

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

Das vorliegende Versuchsvorhaben soll die Rolle der mit dem Nuklearfaktor-Kappa B (NF-KB) assoziierten Signaltransduktion bei der Pathogenese der Strahlentherapie-bedingten Schädigung der Harnblase unter Einbeziehung einer Hemmung von NF-KB klären.

Die Strahlenreaktion der Harnblase stellt - neben derjenigen des Rektum - eine der wichtigsten Nebenwirkungen der Radiotherapie von Tumoren im Beckenbereich dar. Sie verläuft in mehreren Phasen, eine zumeist reversible Frühphase, die schon unter der Behandlung beginnt und mehrere Wochen andauert, eine symptomlose Latenzzeit und nach Monaten bis Jahren eine irreversible, progressiv verlaufende Spätphase. Die Symptomatik wird in der Früh- und auch in der Spätphase dominiert von einer drastischen Erhöhung der Miktionsfrequenz (auch nachts), erhöhtem Harndrang und Inkontinenz; hinzu treten in der Spätphase Blutungen. Diese Strahlenfolgen an der Harnblase sind häufig limitierend für die zu applizierende Dosis und damit auch für die Heilungsaussichten. Zudem beeinträchtigen sie massiv die Lebensqualität der Patienten. Betroffen ist eine große Anzahl an Patienten; in Österreich wurden 2010 nahezu 12000 Tumoren im Beckenbereich (Prostata, Gebärmutter, Dickdarm/Rektum, Harnblase) neu diagnostiziert. Aus der durchschnittlichen Heilungsrate von ca. 60% resultiert eine signifikante Anzahl an "Krebsüberlebenden" in der Bevölkerung, die an Strahlenfolgen auch der Harnblase leiden können. Die Entstehung der Funktionsstörungen hängt ursächlich mit Veränderungen in lokalen Signalketten, welche vor allem Entzündungsprozesse regulieren, zusammen. Hier scheint NF-KB eine zentrale Bedeutung zu haben, ohne dass dazu bisher Einzelheiten geklärt sind. Im vorliegenden Vorhaben soll die Wirkung der Hemmung von NF-KB durch Bortezomib oder Thalidomid auf die Strahlenreaktion der Harnblase in einem etablierten Tiermodell charakterisiert werden. Die Möglichkeit einer Reduktion der Therapie-Nebenwirkungen an der Harnblase durch Hemmung der durch NF-KB vermittelten Signaltransduktion würde die Belastung der Patienten deutlich vermindern und die Heilungsaussichten signifikant verbessern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Alle Versuche sollen an Mäusen des Inzucht-Stammes C3H/Neu durchgeführt werden. Es sind insgesamt 2619 Tiere vorgesehen.

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

Vermeidung:

Für die vorliegenden langfristigen Untersuchungen zu funktionellen Nebenwirkungen einer Strahlentherapie an der Harnblase beim einzelnen Tier im zeitlichen Verlauf sind Tierversuche unerlässlich. Die Entstehung der Strahlenreaktion der Harnblase ist durch die Abfolge bestimmter Veränderungen in allen Gewebsschichten der Blasenwand, aber auch durch die Interaktion (z. B. Entzündungsreaktion, Durchblutung) mit dem Gesamtorganismus charakterisiert. Derartige Prozesse sind mit alternativen in-vitro oder ex-vivo Systemen nicht nachzustellen.

Verminderung:

Das vorliegende Versuchsvorhaben erfolgt auf der Basis einer eingehenden biometrischen Planung. Alle Experimente, Tiergruppen und Gruppengrößen sind auf das absolut notwendige Maß beschränkt, jedoch andererseits zum Erreichen des Versuchszieles unerlässlich. Die größtmögliche Standardisierung der Experimente (z. B. Inzucht-Tierstamm, Alter und Geschlecht der Tiere) erlaubt eine Minimierung der Tierzahlen.

Verbesserung:

Alle Experimente erfolgen an einem seit vielen Jahren etablierten und akzeptierten Tiermodell. Die Bestrahlung der Harnblase ist nicht mit Schmerzen verbunden. Für die vorgesehenen Testsubstanzen sind in der geplanten Dosierung keine Nebenwirkungen zu erwarten. Die Strahlenreaktion der Harnblase ist, soweit dies gemäß allgemeingültiger veterinärmedizinischer Kriterien erkennbar ist, im

verwendeten Tiermodell schmerzfrei. Mit allen genannten Maßnahmen wurde den „3 R“ in optimaler Weise Rechnung getragen.

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

Ad 1.: Alle Interaktionen des Gehirns mit der Umwelt werden über Muskeln vollbracht. Die kleinste funktionelle Einheit des Muskels ist die motorische Einheit, bestehend aus dem Motoneuron, welches mittels motorischer Endplatten die Muskelfasern innerviert. Für die Rekonstruktion von Extremitätendefekten, die bei Kindern und Erwachsenen häufig vorkommen, sind selektive Nerventransfers essentiell. Diese wichtige Technik stellt die Muskelfunktion wieder her, ändert aber auch die Zusammensetzung der motorischen Einheit. Obwohl diese Methode seit längerem mit gutem Erfolg eingesetzt wird, wissen wir noch wenig über die Langzeiteffekte auf den Muskel. Durch eine genaue Evaluation dieser Methode können wir bestehende Therapiemodalitäten verbessern und unser noch unvollständiges Wissen über die motorische Einheit erhöhen.

Zur Untersuchung dieser Effekte wird in Ratten ein selektiver Nerventransfer unternommen und die Langzeiteffekte auf den Muskel nach verschiedenen Regenerationszeiten untersucht. Weiters werden mittels retrograder Nervenfärbungen die Effekte auf spinaler Ebene untersucht.

Ad 2.: Anzahl Sprague Dawley: 105. Anzahl Ratten Eigenzucht: 30

Ad 3.: Angaben über die Erfüllung der „3R“ Die Untersuchung der motorischen Einheit, ist aufgrund ihrer Komplexität nur im lebenden Organismus möglich. Für die Evaluation der einzelnen Levels der motorischen Einheit, müssen Untersuchungen in mehreren Gruppen mit verschiedenen Techniken angewandt werden. Um die spinalen Effekte dieser Nerventransfers exakt untersuchen zu können, sind spezifische Nervenfärbungen erforderlich. Diese können nur am lebenden Organismus durchgeführt werden, da die Farbstoffe durch aktive Stoffwechselprozesse entlang der Nervenenden/-stümpfen zum Rückenmark transportiert werden müssen. Das spezifische Färbemuster im Rückenmark und den Spinalganglien erlaubt wichtige Rückschlüsse auf den Grad der Regeneration. Die einzelnen Gruppen wurden auf die minimal erforderliche Tierzahl reduziert, bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (PowerAnalysis). Standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen sollen die Streuung minimalisieren. Die operativen Eingriffe werden durch einen erfahrenen Operateur durchgeführt und erfolgen unter Vollnarkose mit postoperativer Analgesie. Die Tiere werden engmaschig auf Zeichen von Stress, Schmerz und Wundinfektion kontrolliert, um Krankheitszeichen, Schmerzen und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes der Tiere frühzeitig erkennen und ggf. behandeln zu können.

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

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

Ziel dieser Studie ist es in einem Mausmodell, die Rolle eines bisher vorwiegend im lymphatischen System untersuchten Proteins, im Gehirn zu charakterisieren. Dieses Protein ist in einer Vielzahl von Geweben vorhanden, seine genaue Rolle im Gehirn, wo es besonders stark exprimiert ist, ist bisher wenig untersucht worden. Unsere bereits erhaltenen *ex vivo* Daten deuten darauf hin, dass die Abwesenheit dieses Protein mit Beeinträchtigung der normalen Gehirnfunktionen einhergeht. Um diese vorläufigen Ergebnisse zu bestätigen und ihrer Relevanz weiter zu untersuchen, soll das Verhalten von genetisch veränderten Tieren, welche dieses spezifische Protein nicht exprimieren (Knock-out-Mäuse) mit dem Verhalten von Kontroll-Tieren (Wildtyp-Wurfgeschwister) in einer Serie standardisierter Verhaltenstests untersucht werden. So soll die Relevanz des Proteins für definierte Gehirnfunktionen, vor allem für Lernen und Gedächtnis im Hippocampus, erforscht werden. Zusätzlich soll auch die Rolle dieses Proteins für die Neuronenbildung (Neurogenese) im erwachsenen Gehirn untersucht werden. Schaden: Durch die Genotypisierung werden die Mäuse geringgradig belastet. Die Modifizierung des Genoms von Knock-out-Mäusen sowie die Durchführung der Verhaltungstests stellen für die Tiere eine gering-bis mittelgradige Belastungen dar. Nutzen: Erhalt neuer Erkenntnisse im Bereich Neurophysiologie mit potentieller Bedeutung für mit Gedächtnisverlust einhergehende Erkrankungen des Menschen.

2. Art und Anzahl der Tiere

668 Mäuse unterschiedlichen Genotyps (Spezifische Knockout-Mäuse und Wildtyp-Wurfgeschwister)

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

Vermeidung: Es wurden von unserer Gruppe bereits zahlreiche *In-Vitro* und *Ex-vivo* Analysen zum Vergleich von Wildtyp- und Knockout-Mäusen stammenden Neuronen durchgeführt. Diese Analysemethoden sind nun an ihre Grenzen gestoßen. Der Schritt ins Mausmodell ermöglicht die Relevanz und Gültigkeit der bis dato nur in einem *in vitro* Modell gewonnenen Daten zu verifizieren. Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wird mittels Standardisierung der Versuchsbedingungen, sowie einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich gehalten. Verfeinerung: Die oben beschriebenen Tests zur Verhaltensuntersuchung und zur Untersuchung der Neuronenbildung stellen weithin etablierte Methoden dar, die in unserem Labor etabliert sind nach international anerkannten Protokollen durchgeführt werden.

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

Ad 1: Ziel der vorliegenden Studie ist es, die Pharmakokinetik (PK) einer rekombinanten humanen Diaminoxidase (DAO) und einiger Varianten zu bestimmen. Diese soll(en) als Therapeutikum für seltene Erkrankungen ("Orphan-diseases") des Menschen eingesetzt werden. Die PK Parameter der Wildtyp DAO und von 3 DAO Varianten werden in drei Tierarten, Kaninchen, Ratten und Mäusen, nach intravenöser (iv) und subkutaner (sc) Verabreichung gemessen. Da Nebenwirkungen nach Applikation der Prüfsubstanzen bei allen genannten Tierarten nicht zu erwarten sind, ist der zu erwartende Schaden gering. Die Untersuchung der Pharmakokinetik von DAO bei Tieren, zur Identifizierung einer geeigneten Variante mit bestmöglicher Halbwertszeit, ist notwendig für die präklinische Entwicklung der DAO, welche als Therapeutikum bei Waisenerkrankung eingesetzt werden soll.

Ad 2: Für dieses Projekt werden insgesamt 36 Kaninchen, 36 Ratten und 120 Mäuse benötigt. Für die beiden Vorversuche werden je 2 Kaninchen, 2 Ratten und 12 Mäuse (2 Tiere/Messzeitpunkt) verwendet. Für die beiden Hauptversuche werden je Gruppe (n=4) 3 Kaninchen, 3 Ratten und 12 Mäuse (2/Messzeitpunkt) verwendet. Für Dosis De/Eskalation werden in den beiden Hauptversuchen je 4 Kaninchen und 4 Ratten verwendet.

Ad 3: Zur Erreichung des Projektzieles ist ein Tierversuch unabdingbar. Allerdings wurde die benötigte Anzahl an Tieren, die für konklusive Ergebnisse nötig ist (statistische Fallzahlberechnung) auf ein Optimum (Minimum) reduziert. Erfahrenes und zertifiziertes Personal wird mit der Betreuung der Tiere und Durchführung des Experiments beauftragt. Die Tiere werden unter standardisierten Bedingungen in adäquater Umgebung mit freier Bewegungsmöglichkeit, Futter und Wasser ad libitum, gehalten.

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

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

Die knöcherne Rekonstruktion großer Defekte im Kiefer- und Gesichtsbereich ist eine große Herausforderung für die Chirurgie. Die häufigsten Ursachen für derartige Defekte sind Tumore oder Nekrosen nach Bestrahlungen und hochdosierter Bisphosphonattherapie.

Kleine Defekte können mit allogenen, xenogenen oder synthetischen Knochenersatzmaterialien versorgt werden, aber ab einer kritischen Größe, speziell bei vorbestrahltem Gewebe müssen mikrovaskulär anastomosierte Transplantate verwendet werden. Diese stellen derzeit den Goldstandard in der rekonstruktiven Therapie dar, haben aber eine Reihe von Nachteilen. Die Entnahmestelle stellt ein zweites Operationsfeld mit allen Risiken wie Nerv- und Gefäßverletzung, Blutung und Wundheilungsstörung dar. Zudem leidet der Patient neben den entnahmebedingten Schmerzen gelegentlich auch an funktionellen Einschränkungen die durch die Knochenentnahme zwangsweise entstehen. Mit künstlichen mikrovaskulären, knöchernen Transplantaten könnte man dem Patienten nicht nur die Knochenentnahme als Eingriff mit ihren bereits genannten Nachteilen ersparen, sondern zudem auch die Operationszeit reduzieren und den Defekt mit entsprechenden geplanten und präfabrizierten Formen ideal versorgen.

In diesem Projekt soll ein künstlich hergestelltes mikrovaskuläres Implantat bestehend aus einem funktionierenden anastomosierbaren Gefäßsystem, Knochenersatzmaterial und Stammzellen des Patienten verwendet werden. Als Kontroll-Gruppe dienen pro Zeitpunkt 2 Tiere, bei denen jeweils der Defekt nur mit Rekonstruktionsplatten überbrückt wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 10 adulte Schafe (Bergschafe) verwendet.

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

Die Testung des Konstruktes muss vor der Anwendung am Menschen in einem Tiermodell evaluiert werden. Ein Ersatz durch in-vitro Methoden ist nicht möglich (Replacement). Die Versuche finden unter standardisierten Versuchsbedingungen statt (Refinement). Der Versuch wird mit der geringstmöglichen Anzahl an Tieren durchgeführt, die für eine aussagekräftige Funktionsbeurteilung des Implantates notwendig ist.

