige Beobachtungsmöglichkeit von Blutflussverhältnissen und Bildung eines Thrombus in der Mikrozirkulation. Die Maus als Mikrozirkulationsmodell bietet zusätzlich noch den Vorteil, dass es eine Vielzahl an genetisch veränderten Tieren gibt, die es erlauben, ganz spezielle Krankheitssituationen zu untersuchen. Aus diesem Grund ist es notwendig, derartige Untersuchungen an diesen Tierspezies durchzuführen.

Um die Zahl der benötigten Versuchstiere so klein wie möglich zu halten, werden laufend während der Versuchsreihen statistische Auswertungen durchgeführt; sobald die statistische Signifikanz erreicht ist, wird die Versuchsreihe beendet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Aug. 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Die „invasive Aspergillose“ ist eine sehr gefährliche Pilzkrankung, die von verschiedenen Arten des Schimmelpilzes „Aspergillus“ verursacht wird. Sie tritt fast ausschließlich bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem (Krebspatienten, Organtransplantationen, Verbrennungsoffer, HIV-Infektion...) auf und endet in vielen Fällen tödlich.

Jüngste Studien weisen darauf hin, dass Blutplättchen bei der Abwehr von Pilzkrankungen eine gewichtige Rolle spielen könnten. Die Mechanismen dazu sollen in einem länderübergreifenden Projekt weiter erforscht werden. Dabei erfolgt der größte Teil der Studien „im Reagenzglas“ (*in vitro*), als patientennahe Modell für eine Pilzkrankung ist jedoch auch die Forschung an Mäusen vorgesehen.

Die Wechselwirkungen des Pilzes mit den Blutplättchen und anderen Bestandteilen des Immunsystems werden mit natürlich vorkommendem „Wildtyp“-Pilz und veränderten Stämmen (mit „Defekten“) durchgeführt, um festzustellen, welche Pilzbestandteile für die Auslösung und die Abwehr der Erkrankung wichtig sind. Der Verlauf der Erkrankung bei Mäusen, die einen Mangel an Plättchen haben, wird ebenfalls untersucht, um deren Bedeutung für den Krankheitsverlauf genauer zu betrachten. Außerdem werden die Auswirkungen einiger Medikamente, die bei Risikopatienten eingesetzt werden („Chemotherapie“, Medikamente gegen Pilzinfektionen), auf die Blutplättchen erforscht.

Durch die genauere Klärung der Bedeutung von Blutplättchen bei der Abwehr von Pilzkrankheiten und den möglichen Auswirkungen von Medikamenten auf deren Funktionen erhoffen wir uns für die Zukunft Verbesserungen und Verfeinerungen bei der Risikobewertung und sowohl den vorbeugenden als auch den therapeutischen Maßnahmen gegen diese gefährlichen Erkrankungen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

336 Mäuse

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Vermeidung: In unserer Arbeitsgruppe wurden schon zahlreiche Versuche an Blutplättchen, die aus dem Blut freiwilliger, gesunder Probanden isoliert wurden, durchgeführt, um deren Eigenschaften und Funktionen zu untersuchen. Die Möglichkeiten solcher *in vitro* („im Reagenzglas“)-Experimente enden jedoch dort, wo Fragen zu Krankheitsverläufen und Auswirkungen von Therapien im Körper erforscht werden sollen. Hier sind wir auf das Tiermodell angewiesen.

Verminderung: durch Fallzahl-Kalkulationen verwenden wir gerade so viele Tiere wie unbedingt nötig, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse gewinnen zu können.

Verbesserung: Die Tiere werden in Gruppen gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Sie werden vor den Versuchen zuerst an ihre neue Umgebung gewöhnt und dabei jeden Tag einmal aus dem Käfig genommen, auf der Hand (mit Handschuhen) gehalten, gestreichelt und „angesprochen“, um sie an die den Versuch durchführenden Menschen zu gewöhnen („Konditionierung“) und so Angst und Stress bei der späteren Durchführung des Versuchs zu vermindern.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1.) Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens:

Zearalenon (ZEN) ist ein Mykotoxin, das von verschiedenen Feldpilzen, einschließlich *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* produziert wird. Das Toxin kommt sehr häufig in Mais und Mais-Produkten vor, kann aber auch in Gerste, Sorghum, Weizen und Silage gefunden werden. ZEN ist eine der gefährlichsten, natürlich vorkommenden endokrinen wirksamen Substanzen (EDC). In allen Säugetieren interagiert ZEN mit Östrogen-Rezeptoren, was zu einem scheinbaren Hyperöstrogenismus und weiteren reproduktiven Erkrankungen bei Nutztieren führt. Weibliche Schweine gelten als besonders empfindlich. ZEN stellt sowohl ein Gesundheitsrisiko als auch ein wirtschaftliches Problem dar. Ein Carry-over von Mykotoxinen kann in der Lebensmittelkette in weiterer Folge eine Gefährdung der Konsumenten darstellen. Im Falle von Zearalenon haben diverse Studien gezeigt, dass aufgrund der enterohepatischen Zirkulation von Zearalenon Spuren von Zearalenon und deren Metaboliten in der Leber gefunden wurden. Ebenfalls geringe Spuren an Zearalenon und Metaboliten konnte in Muskelgewebe nachgewiesen werden. Die Autoren der Studien wie auch die EFSA in ihren Opinion schließen allerdings aus den vorliegenden Daten, dass das Risiko für den Konsumenten durch den Verzehr von Lebensmittel tierischen Ursprungs vernachlässigbar ist. Aufgrund der geringen Adsorptionskapazitäten durch kommerzielle Binder-Produkte (unter 40% *in vitro*), bietet die Biotransformation von ZEN durch Enzyme eine sehr spezifische, irreversible, effiziente und umweltfreundliche Art und Weise der Entgiftung und führt weder zu giftigen Rückständen noch zu unerwünschten Nebenprodukten. Ziel dieses Fütterungsversuches ist es, Biomarker für das *Fusarium*-Toxin Zearalenon (ZEN) aus Serum, Urin und Kot von Schweinen zu analysieren. Zu diesem Zweck werden die Tiere mit einer künstlich kontaminierten Ration (500 ppb ZEN) gefüttert. Der Versuchsaufbau erfolgt im lateinischen Quadrat. Als Versuchstiere werden neun männlich, kastrierte Mastschweine [(Duroc x Landrasse) x Pietrain] eingesetzt, welche mit einem Gewicht von ca. 35 kg möglichst gleichmäßig nach Lebendmasse und Herkunft auf die zur Verfügung stehenden Verdauungskäfige aufgeteilt werden. Zur Akklimatisierung erhalten die Tiere herkömmliches Mastfutter für die ersten zwei Tage in den Verdauungskäfigen. Die eigentliche Versuchsperiode beginnt mit einer 7-tägigen Vorphase und einer anschließenden 7-tägigen Hauptphase. Nach 7 Tagen Vorphase werden vor Verabreichung des ZEN Blut-, Urin-, Kotproben von allen 9 Tieren genommen. Zu Beginn der 7-tägigen Hauptphase eines jeden Durchganges wird der Basalration ZEN in einer Dosisierung von 500 ppb (ZEN) zugesetzt und drei Tieren verabreicht. Weiteren drei Tieren werden die Basalration + ZEN 500 ppb + organische Binder 0.25% verabreicht. Den übrigen drei Tieren werden die Basalration + ZEN 500 ppb + Lactonhydrolase 0.25% verabreicht. Während der Sammelphase wird zweimal pro Tag eine vollständige quantitative Harn- und Kotprobe gesammelt. Der Urin wird 2-mal täglich durch ein Sieb gefiltert und in Kanister abgefüllt. Diese werden bis zur weiteren Analyse (bei -20 °C) gefroren aufbewahrt. Die Sammelkotproben werden in einer Gefrierzelle bei -20 °C aufbewahrt.

2.) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

9 männlich kastrierte Mastschweine, Dreirassenkreuzung (Duroc x Landrasse + Pietrain)

3.) Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung):

Durch den Versuchsaufbau im lateinischen Quadrat, kann die Anzahl der Versuchstiere drastisch minimiert werden und ermöglicht trotzdem statistisch aussagekräftige Ergebnisse. Die Forschungsfrage kann nicht über Ersatzmethoden beantwortet werden, da Ausscheidungsprodukte eines intakten und gesunden Organismus untersucht werden müssen. *In-vitro* Untersuchungen können für die geplante Studie nicht herangezogen werden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2014 vorgesehen.

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad: keine Wiederherstellung der Lebensfunktion) lt. TVG12 §3 (1) zuzuordnen. Es werden maximal 230 Hausschweine untersucht. Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und intraoperativer Analgesie und Flüssigkeitsversorgung, und durch die tägliche tierärztliche Inspektion aller Tiere prae OP und tägliche tierpflegerische Betreuung inklusive Konditionierung aller Tiere, Schmerzen, Leiden und Ängste der Hausschweine möglichst verhindert werden.

Es wird keine rückblickende Bewertung stattfinden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Instabile Herzinfarktpatienten sowie Patienten, die sich einer Herzoperation unterziehen, benötigen eine vorübergehende mechanische Unterstützung (Herzpumpe) ihres kardiopulmonalen Systems (Herz-Lungen-Systems). Die bisher verwendeten elektrischen Unterstützungspumpen sind aus verschiedenen Gründen (Hitzeerzeugung, Hämolyse aufgrund beschädigter Blutzellen, etc.) suboptimal. Eine bereits etablierte Alternative zu diesen elektrischen Unterstützungspumpen stellt die sogenannte Gegenpulsation durch intra-aortale Ballonpumpen (intra-aortic ballon pump, IABP) dar, doch ist deren Effizienz in verschiedenen Anwendungsfällen noch zu gering. Invasive Maßnahmen, wie die Langzeitanwendung einer Herzlungenmaschine oder parakorporaler Bypasspumpen, sind für den Patienten sehr belastend, da ein Teil des Blutvolumens dauernd außerhalb des Körpers zirkuliert. Dadurch können schwere Nebenwirkungen, wie Blutungen, Thrombenbildung und Infektionen entstehen. Um dem entgegenzuwirken wurde ein System entwickelt, welches den Antrieb eines intra-aortalen Ballons mit einer pneumatischen Herz-Katheter-Pumpe verbindet. In 30 Schafen soll in andauernder Vollnarkose die positive Wirkung des neuartigen Systems auf die Hämodynamik des versagenden Herzen und die Traumatisierung des Blutes samt Thrombenbildung untersucht werden. Ziel ist es zu zeigen, dass der neuartige Antrieb der Pumpe, der über eine Miniaturgasturbine (kein Stromantrieb) erfolgt, die nächste Generation der mechanischen Kreislaufunterstützung sein kann. Durch den hohen Miniaturisierungsgrad des Systems wird es nach den ersten Pilot-Versuchen möglich sein, die Pumpe minimal-invasiv zu implantieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Abwägung von Schaden und Nutzen

In Anbetracht der ständig älter werdenden Gesellschaft und den damit verbundenen Krankheitsentitäten, wie z.B. Osteoporose, und der verglichen dazu geringe Schaden für die Tiere (Schweregrad der Tierversuche) ist die Versuchsreihe ethisch vertretbar.