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

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

Das Projekt zur Erforschung der "Rolle des Entzündungsfaktors IKK2 bei der Entstehung thrombotischer Blutgefäßerkrankungen" mit Hilfe von Mausmodellen dient in erster Linie dazu, mehr über die Bedeutung von Entzündungsprozessen bei der Entstehung lebensbedrohender Erkrankungen wie Herzinfarkt, Lungenembolie, Schlaganfall oder Gefäßverkalkung im Allgemeinen zu lernen. Die Erkenntnisse aus diesem Projekt sollen dazu dienen neue Therapieansätze zu entwickeln, die im Speziellen die entzündungsvermittelte Auslösung pathologischer Blutgerinnung betreffen. Dabei soll einerseits die Rolle der Endothelzellen untersucht werden und andererseits auch die Bedeutung der Megakaryozyten, als Vorläuferzellen der Blutplättchen. In weiterer Hinsicht sollen dadurch Strategien aufgebaut werden, wie man in thrombotische Krankheitsprozesse therapeutisch eingreifen kann ohne die normale Blutgerinnung zu beeinträchtigen.

Diese Studien können nur in Tiermodellen durchgeführt werden, da nur in diesen die komplexen Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Zellen und Blutgefäß-Strukturen in natürlicher Weise vorhanden sind.

2. Art und Anzahl der Tiere

992 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Die benötigte Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Des Weiteren wird eine möglichst niedrige Anzahl der eingesetzten Tiere durch eine Standardisierung gewährleistet bei der die experimentelle Variabilität so gering wie möglich gehalten wird. Um das zu erreichen werden Tier-Gruppen verglichen, bei denen eine genau definierte genetische Veränderung vorliegt, aber abgesehen davon alle anderen Faktoren gleich sind, wie etwa Alter, genetischer Hintergrund und Haltungsbedingungen. Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“.

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

Angaben über die Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen
Bei vielen Tumoren scheinen Krebszellen und Makrophagen eine symbiotische Beziehung zu haben, indem die Tumorzellen Makrophagen anlocken, die daraufhin eine Vielzahl von Faktoren produzieren, welche das Tumorwachstum und die Angiogenese fördern. Die Produktion von Makrophagen ist durch den Wachstumsfaktor "Colony stimulating factor" (CSF)-1 reguliert. Kürzlich wurde zusätzlich zu CSF-1 ein zweiter Ligand für den CSF-1R entdeckt, nämlich Interleukin 34 (IL-34). Des Weiteren konnte die Rezeptor-type protein-tyrosine phosphatase ζ (PTP- ζ) als ein neuer funktioneller IL-34 Rezeptor identifiziert werden. Bis jetzt ist über die funktionelle Rolle von IL-34 in der Tumorprogression und Metastasierung nichts bekannt. Ziel dieses Projektes ist daher die Aufklärung der Rolle von IL-34 auf das Wachstum von Mammakarzinom, Melanom und Glioblastom nach Hemmung oder Überexpression von IL-34 in Nacktmäusen, um dessen Auswirkungen auf das Tumorwachstum und das Metastasierungsverhalten des Mammakarzinoms, des Melanoms und Glioblastoms zu untersuchen.
Die zu erwartenden Resultate sollen das Wissen um die bis dato unklare Rolle von IL-34 bei Wachstum und Metastasierung des Mammakarzinoms, Melanoms und Glioblastoms erweitern und idealerweise neue therapeutische Möglichkeiten bei der Behandlung des Mammakarzinoms, Melanoms bzw. Glioblastoms aufzeigen.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Im vorliegenden Tierversuch werden 246 athymische Nacktmäuse verwendet.

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

Im Sinne der „3R“ werden die Tiere für Untersuchungen für mehrere Fragestellungen gleichzeitig verwendet. Es werden sowohl die Auswirkungen auf das Primärtumorwachstum und die Metastasierung des Tumors untersucht. Dadurch kann der Erkenntnisgewinn aus dem Tierversuch maximiert werden und gleichzeitig die Anzahl der Versuchstiere reduziert werden.

Vermeidung: Eine Vermeidung des beantragten Tierversuchs ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur *in vivo* zu beantworten sind.

Verminderung: Das verwendete Tiermodell ist ein gut etabliertes und akzeptiertes Tumormodell, das Versuche unter standardisierten Bedingungen ermöglicht, die zu einer Verminderung der Streuung der Ergebnisse führen und somit die Zahl der notwendigen Tiere reduziert. Durch die Vorkenntnisse aus mehreren anderen Tierversuchen, kann die Zahl der Tiere zusätzlich gering gehalten werden, da die bereits erhobenen Daten für den vorliegenden Versuch genutzt werden können.

Verfeinerung: Auf eine allgemein gute Pflege und Behandlung wird geachtet. Die individuelle Streuung wird durch standardisierte Versuchsbedingungen auf ein Minimum gesenkt, der Stress der Versuchstiere wird minimal gehalten.

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens
Wachstumsfaktoren wie der Epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor (EGFR) oder der Vaskuläre Endotheliale Wachstumsfaktorrezeptor (VEGFR) sowie die in den Signalwegen nachgeschalteten Moleküle (z.B. AP-1 Transkriptionsfaktoren) spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren. Die Tumorzellen sind jedoch nicht alleine für die Tumorentstehung verantwortlich. Immunzellen und Stromazellen können je nach Tumortyp und Zelltyp dessen Wachstum eher fördern oder aber bekämpfen. Solche komplexe menschliche Erkrankungen wie auch kardiovaskuläre, entzündliche und Stoffwechselerkrankungen entstehen durch die Wechselwirkung verschiedener Zellen. Es ist deswegen schwierig diese Komplexität *in vitro* in Zellkultursystemen nachzustellen und zu untersuchen. Deswegen ist es unumgänglich, Modellorganismen wie die Maus zu verwenden, um die Mechanismen der Krankheitsentstehung zu untersuchen und neue potentielle Therapieansätze zu testen und aufzuzeigen. Es werden dabei genetisch veränderte Mäuse verwendet, in denen ein oder mehrere Gene (EGFR, VEGFR, junB etc.), die für diese Krankheiten verantwortlich sind, in bestimmten Zellen ausgeschaltet oder überproduziert werden. Um die Funktion der Immunzellen in diesem Zusammenhang zu studieren werden Tiere verwendet, denen selektiv bestimmte Immunzellen fehlen oder deren Funktion eingeschränkt ist. Das Verständnis dieser Wechselwirkungen soll neue Erkenntnisse über die Entstehungsmechanismen von Tumoren und neue Ansätze zur Therapie bringen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

15.120 Mäuse unterschiedlichen Genotyps für 4 Jahre

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung). Zur Vermeidung von Tierversuchen werden, immer Untersuchungen und Experimente vorab in Zellkultursystemen durchgeführt. Ergebnisse aus den Zellkulturexperimenten sind die Grundlagen für weiterführende Versuche.

(1) Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) mit Nistmaterial gehalten.

(2) Die Untersuchungen dieser Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen, um die Streuung der Ergebnisse so gering wie möglich zu halten und somit die Tierzahlen auf ein Minimum zu senken.

(3) Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

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

Kardiovaskuläre Erkrankungen, wie Herzinfarkt und Schlaganfall, stellen die häufigste Ursache für Todesfälle in Österreich und der westlichen Welt dar. Atherosklerose ist eine chronisch-entzündliche Veränderung der Blutgefäße und die häufigste grundlegende Ursache für diese Erkrankungen. Trotz wesentlicher Fortschritte bei der Behandlung von Patienten mit Atherosklerose und akutem Herzinfarkt, ist die klinische und soziale Belastung bei Herzerkrankungen noch immer untragbar groß. Innerhalb dieses Projektes soll die Rolle eines bestimmten Liganden der Tumor Nekrose Faktor Familie in der Atherosklerose anhand von Mausmodellen untersucht werden. Im Detail soll hierbei das Knochenmark genetisch modifizierter Mäuse, die durch das Fehlen eines bestimmten Gens diese Liganden nicht haben, in Mäuse mit erhöhter Atheroskleroseneigung transplantiert werden, und der Effekt auf die Entstehung atherosklerotischer Gefäßveränderungen verfolgt werden. Dies soll in erster Linie mittels histologischer und biochemischer sowie immunologischer Methoden an post mortem entnommenen Geweben geschehen. Derzeit gibt es keine spezifische Therapiestrategie, die sich gezielt gegen die entzündlichen Abläufe bei diesen Erkrankungen richtet. Jedoch kann ein besseres Verständnis dieser Abläufe in der Krankheitsentstehung zu neuen wirksamen und spezifischen Therapiestrategien führen, die diese verheerenden Erkrankungen verhindern. Der hierbei untersuchte Ansatz könnte spezifische Wege aufweisen mit denen körpereigener Abwehrmechanismen als therapeutische Maßnahme angeregt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Da es sich bei dieser Studie um die Untersuchung eines Krankheitsprozesses eines komplexen Organsystems handelt, können diese nur in lebenden Organismen durchgeführt werden. Mausmodelle stellen eine etablierte und erfolgsversprechende Methode in der Atheroskleroseforschung dar, da alleine das Verfüttern einer sehr gut verträglichen fettreichen Diät zur Entstehung von Gefäßveränderungen führt, die vorwiegend post mortem untersucht werden können und den menschlichen Veränderungen sehr gleichen. Basierend auf internationaler sowie eigener Erfahrung müssen nicht mehr als 150 Mäuse für diese Studien herangezogen werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) Das Design dieser Studie fand unter genauer Berücksichtigung der 3R Regeln statt, wobei hierbei auch besonderes Augenmerk darauf gelegt wird, die Anzahl der verwendeten Tiere durch optimierte Zuchtplanung und standardisierte Versuchsbedingungen so gering wie möglich zu halten. Die Fallzahlbestimmung wurde unter Berücksichtigung statistischer Verfahren durchgeführt.

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens. Mit diesem Antrag ersuchen wir - gemäß Tierversuchsgesetzes 2012 (BGB I. I Nr. 114/2012 vom 28. 12.2012) - unter Berücksichtigung von 3 R - um die Bewilligung der Erhaltungszucht, bzw. weiterer Rückzüchtung in C57BL6/J Hintergrund und deren Genotypisierung von drei verschiedenen Linien transgener Knockout-Mäuse. Diese Linien sollen für Charakterisierung mittels Organentnahme und Isolierung von Zellen aus den getöteten Tieren bzw. für weiterführende Studien vorhanden sein. Keine dieser drei Linien weist einen belastenden Phänotyp auf.

Schaden: Alle drei dieser Linien sind durch die Modifizierung des Genoms phenotypisch nicht belastet. Lediglich die Fortpflanzung einer Linie ist wegen Infertilität homozygoter Männchen beeinträchtigt. Daher müssen heterozygote Männchen mit heterozygoten, bzw. homozygoten Weibchen dieser Linie verpaart.

Nutzen: Mit dieser Zucht wird gewährleistet, dass diese transgenen Linien für unsere Forschung für Charakterisierung mittels Organentnahme und Isolierung von Zellen zugänglich sein werden. Dadurch werden neue Kenntnisse im Bereich der Reproduktion, Physiologie und Pathophysiologie von humanen Erkrankungen erhalten.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere.

600 Tiere werden in den Zeitraum ab jetzt bis 31.05.2019 genotypisiert.

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

Vermeidung: Die Erhaltungszucht bzw. weitere Rückzüchtung in C57BL6/J Hintergrund dieser Linien ist für Organentnahme und Isolierung von Zellen aus den getöteten Tieren bzw. für zukünftige Studien notwendig.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere, die genotypisiert werden müssen, wird mittels Standardisierung der Zucht so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Die Analyse der transgenen Mäuse wird mit der Beteiligung anderer hochkarätiger Experimentatoren/Kooperationspartner durchgeführt, die umfangreiche Kenntnisse mit der jeweils erforderlichen experimentellen Arbeit haben.

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

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

Blutgefäße sind durch sogenannte Endothelzellen ausgekleidet. Diese Zellen regulieren den Austausch von Flüssigkeit, Proteinen und Entzündungszellen zwischen Blutstrom und umliegendem Gewebe. Die Barrierefunktion des Endothels ist Voraussetzung für Sauerstoffversorgung und Ernährung des Körpers. Eine gestörte Barriere Funktion führt zu Organschäden, besonders in der Lunge ist das lebensbedrohlich. Das Öffnen und Schließen dieser Barriere wird durch Adapterproteine gesteuert, dieses Projekt analysiert die Rolle eines zentralen Adapterproteins und will mittels eines therapeutisch zugeführten Eiweißstoffes die Blut-Gewebsbarriere stabilisieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 640 Mäuse für die beantragte Studie verwendet (C57BL/6). Die Durchführung erfolgt nach einem klar definierten Stufenmodell, so dass weitere Schritte erst nach Evaluierung der vorangegangenen Ergebnisse unternommen werden können.

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

Es wurden zahlreiche Versuche in Zellkulturen durchgeführt, die die Bedingungen/Konzentrationen und Zeitabläufe vordefiniert haben, sodass nun unter Berücksichtigung der Mittelwerte und Streuung der primären Endpunkte der Studie mit minimalen Tierzahlen gearbeitet werden kann. Um die Anzahl an Versuchstieren weiter zu minimieren, wurden neben statistischen Methoden zur Fallzahlberechnung, auch standardisierte Versuchsmethoden gewählt, wie sie an der hierortigen Forschungsstelle mit langjähriger Erfahrung in diesem Forschungsbereich verwendet werden. Zusätzlich vermeidet das hier gewählte Vorgehen nach einem klar definierten Stufenmodell die Verwendung von unnötigen hohen Tierzahlen. Die Tiere werden artgerecht gehalten und stehen während der gesamten Dauer unter regelmäßiger Beobachtung und Betreuung durch ausgebildete Tierpfleger. Abbruchkriterien sind vordefiniert.