Anzahl der Tiere

16 New Zealand White Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)

Verminderung, Verminderung, Verbesserung

a) Es gibt kein in vitro-System um diese Tierversuche zu ersetzen.

b) Es erfolgt ein stufenweises Vorgehen bei der Durchführung der Versuche. Weiters werden nur so viele Tiere verwendet, wie für das Erreichen der statistischen Signifikanz notwendig ist. Es werden so wenig Tiere wie möglich aber so viele Tiere wie nötig im Versuch eingesetzt.

c) Die Tiere werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Tierpflegerinnen sorgfältig betreut. Jede Behandlung der Tiere wird von erfahrenen Personen durchgeführt, bei jedem operativen Eingriff werden die Tiere narkotisiert sowie postoperativ einer suffizienten Analgesie zugeführt und verspüren dadurch keine Schmerzen oder Leiden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Die Nichtalkoholische Fettlebererkrankung ist die häufigste chronische Lebererkrankung in der westlichen Welt. Besonders häufig kommt sie bei übergewichtigen Personen oder PatientInnen mit Diabetes mellitus oder Fettstoffwechselstörungen vor. In der Entstehung scheint nicht nur eine übermäßige Kalorienzufuhr, sondern auch die Nahrungsmittelqualität eine wichtige Rolle zu spielen. Im schlimmsten Fall kann eine nicht-alkoholische Lebererkrankung zu Leberversagen und auch Leberkrebs führen, entsprechend ist dieses Erkrankungsbild auch die häufigste Ursache für die Notwendigkeit einer Lebertransplantation in der westlichen Welt.

Ziel dieser Studie ist es, den Einfluss von verschiedenen Diäten auf die Entstehung dieser Lebererkrankung zu untersuchen. Insgesamt 25 Mäuse, die einen genetischen Defekt im Leber-Fettstoffwechsel aufweisen und 25 gesunde Mäuse sollen mit 5 verschiedenen häufig verwendeten Diäten gefüttert werden, um anschließend die Auswirkung auf die Leber zu untersuchen. Die Anzahl von 50 Versuchstieren ergibt sich aus der Tatsache, dass gesunde und an einem Defekt im Leber-Fettstoffwechsel leidende Mäuse untersucht werden und in Gruppen zu je 5 Mäusen mit 5 verschiedenen Diäten gefüttert werden. Durch Inkludierung der Mäuse mit genetischem Defekt im Leber-Fettstoffwechsel soll die Funktion des defekten Proteins genauer erforscht werden, aus dieser Kenntnis könnten sich neue therapeutische Optionen ergeben.

Es ist zu erwarten, dass sich das Körpergewicht von den Mäusen in Abhängigkeit vom verwendeten Futter unterscheiden wird, das resultierende Übergewicht und die damit verbundenen Veränderungen im Zucker- und Fettstoffwechsel sind jedoch mit keinerlei Schmerzen verbunden. Das gleiche gilt auch für die Verfettung der Leber, die mit keinerlei schmerzhaften Symptomen verbunden ist.

Der potentielle Nutzen dieses Tierversuchs besteht darin, einerseits im Sinne der Prävention den Einfluss von Ernährung auf die häufigste Lebererkrankung in der westlichen Welt zu untersuchen und andererseits durch Kenntniserwerb über Funktion und Regulation dieses wichtigen Proteins des Fettstoffwechsels neue therapeutische Wege für diese häufige und bisher kaum therapierbare Erkrankung zu ebneten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung

Durch Inkrafttreten des neuen Tierversuchsgesetzes TVG 2012 mit 1.1.2013 ist von Personen, die tierexperimentell arbeiten, spezifische Sachkunde gesetzlich verpflichtend nachzuweisen. Diese geforderte Sachkunde soll ausschließlich an Personen vermittelt werden, die dieses Wissen für ihre berufliche Tätigkeit benötigen. Die Lehrinhalte des Kurses berücksichtigen die neuesten Erkenntnisse im Fachgebiet und legen ihren Schwerpunkt im tierschutzgerechten Umgang mit Versuchstieren während der Haltung und experimentellen Nutzung. Mit der zusätzlichen Vermittlung von theoretischem Wissen soll bereits im Vorfeld von Experimenten dem Gedanken des Tierschutzes im Sinne der 3R Rechnung getragen werden.

Benötigt werden 900 Mäuse, 900 Ratten und 28 Kaninchen für eine Zeitdauer von 5 Jahre

Zur Demonstration bzw. als vorausgehendes Training werden den Kursteilnehmern alternative Lehrmethoden zur Verfügung gestellt: CD-ROM, Vorführungen an Übungsdummies (Reduction und Replacement). Potenziell schmerzhaft Eingriffe werden, soweit notwendig, unter direkter Anleitung am narkotisierten Tier durchgeführt (Reduction und Refinement). Die Tiere werden täglich mehrmals kontrolliert. Außerdem erfolgt eine tierärztliche Nachkontrolle im Anschluss an die praktischen Übungen, um rechtzeitig Abweichungen im Verhalten (als mögliche Anzeichen von Schmerzen, Leiden und/oder Ängsten) erkennen und Gegenmaßnahmen einleiten zu können (Refinement).

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens, Marihuana ist die meist verbreitetste Entspannungsdroge weltweit und besteht aus vielen, verschiedenen aktiven Komponenten, wie Cannabinoide. Es hat sich herausgestellt, dass Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC) das aktive Hauptmolekül und verantwortlich für ein weites Spektrum an Auswirkungen auf das zentrale Nervensystem, sowie auf periphere Organsysteme ist. Andererseits wird Δ^9 -THC als medizinische Therapie in der Tumorbekämpfung, als Schmerztherapie oder gegen Entzündungen etc. eingesetzt. Da Δ^9 -THC sehr viele, unterschiedliche Veränderungen/Beeinträchtigungen im Körper verursachen kann, wird u.a. auch das Reproduktionssystem (v.a. Hormonhaushalt) beeinflusst. Die derzeitig vorliegenden Studien zum Reproduktionssystem der Ratte sind jeweils spezifischen, vorrangig molekularbiologischen, zellbiologischen, physiologischen und entwicklungsbiologischen Fragestellungen zuzuordnen. Untersuchungen zur räumlichen Struktur der Mikrovaskularisation der Gonaden und der sie bedingenden Parameter sind aufgrund von anderen Studien bekannten Auswirkungen von THC auf das Gefäßwachstum (zB. verminderte Tumovaskularisation durch endothelial growth factor Rezeptorblockaden) notwendig, um etwaige Strategien zur Vermeidung von THC-Therapie Nebeneffekten (Infertilität) zu entwickeln. Um auch die Auswirkungen von Δ^9 -THC auf die Haut bei den gleichen Versuchstieren untersuchen zu können (um Tiermaterial einzusparen), werden in dieser Studie als Versuchstiere haarlose Ratten mit intaktem Immunsystem verwendet. Bereits vorliegende Studien sind vor allem physiologischen Fragestellungen zuzuordnen. Untersuchungen Δ^9 -THC-bedingter Veränderungen von einem der wichtigsten Bestandteile der Basalmembran -Laminin -sind daher wie im obigen Kontext (Vermeidung von Nebenwirkungen von Δ^9 -THC-Therapien) dringend notwendig. Darüber hinaus werden anhand molekularbiologischer Analysen Auswirkungen von Δ^9 -THC auf die Hautalterung und damit auf ihre verminderten Schutzfunktionen untersucht. Im gegenständlichen Forschungsprojekt wird die Mikrovaskularisation von Ovarien und Gonaden gesunder adulter sowie juveniler, männlicher und weiblicher, haarloser, mit und ohne THC behandelte Ratten mittels Rasterelektronenmikroskopie und 3D-Morphometrie an Gefäßausgusspräparaten modellhaft untersucht. Des Weiteren wird die Histologie der oben genannten Organe, der reproduktive Zyklus, die Fertilität (Spermiogramm) und der Zuchterfolg in Abhängigkeit der Dauer der Δ^9 -THC-Abhängigkeit und über mehrere Generationen untersucht. Als Vergleichswerte werden regelmäßige Blutabnahmen an der Ratte durchgeführt um im Serum das FSH- und Testosteronlevel zu bestimmen. Zur Bestimmung der Δ^9 -THC bedingten Veränderungen an der Haut werden Hautstanzen entnommen, welche molekularbiologisch und histologisch analysiert werden.

Ziel des Projektes ist es, Gefäßdurchmesser, Gefäßabstände (Intervaskulär), Abstände zwischen den Gefäßaufzweigungen (Bifurkationen -intravaskulär) sowie die räumlichen Gefäßaufzweigungswinkel zu erheben und daraus einerseits die Gefäßdichte und andererseits die Transportkapazitäten des gonadalen Blutgefäßsystems oder einzelner Territorien (zB. Leydig cell areas) zu erheben, die ihnen zugrundeliegenden Konstruktionsprinzipien (optimality principles) zu bestimmen und somit die Folgen von Δ^9 -THC verursachten Systemveränderungen für die Versorgung der Organe mit Nährstoffen, Atemgasen und Hormonen besser als bisher vorhersagen und abschätzen zu können (v.a. Therapie-bedingt). Ein weiteres Ziel ist es, Ergebnisse in Bezug auf die Hautalterung, sowie auf morphologische Hautveränderungen in Folge von Δ^9 -THC Behandlungen zu erlangen.

Zu erwartender Schaden: Um die Projektziele erreichen zu können werden 120 adulte (60 weiblich, 60 männlich) und 60 juvenile Tiere (30 weiblich, 30 männlich) (Haarlose Ratten) in tiefer Betäubung und Analgesie sterben.

Zu erwartender Nutzen: Gewinnung wichtiger Erkenntnisse über die, die räumliche Ausbildung des mikrovaskulären Gefäßbettes der Ovarien und Gonaden und der daraus ableitbaren Transportkapazitäten des in der biomedizinischen Forschung sehr häufig eingesetzten Tiermodells Ratte. Gewinnung neuer Ergebnisse in Bezug auf die Hautalterung, sowie auf histologische und

morphologische Veränderungen der Haut nach Δ^9 -THC-Applikation. Diese Ergebnisse könnten in der Humanmedizin relevante Erkenntnisse zur Vermeidung von Δ^9 -THC-bedingten Nebeneffekten im Zuge von Schmerz-, Krebs- o.a. Therapien hervorbringen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Es wird 1 Tierart (CR -Charles River hairless mutation rat) x 2 Geschlechter (adult männlich + weiblich) + 1 (juvenil) x 3 Organe (Haut, Ovarien, Testes) x 10 (THC) +10 (C) Versuchsgruppen a 9 Individuen =180 Tiere verwendet.

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Vermeidung: Es ist nicht möglich für die gegenständliche Untersuchung tote Tiere zu verwenden, da durch die Bildung von Blutgerinnsel Blutgefäße verstopft und so das Gefäßbett von Ovarien und Gonaden nicht mehr vollständig gefüllt werden kann.

Verminderung: Es ist nicht möglich, die Anzahl der Tiere (Insgesamt: 180 Tiere) zu reduzieren, da aufgrund unserer langjährigen Erfahrung mit der Technik der Gefäßausgusspräparation (siehe Publikationsverzeichnis im Anhang) eine vollständige Füllung des Gefäßbettes der interessierenden Organe bisher nur bei maximal 30-50% der Organe erreichbar ist. Des Weiteren ist aufgrund der unterschiedlich langen THC-Applikationen (10 Subgruppen mit n=9; 3f + 3m +3j) zzgl. 10 korrespondierende Kontroll-subgruppen (zu n=9; 3f + 3m +3j), da generationsübergreifend) für den statistischen Vergleich der zu erhebenden Daten ohnehin bereits äußerst gering angesetzt.