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens
Um die Ursachen verschiedener komplexer menschlicher Erkrankungen wie z.B. Tumor-, kardiovaskuläre-, entzündliche- und Stoffwechselerkrankungen herauszufinden ist es heutzutage möglich im Modellorganismus Maus verschiedene Gene, die für diese Krankheiten verantwortlich sind, entweder auszuschalten oder vermehrt zu produzieren. Wachstumsfaktoren wie der Epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor (EGFR) oder der Vaskuläre Endotheliale Wachstumsfaktorrezeptor (VEGFR) sowie die in den Signalwegen nachgeschalteten Moleküle (z.B. AP-1 Transkriptionsfaktoren) spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Tumoren. Die Tumorzellen sind jedoch nicht alleine für die Tumorentstehung verantwortlich. Immunzellen und Stromazellen können je nach Tumortyp und Zelltyp dessen Wachstum eher fördern oder aber bekämpfen. Diese komplizierten Interaktionen, die den Ausgang einer Tumorerkrankung entscheidend beeinflussen, können nicht in der Zellkultur sondern nur in einem lebenden Organismus erforscht werden. Für solche Fragestellungen werden daher mit Hilfe standardisierter Methoden transgene oder knock-out Mauslinien etabliert, in denen diese Gene entweder überexprimiert oder eliminiert bzw. mutiert werden. In anderen Modellen fehlen den Versuchstieren bestimmte Immunzellen oder diese sind in ihrer Funktion beeinträchtigt. Diese Mausstämme müssen gezüchtet werden um neue Erkenntnisse über die Krankheitsentstehungen zu gewinnen und neue potentielle Therapieansätze aufzuzeigen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere
Zucht von 12.500 Mäusen unterschiedlichen Genotyps für 5 Jahre

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).
Zur Vermeidung von Tierversuchen werden, immer Untersuchungen und Experimente vorab in Zellkultursystemen durchgeführt. Ergebnisse aus den Zellkulturexperimenten sind die Grundlagen für weiterführende Versuche.
Die Zucht dieser Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen:
(1) Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) mit Nistmaterial gehalten.
(2) Die Zuchten werden von ausgebildeten Tierpflegern geführt, die die benötigten Tierzahlen für effektives Zuchtmanagement so gering wie möglich halten.
(3) Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

Ad 1. Osteoporose ist ein großes Gesundheitsproblem der alternden Bevölkerung. Die Knochenmasse vermindert sich, da die Homöostase zwischen resorbierenden und knochenbildenden Zellen verloren geht. Frauen sowie Männer sind von Osteoporose betroffen. Hormonelle Veränderungen, entzündliche Erkrankungen sowie auch genetische Faktoren führen zu einem Verlust der Knochenhomöostase und zu einem gesteigerten Abbau des Knochens. Das lässt den Knochen an Festigkeit verlieren und führt oftmals zu schmerzhaften Frakturen des Oberschenkelhalses und der Wirbelkörper. Therapien zur Behandlung der Osteoporose führen bislang nur zu einer Reduktion der Frakturen, jedoch zu keiner Heilung der Erkrankung. Micro RNAs sind kurze (-22 Nukleotide lange) nicht kodierende RNAs die eine wichtige Funktion in der Regulation der Genexpression haben. Micro RNAs sind in der Regulation knochenbildender und knochenabbauender Zellen involviert. Die miR146a ist ein Vertreter dieser nicht kodierenden RNAs und spielt eine wichtige regulatorische Rolle in der Expression von verschiedenen entzündungsfördernden Zytokinen (Botenstoffe des Immunsystems) die zur Erkrankung an Osteoporose beitragen.

Ad2. Die Ursache der veränderten Knochenhomöostase, insbesondere die Rolle an genetischen Faktoren die zur Osteoporose führen ist noch nicht vollständig geklärt, ihr Verständnis ist aber wichtig, um weitere therapeutische Ansatzpunkte für diese Krankheit zu finden. Um substantielle Aussagen treffen zu können werden insgesamt 112 Mäuse benötigt. Für 500 Mäuse wird eine Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung beantragt.

Ad3.

Die Ursache der veränderten Knochenhomöostase, insbesondere die Rolle an genetischen Faktoren, die zur Osteoporose führen ist noch nicht vollständig geklärt.

Der Tierversuch dient zur Erforschung der Ursache der menschlichen Krankheit der Osteoporose, mit dem späteren Ziel, neue Behandlungsmethoden zu entwickeln. Andere Methoden (Gewebeschnitte von Osteoporose Patienten oder Zellkulturen) können das vielschichtige Zusammenspiel von Zytokinen und die komplexe Wirkungsweise der miR-146a und ihrer regulatorischen Rolle in verschiedenen Prozessen der Zellregulation nicht abbilden. Die Fragestellung ist nur an einem intakten Organismus zu untersuchen. Eine Alternative zum Tierversuch besteht deshalb nicht. Der hier angewandte Versuchsaufbau gehört zu den fachlich anerkannten Methoden in der Erforschung der OA. Durch standardisierte Haltungs- 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.

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

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

Um die Ursachen verschiedener, komplexer menschlichen Erkrankungen wie z.B. Tumor-, kardiovaskuläre-, entzündliche- und Stoffwechsel-Erkrankungen herauszufinden, ist es heutzutage möglich im Modellorganismus Maus, verschiedene Gene, die für diese Krankheiten verantwortlich sind, entweder auszuschalten oder einzubringen. Für solche Fragestellungen sollen daher mit Hilfe standardisierter Methoden transgene oder knock-out Mauslinien etabliert werden, in denen bestimmte Gene entweder eingebracht, eliminiert bzw. mutiert werden. Dadurch wird es auch möglich sein, neue potentielle Therapieansätze aufzuzeigen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

12.500 Mäuse unterschiedlichen Genotyps für 5 Jahre.

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

Zur Vermeidung von Tierversuchen werden, immer Untersuchungen und Experimente vorab in Zellkultursystemen durchgeführt. Ergebnisse aus den Zellkulturexperimenten sind die Grundlagen für weiterführende Versuche.

Die Zucht dieser Tiere erfolgt unter standardisierten Bedingungen:

- (1) Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) mit Nistmaterial gehalten.
- (2) Die Zuchten werden von ausgebildeten Tierpflegern geführt, die die benötigten Tierzahlen für effektives Zuchtmanagement so gering wie möglich halten.
- (3) Wo es notwendig ist, wird eine Narkose oder Analgesie durchgeführt.
- (4) Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

Ad 1.: Durchtrennung eines peripheren Nervs führt zum Untergang des distalen (entlegenen) Nervenanteils. Verbindet man die durchtrennten Nervenenden jedoch wieder rechtzeitig miteinander, können von zentral kommende, regenerierende Nervenfasern über die Nahtstelle hinweg ihr peripheres Zielorgan (z.B. Muskel) erreichen und reinnervieren. In vielen Fällen ist jedoch die direkte Naht der durchtrennten Nervenenden aufgrund des lokalen Gewebeschadens nicht möglich; die Rekonstruktion mit autologen sensorischen Nerventransplantaten ist dann aktuelle Goldstandard Therapie. Das vorliegende Projekt widmet sich einer neuartigen Rekonstruktionstechnik: dem sogenannten "Fascicular Shift" (FS), bei welcher kein zusätzlicher, intakter Spendernerv geopfert werden muss. Nach erfolgreicher Anwendung am Rattenmodell soll diese Technik nun am Schwein evaluiert werden, da dieses als dem Menschen physiologisch-anatomisch sehr ähnlicher Organismus gilt und man aufgrund der Größenverhältnisse realitätsnahe Rekonstruktionsszenarien schaffen kann, wie sie im klinischen Alltag vorkommen. Die Evaluation wird an einem peripheren Nerven durchgeführt, dessen Ausfall relativ gut kompensiert werden kann und das Schwein grob motorisch nur gering beeinflusst.

Ad 2.: 14 Hausschweine.

Ad 3.: Angaben über die Erfüllung der „3R“

Um den Nervenregenerationsprozess nach "Fascicular Shift" (FS) exakt untersuchen zu können, sind spezifische Nervenfärbungen erforderlich. Diese können nur am lebenden Organismus durchgeführt werden. Ganz allgemein kann der Nervenregenerationsprozess selbst nur am lebenden Organismus untersucht werden. Die einzelnen Gruppen wurden auf die minimal erforderliche Tierzahl reduziert, bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (PowerAnalysis). Standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen sollen die Streuung minimalisieren. Die Tiere werden engmaschig auf Zeichen von Stress, Schmerz und Wundinfektion kontrolliert, um Krankheitszeichen, Schmerzen und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes der Tiere frühzeitig erkennen und ggf. behandeln zu können.

Das Projekt dient der praktischen Ausbildung von Mitarbeitern, die in Studien zur translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln mitarbeiten. Dies erhöht die Qualität der Studien in denen Arzneimittel zur Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen untersucht werden, weshalb die Verwendung von 1125 Tieren (750 Mäuse, 250 Ratten, 125 Kaninchen) gerechtfertigt ist. Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Ausbildung nicht möglich.

Die maximale Belastung wird als „gering“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).

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

Die Histondeazetylasen HDAC1, HDAC2 und die DNA-Methyltransferase DNMT1 spielen eine wichtige Rolle in der Regulation der Genexpression, der Proliferation und der Differenzierung. Generelle Inhibitoren von Histondeazetylasen und DNA-Methyltransferasen werden momentan in klinischen Versuchen als Tumorthapeutika getestet bzw. schon in der Tumorthherapie eingesetzt. Die Identität der relevanten Target-Enzyme ist aber zum Grossteil unklar. Die geplanten Tierversuche sollen Aufschluss darüber geben, ob HDAC1, HDAC2 und DNMT1 wichtige Targets für pharmakologische Inhibitoren darstellen. Durch den Einsatz von Isoform-spezifischen Inhibitoren sollte es möglich sein, unnötige Nebeneffekte in therapeutischen Ansätzen zu vermeiden. Versuchsziel ist einerseits Effekte der Deletion von spezifischen HDACs und DNMTs auf die Homöostase der Haut und andererseits auf den Zeitverlauf und das Ausmaß der Tumorentstehung zu untersuchen.

Insgesamt werden 729 Mäuse verwendet werden.

Für diese Fragestellung gibt es naturgemäß keinen in vitro Ersatz. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert. Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahl auf das notwendige Minimum reduziert.

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

Ad 1: Der Tierversuch dient zur Erforschung der Pathogenese der menschlichen Krankheit der rheumatoiden Arthritis. Unter den Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises stellt die rheumatoide Arthritis den Prototyp einer chronisch entzündlichen Gelenkerkrankung dar. Aufgrund ungeklärter Mechanismen kommt es in der Initiation der Erkrankung zu einem Verlust der Selbsttoleranz und zum Ausbruch einer Autoimmunreaktion. Im Verlauf von Jahren entwickeln sich schwere funktionelle Beeinträchtigungen des Bewegungsapparates. Kennzeichnend sind eine Wucherung der Synovialis (Gelenkinnenhaut), verursacht durch eine Infiltration mit Zellen sowohl des angeborenen als auch des adaptiven Immunsystems. Die entzündliche Reaktion bewirkt eine Zerstörung des benachbarten Gelenkknorpels sowie eine Resorption des gelenknahen Knochens. Eine zentrale Rolle in diesem Prozess kommt den Osteoklasten zu, sie zeichnen Verantwortlich für den lokalen Abbau der Knochenstrukturen und in weiterer Folge für die funktionellen Beeinträchtigungen. Die Entstehung dieser Zellart ist in vielen Belangen noch ungeklärt. Ihr Verständnis ist aber wichtig, um weitere therapeutische Ansatzpunkte für diese in vielen Fällen immer noch nicht ausreichend behandelbaren, Krankheit zu finden. Im folgenden Antrag soll mit Hilfe spezieller Methoden der Beitrag spezifischer Zellen des Immunsystems untersucht werden.

Ad 2: Mäuse unterschiedlichen Genotyps. Insgesamt sind 546 Versuchstiere sowie 2960 Tiere zur Genotypisierung beantragt.

Ad 3: Durch standardisierte Versuchs- und Haltungsbedingungen wird die Streuung der Versuchsergebnisse und somit die Tierzahl deutlich eingeschränkt. Die Zahl der notwendigen Tiere wurde durch eine Fallzahlberechnung ermittelt. Zudem sollen geeignete Vorversuche zur Überprüfung der Methodik die Anzahl der benötigten Tiere so klein wie möglich halten. Andere Methoden (Gewebeschnitte von RA Patienten, Zellkulturen mit RA-Zellen) können nicht das komplexe Zusammenspiel von dendritische Zellen bzw. Macrophagen, Zytokinen, Zellrezeptoren, Inflammation und Matrixdegeneration in vivo abbilden. Die Fragestellung ist nur an einem intakten Organismus zu untersuchen. Eine Alternative zum Tierversuch besteht deshalb nicht.

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 3000 Mäusen gerechtfertigt ist.

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich.

Die maximale Belastung wird als „gering“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens
Defizite der Wahrnehmung, des logischen Denkens, der Lernfähigkeit und Gedächtnisleistung sind Zeichen funktionaler Störungen im Zusammenhang verschiedener neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen. Neue Behandlungsansätze zur Normalisierung der Gehirnfunktionen haben hohe Priorität. Ein Ansatzpunkt ist die Aufklärung der Wirkungsmechanismen bekannt wirksamer Substanzen wie Modafinil durch chemische Modifikation. Ratten sind durch ihre hohe Lernfähigkeit bewährte Modelle zum Studium zentralnerval wirksamer Substanzen. In diesem Projekt wird die funktionelle Wirksamkeit neuer Analoga an Ratten mittels des radial arms maze- sowie des water maze-Tests geprüft und die molekularen Vorgänge im Gehirn mittels Proteomics-Technologie untersucht.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere max. 1791 Ratten

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

Zentralnerval wirksame Substanzen und ihr Einfluss auf Lernen und Gedächtnis sind nur am intakten Gesamtorganismus in Lernversuchen überprüfbar. Durch eine hohe Standardisierung der Halte- und Versuchsbedingungen und die Nutzung einer bewährten Standardmethode kann die notwendige Gruppengröße zur statistischen Auswertung klein gehalten werden. Durch die hohe Empfindlichkeit der Analysemethoden kann die Substanzdosierung gering gehalten werden.

Durch einen Stufenplan wird die Zahl der effektiv verwendeten Tiere gering gehalten: Ist in der Dosisfindungsphase (Vorversuch mit einer sehr geringen Anzahl von Tieren) ein Analogon nicht mindestens gleich wirksam wie Modafinil, wird es ausgeschieden. In Folge werden nach der Prüfung an einer statistisch relevanten Gruppengröße (Hauptversuch) nur die bestwirksamen Substanzen für weiter führende Experimente eingesetzt.