Eine weitere Reduktion der Belastung der Tiere ist nicht mehr möglich, weil die Tiere ohnehin nur mehr einer minimal möglichen Belastung ausgesetzt sind. Es erfolgen keine operativen Eingriffe vor der Narkose und auch keine Wiederherstellung der Lebensfunktionen der Tiere. Die Tiere sterben in tiefer Narkose und Analgesie während der Gefäßdarstellung.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Projektziele, zu erwartender Schaden und Nutzen

Im Blut schwangerer Frauen lassen sich sowohl intakte Zellen als auch DNA von Zellen des Fetus nachweisen. Dieses wird in der pränatalen Diagnostik genutzt. Wenn diese fetalen Zellen in der Mutter beschädigte Gewebe besiedeln, differenzieren sie zu den verschiedensten Zelltypen aus und ersetzen an diesen unterschiedlichen Stellen beschädigte ursprünglich dort vorhandene Zellen. Diese Zellen besitzen also die für Stammzellen typische Eigenschaft, sich zu den unterschiedlichsten Zelltypen ausdifferenzieren zu können. In der Amnionhöhle des Fetus finden sich ebenfalls frei in der Flüssigkeit schwimmende Zellen. Diese stammen vom Fetus und können sich in vitro in die verschiedensten Zelltypen ausdifferenzieren. Es konnte bisher nicht nachgewiesen werden, dass diese Zellen aus der Amnionhöhle dieselben sind, die später im Körper der Mutter nachzuweisen sind. Bisher sind als pluripotente Zellen nur embryonale Stammzellen (ES-Zellen) und induzierbare pluripotente Zellen (iPS-Zellen) bekannt. Bei Ersteren besteht das ethische Dilemma, dass zu ihrer Gewinnung Embryonen zerstört werden müssen. Bei Letzteren ist das Risiko einer unkontrollierten tumorartigen Entartung groß.

In diesem Projekt soll nun der Ursprung dieser pluripotenten Zellen im Körper der Mutter im Mausmodell untersucht werden. Die Maus hat denselben Aufbau der Plazenta wie der Mensch (Placenta hemochorialis). Daher ist die Maus für einen solchen Nachweis ein sehr geeignetes Modell. Die Belastung der Tiere in diesen Versuchen besteht hauptsächlich in dem chirurgischen Eingriff unter Vollnarkose und es erfolgt bei allen Tieren eine nachfolgende Schmerztherapie. Wenn nun der Nachweis gelänge, dass diese frei in der Amnionhöhle schwimmenden Zellen dieselben sind, die in der Mutter zu den unterschiedlichsten Zelltypen ausdifferenzieren können, hätte man eine neue Quelle für pluripotente Zellen erschlossen, ohne das ethische Problem der ES-Zellen oder das Risiko der iPS-Zellen..

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

600 Mäuse

Angaben über die Erfüllung der „3Rs“

Ein Ersatz des Tierversuches (Replacement) durch in vitro-Methoden ist nicht möglich.

Eine Reduzierung der Tierzahl (Reduction) findet folgendermassen statt: Da die Ergebnisse deskriptiv sind, müssen bei überzeugenden Resultaten nicht alle 10 Weibchen pro Trächtigkeitsstadium verwendet werden. Damit reduziert sich nicht nur die Anzahl der verwendeten Weibchen, sondern auch die Zahl der geborenen Jungtiere.

Eine Verbesserung der Versuchsbedingungen (Refinement) ist durch verschiedene Maßnahmen gegeben: Die Inhalationsnarkose ermöglicht einen raschen Abbruch ohne Anwendung eines Antagonisten bei Auftreten eventueller Komplikationen während des Eingriffes oder sofort nach Beendigung. Als Nahtmaterial wird resorbierbarer Faden verwendet, um ein späteres Ziehen der Nähte und den damit für die Tiere verbundenen Stress zu vermeiden. Zur Analgesie wird ein Medikament verwendet, welches längere Zeit wirkt und auch bei allen anderen chirurgischen Eingriffen bei kleinen Labornagern erfolgreich eingesetzt wird. Dieses wird schon vor Beginn der Inhalationsnarkose verabreicht, da die eigentliche Narkose keine schmerzstillende Komponente enthält. Nach 8 und 16 Stunden post OP erfolgen weitere Gaben. Bei Bedarf wird dieser Schmerzstiller in den Tagen nach dem Eingriff wiederholt verabreicht. Die Tiere bekommen in der Käfighaltung nicht nur Nestbaumaterial zur Verfügung gestellt, sondern auch weiteres Enrichment wie Häuschen oder kleine Röhren als Rückzugsmöglichkeit.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Ziel des Projektes ist die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen und Tieren. Der Versuch bedingt keine Operationen. Die Belastung der 2620 eingesetzten Mäuse wird als gering eingestuft.

Zur Minderung der psychischen Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter Umgebung gehalten, dem 3R-Konzept wird durch die Verwendung verschiedener in vitro-Versuche im Vorfeld und geeigneter statistischer Methoden zur Reduktion der benötigten Tiere Rechnung getragen. Es werden keine transgenen Tiere eingesetzt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Schutz der natürlichen Umwelt im Interesse der Gesundheit oder des Wohlergehens von Mensch oder Tier

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Das Herbizid "Roundup" (Wirkstoff Glyphosat) ist das in Österreich am häufigsten verwendete Pflanzenschutzmittel, sowohl im landwirtschaftlichen als auch im privaten Bereich. Obwohl nicht für die Anwendung im aquatischen Bereich zugelassen, wird es in der Praxis oft in unmittelbarer Nähe zu Gewässern angewandt (z. B. zur Bekämpfung von Neophyten im Uferbereich) bzw. wird es aus benachbarten landwirtschaftlichen Flächen in Gewässer eingewaschen. Amphibien sind eine geschützte Tiergruppe, die oft Gewässer in der Kulturlandschaft für die Eiablage aufsucht und deshalb potentiell durch Einträge von Pflanzenschutzmittel gefährdet ist. Tatsächlich zeigen wissenschaftliche Studien zur Wirkung von Roundup auf Nichtzielorganismen zum Teil gravierende negative Wirkungen auf die Larven-Entwicklung von Amphibien. Jedoch wurden diese Studien vorwiegend in den USA mit den dort heimischen Amphibienarten durchgeführt, während zur Wirkung auf in Österreich heimischen Amphibienarten keine international publizierten Arbeiten bekannt sind. Durch die globale Erwärmung wird eine signifikante Auswirkung auf das Klima weltweit erwartet, mit Temperaturänderungen, die sich auf die Physiologie und räumlichen Verteilung von Amphibien auswirken werden. Unseres Wissens wurden der Zusammenhang von Pestiziden und Temperatur und ihre Auswirkungen auf Amphibien in Europa noch nie experimentell untersucht.

Projektziele:

- i) Die Auswirkung von Roundup auf die Ei- und Larven-Entwicklung auf die in Österreich weit verbreiteten Erdkröte (*Bufo bufo*) zu testen;
- ii) Da es im Zuge des globalen Klimawandels wahrscheinlich zu einer Erwärmung der Oberflächengewässer kommen wird, wollen wir zusätzlich die Wechselwirkungen einer Erhöhung der Wassertemperatur auf die Effekte von Roundup untersuchen. Die Untersuchungen sollen in aquatischen Mikrokosmen im Labor durchgeführt werden; dabei werden Roundup-Konzentrationen eingesetzt, wie sie auch im Freiland zu erwarten sind.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 500 Eier sowie 500 Kaulquappen der Erdkröte (*Bufo bufo*)

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Ein Einfluss von Roundup auf heimische Amphibien-Larven und -Eier ist bisher wissenschaftlich nicht untersucht worden. Eine Auswirkung des Herbizids auf heimische Amphibien kann aufgrund bisheriger Studien aus den USA nur vermutet, jedoch nicht belegt werden. Alle Amphibienarten sind in Österreich gesetzlich geschützt. Die geplanten Versuche sollen jedoch mit einer in Österreich weit verbreiteten Amphibienart (Erdkröte, *Bufo bufo*) durchgeführt werden. Aufgrund der weiten Verbreitung der Erdkröte, auch im Kulturland kommt diese Art ständig mit diesem Herbizid in Kontakt. Für die Versuche wird das Minimum an Eiern und Larven verwendet, das für eine statistisch fundierte Aussage erforderlich ist. Die Versuche sollen mit insgesamt 500 Eiern und 500 Larven der Erdkröte durchgeführt werden. Das entspricht nur etwa 1/6 der Ei-Anzahl, die von einem einzigen Erdkrötenweibchen pro Saison gelegt werden kann.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Oktober 2014 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel ist die Behandlung von krankhaft geschädigter Muskulatur in einem Säugetiermodell der Maus. Unsere Arbeitsgruppe verfügt über Mäuse, bei denen ein bestimmtes Protein in der Skelettmuskulatur fehlt (werden im weiteren Text als KO-Mäuse bezeichnet), wodurch es zur Bildung von pathologischen Proteinaggregaten kommt. Diese Mäuse dienen als Krankheitsmodell, da ähnliche Schäden in der Muskulatur auch bei Patienten beobachtet wurden. In dem vorliegenden Projekt wollen wir die Muskelkraft der KO-Mäuse ermitteln, die Mäuse anschließend über einen Zeitraum von 10 Tagen mit einer chemischen Substanz behandeln (eine Injektion pro Tag), und anschließend erneut die Kraft der Skelettmuskulatur messen. Vorgegangene Versuche mittels eines Muskelzell-Modelles zeigten, dass die in diesem Projekt verwendete Substanz in der Zellkultur eine deutliche Verbesserung der geschädigten Zellen gegenüber der Kontrollgruppe erzielte. Daher soll diese Substanz nun auch an den KO-Mäusen getestet werden, um die Muskelkraft zu verbessern und die beobachteten Schäden an der Muskulatur zu verbessern oder gar zu heilen. Die Erkenntnisse dieses Versuchs könnten eine wissenschaftliche Grundlage für zukünftige Behandlungsansätze dieser bisher unheilbaren Erkrankung liefern. Alle Tierversuche für die Behandlung dieses Krankheitsmodells stellen in der in diesem Antrag beschriebenen Form einen geringen Belastungsgrad für die Tiere dar. Darüber hinaus wurde diese Substanz, mit der in diesem Tierversuch KO-Mäuse behandelt werden, bereits für Patienten, welche an anderen Erkrankungen leiden, klinisch zugelassen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die in diesem Projekt geplanten Tierversuche ist die Verwendung von maximal 40 Mäusen vorgesehen.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeldung, Verminderung und Verfeinerung)

Der geplante Versuch basiert auf Ergebnissen, die einerseits in erfolgreichen Zellkultur-Experimenten, und andererseits in einem vorangegangenen erfolgreichen Tierversuch ermittelt wurden. Als nächsten Schritt zur Erforschung einer möglichen Behandlungsgrundlage dieser Muskelerkrankung ist der hier beantragte Versuch notwendig. Außerdem ist die hier untersuchte Skelettmuskulatur ein komplexes Organ aus hochdifferenzierten Zellpopulationen ist, welche dreidimensionale Strukturen ausbildet. Für die in diesem Antrag behandelten Fragestellungen gibt es daher naturgemäß keine Ersatzexperimente die ohne die Verwendung von Mäusen durchgeführt werden könnten. Die Anzahl der für die Versuche verwendeten Tiere ist einerseits so hoch gewählt, dass eine wissenschaftlich gesicherte Aussage möglich ist, die Tiere also nicht "umsonst" verwendet wurden, andererseits werden nach Erreichen der für die wissenschaftliche Aussagekraft ausreichenden Tierzahl die Experimente unverzüglich beendet. Gegebenenfalls wird so die oben genannte maximale Tierzahl unterschritten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012):

Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Die Mausezucht von speziellen Mäusen, die die Pathologie humaner Krankheiten widerspiegelt ist ein wichtiger Schritt um die Pathogenese der humanen Krankheiten zu untersuchen und neue Therapieoptionen zu definieren. Diese speziellen Stämme können in vivo sowie in vitro eingesetzt werden um die molekularen und zellulären Mechanismen der Krankheiten zu untersuchen. Diese in vitro und in vivo Modelle sind ein wichtiges Instrument um neue Therapiemöglichkeiten zu testen bevor man diese in klinischen Studien bei Menschen einsetzt.

Im aktuellen Antrag ist die Zucht von 7600 speziellen Mäusen über den Zeitraum von fünf Jahren geplant um die prä-klinischen Studien bei einer neurologischen Erkrankung zu ermöglichen. Davon werden 3100 genotypisiert durch eine Schwanzspitzenbiopsie.

Es gibt kein alternatives System, um diese Studien durchzuführen.

Es wird während der Maushaltung großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Leiden der Mäuse so gering wie möglich gehalten werden.

Alle Mäuse werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten TierpflegerInnen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

In dem vorgelegten Projekt wird die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 10 gentechnisch veränderten Stämmen, einem Balb/c Wildtyp und einem Wildtyp-Allotyp (CD45.1), die der Erforschung des Immunsystems dienen, beantragt. Dabei gilt es, die Erhaltung der Mausstämmen über eine Projektdauer von 5 Jahren zu gewährleisten. Zusätzlich werden die gentechnisch veränderten Mausstämmen hinsichtlich ihres allgemeinen Erscheinungsbildes.

Gesundheitszustandes und Verhalten untersucht, wobei es sich hier um nichtinvasive Beobachtungen handelt und daher keinerlei Belastungen für die Mäuse entstehen, Für den Zeitraum von 5 Jahren wird für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 12 Mausstämmen eine Gesamtanzahl von 1800 Mäusen beantragt. Diese Tierversuche sind nicht vermeidbar, noch kann die Anzahl der Tiere weiter reduziert werden. Stämme, die in absehbarer Zeit nicht für einen wissenschaftlichen Versuch verwendet werden, werden auf ein Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt, ohne den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren.

Das Projektziel ist die Entwicklung von Arzneimitteln zur Behandlung von Krankheiten beim Menschen. Durch den Versuchsablauf kann es zu einer Belastung der verwendeten Tiere (Schweine, maximal 50 Tiere) kommen. Der zu erwartende Schaden ist durch eine sorgfältige Güterabwägung durch den zu erwartenden Nutzen gerechtfertigt. Eine Belastung des einzelnen Tieres wird durch Anwendung des 3-R- Prinzips vermieden bzw. möglichst niedrig gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

Das Schmerzmanagement bei Pferden beinhaltet für bestimmte Indikationen auch die epidurale Applikation von verschiedenen Substanzen. Voraussetzung für einen erfolgreichen schmerzlindernden Effekt ist das Beherrschen der Technik um eine Epiduralnadel richtig in den Epiduralraum einzubringen. Bestätigung einer korrekten Position der epiduralen Nadelspitze ist noch immer nicht 100% eindeutig, kann aber mit Hilfe eines speziellen elektronischen Gerätes auch bei Pferden verbessert werden indem ein akustisches Signal hörbar wird. Wenn jedoch Schmerzlinderung über längere Zeit via des Epiduralraumes vorgesehen ist, bietet sich, statt wiederholter Punktion, die Technik der epiduralen Katheterisierung an.

Es stehen keine Phantome für das Erlernen der epiduralen Technik und dem Katheter setzen beim Pferd zur Verfügung. Soweit bekannt, stehen auch keine geeigneten didaktischen Videos von der Kombination akustisch begleiteter Epiduralpunktion und Katheterisierung beim Pferd zur Verfügung. Diese Techniken sollten aber durch die Herstellung einer Videoaufnahme des Vorgehens möglichst an viele Tierärzte und Interessenten vorgestellt werden ohne lebende Tiere zu benutzen. Für diese Videoherstellung werden zwei Pferde herangezogen. Diese epiduralen Punktionen finden unter Sedierung und lokaler Anästhesie der Haut statt.

Es ist zu erwarten, dass mit diesen Lernvideos das Lernen der epiduralen Punktion und Katheter setzen schneller geht und weniger Tiere bzw. Punktionsversuche nötig sind. Schlussendlich werden Pferde als Patient von diesen Techniken profitieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Mäuse, denen das fettspaltende Enzym adipöse Triglyzerid-Lipase fehlt, weisen eine ausgeprägte Funktionsstörung im Gefäßendothel auf. Ziel dieser Studie ist es, zu klären, inwiefern die glatte Gefäßmuskulatur zu diesem Defekt beiträgt.

Dazu soll eine Mauslinie gezüchtet werden (SMMHC/ATGL-ko), der die adipöse Triglyzerid-Lipase ausschließlich in der glatten Gefäßmuskulatur fehlt. Zu diesem Zweck werden zwei etablierte Mauslinien, die von nationalen bzw. internationalen Kooperationspartnern zur Verfügung gestellt werden (ATGL flox und SMMHC-CrERT2), miteinander verpaart. Männliche SMMHC-Cre Mäuse (als Kontrollgruppe) und SMMHC/ATGL-ko Mäuse werden im Alter von 5-6 Wochen an 5 aufeinanderfolgenden Tagen mit Tamoxifen (1mg/Tag; 1 x täglich) behandelt. Die Substanz wird in 0.1 ml Maiskeimöl gelöst und intraperitoneal appliziert. Dadurch wird auf molekularbiologischem Weg erreicht, dass die DNA, die für die adipöse Triglyzerid-Lipase codiert, ausschließlich in den glatten Gefäßmuskulazellen entfernt wird. Als Folge davon kann das Enzym in diesen Zellen nicht mehr gebildet werden. 4 Wochen nach der letzten Tamoxifengabe werden die Tiere durch CO₂ Exposition getötet. Nach Eröffnung des Brustkorbs wird die Brustorta entnommen und für Organbadstudien verwendet. In diesen Versuchen wird die Erschlaffung bzw. die Anspannung der Aortenringe gemessen. Weiters werden diverse Organe (Aorta, Herz, Magen, Skelettmuskel) entnommen um diverse biochemische Parameter zu bestimmen.

Die Mäuse werden in einem klimatisierten Tierstall bei 20°C (50-70% Luftfeuchtigkeit) und einem Hell-Dunkel Zyklus von 12 Stunden untergebracht. Sie erhalten nach Belieben Altromin 1324 Standard Nahrung und Trinkwasser. Die Haltung erfolgt in Polycarbonat Käfigen (PC 3108; 265 x 150 x 420 mm), wobei 3-5 Tiere miteinander vergesellschaftet werden.

Um die vorliegende Fragestellung hinreichend zu untersuchen, sind derzeit keine entsprechenden Alternativmethoden verfügbar. Im Hinblick auf die enorme Zahl von Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Folge von Übergewicht und Fettleibigkeit scheint die Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen am Tiermodell aber klinisch äußerst bedeutend zu sein.

Statistische Berechnungen haben ergeben, dass eine Tierzahl von max. 35 pro Gruppe ausreichend erscheint, um die Fragestellung zu beantworten.

Um die Erforschung und Entwicklung von wichtigen humanmedizinischen Arzneimitteln zu gewährleisten, sind Tierversuche (Maus, Ratte) vorgeschrieben. Hierbei werden pharmakokinetische und pharmakodynamische Eigenschaften der Entwicklungssubstanzen im Tierversuch ermittelt. Die durch Tierversuche nachgewiesene therapeutische Effizienz sowie die in der Pharmakokinetik gewonnenen Erkenntnisse bilden einen wichtigen Bestandteil für die erfolgreiche und sichere Anwendung eines neuen Medikamentes in der Humanmedizin.

Durch die Nutzung von bestehenden Datensätzen von Vergleichsmedikamenten und der Einsatz statistischer Auswertungsprogramme wird die Zahl der verwendeten Tiere auf ein Minimum reduziert. Durch die Erforschung neuer Medikamente gegen lebensbedrohliche Krankheiten kann eine schwere Belastung einiger Versuchstiere leider nicht ausgeschlossen werden. Aus diesem Grunde wird eine ausführliche rückblickende Bewertung des Versuches in regelmäßigen Abständen durchgeführt. Projektierte maximal Tierzahlen pro Jahr: 10360 Mäuse und 960 Ratten

Eine rückblickende Bewertung ist erstmalig im Dezember 2015 sowie am Ende des Tierversuches (2018) vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Der geplante Versuch dient zur Gewinnung von spezifischen Antikörpern gegen drei verschiedene Domänen des Methyltransferase-like Protein 23. Die Antisera, die kommerziell nicht erhältlich sind, werden zur Detektion von Methyltransferase-like Proteinen 23 und ähnlichen Proteinen in Gewebeproben sowie primären Zellen und unterschiedlichen Zelllinien benötigt. Darüber hinaus sollen die Antikörper auch für funktionelle Experimente in der Grundlagenforschung eingesetzt werden.

Zur Immunisierung werden Kaninchen der Rasse Weißer Neuseeländer verwendet. Kaninchen zeichnen sich durch eine relativ leichte Haltung und Pflege, geringen Platzbedarf, sowie einfache Immunisierung aus und haben sich bei der Gewinnung von polyklonalen Antikörpern bestens bewährt. Für den geplanten Versuch werden Tiere mit einem Gewicht von 1.5 bis 1.8 kg verwendet, die lt. Angaben des Züchters 7 bis 8 Wochen alt sind. Die Haltung erfolgt in Käfigen mit einem Ausmaß von 65 x 65 x 60 cm (L x B x H), die mit einer zusätzlichen, erhöhten Liegefläche ausgestattet sind.

Insgesamt sollen 3 verschiedene Immunogene appliziert werden. Zur Minimierung der notwendigen Versuchstiere wird das jeweilige Immunogen vorerst nur bei zwei Kaninchen appliziert. Erst wenn keines der beiden Tiere mit der Bildung von entsprechend selektiven Antikörpern reagiert, werden zwei weitere Kaninchen immunisiert. Somit ist gewährleistet, dass das Immunogen nicht bei unnötig vielen Tieren appliziert wird. Da erfahrungsgemäß im Schnitt jedes 2. bis 3. Kaninchen einen optimalen Antikörper produziert, werden voraussichtlich maximal 10 Versuchstiere benötigt.

Jedes Kaninchen erhält eine Grundimmunisierung und in ca. 4-wöchigen Abständen 4 bis 5 Booster-Injektionen. Diese erste Immunisierungsserie wird mit 6 Kaninchen (2 pro Immunogen) gleichzeitig durchgeführt und dauert unter Berücksichtigung der Eingewöhnungsphase der Tiere und der Austestung der Antisera ca. 6 Monate. Da davon auszugehen ist, dass in einzelnen Fällen die Immunisierung zu wiederholen ist, ist mit einer Gesamtversuchsdauer von 12 Monaten zu rechnen.