Die mit den Verhaltenstests und der Substanzapplikation verbundene Belastung der Tiere ist minimal.

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

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

Ziel des Projektes ist es durch systemische Gabe von Spermidin (eine Substanz die in höchsten Konzentrationen in der männlichen Samenflüssigkeit und auch in natürlichen Nahrungsmitteln wie Weizenkeimen und Sojabohnen enthalten ist), unter klinischen Bedingungen (passive Verletzung des Nervus ischiadicus durch Klemmung), die Entfernung des Nerven-Debris durch Phagozyten anzukurbeln und damit das Einsprossen der proximalen Axonstümpfe (geregelt durch Schwann Zellen) zu beschleunigen bzw. zu verbessern (Förderung der Reinnervation).

Nutzen: Raschere Regeneration, schnellere und verbesserte Nervenau sprossung

Zu erwartender Schaden: Durch die Applikation von Spermidin dzt. in der aktuellen Literatur keine schädliche Wirkung bekannt

2. Art und Anzahl der Tiere

10 Sprague Dawley Ratten

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

Die geplanten Versuche müssen in vivo abgehandelt werden, da es nötig ist diese an einem vitalen Nerven durchzuführen um zu sehen wie sich der Nerv unter den beschriebenen Bedingungen verhält. Die Anzahl der Versuchstiere wird aber im aktuellen Projekt auf das absolut Nötigste vermindert jedoch werden so viele Tiere herangezogen wie für eine adäquate statistische Auswertung notwendig sind.

Die OP-Wunden an der unteren Extremität 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). Für das Wohl der Tiere wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment, wie Nestbaumaterial in Form von Nestpaks und Zellstoff bereitgestellt. Des Weiteren wird versucht den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling vom Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Ratte an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt ist und der diesbezügliche empfundene Stress während der Experimente reduziert ist.

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

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

Laut jüngsten Zahlen sind 42% der österreichischen Bevölkerung übergewichtig oder fettsüchtig (adipös). Der Anteil an massiv Übergewichtigen liegt in Österreich bei 11% mit rapid steigender Tendenz. Die Fettleibigkeit (Adipositas) mit ihren Folgeerkrankungen wie z. B. Typ 2 Diabetes (nicht-insulinabhängiger Diabetes), Herz-Kreislaufferkrankungen und Leberverfettung sind ein großes kostspieliges Gesundheitsproblem. Die drastische Zunahme der Adipositas geht Hand in Hand mit einer weltweiten Zunahme an Typ 2 Diabetes. Nach Schätzungen der WHO leiden ca. 146 Millionen Menschen weltweit an Typ 2 Diabetes mit stark steigender Tendenz. Auch die Anzahl der Übergewichtigen und adipösen Kinder nimmt in Österreich und weltweit dramatisch zu. Die Ursachen liegen einerseits in einer einseitigen fettreichen Ernährung, andererseits in einem Mangel an Bewegung. Makrophagen speichern neutrale Lipide in lipidtropfen und spielen eine wichtige Rolle in der Atherogenese. In diesem Projekt sollen die Konsequenzen des Fehlens unterschiedlicher Lipasen in Immunzellen, deren Einfluss auf die Entstehung von Entzündung und den Fett- und Energiestoffwechsel untersucht und charakterisiert werden. Um die Funktion eines Gens im ganzen Organismus bzw. die *in vivo* Situation untersuchen zu können, sind die Zucht von transgenen und knock-out Mausmodellen von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

2. Art und Anzahl der Tiere - Text hier eingeben

3506 Mäuse

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

Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt.

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

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

Herzversagen ist die häufigste Komplikation der Herz-Kreislauf Erkrankungen, die zur Reduktion der Lebenserwartung führt. Therapieoptionen zur Behandlung des Herzversagens sind begrenzt. Das Ziel dieses Projektes ist es, die Mechanismen des Herzversagens zu untersuchen. Die gewonnenen Erkenntnisse werden im Weiteren zur Entwicklung neuer effektiveren Therapien zur Behandlung von Patienten benutzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, insgesamt 216.

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

Pathophysiologische Veränderungen im Laufe des Herzversagens beinhalten die Änderungen in Herzfunktion und Aktivierung der gegenregulierenden Mechanismen, was mehrere Organe betrifft. Diese komplexen Interaktionen zwischen mehreren Organsystemen machen Tierversuche für unsere Untersuchungen unerlässlich. Um die Anzahl der Tiere zu verringern, verwenden wir ein Versuchsprotokoll, in dem die Anzahl der Kontrollgruppentiere reduziert. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. 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 schmerzfreien Bedingungen gehalten. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

Projektziel:

In folgendem Projekt soll die Rolle von Lipidmediatoren, welche im Zuge von Entzündungen vermehrt ausgeschüttet werden, untersucht werden. Zu diesen Lipidmediatoren zählt Prostaglandin D₂, welches v.a. bei allergischen Reaktionen gehäuft freigesetzt wird. Im Detail soll die Auswirkung dieser Mediatoren auf die Aktivierung und Rekrutierung von Makrophagen -phagozytierenden Zellen des angeborenen Immunsystems -beobachtet werden. Dafür wird ein Modell, das akute Lungenschädigung widerspiegelt, verwendet. Der Einfluss dieser Lipidmediatoren auf die Einwanderung von Entzündungszellen -insbesondere Makrophagen -wird in diesem Projekt untersucht. Zusätzlich soll die Funktion dieser in Abwesenheit von Makrophagen beobachtet werden. Dieses Projekt soll die Rolle von Prostaglandinen und deren Rezeptoren an entzündlichen Prozessen aufklären und neue therapeutische Angriffspunkte für die Behandlung von akuten Entzündungen liefern.

Anzahl der zu verwendeten Tiere:

Es werden 168 Mäuse für diese Versuche benötigt.

3R (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Im Vorfeld zu diesen geplanten Versuchen am Tier wurden *in vitro* Versuche mit humanen Monozyten und Makrophagen durchgeführt, die sehr vielversprechend darauf hinweisen, dass die geplanten Versuche, weitere wichtige medizinische Kenntnisse und im besten Falle neue therapeutische Angriffspunkte liefern. Die Zahl der verwendeten Mäuse beläuft sich auf die statistisch notwendige Menge pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt oder wiederholt. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Sie werden in Gruppen gehalten und haben Enrichment zur Verfügung. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter Beobachtung.

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

Projektziel: Das Projektziel ist es zu untersuchen ob die Phosphorylierung des intrazellulären Signalmoleküls ERK1/2 als Marker zur Sichtbarmachung der Aktivität der Schmerzbahn geeignet ist. Alle bisherigen Methoden zur Untersuchung oder zur Sichtbarmachung der Schmerzbahn konnten entweder nur Einzelzellen abbilden (Elektrophysiologie), oder nur größere Hirnbereiche (funktionelle Magnetresonanz Untersuchung), oder sie waren sehr träge in der Ansprechzeit (Expression schneller Gene; c-fos). Mit dem intrazellulären Signalmolekül ERK1/2 und seiner aktivierten phosphorylierten Modifikation steht uns ein Marker zur Verfügung, der sehr rasch auf akute Schmerzreize anspricht und mittels Immunofluoreszenz histologisch an Gewebeschnitten genau und gleichzeitig einer Vielzahl von Nervenzellen zugeordnet werden kann. Damit lässt sich ein Aktivierungsmuster von Neuronen der Schmerzbahn auf allen Ebenen von der Peripherie bis zu höheren Hirnregionen auf zellulärer Ebene darstellen. Die Schmerzbahn besteht aus drei hintereinandergeschalteten Neuronensystemen; die pharmakologische Modulation durch Analgetika lässt sich so genau auf Regionen und Zellpopulationen festlegen. Ein weiterer Vorteil dieser Schmerzbahn-Imagingmethode ist ihre Durchführbarkeit in Narkose der Labortiere. Nachdem wir bereits in vorhergegangenen Tierversuchen die basalen Bedingungen und die Reproduzierbarkeit der phospho-ERK1/2 Immunohistochemie zur Untersuchung des ersten und zweiten Neurons der Schmerzbahn festgelegt haben, sollen im vorliegenden Projekt höhere ZNS Regionen der Schmerzbahn, von der Medulla über Hypothalamus bis zum Thalamus und Amygdala, in die Untersuchung mit eingeschlossen werden. Diese Regionen sind insbesondere für die Umschaltung der Schmerzleitung auf vegetative, endokrine und affektive Zentren wichtig. Als Schmerzreiz dient eine thermische Hitzestimulation der Rattenhinterpfoten in Narkose. Die Modulation der Schmerzleitung durch Analgetika verschiedener Klassen, von den Opioiden, über Glutamatantagonisten bis zu Cyclooxygenasehemmer, kann mit der phospho-ERK1/2 Histochemie genau einzelnen Zellpopulationen zugeordnet werden. Unsere Hypothese ist, dass die phospho-ERK1/2 Histochemie an den verschiedenen Umschaltstellen der Schmerzbahn zu einer Referenzmethode in der Schmerzforschung werden könnte und zur Entwicklung besserer Analgetika beiträgt.

Anzahl der zu verwendeten Tiere: Es werden 48 Ratten für diese Versuche benötigt.

3R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)

Schmerzforschung ist nur im Gesamtorganismus sinnvoll möglich.

Die Zahl der benötigten Versuchstiere wurde so gering als möglich gehalten.

Die Prüfung, welche Neuronenpopulationen der Schmerzbahn ein definierter Hitzereiz aktiviert, und wie Analgetika (Schmerzmittel) das modulieren, kann nur am lebendigen Organismus überprüft werden. Es ist dringend notwendig, die Wirkung bereits verfügbarer und neu zu entwickelnder Schmerzmittel genau den einzelnen Nervenbahnen der Schmerzbahn am lebendigen Organismus zuzuschreiben. In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern wird den Tieren Enrichment in Form von Verbindungsgängen zwischen den einzelnen Käfigen, Nestbaumaterial und Röhren für Rückzugsmöglichkeiten zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei den Kontrollen und bei der Injektion des Narkosemittels zu minimieren.

"Verhaltenscharakterisierung von ABHD6 knock out Mäusen"

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen männliche ABHD6 knock out Mäuse im Alter von 3 bis 5 Monaten im Elevated Plus Maze Test, Forced Swim Test, Morris Water Maze Test und Three Chamber Social Test getestet werden. Die Tiere werden im Anschluss zurück an den Kooperationspartner geschickt. Ziel dieser Studie ist es diese ABHD6-ko Mäuse auf ihre Ängstlichkeit, Motivation, Kognition und Sozialverhalten zu untersuchen.

Schaden und Nutzenabklärung: ABHD6 ist ein ubiquitär gebildetes Enzym das die höchsten Expressionsraten im Gehirn zeigt. Das Enzym wurde als Monoacylglycerol (MG) Lipase des Gehirns identifiziert die als endogener Aktivator der Cannabinoidrezeptoren dienen können. Der biologische Effekt des Enzyms kann durch Delta-9- Tetrahydrocannabinoid (THC), dem Hauptwirkstoff von Marijuana, nachgeahmt werden. Durch die Charakterisierung dieser ABHD6-ko Mäuse wird es daher möglich sein erste Einblicke in die Effekte dieses Enzyms auf das Verhalten zu gewinnen. Da die Tiere in dieser Studie nur in Verhaltenstests untersucht werden, die nur eine geringe Belastung für die Tiere darstellen, überwiegt der Nutzen dem Schaden.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere: 10 männliche ABHD6-ko Tiere und 10 männliche C57BL/6 wildtyp Kontrolltiere.

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

Um die Bedeutung eines Gens auf den Organismus zu untersuchen ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Das Effekte auf das cannabinoide System zu erwarten sind, wurden die Verhaltenstests entsprechend gewählt um die Ängstlichkeit, Motivation, Kognition und Sozialverhalten der Tiere zu untersuchen. Die geplanten Verhaltenstests wurden bis heute noch nicht mit diesen Tieren durchgeführt und stellen somit keine Wiederholungsversuche dar. Die Gruppengröße wurde so gering wie möglich jedoch so groß wie nötig gewählt um signifikante Aussagen treffen zu können.

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

Projektziel:

Das Projektziel ist es zu untersuchen, ob sich die Anwendung des Tyrosinkinaseinhibitors Imatinib gefahrlos als Therapie von entzündlich-demyelinisierenden Erkrankungen des zentralen Nervensystems wie der Multiplen Sklerose eignet. Imatinib wird derzeit erfolgreich zur Behandlung der chronisch myeloischen Leukämie eingesetzt.

Multiple Sklerose ist die häufigste neurologische Erkrankung des jungen Erwachsenenalters; das mittlere Erkrankungsalter liegt bei etwa 27 Jahren. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch schubförmiges Auftreten neurologischer Symptome wie z.B. Lähmungen, Gefühls- oder Sehstörungen gefolgt von einer mehr oder weniger zufriedenstellenden Rückbildung. Über den Verlauf von Jahren kann es zu variablen, bleibenden Behinderungen kommen. Die Behandlung dieser Erkrankung ist leider, obwohl mittlerweile einige immunsuppressive bzw. immunmodulatorische Medikamente zur Verfügung stehen, schwierig und oftmals nicht zufriedenstellend. Daher ist es unbedingt erforderlich neue pharmakologische Angriffspunkte zu finden.

Eine kürzlich publizierte Studie konnte zeigen, dass in Versuchsratten mit einer Modellerkrankung der Multiplen Sklerose eine orale Behandlung mit Imatinib die Erkrankung durch periphere Immunsuppression abmildert; die tatsächliche Wirkung und eventuelle Nebenwirkungen der Substanz am Gehirn selbst wurde allerdings bisher noch nicht untersucht. Vor einer eventuellen Versuchsreihe am Menschen ist es daher von äußerster Wichtigkeit diesen Wirkstoff in einem geeigneten Tiermodell systematisch zu überprüfen.

Anzahl der zu verwendeten Tiere:

Es werden 110 Ratten vom DA Stamm für diese Versuche benötigt.

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

Leider kann eine Fragestellung, in wie fern sich eine Substanz als sicheres Therapeutikum für eine Erkrankung des Gehirns eignet, nur im Tierversuch beantwortet werden. Unser Versuchsansatz wurde durch verschiedene Vorarbeiten so konzipiert mit einer relativ geringen Tierzahl gute Aussagen zu den Risiken einer Anwendung von Imatinib treffen zu können. In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter (Verhaltensparameter, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zahl der verwendeten Ratten beläuft sich auf die statistisch notwendige Anzahl pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt oder wiederholt. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter Beobachtung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2018 vorgesehen.

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

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

Ziel dieses Tierversuchs ist es, herauszufinden ob die neu entdeckte massiv gesteigerte Expression einer bestimmten miRNA-Familie im trainierten Skelettmuskel von Mäusen ein trainingsinduzierter Effekt ist oder durch einen allgemeinen Stresseffekt während des Trainings hervorgerufen wird. Eine Gruppe (Kurzzeit-Trainingsgruppe) durchläuft ein eigens für sie ausgelegtes Trainingsprogramm auf einem Laufband bestehend aus nur einer Trainingseinheit mit unterschiedlichen Trainingslaufzeiten. Ziel hierbei ist, herauszufinden wie stark sich die Expression in Relation zur Trainingsdauer bei einer einzigen Trainingseinheit erhöht. Die zweite Gruppe (Langzeit-Trainingsgruppe) wird ebenfalls auf diesem Laufband trainiert. Das Ziel bei dieser Trainingsgruppe ist es herauszufinden, ob sich die Expression dieser miRNA-Familie bei mehreren Trainingseinheiten im Vergleich zur Kurzzeit-Trainingsgruppe verändert (z.B. durch die Anpassung und Gewöhnung an das Training geringer wird). Um herauszufinden ob die gesteigerte Expression dieser miRNA-Familie ein skelettmuskelspezifischer oder ein, durch das Training hervorgerufener Effekt ist, wird eine Gruppe einem Reizstimulus ausgesetzt, welcher keine oder nur wenig körperliche Aktivität nach sich zieht. Mäuse dieser Gruppe werden unterschiedlich lang auf eine erhöhte Plattform gesetzt. Eine solche Umgebung genügt bereits, um bei Mäusen Stresseffekte wie z.B. veränderte Hormonausschüttung festzustellen.

Im Anschluss wird die Expression der miRNA-Familie in den Skelettmuskeln aller Mäuse gemessen und verglichen. Als zusätzliche Kontrolle, ob sich dieser Effekt nur auf den Skelettmuskel konzentriert, wird die Expression dieser miRNA-Familie auch in anderen Geweben (z.B. Leber) gemessen und verglichen. Als weitere Kontrollen der Trainingsleistung wird der Corticosteron und Laktat Spiegel im Blut, sowie miRNA Expression und Neurogenese im Hippocampus analysiert. Die gewonnenen Ergebnisse dieser Studie können zu einem besseren Verständnis der Zusammenhänge zwischen körperlicher Betätigung und Gesundheit führen, da einige Mitglieder dieser miRNA-Familie im direkten Zusammenhang mit der Muskelentwicklung stehen und sich Sport erwiesenermaßen positiv auf die Gesundheit auswirkt. Zusätzlich werden neue Erkenntnisse über die Reaktionsgeschwindigkeit der gesteigerten miRNA-Expression aufgrund eines bestimmten Stimulus erwartet.

2. Art und Anzahl der Tiere

168 C57BL/6J Mäuse

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

Am Menschen können diese Untersuchungen nicht durchgeführt werden, da einerseits Muskelgewebe und andererseits Hirngewebe für die Untersuchungen der Neurogenese im Hippocampus entnommen werden muss. In vitro Versuche können bei dieser Fragestellung ebenfalls nicht durchgeführt werden, da es hierbei nicht möglich ist trainingsinduzierte Effekte darzustellen. Zusätzliche trainingsinduzierte Effekte wie z.B. Veränderungen von Laktat- und Cortocosteronspiegel im Blut sind ebenfalls nicht in vitro durchführbar, weshalb für die geforderte Fragestellung diese in vivo Studie unumgänglich ist.

Die Mäuse werden während des Tierversuchs von geschultem Tierpflegerpersonal betreut und in artgerechten Käfigen mit ausreichend Beschäftigungsmöglichkeiten (Stroh und Maushäuschen) gehalten. Die Räume sind mit einer Zeitschaltuhr ausgestattet welche auf einen Tag/Nacht Rhythmus von 12 Stunden eingestellt ist. Um Stress durch den Kontakt mit den Menschen zu vermindern, werden die Mäuse durch vermehrten physischen Kontakt mit den Tierpflegern daran gewöhnt.

Um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten ist ein Mindestmaß an Mäusen pro Gruppe ($n = 10$) + Kontrollgruppen ($n = 6$) erforderlich. Die Versuchsanordnung ist so geplant, dass erst wenn sich beim ersten Versuch (Kurzzeit-Training) statistisch signifikante Ergebnisse einstellen, der zweite Versuch (Langzeit-Training) durchgeführt wird. Sollte dies nicht der Fall sein, wird das Langzeit-Training nicht durchgeführt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31.August 2016 vorgesehen.

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

Abwägung von Schaden und Nutzen

In Anbetracht der ständig älter werdenden Gesellschaft und den damit verbundenen medizinischen Herausforderungen wie z.B. verlängerte Heilungsverläufe bei Knochenbrüchen oder aber auch altersbedingten Krankheiten, wie z.B. Osteoporose, und der verglichen dazu geringe Schaden für die Tiere (Schweregrad der Tierversuche mit entsprechend applizierter Schmerzmedikation), ist die Versuchsreihe ethisch vertretbar.

Anzahl der Tiere

30 männliche Ratten (*Rattus norvegicus*) im Alter von 12 Wochen

Vermeidung, Verminderung, Verbesserung

a) Es gibt kein *in vitro*-System um diese Tierversuche zu ersetzen. Die bisher gewonnen Erkenntnisse unter Laborbedingungen deuten auf ein Beschleunigung/Verbesserung der Knochenheilung hin, können aber nicht direkt auf den Menschen übertragen werden. Das Tiermodell ist daher notwendig um an Erkenntnisse über Heilungsprozesse sowie deren Verbesserungsmöglichkeiten in einem komplexen System, wie einem lebenden Organismus, zu gelangen.

b) Es erfolgt ein stufenweises Vorgehen bei der Durchführung der Versuche (Machbarkeitsstudie->eigentliches Experiment). 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 gewissenhaft betreut. Jede Behandlung der Tiere wird von erfahrenen Personen durchgeführt, bei jedem operativen Eingriff werden die Tiere narkotisiert sowie postoperativ einer suffizienten Analgesie zugeführt um Stress, Schmerz oder Leid auf ein Minimum zu reduzieren.

Mit dieser Forschungsreihe sollen Prozesse untersucht und neue Erkenntnisse gewonnen werden, die baldmöglichst Einzug in die Klinik finden und somit neue Therapieoptionen in Hinblick auf knöcherner Regenerationsmöglichkeiten beinhalten sollen, um Heilungsverläufe bei altersbedingten Knochenbrüchen aufgrund von z.B. Osteoporose schneller voranzutreiben.

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

1.) Projektziel

Das Neuroblastom ist eine kindliche Krebserkrankung, die zumeist im Säuglings-oder Kleinkindalter auftritt und je nach Stadium eine sehr schlechte Prognose hat. Bei Stadium IV der Erkrankung liegt das Überleben der kleinen Patienten trotz hoch dosierter Chemo- und Strahlentherapie bei nur etwa 60%. Zusätzlich steigt bei Kindern die mit hohen Chemotherapie- oder Strahlendosen behandelt werden, die Gefahr, dass sie, auch wenn sie von der ursprünglichen Krebserkrankung geheilt werden, später an einer durch die erste Therapie hervorgerufenen, weiteren Krebserkrankungen erkranken und daran versterben. Deshalb ist es besonders bei kindlichen Krebserkrankungen äußerst wichtig, Behandlungsmöglichkeiten zu finden, mit denen die Dosis der Chemotherapie-Medikamente reduziert werden kann. In umfangreichen biochemischen Analysen und Zellkulturexperimenten konnten wir zwei Wirkstoffe identifizieren, die *in vitro* die Funktion des Onkogens XIAP neutralisieren. Die so gewonnenen, sehr vielversprechenden Ergebnisse müssen nun im lebenden Tier untersucht werden, da die *in vitro* Möglichkeiten ausgeschöpft sind. Nur durch die entsprechenden Versuche im Tier können weitere Erkenntnisse gewonnen und diese vielversprechende Therapie weiterentwickelt werden. Wir erwarten uns durch diese tierexperimentelle Studie eine klare Aussage über die Wirksamkeit dieser neuen Kombinationstherapie und hoffen durch diese Experimente die Chancen der an Neuroblastom erkrankten Kinder zu verbessern und gleichzeitig durch Reduktion der Chemotherapeutika-Dosis therapiebedingte Nebenwirkungen zu reduzieren.

2.) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Maximal 65 Mäuse

3.) Angaben über die Erfüllung der „3R“

Das beantragte Tierexperiment baut auf umfangreichen Zellkulturexperimenten auf, mit denen die Möglichkeiten der *in vitro* Analyse weitgehend ausgeschöpft wurden. Allerdings können in der Zellkultur nicht sämtliche Effekte einer Behandlung simuliert werden, die im Organismus eines Tieres auftreten, sodass dieses sehr limitiert ausgelegte Tierexperiment zur *in vivo* Verifizierung dieser Behandlungsmethode und einem signifikanten Informationsgewinn unerlässlich ist. Mit diesen Experimenten soll eine klare Aussage über die Aktivität der untersuchten Wirkstoffe für die Therapie von Neuroblastomtumoren getroffen werden, um damit die Therapieoptionen der erkrankten Kinder zu verbessern.

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

1.) Projektziel

Das Neuroblastom ist eine kindliche Krebserkrankung, die zumeist im Säuglings- oder Kleinkindalter auftritt und je nach Stadium eine sehr schlechte Prognose hat. Bei Stadium IV der Erkrankung liegt das Überleben der kleinen Patienten trotz hoch dosierter Chemo- und Strahlentherapie bei nur etwa 60%. Zusätzlich steigt bei Kindern die mit hohen Chemotherapie- oder Strahlendosen behandelt werden, die Gefahr, dass sie, auch wenn sie von der ursprünglichen Krebserkrankung geheilt werden, später an einer durch die erste Therapie hervorgerufenen, weiteren Krebserkrankungen erkranken und daran versterben. Deshalb ist es besonders bei kindlichen Krebserkrankungen äußerst wichtig, Behandlungsmöglichkeiten zu finden, mit denen die Dosis der Chemotherapie-Medikamente reduziert werden kann. In umfangreichen biochemischen Analysen und Zellkulturexperimenten konnten wir zwei Wirkstoffe identifizieren, die *in vitro* die Funktion des Onkogens XIAP neutralisieren. Die so gewonnenen, sehr vielversprechenden Ergebnisse müssen nun im lebenden Tier untersucht werden, da die *in vitro* Möglichkeiten ausgeschöpft sind. Nur durch die entsprechenden Versuche im Tier können weitere Erkenntnisse gewonnen und diese vielversprechende Therapie weiterentwickelt werden. Wir erwarten uns durch diese tierexperimentelle Studie eine klare Aussage über die Wirksamkeit dieser neuen Kombinationstherapie und hoffen durch diese Experimente die Chancen der an Neuroblastom erkrankten Kinder zu verbessern und gleichzeitig durch Reduktion der Chemotherapeutika-Dosis therapiebedingte Nebenwirkungen zu reduzieren.

2.) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Maximal 65 Mäuse

3.) Angaben über die Erfüllung der „3R“

Das beantragte Tierexperiment baut auf umfangreichen Zellkulturexperimenten auf, mit denen die Möglichkeiten der *in vitro* Analyse weitgehend ausgeschöpft wurden. Allerdings können in der Zellkultur nicht sämtliche Effekte einer Behandlung simuliert werden, die im Organismus eines Tieres auftreten, sodass dieses sehr limitiert ausgelegte Tierexperiment zur *in vivo* Verifizierung dieser Behandlungsmethode und einem signifikanten Informationsgewinn unerlässlich ist. Mit diesen Experimenten soll eine klare Aussage über die Aktivität der untersuchten Wirkstoffe für die Therapie von Neuroblastomtumoren getroffen werden, um damit die Therapieoptionen der erkrankten Kinder zu verbessern.

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

Unsere Arbeitsgruppe befasst sich mit der biologischen Rolle eines Proteins, das eine wichtige Rolle in der Homöostase von Fettzellen spielt. Um dies weiter zu erforschen, möchten wir spezielle Mäuse generieren, bei denen wir spezifische Gene in Fettzellen gezielt verändern. Danach soll das Aussehen der Mäuse untersucht werden. Das beinhaltet die quantitative Bestimmung des Fettgewebes, die Bestimmung von Cholesterin im Serum und mögliche Organveränderungen mittels Gewebeuntersuchungen. Weitere Versuche sollen zeigen, ob Tiere eine erhöhte Resistenz gegenüber einer speziellen Diät entwickeln, d.h. trotz höherer Fettkonzentrationen im Futter an Körpergewicht verlieren. Unsere Versuchsdaten sollen wichtige Informationen über die Funktion von Zellbestandteilen im Fettmetabolismus liefern.

Für dieses Projekt werden 1320 Mäuse, davon 185 für Experimente, für einen Zeitraum von 3 Jahren beantragt. Die drei „R“ werden in der folgenden Weise erfüllt:

„Replace“-Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Der Fett-Metabolismus ist in der Regel multifaktoriell und kann in der Zellkultur nicht abgebildet werden.

„Reduce“-Verminderung: Pro Genotyp wird nur die minimale Anzahl an Tieren verwendet, um statistische Berechnungen durchführen zu können.

„Refine“-Verbesserung: Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-7 Tieren gehalten. In jedem Käfig befindet sich ein Häuschen & Nestmaterial als Rückzugs- und Beschäftigungsmöglichkeit.