Die Grundimmunisierung erfolgt mit kompletten Freund'schen Adjuvans + Immunogen, wobei je Kaninchen 0.3 ml Antigen-Adjuvans-Gemisch (200 µg Protein) auf 4 - 5 Stellen verteilt subcutan im Nacken- und Rückenbereich injiziert werden. In ca. 4-wöchigen Abständen erfolgen 3 - 4 Booster-Injektionen mit inkompletten Freund'schen Adjuvans + Immunogen, wobei wieder jedem Kaninchen 0.3 ml Antigen-Adjuvans-Gemisch (200 µg Protein) auf 4 - 5 Stellen verteilt subcutan im Nacken- und Rückenbereich injiziert werden. Das Ausmaß der Antikörperbildung wird vor jeder Booster-Injektion durch Abnahme von 0.5 ml Blut aus der Ohrvene der Tiere und Austesten des Serums kontrolliert.

Nach erfolgreicher Immunisierung werden die Tiere mittels i.m. Injektion von Medetomidin (Domitor Injektionslösung für Tiere, Pfizer, 1 mg/kg KG) und Ketamin (Ketasol Injektionslösung für Tiere, Graeb, 100 mg/kg KG) narkotisiert, durch Aufschneiden der Halsschlagader entblutet und die Antisera gewonnen. Tiere die keine Antikörper bilden werden durch Nackenschlag getötet.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Ad 1.: Das Ziel dieses Tierversuches ist es bisher unbekannte Mechanismen bei der Entstehung von Adipositas und Typ II Diabetes mit der Hoffnung auf neue therapeutische Ansätze zu finden. Ansatz ist ein spezieller Rezeptor, der die Produktion von proinflammatorischen körpereigenen Substanzen (Zytokine) anregt und so zu vermehrten Entzündungsreaktionen führt.

Ad 2.: 224 C57BL/6 Mäuse, bei welchen die durch hoch-kalorische Ernährung bedingte Entstehung eines Diabetes untersucht wird. Bei 10 Tieren wird zur Genotypisierung eine Schwanzbiopsie durchgeführt, für die Zucht transgener Tiere werden 224 Mäuse benötigt.

Ad 3.: Das Projekt verwendet ein sehr gut etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell mit standardisierten Haltungs- und Versuchsbedingungen und berücksichtigt somit alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Entsprechende Vorversuche wurden an Zelllinien durchgeführt. Dem 3R-Konzept wird weiters durch Standardisierung der Haltungs- und Versuchsbedingungen, durch die Verwendung geeigneter statistischer Methoden zur Fallzahlberechnung und somit zur Reduktion der benötigten Tiere Rechnung getragen. Zur Minderung der Belastung werden die Tiere sozial und in angereicherter Umgebung gehalten.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Das Projektziel ist die In vivo Untersuchung eines oralen Applikationssystems (Quick-release Kapseln). Die neu entwickelte Darreichungsform würde die Chancen auf die Erhöhung der Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes verbessern. Dadurch kann eine Behandlung der Patienten besser und schonender werden. Diese Kapseln könnten Menschen helfen, die schmerzhaft, unangenehme Medikamentenverabreichung durch Injektion zu vermeiden. Dieses vielversprechende System würde psychische Belastungen und das Leid von Patienten, die an Angst vor der Injektion leiden, beseitigen. Besonders für Kinder kann das neue Applikationssystem die Behandlungsqualität von Kindern wesentlich verbessern. Die Tiere werden für die orale Gabe der Kapseln sediert, sodass sie keine Leiden oder Schmerzen haben.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für den Versuch werden 5 Kaninchen verwendet.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Entwicklung neuer oraler Applikationsformen ist wichtig für die Behandlung von Menschen mit Medikamenten, die eine niedrige Bioverfügbarkeit haben. Bis jetzt wurden zwar einige in vitro Experimente mit optimierten Quick-release Kapseln durchgeführt.

Jedoch entsprechen diese in vitro Versuche nicht der realen Situation. Daher müssen die Kapseln verbessert werden. Die bisherige Kapselgröße wurde deutlich verkleinert und es wurden andere Materialien verwendet. Dadurch kann der Wirkstoff rascher aus den Kapseln freigesetzt werden seine Heilwirkung entfalten.

Um eine sichere Darreichungsform für den Menschen zu entwickeln, lassen sich die Versuche mit den Tieren nicht vermeiden, weil man nur so die Bedingungen im Darm von Menschen am besten imitieren kann. Das Experiment wird mit einer minimalen Anzahl an Tieren durchgeführt. Der Versuchsablauf wird so organisiert, dass das Leid der eingesetzten Versuchstiere auf ein Minimum reduziert wird. Die Tiere sind während der MRI Untersuchung fachgerecht sediert.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Relaxin-3 (RLX3) ist ein erst vor kurzem entdecktes Peptidhormon aus der Relaxin-Familie. Dieses Neuropeptid kommt vor allem im Gehirn vor, wo es in verschiedenste Funktionen involviert ist. Neueste Studien weisen darauf hin, dass es auch bei der Verarbeitung verhaltensbiologischer und kognitiver Prozesse sowie bei der Regulation von Stress- und Angstmechanismen eine wichtige Rolle spielt. Obwohl neuroanatomische Studien dieses Neuropeptid und dessen bevorzugten Rezeptor in Hirngebieten nachgewiesen haben, die für die Regulation von Stress- und Angstreaktionen wichtig sind, sind direkte funktionelle Hinweise für eine solche Rolle bis dato eher gering. Im Rahmen des vorliegenden Projektes soll nun untersucht werden, welche Rolle das RLX3-System bei der Regulation von Stress und Angstreaktionen spielt.

Laborratten sind neben Mäusen der international anerkannte Standardorganismus zur Modellierung komplexer Erkrankungen wie Stress und Angsterkrankungen des Menschen. Von Vorteil sind hierbei die ausgeprägten neurochemischen, morphologischen und neuroanatomischen Homologien zwischen Ratte und Mensch. Im Rahmen unserer für drei Jahre angesetzten Experimente und aufgrund der Europäischen Richtlinien zur Verwendung einer Minimalzahl an Tieren zum Erhalt statistisch signifikanter Aussagen sind für das vorliegende Projekt insgesamt 684 Ratten beantragt. Leider ist es bei der Untersuchung komplexer Erkrankungen und hochorganisierter Verhaltensmuster wie Stress und Angstreaktionen nicht zu vermeiden, die Experimente auf Ebene der Säugetiere anzusiedeln. Die angegebene Anzahl an Ratten genügt hierbei hinreichend der Mindestanforderung zum Erhalt biologisch relevanter Aussagen und kann daher nicht weiter vermindert werden. Es wird während aller Experimente großer Wert darauf gelegt, dass den Tieren keinerlei Schmerz oder sonstiges Leid zugefügt wird. Im Besonderen werden alle Ratten in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Tierpflegerinnen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Alle operativen Eingriffe werden von geschulten und erfahrenen Projektmitarbeiterinnen unter tief narkotisierten Bedingungen mit anschließender Schmerzbehandlung durchgeführt. Unser technischer/experimenteller Ansatz ist in allen Bereichen des Projekts "state of the art" und in besonders sensiblen Belangen wie Tierhaltung und Stereotaxie über den gängigen Laboralltag hinaus entwickelt, so dass wir aufgrund dieser Verfeinerungen bereits während der Konzipierung der beantragten Studie massiv auf eine Verringerung der Tierzahlen einwirken konnten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Bakterien, die Infektionen auslösen, können oft die Abwehrreaktion im Körper des Erkrankten beeinflussen- nicht nur der Erkrankte wehrt sich gegen das Bakterium, sondern das Bakterium wehrt sich auch gegen den Angriff des Immunsystems. Bei einigen Krankheiten kommt es etwa dazu, dass die Bakterien rote Blutkörperchen auflösen. Wir vermuten, dass ein körpereigener Stoff, welcher bei dieser Auflösung frei wird, die Abwehrreaktion des Erkrankten negativ beeinflusst, so dass die Erreger weniger gut bekämpft werden können. Dieser Mechanismus soll in diesem Projekt sichergestellt werden. Ebenso wird überprüft, ob sich dieser Stoff wieder aus dem Erkrankten abfangen lässt, und so der negative Effekt auf das Immunsystem verhindert werden kann, was neue Möglichkeiten der Therapie bieten würde.

2. Art und Anzahl der Tiere

508 Mäuse unterschiedlichen Genotyps. Zur Zucht genetisch veränderter Tiere werden 236 Tiere benötigt, sowie 12 Tiere, welche ausschließlich zur Genotypisierung verwendet werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Die Infektionsstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird:

1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt;
2. Werden die Infektionen derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden;
3. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt;
4. Werden Überlebensexperimente nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2017 vorgesehen.

Nichttechnische Projektzusammenfassung

„Verhaltenscharakterisierung von transgenen Huntington Ratten“

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen transgene Huntington Ratten und nicht transgene Geschwistertiere verschiedenen Alters und beider Geschlechter in verschiedenen Verhaltenstests auf ihre motorischen Fähigkeiten, Aktivität, Ängstlichkeit, Sozialverhalten und Kognition untersucht werden. Eine erste Kohorte von Tieren soll daher im Alter von 1 bis 6 Monaten einmal monatlich im RotaRod untersucht werden. Weiterhin werden die gleichen Tiere im Alter von 1 Monat im Open Field, im Alter von 4 Monaten im Elevated Plus Maze und im Alter von 6 Monaten im Social Interaction Test und Passive Avoidance Test untersucht. Eine zweite Kohorte soll im Alter von 3 Monaten im Open Field Test und im Alter von 6 Monaten im Morris Water Maze Test untersucht werden. Jede Kohorte besteht dabei aus 4 Gruppen: 1. weibliche und 2. männliche transgene Huntington Ratten und 3. weibliche und 4. männliche nicht transgene Geschwistertiere.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Huntington Krankheit ist eine neurologische Erkrankung, die vererbt wird. Huntington führt meist im Alter von 40 Jahren zu ersten Krankheitssymptomen. Die Krankheit nimmt einen immer schwereren Verlauf und führt im Durchschnitt 15 Jahre nach den ersten Symptomen zum Tod. Die Symptome sind vielfältig und reichen von Bewegungsstörungen bis zu Persönlichkeitsveränderungen. Obwohl die Forschung in großen Schritten voranschreitet, ist die Krankheit heute noch nicht heilbar.

Die genetisch veränderten Tiere zeigen keine lebens einschränkende Symptome. Durch die Verhaltenstests kommt es zu keiner wesentlichen Beeinträchtigung des Wohlergehens oder des Allgemeinzustandes der Tiere. Da die Tiere in einem Verhaltenstest einem elektrischen Reiz ausgesetzt werden, wird der Schweregrad des Tierversuches als „mittel“ eingestuft.

Durch die vorliegende Studie sollen die Verhaltensdefizite der Huntington Ratten detailliert charakterisiert werden, damit sie im Anschluss zur Testung neuer Huntington Medikamente eingesetzt werden können.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden insgesamt 80 Huntington Ratten und 80 nicht transgene Ratten beantragt.

Nachweis über die Erfüllung der Anforderung von Vermeidung, Verminderung und Verbesserung:

Um die Huntington Krankheit erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst

vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Bereits vorhandene Tiermodelle wie z.B. die R6/2 Maus sind nicht sehr gut für die Testung neuer Medikamente geeignet, da dieses Modell bereits frühzeitig starke Defizite aufweist. Zusätzlich eignen sich Ratten auf Grund ihrer Lernfähigkeit und Sozialverhaltens besser für Verhaltenstests als Mäuse.

Nur durch die Charakterisierung von neu entwickelten Huntington Ratten kann es möglich sein, im Anschluss neue und effiziente Medikamente gegen die Huntington Erkrankung zu testen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung
Zucht transgener Mäuse (miR-451 Knock-Out)

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen:

Ziel dieses Projekts ist es, transgene homozygote Knock-Out Mäuse zu züchten und zu phänotypisieren. Die Züchtung dient primär dazu, die zerebralen Veränderung der Knock-out Mäuse zu dokumentieren und die Tiere neuronal zu phänotypisieren. Die miR-451 assoziierten zerebralen Veränderungen in den Knock-Out Mäusen werden mittels histologischer und immunhistochemischer Untersuchungen analysiert. Gleichzeitig werden die neuronalen Funktionen der Knock-Out Mäuse mit Hilfe von Verhaltenstests analysiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die geplante Fragestellung ist nur im Tiermodell mit transgenen Knock-Out Mäusen zu etablieren. Es werden 3200 Mäuse gezüchtet. Diese Zahl ist die maximale Anzahl an Tieren, die gezüchtet werden müssen, um nach den Mendelschen Gesetzen eine ausreichende Zahl homozygoter männlicher Knock Out Mäuse zu erhalten. Es ist damit zu rechnen, dass die tatsächliche Zahl der zu züchtenden Mäuse darunter liegt, da die Zahl der benötigten Tiere schon vorher erreicht werden kann.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung):

Eine Vermeidung des Tierversuchs ist nicht möglich, die die Fragestellungen nur in vivo beantwortet werden können. Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Versuchsgruppen und sequentiell, um durch die gewonnen Daten die Versuchstierzahlen für die nachfolgenden Versuche möglichst gering halten zu können.

In diesem Antrag geht es um Zucht und Phänotypisierung der transgenen Knock-Out Mäuse. Operative Eingriffe wird es nicht geben.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel ist die Messung der Konzentrationen zweier auf die Haut aufgetragener Wirkstoffe und ihrer Metaboliten in der Haut. Die Untersuchung zeigt, ob die Wirkstoffe in ausreichender Konzentration den Wirkort in tieferen Hautschichten erreichen, und wie sie dort in die Zerfallsprodukte umgewandelt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

6 Hausschweine

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Haut des Schweins weist große Ähnlichkeiten zu der des Menschen auf und ist daher ein geeignetes Modell zum Test von möglichen Wirkstoffen gegen Hautkrankheiten. Die große Hautoberfläche des Hausschweines bietet mehreren Testflächen Platz, sodass nur wenige Tiere untersucht werden müssen.

Am Menschen können diese Wirkstoffkandidaten in dieser Entwicklungsphase nicht untersucht werden, da die Sicherheit dieser Substanzen für den Menschen noch nicht erwiesen ist.

In vitro Laboruntersuchungen sind leider nicht zielführend bzw. nicht ausreichend, da Parameter wie das biochemische Milieu innerhalb der Haut, das Immunsystem oder die Blutzirkulation innerhalb der Haut nicht im Labor nachgeahmt werden können.

Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist leider nicht möglich, da die Fragestellungen nur in lebender Haut zu beantworten sind.

Eine statistische Aussagekraft wird durch die gleichzeitige Anwendung vieler Sammelsysteme gewährleistet, und dadurch kann auch die Anzahl der notwendigen Tiere möglichst gering gehalten werden.

Während der Eingewöhnungszeit der Tiere werden, neben standardmäßig fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegerinnenpersonal, zusätzlich zum Wohl der Tiere Enrichment in Form von Bällen, Gummiringen, Stroh etc. zur Verfügung gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpflegerinnen gewöhnt, um den Stress der Tiere zu reduzieren.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens

Die beantragten Experimente dienen der Grundlagenforschung. Im Speziellen soll der Einfluss epigenetischer Mechanismen auf verschiedene Verhaltens-, Lern- und Gedächtnisleistungen in der Maus untersucht werden. Ein durch natürliche Züchtung entstandener Laborstamm mit verminderter Furchthemmung sowie ein genetisch verändertes Mausmodell werden im Hinblick auf die Regulation chromatinmodifizierender Faktoren in Antwort auf verschiedene Versuchsschemata untersucht. Diese Studien sollen zu einem besseren Verständnis psychischer Erkrankungen des Menschen (z.B. Depressionen, Angststörungen) führen und in der Folge mögliche molekulare Ziele für die Entwicklung neuer Therapiestrategien liefern.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Insgesamt werden ca. 108 Mäuse zum Einsatz kommen. Drei verschiedene Verhaltenstests werden durchgeführt, wobei bei zwei dieser Tests keine bis minimale Leiden verursachen.

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Im Vorfeld wurden ausgedehnte Experimente und Planungen durchgeführt um die Anzahl der benötigten Versuchstiere so gering wie möglich zu halten. Dafür wurden Methoden für molekulare Analysen optimiert und für den Gebrauch mit minimalen Probenmengen modifiziert. Da das Ziel dieser Studie die Erforschung molekularer Mechanismen bei Verhaltensabläufen ist, ist der Tierversuch die einzig mögliche Art die Forschungsfrage adäquat zu behandeln. Alle Tiere werden regelmäßig und sorgfältig von geschultem Personal kontrolliert und betreut. Sollten sich Anzeichen für krankhafte Veränderungen ergeben, werden diese Tiere umgehend auf schmerzfreie Art getötet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. April 2016 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Therapien mit monoklonalen Antikörpern stellen ein Behandlungskonzept für eine Vielzahl von Tumorerkrankungen dar. Es handelt sich hierbei um ein stark wachsendes Feld, indem mehr und mehr verschiedene vor allem auch in ihrer Wirkung verbesserte Antikörper entwickelt eingesetzt werden. In diesem Projekt sollen bereits bestehende Antikörper in ihrer Wirkung stark verbessert werden. Das neue Therapiekonzept wurde von uns bereits in Zellkulturexperimenten erprobt, wobei die von uns modifizierten Antikörper sehr effizient Tumorzellen zerstören konnten. Bevor ein solches neues Konzept allerdings in klinischen Studien an Patienten erprobt werden kann, müssen nun zunächst Sicherheits- und Effizienzuntersuchungen im Tiermodell durchgeführt werden. In den Experimenten werden über 3 Jahre hinweg insgesamt maximal 538 Mäuse verwendet (240 davon für die Sicherheitsuntersuchungen und 298 für die Effizienzuntersuchungen).

Bei der Planung der Experimente wurden immer die „3R“ (Vermeldung, Verminderung und Verfeinerung) berücksichtigt. Parallel zu den Tierexperimenten werden weitere Zellkulturexperimente durchgeführt, um wann immer möglich, die Mäusezahlen zu reduzieren. Wir arbeiten mit führenden Wissenschaftlern auf dem Gebiet und mit Statistikern zusammen, um sicherzustellen, dass mit einer minimalen Tierzahl statistisch gesicherte Ergebnisse erzielt werden können. Alle Experimente sind so geplant, dass die Belastung für die Tiere möglichst gering ist. Alle Personen, die die Experimente durchführen sind entsprechend geschult und werden ständig weiter gebildet. Durch Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet und dem Tierschutzgremium werden die Protokolle weiter verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren.

Für die in diesem Projekt geplanten Experimente wurden Mäuse als Versuchstiere gewählt. Das von uns verwendete Modell ist ein Standardmodell für die Sicherheitsuntersuchungen neuer Antikörpertherapien und kann verlässliche Aussagen über die möglichen Gefahren bei einer Anwendung im Patienten treffen. Daher wird es uns möglich sein, das Gefährdungspotential des von uns neu entwickelten Therapiekonzeptes durch den Vergleich mit Daten anderer Therapiekonzepte zu ermitteln. Für die Effizienzuntersuchungen werden Mäuse, die mit humanen Tumorzellen repopuliert wurden verwendet, um die sonst nötigen Experimente in höheren Säugern (z.B. nichthumane Primaten) zu verhindern.

Die Ergebnisse dieses Projekts werden uns wichtige Informationen für die Weiterentwicklung unseres neuen Therapiekonzepts zur klinischen Anwendung hin geben. Wir hoffen, die hierbei gewonnenen Erkenntnisse der Sicherheitsuntersuchungen auch auf andere Krankheiten übertragen zu können.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 22 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der Krebs-, Stammzell- und immunologischen Forschung Verwendung finden. Die genetischen Veränderungen selbst lassen keine Belastung der Tiere erwarten. Eine geringe Belastung ist ausschließlich durch die für die Genotypisierung erforderliche Schwanzspitzenbiopsie zu erwarten.

Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämmen über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung der einzelnen Stämme auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten.

Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind ausschließlich nicht-invasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen für sich genommen daher keinerlei Belastung für die Tiere dar. Der zu erwartende Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Erhebung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen.

Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 22 Mausstämmen über einen Zeitraum von 5 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von 7920 Mäusen beantragt.

Die in diesem Projekt beantragte Erhaltungszucht transgener Mauslinien kann durch alternative Techniken nicht ersetzt werden. Die Nutzer der Einrichtung werden jedoch durch das Tierschutzgremium der lokalen Einrichtung dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht für wissenschaftliche Projekte benötigt werden. Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren.

Für die Erhebung der durch die genetischen Veränderungen verursachten Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden. Der Großteil der hier beantragten Tiere wird in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 20 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der onkologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämmen über die Projektdauer von 4 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung der einzelnen Stämme auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten. Die dazu erforderlichen Untersuchungen sind ausschließlich nicht-invasive Beobachtungen an Tieren in verschiedenen Lebensabschnitten und stellen daher keinerlei Belastung für die Tiere dar. Der zu erwartende Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Erhebung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen. Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 20 Mausstämmen über einen Zeitraum von 4 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von 4200 Mäusen beantragt. Die beantragten Tierversuche können weder vermieden noch reduziert werden. Die Nutzer der Einrichtung werden jedoch durch das Tierschutzgremium der lokalen Einrichtung dahingehend beraten, keine Stämme zu erhalten, die in absehbarer Zeit nicht für wissenschaftliche Projekte benötigt werden. Nicht vermeidbare Erhaltungszuchten sollen auf das nötige Minimum an Individuen beiderlei Geschlechts beschränkt werden, und Nachfolgenerationen sollen in möglichst großen Zeitabständen gezüchtet werden, ohne jedoch den Verlust eines Stammes durch Überalterung zu riskieren.

Für die Erhebung der durch die genetischen Veränderungen verursachten Belastungen müssen keine zusätzlichen Tiere gezüchtet und gehalten werden. Der Großteil der hier beantragten Tiere wird in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

Nichttechnische Projektzusammenfassung

„Behandlung von transgenen Huntington Ratten mit CRE-GFP Lentiviren“

Ziel der Studie: In dieser Studie, untergliedert in zwei Teilprojekten, sollen im Projekt 1 genetisch veränderte Huntington Ratten mit einem Virus behandelt werden, der zur Verbesserung der Huntington Symptome in der Ratte führen soll. Die Tiere werden euthanasiert und Blut, Gehirn und Gehirnflüssigkeit werden auf positive Veränderungen durch den Virus untersucht. Im Projekt 2 werden genetisch veränderte Huntington Tiere und wildtyp Tiere ebenfalls intrakraniell mit einem Virus behandelt. Im Anschluss daran werden die kognitiven Fähigkeiten im Verhalten analysiert und die Gehirne nach Euthanasie auf ihre pathohistologischen Veränderungen analysiert.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Huntington Krankheit ist eine neurologische Erkrankung, die vererbt wird. Huntington führt meist im Alter von 40 Jahren zu ersten Krankheitssymptomen. Die Krankheit nimmt einen immer schwereren Verlauf und führt im Durchschnitt 15 Jahre nach den ersten Symptomen zum Tod. Die Symptome sind vielfältig und reichen von Bewegungsstörungen bis zu Persönlichkeitsveränderungen. Obwohl die Forschung in großen Schritten voranschreitet, ist die Krankheit heute noch nicht heilbar.