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

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

Die Organtransplantation stellt heutzutage die Methode der Wahl in der Therapie von terminalem Organversagen, wie z.B. der chronischen Niereninsuffizienz, dar und hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einem routinemäßig angewandten Verfahren entwickelt. Trotz der hervorragenden Kurzzeitergebnisse nach Transplantationen, stellt die chronische Abstoßung nach der Organverpflanzung eine bedeutende Hürde dar, welche eine langfristige, gute Transplantatfunktion deutlich einschränken kann. Risikofaktoren des Spenders für ein schlechteres Transplantatlangzeitüberleben sind unter anderem der Spenderhirntod, die Verweildauer auf der Intensivstation und nach neuersten Erkenntnissen auch das Alter des Spenders. Es konnte gezeigt werden, dass ein "altes" Organ in einem "jungen" Empfänger ein deutlich schlechteres Überleben zeigt, als ein vergleichsweises „junges" Organ. Interessanterweise zeigen "alte" Organe bei "alten" Empfängern weniger akute Abstoßungen. Es ist bekannt, dass das Immunsystem und seine Bestandteile auch einer bestimmten Alterung unterliegen. So verändert sich die Anzahl verschiedener Immunzellen, deren Funktionalität aber auch ihr Rezeptorstatus. Die immunologischen Konsequenzen des Spenderalters in der Transplantationsmedizin sind weitestgehend unbekannt. Es ist nun Ziel dieser Studie den Einfluss und die Auswirkung vom Spenderalter auf den nach Organtransplantation auftretenden Schaden zu untersuchen. Ebenfalls wird die Immunantwort, welche im Empfänger ausgelöst wird, genauestens untersucht. Zudem ist es Ziel dieser Studie zu untersuchen ob eine neue Antikörpertherapie den durch das Alter im Organ hervorgerufenen Schaden verhindern kann.

2. Art und Anzahl der Tiere: Insgesamt werden innerhalb von 3 Jahren maximal 720 Mäuse verwendet

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

Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es keine alternativen *in vitro* bzw. virtuellen Methoden, welche die natürlich vorkommenden Prozesse im Rahmen der akuten und chronischen Organschädigung simulieren können und zur Untersuchung der oben genannten Fragestellung Anwendung finden können. Die Herztransplantation und Nierentransplantation in der Maus stellt daher die geeignete Methode dar um immunologische und nicht-immunologische Prozesse im Rahmen der akuten und chronischen Abstoßung zu untersuchen. Alle Maßnahmen an den Tieren Der Umgang mit Tieren wird ausschließlich durch geschultes Personal durchgeführt. erlaubt und bei täglichen Kontrollen werden alle Maßnahmen ergriffen um den Tieren größtmögliches Wohlergehen zu ermöglichen.

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

Die Arteriosklerose gehört zu den häufigsten Todesursachen in der westlichen Welt. Ziel unseres Projektes ist es, die Mechanismen, die zur Entstehung der Arteriosklerose beitragen aufzuklären um später Methoden zur Prävention und Therapie dieser folgenschweren Erkrankung entwickeln zu können. Um die Bildung eines arteriosklerotischen Plaques zu induzieren werden die Mäuse mit einem Protein geimpft und es wird ihnen zusätzlich ein cholesterinreiches Futter angeboten. Um die Wanderung der Immunzellen im Körper verfolgen zu können werden diese zunächst markiert und anschließend intravenös injiziert. Im Rahmen dieses Projekts werden 670 Mäuse, 324 für Experimente und 346 für die Zucht in einem Zeitraum von 3 Jahren verwendet. Die Anzahl der notwendigen Tiere basiert auf einer statistischen Berechnung und wird so gering wie möglich gehalten. Soweit dies möglich ist wird versucht Fragestellungen durch in vitro Experimente zu beantworten. Die Tiere werden in sozialen Gruppen gehalten und ihr Allgemeinzustand wird täglich kontrolliert um eventuell auftretende Anzeichen von Stress und Unwohlsein sofort bemerken zu können.

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

Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von anti-apoptotischen Proteinen, welchen eine bestätigte Rolle in der Pathogenese von Immundefizienz und Autoimmunität zugeschrieben wird, in einem Modell für Multiple Sklerose zu untersuchen.

Bei den geplanten Analysen sollen in einem Zeitraum von 2 Jahren bis zu 400 Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität des Immunsystems zu untersuchen. Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene bei Autoimmunität angeht, gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden, um die Behandlung von Autoimmunerkrankungen, insbesondere der Multiplen Sklerose, zu verbessern.

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Sowohl Autoimmunität, Immundefizienz und maligne Erkrankungen des Bluts sind multifaktorielle Pathologien, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden können.

Verminderung: Es werden nur so viele Tiere verwendet, die nötig sind, um statistisch signifikante Unterschiede zuverlässig erkennen zu können.

Verbesserung: Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-7 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit.

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

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

Onkolytische Viren stellen ein neues Behandlungskonzept für die Behandlung von Tumoren dar. Hierbei kann sich das Virus nur in Tumorzellen vermehren, wodurch diese spezifisch abgetötet werden. Gesunde Zellen werden verschont. Dieses neue Therapiekonzept wurde bereits in Zellkulturexperimenten erprobt, wobei die Tumorzellen in vitro sehr effizient abgetötet werden. In den Experimenten und für Zuchten werden insgesamt maximal 1584 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren verwendet.

Bei der Planung der Experimente wurden immer die „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) berücksichtigt. Parallel zu den Tierexperimenten werden weitere Zellkulturexperimente durchgeführt, um die Mauszahlen so gering wie möglich zu halten. Alle Experimente sind so geplant, dass die Belastung für die Tiere möglichst gering ist. Alle Personen, die die Experimente durchführen sind entsprechend geschult. Durch Interaktion mit anderen Wissenschaftlern auf dem Gebiet wurden die Protokolle verfeinert, um die Belastung für die Tiere zu minimieren.

Durch dieses Projekt wird es uns möglich sein, verlässliche Aussagen über die möglichen Gefahren bei einer Anwendung im Patienten treffen. Die Ergebnisse dieses Projekts werden uns wichtige Informationen für die Weiterentwicklung unseres neuen Therapiekonzepts zur klinischen Anwendung hin geben.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2019 vorgesehen.

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Modelle für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 21 genetisch veränderten Mausstämmen beantragt, die auf verschiedenen Gebieten der immunologischen Forschung Verwendung finden. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung der Mausstämmen über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung von Stämmen, für die noch keine gesicherten Daten vorliegen, 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 keine zusätzliche Belastung dar. Der zu erwartende Nutzen besteht in einer von kompetentem Fachpersonal systematisch erhobenen und dokumentierten Untersuchung der möglichen Beeinträchtigungen dieser Tiere durch ihre spezifischen genetischen Veränderungen. Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 21 Mausstämmen über einen Zeitraum von 5 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von 8180 Mäusen beantragt. Von diesen sind 2550 voraussichtlich nur durch die Gewebebiopsien für die Bestimmung der Genotypen belastet. Die restlichen Mäuse werden außerdem wegen des erhöhten Infektionsrisikos, das durch die genetischen Veränderungen verursacht werden kann als potentiell belastet eingestuft. Die Nutzer der Einrichtung werden 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. Die hier beantragten Tiere werden soweit möglich in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 11000 Tieren (10000 Mäuse, 500 Ratten, 500 Kaninchen) gerechtfertigt ist.

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und -verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich.

Die maximale Belastung wird als „gering“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).

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

Der drastische Anstieg an Neuerkrankungen in den letzten Jahrzehnten macht Allergien zu einem immer dringlicher werdenden Problem der heutigen Zeit. Deshalb sind neue, weiterführende Strategien in der Behandlung notwendig. Die zurzeit einzige ursächliche Therapie von Allergien ist die spezifische Immuntherapie, bei der steigende Dosen an Allergenen unter die Haut gespritzt werden (SCIT) oder unter der Zunge als Tropfen oder Tabletten verabreicht werden (SLIT). Die Vielzahl an Injektionen macht SCIT für den Patienten unattraktiv. Während SLIT schmerzfrei ist, ist die Wirksamkeit deutlich geringer als bei SCIT und erfordert eine noch höhere Anzahl an Applikationen. Daher sind neue Methoden der spezifischen Immuntherapie wünschenswert, die bei schmerzfreier Applikation eine hohe Wirksamkeit aufweisen. Eine Immunisierungsmethode die in den letzten Jahren intensiv untersucht wurde, ist die transkutane Immunisierung über die Haut. Durch die hohe Anzahl an immunkompetenten Zellen in der Haut, konnte in einigen Studien eine höhere Wirksamkeit von Impfstoffen bei transkutaner Applikation erreicht werden. Auch die transkutane Immuntherapie von Allergien wurde in ersten klinischen Studien bereits getestet. Für eine optimale Wirksamkeit und Sicherheit von transkutaner Immuntherapie von Allergien werden allerdings Wirkstoffverstärker (Adjuvantien) notwendig sein, die sowohl die Immunogenität steigern als auch eine allergische („TH2“) Polarisierung der Immunantwort verhindern. Damit soll vermieden werden, dass durch die Therapie möglicherweise Allergien gegen andere Bestandteile des Impfstoffes erzeugt werden, wie es bei der herkömmlichen SCIT mit Pollenextrakten in seltenen Fällen beobachtet wird. Ein geeignetes TH1 Adjuvant (das TH2 Reaktionen verhindert), könnte auch zur prophylaktischen Impfung verwendet werden, um die Entstehung von Allergien bereits im Kindesalter zu verhindern. In der geplanten Studie, soll in einem etablierten Grasspollen-Allergie-Mausmodell die Wirksamkeit eines neuen auf RNA basierendem Adjuvant getestet werden. Untersucht wird sowohl die prophylaktische Wirkung als auch die Therapie von bereits etabliertem allergischem Asthma. Die verwendeten Methoden fallen ausschließlich in die geringste Schweregradkategorie, mit Ausnahme der Lungenfunktionsmessung, bei der die Tiere ansteigenden Konzentrationen des Bronchialkonstriktors Methacholin ausgesetzt werden. Die Verwendung einer möglichst geringen Maximaldosis garantiert eine bestmögliche Schonung der Versuchstiere. Aus bisherigen Erfahrungen wird die Belastung für die Versuchstiere als gering eingestuft. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass es bei einzelnen, besonders stark sensibilisierten Versuchstieren zu einer mittelschweren Belastung kommt. Daher wird die Ganzkörper-Plethysmographie sicherheitshalber als Schweregrad mittel eingestuft. Die erforderliche Zahl und Gruppengröße der benötigten Versuchstiere, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, wurde auf Basis bereits veröffentlichter Studien mit vergleichbaren experimentellen Ansätzen unter Zuhilfenahme eines Statistikprogrammes zur Gruppenzahlberechnung ermittelt. Insgesamt erfordern die geplanten Versuche eine Zahl von 155 Versuchstieren. Dabei handelt es sich ausschließlich um Mäuse vom Stamm BALB/c. Die aus dem vorgelegten Projekt zu erwartenden Ergebnisse können zur Entwicklung neuer effizienter Therapien gegen allergische Erkrankungen beitragen. Das würde zu einer Reduktion der in den letzten Jahren enorm gestiegenen Kosten, die unser Gesundheitssystem zur Linderung der Symptome von Allergien ausgeben muss, führen.

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

Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Die Behandlung großer Knochendefekte und Pseudarthrosen stellt weiterhin eine grosse Herausforderung für die Chirurgie dar. Die Verwendung von autologem oder allogenen Knochen zur Behandlung von Knochendefekten stellt derzeit oft die einzige Therapieform dar. Diese ist allerdings mit Problemen behaftet und führt in vielen Fällen zu unbefriedigenden Ergebnissen. In schweren Fällen droht nicht selten die Amputation von Extremitäten. Aufgrund der ebenfalls teilweise unbefriedigenden Ergebnisse nach Anwendung derzeitiger, nicht-konventioneller Therapieansätze (z.B. Behandlung mit rhBMP-2 und rhBMP-7, zell-basierte Therapien) besteht ein dringender Bedarf nach verlässlichen, effektiven und beschleunigten Methoden zur Knochenregeneration. Im Zuge des beantragten Versuches soll die regenerative Wirkung eines Kinase Inhibitors getestet werden. Zell- und molekularbiologische Untersuchungen haben ergeben, dass der Wirkstoff die Aktivität von Osteoklasten unterbindet und so die Resorption von Knochensubstanz verringert wird. Gleichzeitig wird der Knochenaufbau durch eine Aktivierung von Osteoblasten gefördert, wodurch es in Summe zu einer Zunahme der Knochendichte kommt. Ziel dieser Studie ist es zu untersuchen, ob durch lokale Gabe die Regeneration eines segmentalen Knochendefektes ermöglicht bzw. beschleunigt werden kann. Die Ergebnisse dieser Studie dienen als Teil der präklinischen Grundlagenforschung um eine mögliche Translation in die Klinik zu belegen.

Art und Anzahl der Tiere

Für das beantragte Projekt sollen ausgewachsene Sprague Dawley Ratten mit einem Gewicht von ca. 300 g verwendet werden. Das hier beantragte Rattenmodell stellt gegenwärtig das kleinste, geeignete Tiermodell zur Untersuchung von kritischen Knochendefekten in langen Röhrenknochen dar. Sinnesphysiologisch niedriger entwickelte Tiere sind für den verfolgten Zweck nicht geeignet; ebenso Mäuse, da Ihre anatomischen Strukturen für den beschriebenen operativen Eingriff zu klein sind. Das hier beantragte Knochendefektmodell in der Ratte wird seit über 20 Jahren verwendet und ist sehr gut untersucht. Es sollen in einem Vorversuch 40 Tiere und in dem sich anschließenden Hauptversuch 59 Tiere verwendet werden, um signifikante Aussagen treffen zu können.

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

Die Knochenheilung ist ein komplexer Prozess mit differenziertem Zusammenspiel multipler biologischer und biomechanischer Faktoren. Die multifaktoriellen Prozesse der Knochenheilung können jedoch nicht im theoretischen Modell oder in vitro in Ihrer Gesamtheit simuliert werden und können letztendlich nur im Tierversuch studiert werden. Im hier beantragten Versuch haben die Durchblutung, das Immunsystem und das Einwandern von Stammzellen aus der Defektumgebung sowie biomechanische Einwirkungen großen Einfluss auf den Heilungserfolg. Die minimale Anzahl an Tieren um eine statistisch signifikante Aussage treffen zu können wurde anhand von historischen Daten, welche aus Versuchen unter Anwendung des beschriebenen Tiermodells gewonnen wurden, erhoben. Zudem wurde anhand von intensiven Literaturrecherchen sichergestellt, dass der beantragte Versuch in dieser Form noch nicht durchgeführt bzw. veröffentlicht wurde. Um zunächst die optimale Dosis der Implantate zu ermitteln, wird eine Vorversuch vor dem Hauptversuch durchgeführt. Somit kann die Gesamtanzahl der Tiere reduziert werden.

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

Bedeutung und Begründung des Projekts, Projektziele

Projektziel ist die Evaluierung einer bestimmten Immuntherapie mit monoklonalen blockierenden Antikörpern zur Inhibierung eines T Zell spezifisches Oberflächenmoleküls (PD-1) in einem Mausmodell für die chronisch lymphatischen Leukämie (CLL).

PD-1 (Programmed death 1) interagiert mit dem Liganden PD-L1 auf B-Zellen und ist ein inhibitorischer Oberflächenmarker, der bei Blockierung mittels Antikörper zu einer Reaktivierung von T Zellen führt. Auf Grund von Vorarbeiten können wir davon ausgehen, dass in der CLL der immuntherapeutische Einsatz von blockierenden PD-1 oder alternativ PD-L1 Antikörpern zu einer Reaktivierung CLL-spezifischer T Zellen führt und somit einen therapeutischen Nutzen bringt.

Da der therapeutische Nutzen nicht in vitro untersucht werden kann, wollen wir die Inhibierung von PD-1/PD-L1 in einem präklinischen Mausmodell (Transplantation von Primärtumore von tcl1 transgenen Mäusen in wildtyp Rezipienten Mäuse) testen. Hierzu werden kranke Mäuse mit einem monoklonalen PD-1 Antikörper in Kombination mit Chemotherapeutika behandelt und die Tumorentwicklung sowie das mittlere Überleben bestimmt.

Projektziel ist eine Analyse der Wirksamkeit und Effektivität des Einsatzes von PD-1 Antikörpern zur Behandlung der CLL.

Angaben zur Anwendung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Verwendung von Tieren)

Replacement

Um Grundlagenforschung mit Fokus auf die Entstehung und auf frühe und potentielle Therapieansatzpunkte durchführen zu können, sind Experimente mit lebenden Tieren notwendig. Für die hier vorliegenden Tierversuche gibt es daher keine in Frage kommenden Ersatzmöglichkeiten.

Reduction

Experimente sollten so ausgelegt werden, dass ein Maximum an Erkenntnissen aus der geringstmöglichen Anzahl von Tieren erreicht wird.

Aus unserer Erfahrung mit dem TCL1-Mausmodell und allgemein publizierten Daten können wir in etwa abschätzen, welche Anzahl an Mäusen minimal notwendig ist, um ausreichend Informationen und Daten zu erhalten.

Behandlungsstudien: Alle Tierversuche für die Behandlung dieses Krankheitsmodelles stellen in der in diesem Antrag beschriebenen Form einen leichten bis in wenigen Fällen mittleren Belastungsgrad für die Tiere dar. Alle Substanzen, mit denen Mäuse in diesem Tierversuch behandelt werden, sind bereits in Tierversuchen getestet worden, allerdings nicht in der hier beschriebenen Kombination. Daten aus diesen Untersuchungen erlauben uns, die Anzahl der benötigten Tiere zu reduzieren, da wir keine oder nur wenige Vorversuche für z.B. Dosisfindung, beste Applikationsmethode etc. benötigen. Darüber hinaus werden alle Substanz, mit denen in diesem Tierversuch Mäuse behandelt werden, bereits für Patienten, welche an anderen Krebserkrankungen leiden, klinisch getestet bzw. sind bereits zugelassen und es kann davon ausgegangen werden, dass auch Versuchstiere eine tolerable Belastung durch die zu testenden Substanzen erfahren.

Refinement

Die Belastung für das Versuchstier soll über den gesamten Verlauf der Haltung und Beobachtung auf das geringste Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Kriterien durch 1) artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2) tägliche Kontrolle des Gesundheitszustandes und 3) die Sachkunde der beteiligten Personen.

Begründung für die Verwendung der Tiere, einschließlich Art, Anzahl, Herkunft und Lebensabschnitte

Leider sind in vitro Experimente nicht ausreichend, um das therapeutische Potential der Blockierung von PD-1/PD-L1 zu evaluieren. Aus diesen Gründen ist der Gebrauch und die Nutzung von Tiermodellen essenziell. Für die Durchführung des Projektes werden folgende Tiere benötigt werden:

Verwendung	Art	Alter	Herkunft	Anzahl
Zucht, Haltung Tumoretablierung	C57BL/6-			50
<u>Behandlungsstudien</u>	<u>C57BL/6</u>	<u>ab 7 Wochen</u>		<u>50</u>
Gesamtanzahl benötigter Tiere				100

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

Lungenkrebs ist eine bösartige Neubildung im Bereich der Atemorgane (Lunge und Bronchien). Es handelt sich dabei um eine der häufigsten Krebserkrankungen weltweit neben Brustkrebs, Darmkrebs und Prostatakrebs. Durch die Möglichkeit der synchronisierten Tumor-Initiierung anhand von induzierbaren Lungenkrebsmausmodellen können die ersten und frühesten Stadien der Tumorprogression analysiert werden. Diese Studien werden unter Einhaltung des „3R“ Prinzips geplant. Die Erfahrung des geschulten Personals sowie die Fachkompetenz der WissenschaftlerInnen ist eine Grundvoraussetzung, dass die Zahl der Tiere, der Schmerzen, und der Leiden so gering wie möglich sein wird. Die Induktion von Lungenkrebs kann nicht an isolierten Zellen oder Organen untersucht werden. Im Antrag für die Projekte sind Momentan 2700 Tiere für einen Zeitraum von 5 Jahren veranschlagt. Des Weiteren sind die Versuchsabläufe so optimiert, sodass die Zahl der Tiere, um eine statistische Signifikanz zu erreichen, reduziert wird.

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

Das Ziel dieses Projektes ist genetische Mutationen zu entdecken, welche in der Schmerzauslösung oder in der Schmerzhemmung eine wesentliche Rolle spielen. Medizinisch betrachtet kann die Zahl der Patienten, welche täglich an akuten nozizeptiven Schmerzen leiden, nicht sicher gesagt werden. Heute versteht man zum Teil die Ursachen und Mechanismen des Schmerzes, und durch die Forschung wurde die Diagnose und Behandlung von Schmerzkrankungen dramatisch verbessert. Die Zukunft der Schmerzforschung liegt nun in der weiteren Untersuchung dieser Auslöser. Diese Studien werden unter Einhaltung des „3R“ Prinzips geplant und die Tiere werden regelmäßig und sorgfältig von geschultem Personal kontrolliert und betreut. Insgesamt sind 2500 Mäuse für einen Zeitraum von 5 Jahren vorgesehen. Des Weiteren sind die Versuchsabläufe so optimiert, sodass nach Erreichen der für die wissenschaftliche Aussagekraft ausreichenden Tierzahlen die Experimente unverzüglich beendet werden. Für diese in diesem Antrag behandelten Fragestellungen gibt es keine Ersatzmethoden, in vitro Studien werden ergänzend durchgeführt.

Ziel der Studie: Sechs Monate alte transgene Alzheimermäuse werden für 6 Wochen oral mit einer Testsubstanzen behandelt, die die zu erwartenden Alzheimersymptome verringern soll. Im Anschluss an die Substanzapplikation werden die Mäuse in zwei kognitiven Verhaltenstests auf ihre Fähigkeiten analysiert. Anschließend werden die Tiere euthanasiert und Blut, Gehirn und Gehirnflüssigkeit werden auf positive Veränderungen durch die Substanz untersucht. Es wird erwartet, dass die Substanz die kognitiven Fähigkeiten und auch die Hirnpathologie der Alzheimermäuse verbessert.

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. Die genetisch veränderten Tiere zeigen keine lebens einschränkende Symptome. Auch durch die Verhaltenstests kommt es zu keiner wesentlichen Beeinträchtigung des Wohlergehens oder des Allgemeinzustandes der Tiere. Daher wird die vorliegende Studie als Schweregrad „gering“ eingestuft. Nur Substanzen, die im Tierversuch ihre Wirksamkeit bestätigen konnten, dürfen laut Gesetz im Menschen auf ihre Wirksamkeit untersucht werden. Daher ist es unabdingbar diese neuen Testsubstanzen im Tier zu testen, um sie im Anschluss in klinischen Studien testen zu können.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden insgesamt 300 Alzheimer Mäuse und 60 nicht transgene Geschwistertiere beantragt. Die hier verwendeten Alzheimermäuse wurden bereits zuvor erfolgreich für die Substanzaustestung eingesetzt.

Nachweis über die Erfüllung der Anforderung von Vermeidung, Verminderung und Verbesserung (3R):

Zur Testung dieser Substanzen gegen die Alzheimererkrankung ist es unabdingbar Tiermodelle einzusetzen um bestmögliche Vergleichsmöglichkeiten zum Menschen zu haben. Die Tierzahlen wurden möglichst gering gehalten.

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

Duktales Adenokarzinom des Pankreas (Bauchspeicheldrüsenkrebs) ist eine der aggressivsten Krebsformen und betrifft etwa 70.000 neue Patienten in der EU jedes Jahr. Die Prognose für Patienten mit PDAC ist verheerend, da es im Grunde, neben der Operation, keine wirksame Therapie gibt. Dieses Projekt verwendet Mausmodelle, die menschlichen Bauchspeicheldrüsenkrebs ähneln. Das Ziel ist die Identifizierung und Bewertung neuer genetischer Ziele für die Entwicklung von wirksamen Therapien. Die Studien berücksichtigen alle Forderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Die Haltungs- und Pflegebedingungen der Tiere entsprechen den eingeforderten Standards. Alle Tiere werden regelmäßig und sorgfältig von geschultem Personal kontrolliert und betreut. Die Anzahl an Mäusen wird insgesamt 1200 betragen. Für diese in diesem Antrag behandelten Fragestellungen gibt es keine Ersatzmethoden, in vitro Studien werden ergänzend durchgeführt.

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

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

Für die Durchführung von Forschungsprojekten wird eine Vielzahl von unterschiedlichen, genetisch veränderten und/oder mutierten Fischlinien gezüchtet. Diese Tiere sind nicht immer notwendigerweise gezielt gentechnisch verändert worden, sondern können auch Ergebnis natürlicher auftretender Mutationen sein. Einige dieser Linien sind weltweit einzigartig und ein Verlust dieser Linien, z.B. durch Krankheit, würde einen ernsthaften Verlust wissenschaftlicher Ressourcen darstellen. Um einem solchen Verlust vorzubeugen ist eine Konservierung der Linien mit der Möglichkeit einer späteren Wiederbelebung absolut notwendig. Ein zweiter Grund für die Konservierung von Linien ist die Reduktion der in der Zuchtanlage gehaltenen Tiere. Linien, für die eine Möglichkeit der Wiederbelebung besteht, können in deutlich geringer Zahl gehalten werden als solche, für die diese Möglichkeit nicht gegeben ist.

Der Zweck des Projektes ist also die Sicherung von transgenen und/oder mutierten Zebraabärling-Linien in Form von ultratiefgefrorenen Spermien und die Wiederbelebung von Linien durch in vitro Fertilisierung. Es handelt sich hierbei um eine züchterische Maßnahme, die nicht mit einem Neugewinn wissenschaftlicher Erkenntnisse verbunden ist. Das Projekt dient vielmehr der Sicherung von Ergebnissen aus vorherigen Experimenten und somit auch zur Sicherung der Basis für neue Projekte und der Reduktion von Tierzahlen in der Zuchtanlage.

Die Konservierung wird über die Gewinnung von Spermien aus adulten Männchen und einer Lagerung der Spermien in flüssigem Stickstoff bei -180°C erreicht. Für die Entnahme von Spermien werden Männchen zunächst betäubt. Dann wird durch eine Streichbewegung entlang der Flanken des Tieres die Spermienabgabe ausgelöst. Die Spermien werden in einer Galskapillare aufgefangen und für die Einfrierprozedur weiterverarbeitet. Das Tier wird nach der Spermientnahme direkt in einen Tank mit frischem Aquariumwasser überführt. Hier wird das Tier bis zu einer vollen Wiederherstellung der Reflexe und Eigenbewegung beobachtet. Diese Prozedur sollte insgesamt nur wenige Minuten (1-2 Minuten) dauern.

Die Wiederherstellung von Linien erfolgt über in vitro Befruchtung von aus adulten Weibchen gewonnenen Eizellen. Für die Entnahme von Eizellen werden Weibchen zunächst betäubt. Dann wird durch eine Streichbewegung entlang der Flanken des Tieres die Eiabgabe ausgelöst. Die Eier werden vom Tier abgestrichen und für die in vitro Fertilisierung weiterverarbeitet. Das Tier wird nach der Eientnahme direkt in einen Tank mit frischem Aquariumwasser überführt. Hier wird das Tier bis zu einer vollen Wiederherstellung der Reflexe und Eigenbewegung beobachtet. Diese Prozedur sollte insgesamt nur wenige Minuten (1-2 Minuten) dauern.

Der Schweregrad der Gewebeentnahme ist als „gering“ einzustufen. Die Tiere bleiben nach Durchführung der Entnahme am Leben und zeigen keine Folgeschäden.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Bei diesen Untersuchungen handelt es sich um züchterische Routinemaßnahmen, die für eine verantwortungsvolle Zuchtplanung unbedingt notwendig sind.

Derzeit ist eine Cryo-Konservierung von 16 Linien geplant. Bei angenommenen 200 Tieren pro Linie gehen wir von 3200 Tieren in der gesamten Projektdauer aus. Bei einer fünfjährigen Projektdauer ergibt dies 640 Tiere pro Jahr.

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

- Entnahme der Gewebeprobe erfolgt einmalig oder mit hinreichendem Erholungsabstand
- Sterile Arbeitsweise

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

Was sind die Vorteile, die durch dieses Projekt entstehen können?