Die genetisch veränderten Tiere zeigen keine lebens einschränkende Symptome. Durch die Verhaltenstests kommt es zu keiner wesentlichen Beeinträchtigung des Wohlergehens oder des Allgemeinzustandes der Tiere. Da die Tiere einem chirurgischen Eingriff unter Vollnarkose mit angemessenen Schmerzmitteln unterzogen werden und die Tiere in einem Verhaltenstest einem elektrischen Reiz ausgesetzt werden, wird der Schweregrad des Tierversuches als „mittel“ eingestuft.

Durch die vorliegende Studie soll ein Adeno-assoziiertes Virus zur Behandlung der Huntington Symptome in BACHD Ratten getestet werden. Es wird durch diese Studie erstmals möglich sein festzustellen, welche Gehirngebiete für welche Symptome der Krankheit verantwortlich sind. Dadurch wird es möglich sein, gezielter Medikamente und Therapien gegen die Krankheit zu entwickeln.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden insgesamt 288 Huntington Ratten und 80 nicht transgene Ratten beantragt.

Nachweis über die Erfüllung der Anforderung von **Vermeidung, Verminderung und Verbesserung**:

Nachdem die zu testenden Viren vorher im Labor ausgetestet wurden, ist es erforderlich sie im nächsten Schritt am lebenden Organismus auszutesten. Durch die Beantwortung der Frage, welches Gehirngebiet für welches Symptom der Krankheit verantwortlich ist, wird es im Anschluss leichter sein, spezifische Medikamente gegen HD zu entwickeln

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen -

Histomonose ist eine Erkrankung des Geflügels, die zu hoher Mortalität bei infizierten Tieren führen kann. Bis dato gibt es keine Möglichkeit der Prophylaxe oder Therapie gegen diese Krankheit, daher ist die Entwicklung eines Impfstoff gegen Histomonose für den Einsatz im Feld dringend notwendig. Vorhergehende Experimente haben gezeigt, dass die Impfung mit attenuierten Histomonaden gegen eine Infektion (Challenge) mit virulenten Parasiten schützen kann. In diesen Versuchen wurde für die Impfung und den Challenge jeweils dasselbe Isolat, mit unterschiedlicher Passagenzahl, verwendet. Bisher gibt es jedoch noch keine Untersuchungen zum protektiven Effekt des Impfstoffkandidaten gegen genetisch unterschiedliche Isolate von *H. meleagridis*.

In den vergangenen Jahren ist es gelungen von verschiedenen Ausbrüchen von Histomonose in europäischen Geflügelbetrieben den Erreger zu isolieren. Ergebnisse aus Infektionsversuchen haben gezeigt, dass die verschiedenen Isolate bei Puten hochvirulent sind. Weiters konnten phylogenetische Unterschiede der verschiedenen Isolate nachgewiesen werden, was Fragen zur Kreuzprotektivität aufwirft

Ziel des Tierversuches ist es einen protektiven Effekt eines möglichen Impfstoffes bei Puten auch gegen genetisch heterologe Histomonaden zu untersuchen. Die Ergebnisse sind eine wichtige Grundlage für die Verwendung eines Impfstoffes gegen Histomonose im Feld. Der zu erwartende Schaden ist die Erkrankung von einzelnen Puten an Histomonose. Für die Weiterentwicklung eines Impfstoffes ist der Versuch von großem Nutzen, um zukünftig Geflügel in kommerziellen Betrieben vor Morbidität und Mortalität durch Histomonose schützen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere -

90 Puten

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) -

Die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Histomonose ist, wie oben beschrieben von großer Dringlichkeit. Der dazu nötige Versuch ist jedoch so erstellt, dass eine minimale Anzahl von Tieren verwendet wird, ohne die statistische Berechenbarkeit von Ergebnissen zu gefährden. In kurzen, regelmäßigen Intervallen werden die Tiere beobachtet um protrahierte klinische Symptome zu vermeiden. Wie gesetzlich vorgeschrieben wird in dem aktuellen Experiment das Vermeiden von unnötigem Tierleid aufgrund der genau definierten Abbruchkriterien eingehalten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2015 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Wir untersuchen die Interaktion von mesenchymalen Stamm- und Progenitorzellen (MSPCs) und endothelialen Vorläuferzellen (ECFCs) in Bezug auf Gefäßregeneration. Trotz der enormen Bedeutung von Blutgefäßen in der Medizin ist noch nicht geklärt, wie Endothelzellen diese ausbilden. Die Transplantation von in Matrix eingebetteten humanen MSPCs und ECFCs (in einem bestimmten Verhältnis zueinander) in immundefiziente Mäuse führt zur Neubildung von Gefäßen. Ob direkte Zell-Zell-Kontakte, lösliche Faktoren oder mit mRNAs, miRNAs und Proteinen beladene Exosomen (Mikrovesikel) für diese komplexen Vorgänge verantwortlich sind, ist nach wie vor nicht geklärt. Die Transplantation von MSPCs hat bereits bei einigen Erkrankungen zu therapeutischen Erfolgen geführt, dabei wird spekuliert, dass von den Zellen sezernierte Faktoren für diese Effekte verantwortlich sind. Wir konnten zeigen, dass Exosomen aus Zellkulturüberständen von MSPCs bzw. ECFCs vom jeweils anderen Zelltyp aufgenommen werden und Auswirkungen auf Zellproliferation und -migration haben. Zellbasierte Therapien zur Neovaskularisierung erfordern ein gutes Verständnis der Art des Zusammenwirkens von MSPCs und ECFCs, das erst im Tierversuch umfassend untersucht werden kann. Ziel dieser Studie ist es, neue Wege der Zellregulation und des Informationsaustausches zwischen den Zellen zu definieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es ist die Verwendung von immundefizienten NSG (Nod Scid Gamma) Mäusen notwendig. Sie gelten als das beste Xenotransplantationsmodell, da transplantierte Zellen mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit anwachsen. Dadurch kann Zahl der Versuchstiere auf die Mindestzahl beschränkt werden. 384 Tiere.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Durch die Charakteristika der hochgradig immundefizienten NSG Mäuse kann die Zahl der Versuchstiere auf ein Mindestmaß beschränkt werden. In vitro Angiogenese Versuche können die in vivo Situation nicht befriedigend simulieren. Erst in vivo kann die Dynamik der Gefäßbildung und die Funktionalität der Gefäße (Durchblutung) untersucht werden. In vitro Kulturen können nur über wenige Wochen erhalten werden, was Langzeitstudien unmöglich macht.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

Der Einsatz von Lichtprogrammen während der Wintermonate zur Vorverlegung fruchtbarer Reproduktionszyklen kommt bei Stuten bereits seit vielen Jahren erfolgreich zur Anwendung. Bei Zuchthengsten werden Lichtprogramme routinemäßig bislang nicht genutzt. Es gibt bislang auch keine Untersuchungen, in wieweit solche Lichtprogramme zu einer Verbesserung der Samenqualität und damit der Fruchtbarkeit beitragen können. Daher soll in dem vorgesehenen Versuch die Auswirkung eines Lichtprogrammes auf die Hodenfunktion und Samenqualität bei Hengsten untersucht werden. Dagegen wird versucht, z.B. durch Fütterung bestimmter Zusatzfaktoren die Spermienproduktion -und funktion zu stimulieren. Es gibt jedoch bislang keine Untersuchungen, die Auswirkungen solcher Lichtprogramme auf die Spermienfunktion bei Hengsten in Bezug auf die Qualität von gekühltem Transportsamen sowie Tiefgefriersamen nachgegangen sind.

Zu diesem Zweck wird eine Gruppe von Hengsten (n=12) in den Wintermonaten einem Lichtprogramm ausgesetzt werden, das im Dezember 2013 beginnt und 16 Stunden Helligkeit und 8 Stunden Dunkelheit Langtagzyklen nachahmt. Das Lichtprogramm wird im März 2014 beendet, die Untersuchungen laufen jedoch bis einschließlich Juli 2013. Eine zweite Gruppe von Hengsten (n=12) bildet die Kontrollgruppe und wird in der gleichen Zeit unter natürlichen Tageslichtbedingungen gehalten. Alle Hengste werden in Laufställen in Gruppen gehalten. Tagsüber haben sie über mehrere Stunden Auslauf in großflächigen Paddocks. Allen Hengsten wird eine regelmäßige sexuelle Aktivität (Samenentnahme einmal wöchentlich) ermöglicht. Zur Feststellung des Auswirkung des Lichtprogrammes werden einmal monatlich sowohl sowohl reproduktions- als auch stoffwechselrelevante Parameter evaluiert.

Es ist offensichtlich nur an lebenden Tieren möglich, die Auswirkungen eines Lichtprogrammes auf Stoffwechsel- und Fortpflanzungsfunktionen inklusive der Samenqualität zu untersuchen, d.h. ein „Replacement“ der Pferde ist nicht möglich. Es werden Ponies der Rasse Shetland verwendet, da diese als wenig domestiziert gelten und daher über ausgeprägte saisonale Regulationsmechanismen verfügen. Die Unterschiede in den Zielgrößen sollten daher besonders deutlich werden. Die verwendeten Untersuchungsmethoden sind gar nicht bzw. wenig invasiv (einzelne Blutprobenentnahmen). Die Haltung der Tiere wird durch den Versuch nicht beeinträchtigt, sie verbleiben in Gruppenhaltung.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

Um das Risiko einer Übertragung von transmissiblen Spongiformen Enzephalopathien (TSE), wie die Creutzfeldt-Jacob Krankheit, zu minimieren, wird gesetzlich empfohlen für biopharmazeutische Herstellungsverfahren eine Überprüfung der Prionensicherheit in vivo Modell durchzuführen. Dabei werden durch Zugabe einer definierten Menge von "spike" Material die einzelnen Prozessschritte des Herstellungsverfahrens im in vitro Labormaßstab simuliert. Für diese Art von Untersuchungen wird das TSE Modell 263K (hamster-adaptierte Scrapie) als Goldstandard angesehen. Eine Herstellung dieses "spike" Materials ist nur in vivo möglich. Zur Herstellung des Spikematerials muss eine bekannte Konzentration an 263K Agens inokuliert werden und nach einer bestimmten Inkubationszeit kann neues 263K Agens aus Gehirnproben gewonnen werden. Tiere werden im Laufe der Studie klinische Symptome der Scrapie Erkrankung zeigen. Dem gegenüber steht jedoch der Nutzen im Sinne einer Kontrolle der Produktionsqualität biopharmazeutischer Arzneimittel und folglich auch eine Sicherstellung der menschlichen Gesundheit. Es werden 130 Goldhamster beantragt. Tiere werden in kleinen Gruppen mit Enrichment gehalten und Futter wird auch am Boden angeboten. Die Applikation des 263K Agens wird unter Narkose durchgeführt und Tiere auf ihren Gesundheitszustand täglich genauestens kontrolliert. Abbruchkriterien sind genau definiert und werden angewandt um unnötiges Leid zu verhindern.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

Zweck des Tierversuchs

Neuropeptide sind im Zentralnervensystem weit verbreitet und wirken dort als Mediatoren, welche gemeinsam mit klassischen Neurotransmittern freigesetzt werden. Die Wirkungen dieser Mediatoren im zentralen Nervensystem werden hauptsächlich über G-Protein gekoppelte Rezeptoren vermittelt. Die Hauptliganden dieser Rezeptoren werden sowohl peripher (Pankreas, Magen-Darm Trakt) als auch zentral (im Gehirn) ausgeschüttet. Die entsprechenden Rezeptoren befinden sich auch im Gehirn oft außerhalb der Blut-Hirn-Schranke, so zum Beispiel im *Nucleus tractus solitarius*, in der *Area postrema* und im *Nucleus arcuatus* des Hypothalamus. Zur Untersuchung dieser Neuropeptide stehen verschiedene Mausstämmen zur Verfügung, die entweder für die Neuropeptide selbst, oder für einen der Rezeptoren defizient sind. Die genaue Untersuchung dieser KO Mäuse kann Aufschluss über die Funktion von Neuropeptiden beziehungsweise die verantwortlichen Rezeptoren geben. Alternativ kann mittels viraler Vektoren eine lokale Überexpression eines Rezeptorspezifischen Liganden in konventionellen KO Mäusen und damit eine Charakterisierung beteiligter Hirnstrukturen erreicht werden. Es können dadurch mögliche alternative Therapieansätze aufgezeigt werden. Die modulierende Wirkung dieser Neuropeptide kann zur Dämpfung exzessiver Angstzustände beziehungsweise zur Unterstützung von psychotherapeutischen Ansätzen ausgenutzt werden.

Die Rolle von spezifischen anxiolytisch wirkenden Neuropeptid-Rezeptoren in der Entstehung und Extinktion von erlernter Furcht wurde noch nicht eingehend untersucht. Dies ist von entscheidender Bedeutung, da einerseits die Therapie von Angststörungen stark auf der Verhaltens- und Expositionstherapie beruht und andererseits keine ausreichenden pharmakologischen Behandlungen, welche diese Therapie unterstützen könnten vorhanden sind. Aus epidemiologischen Untersuchungen ist eine erhöhte Prävalenz von Angst und Depressionsstörungen vor allem bei Frauen bekannt. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen sollen Schlüsselexperimente sowohl an männlichen als auch an weiblichen Mäusen durchgeführt werden.

Die geplanten Untersuchungen sollen die Bedeutung dieser Rezeptoren und dem physiologischen Liganden in der Entstehung und Extinktion von erlernter Furcht aufklären. Um dies zu erreichen werden einerseits Rezeptor KO Mäuse und andererseits Wildtyp Mäuse, die mit einem spezifischen Liganden für den entsprechenden Rezeptor vorbehandelt werden in Verhaltenstests untersucht. Viele der angewandten Verhaltenstests beruhen auf dem Prinzip der freien Exploration und stellen für die Tiere eine milde Belastung dar. Dabei besteht immer die Auswahl zwischen einem geschützten und einem ungeschützten, jedoch interessanterem Aufenthaltsort (meist erhöht oder gut ausgeleuchtet). Erlernte Furcht beruht auf dem Prinzip der Assoziation zwischen einem neutralen und einem unangenehmen Reiz (meist ein milder elektrischer Fußschock) weshalb hier ebenfalls mit einer milden bzw. kurzzeitig mittleren Belastung zu rechnen ist.

Art und Anzahl der beteiligten Versuchstiere

Verhaltensversuch, insbesondere jene, die Emotionen bzw. Lernverhalten und Gedächtnis involvieren können nicht *in vitro* bzw. in Zellkultur durchgeführt werden. Es wurden jedoch Voruntersuchungen durchgeführt, die eine Beteiligung in emotionalen Verhaltensweisen nahelegen. Pro Versuchsreihe wird eine Gruppengröße von bis zu 15 Tieren angestrebt. Die Anzahl wird benötigt um Unterschiede in den Verhaltenstests statistisch zu erfassen. Die Dauer der Experimente soll 2 Jahre betragen, wobei eine Maximalanzahl von 406 Mäusen veranschlagt wird. Diese Anzahl wird in Abhängigkeit der Ergebnisse jedoch deutlich unterschritten werden.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Ziel des Projektes ist die Bedeutung eines Genes, welches die Struktur von Chromatin im Zellkern bestimmt, für höhere Gehirnfunktionen zu untersuchen. Gegenwärtig liegen dazu keine Erkenntnisse vor. Klinische Studien an Patienten haben ergeben, dass der Verlust bereits einer der beiden Genkopien im Genom (Haploinsuffizienz) schwere Störungen der Lernfähigkeit und schwere Entwicklungsstörungen zur Folge hat. Dadurch ergibt sich die Notwendigkeit weitere sorgfältige Untersuchungen im Tiermodell durchzuführen. Wir werden ein konditionales Knockout Modell verwenden, um die Funktion des Genes für neuronale Plastizität im Hippokampus, Lernen und Gedächtnis, die Entstehung erregender Synapsen, die Morphologie von Dendriten und die Dichte von Synapsen zu untersuchen. Für die beantragten Experimente werden die Versuchstiere (Mäuse) in Narkose in Übereinstimmung mit den etablierten Regelungen getötet. Die beantragten Verhaltensexperimente sind für die Tiere nicht schädlich und schmerzfrei, bis auf drei Verhaltenstests in denen die Tiere kurzzeitig moderatem Stress ausgesetzt werden. Alle anderen Tests dienen der Bestimmung des natürlichen Drangs der Tiere zu lernen und ihre Umgebung zu erforschen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (C56Bl6/J or N) 156

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die Experimente sind mit der Zielsetzung konzipiert, mit der minimalen Anzahl an Tieren die benötigten Informationen zu erhalten. So sind z.B. Verhaltenstests in vier Gruppen unterteilt. Dabei wurde die Auswirkung jedes einzelnen Tests auf die Tiere sorgfältig berücksichtigt. Die gleiche Kohorte von Tieren wird für alle Tests innerhalb einer Gruppe verwendet.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Der Vasospasmus nach Aneurysmaruptur ist nach erfolgreicher Behandlung der Aneurysmen ein großes klinisches Problem. Trotz erfolgreicher Aneurysma Behandlung verlieren wir dadurch viele junge Patienten. Eine substantielle Therapie ist bis dato nicht verfügbar.

Ziel der Studie ist es, an einem etablierten Modell der aneurysmatischen Subarachnoidalblutung an der Ratte zu untersuchen, ob es durch ein neues Medikament (apoptotische PBMCs) zu einer Reduzierung des durch Gefäßverengung (Vasospasmus) bedingten Hirninfarktareals kommt. Dieses Medikament wurde bereits erfolgreich bei anderen Erkrankungen mit ähnlichen Pathomechanismen (z.B. Schlaganfall, Querschnitt) erfolgreich getestet. Dazu wird eine histometrische Quantifizierung der infarzierten Hirnareale durchgeführt.

Das bei der Studie nicht zu vermeidende Tierleid wird durch intensive postoperative Schmerztherapie sowie klare Abbruchkriterien gemildert.

Dem gegenüber steht der zu erwartende große Nutzen einer möglichen Therapie des Vasospasmus nach Subarachnoidalblutung, einem Krankheitsbild mit hoher Mortalität, das zumeist junge Menschen betrifft.

2. Art und Anzahl der Tiere

411 Sprague Dawley Ratten

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Die operativen Eingriffe werden unter standardisierten Bedingungen von einem erfahrenen Neurochirurgen, welcher bereits Experimente bei diversen Tiermodellen geleitet hat, durchgeführt. Im Laufe der Studie werden Zwischenauswertungen erhoben, um die Fallzahl so klein als nur möglich zu halten. Weiters werden die Tiere täglich begutachtet, was ein rasches Eingreifen bei unvorhergesehenen Ereignissen und eine eventuell nötige kurzfristige Adaptation des Eingriffes und des Protokolls ermöglicht.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. April 2017 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln, Lebensmitteln, Futtermitteln und anderen Stoffen oder Produkten, wenn dies zur Erreichung der in § 5 Z 2 genannten Ziele erforderlich ist

Dieses Projekt behandelt erste Wirksamkeitstests eines neuen Therapeutikums zur Behandlung von lebensbedrohlichen Blut/Kreislaufkrankungen. Da es die ersten Untersuchungen zu diesem Arzneimittel sind, ist nach einer einmaligen Applikation des Wirkstoffes eine in vivo Effektivitätsabschätzung unabdingbar. Die Schäden für die Tiere in Form von Leiden, Schmerzen und Ängsten sind unter Berücksichtigung ethischer Erwägungen vor allem durch das erwartete Ergebnis gerechtfertigt, das letztlich dazu beitragen soll diese schwerwiegenden Erkrankungen des Menschen erfolgreich zu behandeln. Es werden 90 Mäuse beantragt.

Indem von jeder Maus mehrmals über den Verlauf der Studie Blut gewonnen wird, reduziert sich die Anzahl der benötigten Tiere pro Studiengruppe drastisch, Blutabnahmen werden unter Narkose durchgeführt. Standardisiertes Raumklima und Käfighaltung mit Enrichment verfeinert die Haltung der Versuchstiere, Eine komplette Vermeidung einer Belastung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung nicht völlig möglich.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Grundlagenforschung

1. Projektziel

Zellen der Monozyten / Makrophagen Reihe sind nicht nur Teil des angeborenen Immunsystems, sie spielen auch eine entscheidende Rolle bei der Knochenneubildung bzw. -regeneration. Sie rekrutieren sekundär die Zellen des adaptiven Immunsystems (Unterhaltung einer Entzündung und Abräumung von totem Gewebe) und vermutlich auch migrationsfähige Vorläuferzellen für die Gewebereparatur. Ziel dieses Projektes ist es, eine positive Einflussnahme dieser immunkompetenten Zellen auf die Knochenregeneration zu zeigen und damit die Grundlage für neue Therapieoptionen bei Knochenverlust durch chronisch degenerative Erkrankungen oder Trauma zu liefern.

2. Art und Anzahl der zu verwendenden Tiere

Die hierfür verwendeten 24 Kaninchen werden in 3 Gruppen zu je 8 Tieren eingeteilt, eine Kontrollgruppe und zwei Prüfgruppen umfassend.

3. Erfüllung der „3R“

In vitro Untersuchungen haben bereits eine starke osteogene Differenzierung mesenchymaler Stammzellen in Gegenwart von Makrophagen/Monozyten gezeigt. Das Kaninchen ist besonders gut geeignet, um die Induktion einer gerichteten Regeneration des Knochens in vivo zu demonstrieren. Die Studie wird mit der geringstmöglichen Anzahl an Tieren durchgeführt, die eine aussagekräftige, statistisch korrekte Auswertung erlaubt. Die Unterbringung der Tiere entspricht den geforderten modernen Standards, eine regelmäßige Kontrolle gewährleistet eine lückenlose Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere. Beim Auftreten von etwaigen Komplikationen wurden klare Abbruchkriterien definiert um ein unnötiges Leiden der Tiere zu vermeiden.