Unser Verständnis von Epilepsie und Autismus-Spektrum-Störung (ASS) ist bei weitem nicht vollständig, und einige grundlegende Geheimnisse zu ihren Ursachen und Wirkweisen bleiben bestehen. Etwa ein Viertel der Patientinnen mit Epilepsie sind auch an Autismus erkrankt, was die Existenz gemeinsamer Mechanismen und Wirkweisen nahelegt. In mehr als 50% der Fälle haben sowohl ASS als auch Epilepsie eine genetische Basis. Ein Verständnis der kausalen Mechanismen dieser beiden Krankheiten, im speziellen der genetischen Mutationen und molekularen Mechanismen hinter ASS und Epilepsie, ist essenziell und dringend notwendig um gezielte therapeutische Interventionen zu entwickeln. Wir haben mehrere genetische Mutationen, die Ursache für Epilepsie und ASS sind, identifiziert, allerdings bleiben die mechanistischen Ursachen dieser Erkrankungen ungeklärt. Das Verständnis dieser Mechanismen in vivo wird notwendig sein, um essenzielle Fragen zu den grundlegenden pathologischen Mechanismen dieser Erkrankungen zu beantworten. Um diese Mechanismen zu identifizieren, beabsichtigen wir mehrere Mausmodelle für Epilepsie und Autismus zu erzeugen und zu untersuchen.

Welche Spezies und welche Anzahl an Tieren wird zu verwenden beabsichtigt?

Wir planen maximal 4598 Mäuse für die gesamte Dauer des Projektvorhabens zu verwenden.

- 1341 Tiere werden für Experimente verwendet.

- 4500 Tiere werden insgesamt genotypisiert (mittels Schwanzspitzenbiopsie).

Im Kontext davon, was mit den Tieren gemacht wird, was sind die erwarteten negativen Auswirkungen auf die Tiere, der wahrscheinliche/erwartete Schweregrad und das Schicksal der Tiere?

Manche der Mäuse werden durch den Umgang induzierte Anfälle entwickeln, sowie andere Phänotypen des zentralen Nervensystems. Der erwartete Schweregrad ist mittelgradig. Tiere werden am Ende der Untersuchung 'human' getötet.

Anwendung der drei Rs:

1. Ersatz:

Epilepsie und Autismus sind komplexe Störungen der Gehirnentwicklung. Während in vitro Techniken (z.B. Zellkulturen) verwendet werden, um bestimmte Fragen zu beantworten, bedingt die Komplexität dieser Erkrankungen die Analyse der Gehirnentwicklung in vivo, und kann nicht in einfacheren Systemen als Tieren dupliziert oder modelliert werden.

2. Reduktion

Wir werden die minimale Anzahl an Mäusen verwenden, um statistisch signifikante Unterschiede zwischen Kontrolle und Experiment zu demonstrieren. Allerdings ist auf Grund der Anzahl an unabhängigen Variablen und der Variabilität der untersuchten Phänotypen der benötigte Stichprobenumfang groß, um statistisch zulässige Proben zu erhalten. Einige dieser Experimente sind technisch anspruchsvoll, und mehrere Versuche werden notwendig sein um ausreichende Daten von jedem Experiment zu erhalten. Gute Versuchsplanung mit einwandfreier Datensammlung und -analyse werden die Anzahl der benötigten Tiere minimieren. Falls eine bestimmte Prozedur im Labor wiederholt verwendet wird, wird ein historisches Protokoll für diese Prozedur erstellt. Wo immer möglich verwenden wir eine sehr kleine Anzahl an Kontrollen und zeigen, dass sie innerhalb der historischen Grenzen der Kontrollen fallen, anstatt ein volles Set an Kontrollen zu verwenden.

3. Verfeinerung

Genetische, biologische und verhaltensbiologische Charakteristika von Mäusen ähneln denen von Menschen stark, und viele Symptome menschlicher Krankheiten können in Mäusen nachgebildet werden. Außerdem wurden einige Aspekte der Gehirnentwicklung und Physiologie in Mäusen extensiv untersucht, was die Möglichkeit birgt, die Ergebnisse unserer Experimente besser zu interpretieren.

Erklärung der allgemeinen Maßnahmen zur Reduzierung der Wohlfahrtskosten (Schäden) der Tiere
Mäuse werden in geeigneten Tierstationen und so weit wie möglich ungestört gehalten. Sie werden in Gruppen mit geeignetem Streu, Nistmaterial und Nistkästen gehalten. Mäuse werden häufig beobachtet und ‚human‘ getötet, sollten wir beobachten dass sie an unnötigem Unwohlsein oder chronischen Schmerzen leiden.

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

Die Informationsverarbeitung im Gehirn erfolgt zum Großteil durch die Kommunikation zwischen Nervenzellen an ihren Kontaktpunkten, sogenannten Synapsen. Die exzitatorischen und inhibitorischen Neurotransmitter, die in Synapsen von Wirbeltieren und so auch beim Menschen zum Einsatz kommen, sind Glutamat und GABA. Beide aktivieren Rezeptorproteine an den Membranen von Neuronen und öffnen Ionenkanäle, um elektrische Signale zu erzeugen, oder aktivieren Enzyme, um intrazelluläre sekundäre Botenstoffe zu erzeugen, und übertragen so Information an die nächsten Zellen. Abhängig von der Art der Rezeptoren, ihrer Anzahl, den koppelnden Proteinen und den Membranbereichen in denen sie sich befinden können die funktionalen Konsequenzen der Rezeptoraktivierung stark variieren. Daher ist eine Kenntnis der präzisen und quantitativen Lokalisierung der Rezeptoren, der Zusammensetzung ihrer Untereinheiten und ihrer Verbindung mit anderen Schlüssel-molekülen in verschiedenen Zelltypen essentiell um zu verstehen, wie die synaptische Übertragung in der neuronalen Verschaltung reguliert wird und wie Veränderungen von Subtypen und ihrer Lokalisierung die Gehirnfunktion und das Verhalten von Tieren unter physiologischen und pathologischen Bedingungen beeinflusst.

Ionenkanäle, die für Natrium-, Kalium- und Kalzium-Ionen durchlässig und an neuronalen Plasmamembranen exprimiert sind, spielen auch eine wichtige Rolle in der Kontrolle der Erregbarkeit von Zellen, der Ausschüttung von Neurotransmittern, der Genexpression und der Entwicklung des Gehirns. Die Auswirkungen der Aktivierung von Ionenkanälen unterscheiden sich nicht nur durch die Eigenschaften der Kanäle, die durch die Zusammensetzung der Untereinheiten definiert sind, sondern auch durch die Anzahl, Dichte und Lokalisierung der Kanäle in unterschiedlichen Membranbereichen der Neuronen. Diese Information ist daher unerlässlich um zu verstehen, wie unterschiedliche Arten von Ionenkanälen die Neurotransmission regulieren, und um sinnvolle Simulationen von Neurotransmission und der neuronalen Integration zu konstruieren.

Das Hauptziel dieses Projekts ist, hochsensible und quantitative Methoden zu etablieren, um die Lokalisierung und den Aufbau von Rezeptoren und Ionenkanälen im Gehirn mit hoher Auflösung zu erforschen, und die mit diesen Methoden erlangten Resultate mit funktionalen Ergebnissen in elektrophysiologischen und verhaltensbiologischen Experimenten zu kombinieren. Besondere Aufmerksamkeit wird darauf gerichtet, die Mechanismen der Langzeit-Erinnerung und der Bildungen der links-rechts Asymmetrie im Gehirn zu erforschen. Erinnerung, so wird angenommen, wird im Gehirn als langandauernde Veränderung der synaptischen Effizienz und Verbindungen gespeichert. Um aufzuklären, wie Langzeit-Erinnerung im Gehirn gebildet wird und welche Moleküle dazu beitragen, wollen wir die neuentwickelnden Methoden in drei verschiedenen *in vivo* Modellen anwenden: im zerebralen motorischem Lernen, im hippocampalen räumlichen Lernen und in der Bildung von emotionalen Erinnerungen in der Amygdala. Die Lateralisation höherer Gehirnfunktionen ist beim Mensch schon länger bekannt, unbekannt ist allerdings, wie diese Lateralisation entsteht. Wir entdeckten, dass sich bei Mäusen die Dichte der Glutamat-Rezeptoren und die Synapsengröße in hippocampalen Pyramidenzell-Synapsen abhängig von der Input-Seite unterscheiden. Das ist der erste stichhaltige Beweis für die molekulare und strukturelle Asymmetrie von Synapsen. Wir werden Schlüssel-moleküle für die Bildung dieser links-rechts Asymmetrie des Gehirns und ihres Zusammenhangs zur bekannten Lateralisation von Gehirnfunktionen finden.

Änderungen in der Zusammenstellung von Untereinheiten und die Anzahl essentieller Moleküle in Neuronen sollten verschiedenen neurologischen Erkrankungen des Menschen und deren Tiermodellen zu Grunde liegen, und unsere Ergebnisse können zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie neurologischer Erkrankungen und zur Entwicklung neuer Therapien beitragen. Außerdem ist eine anormale Lateralisation von Gehirnfunktionen in verschiedenen neurologischen Störungen des Menschen wie Autismus, Depression, Alzheimer und Schizophrenie bekannt. Änderungen der synaptischen Asymmetrie in Tiermodellen könnten in Zukunft zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie dieser Erkrankungen beitragen.

Wir planen maximal **6210** Mäuse für die gesamte Dauer des Projektvorhabens zu verwenden.

- 2870 Tiere werden für Experimente verwendet.

- 4690 Tiere werden insgesamt genotypisiert (mittels Schwanzspitzenbiopsie).
Der höchste zu erwartende Schweregrad wird „mittel“ sein.

Realisierung der „3R“ (Replacement, Reduction und Refinement) in diesem Projekt:

Das Versuchsdesign ermöglicht eine Minimierung der Anzahl an verwendeten Tieren.

So oft wie möglich untersuchen wir gleichzeitig verschiedene Gehirnregionen zur Lokalisierung verschiedener Schlüsselmoleküle. Im Vergleich zur Verwendung für nur eine Untersuchung minimiert das die Zahl an benötigten Tieren. In flüssigem Stickstoff können wir Gehirnschnitte von Wildtyp und verschiedenen transgenen Mäusen über Jahre hinweg gefroren lagern und dadurch können wir Proben für in der Zukunft entstehende unvorhergesehene Zwecke aufheben. Um die Verwendung von Tieren weiter zu minimieren werden wir, so möglich, verschiedene Markierungstechniken in denselben Tieren für unterschiedliche Zwecke anwenden. Wir verwenden die minimal notwendige Anzahl an Tieren für den Erhalt von statistisch validen experimentellen Ergebnissen. Es liegt in der Natur von morphologischen Experimenten mit EM, nur eine kleine Anzahl an Tieren (weniger als sechs Tiere) parallel für dieselbe experimentelle Gruppe zu verwenden, da die hoch sensiblen quantitativen Messungen üblicherweise weniger variabel als konventionelle Studien sind. Wir verwenden zuerst drei Tiere und testen, ob damit bereits genügend Daten für die Entdeckung statistisch signifikanter Unterschiede gesammelt wurden. Falls ja, können wir die Messungen mit der Minimalanzahl an Tieren beenden. Falls nicht, erhöhen wir die Anzahl auf sechs, um so festzustellen, ob ein signifikanter Unterschied zwischen experimentellen Gruppen besteht oder nicht.

Verhaltensexperimente benötigen üblicherweise eine größere Zahl an Tieren. Da die Experimente mit kleinen Gruppen von Tieren durchgeführt werden (weniger als 20), können Daten aus den ersten Versuchsreihen genutzt werden, um zu testen, ob verlässliche und statistisch signifikante Daten bereits vorhanden sind, bevor mehr Tiere verwendet werden. Zu bemerken ist auch, dass mehrere unabhängige Experimente benötigt werden, um die oben beschriebenen Absichten jedes Ziels zu erfüllen. Dies bedarf daher der oben angeführten Anzahl an Tieren. Zusätzlich dazu bleiben wir am letzten Stand der technischen Fortschritte, sowohl die Operationstechniken als auch die Verhaltensmethoden und -analysen betreffend. So stellen wir sicher, dass die geringste Zahl an Tieren verwendet wird und reduzieren weiter das Auftreten und den Grad jeglicher Schmerzen während der Durchführung. Daher werden wir die Literatur stets verfolgen und bleiben mit anderen Forschern auf diesem Gebiet sowohl bei wissenschaftlichen Treffen als auch bei Laborbesuchen in Kontakt. Regelmäßige Diskussionen mit unserem Tierarzt werden die weitere Verfeinerung unserer Protokolle sicherstellen.

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

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

Die Erforschung der Grundlagen von Zellbewegungen erfordert zum einen die Markierung bestimmter zellulärer Komponenten um diese beobachten zu können, zum anderen aber auch die Inaktivierung oder Überaktivierung von Faktoren um deren Einfluss auf das Ganze zu untersuchen. Derartige Experimente können prinzipiell auch in isolierten Zellen durchgeführt werden. Jedoch ist es für ein Verständnis der komplexen Vorgänge während der embryonalen Entwicklung und der Bildung von Organen notwendig diese Experimente auch in komplexen Organismen durchzuführen.

Der Zebraäbrbling ist ein Zierfisch der sich für Studien an sich entwickelnden Embryonen sehr gut eignet. Elterntiere laichen spontan hunderte von Embryonen ab; die Embryonen können anschließend gesammelt und für Experimente verwandt werden.

Um die zuvor beschriebenen Markierungen, Inaktivierungen und Überaktivierungen im Embryo zur Verfügung zu haben müssen die Elterntiere bereits die entsprechende genetische Veränderung tragen. Markierungen und Überaktivierung von Genen werden durch die Erzeugung von transgenen Tieren erlangt. Eine Inaktivierung von Genen üblicher Weise durch Mutation.

Die mutanten Stämme werden in der Regel als mischerbige Linien gehalten, die keinerlei Auffälligkeiten zeigen; transgene Stämme zeigen üblicherweise auch als reinerbige Tiere keine erkennbaren vom wildtypischen Fischen abweichende Erscheinungsbild.

Jedoch gibt es einige wenige mutante Stämme, die reinerbig lebensfähig sind, dann aber leichte Beeinträchtigungen zeigen können. Die Arbeit mit reinerbigen Elterntieren reduziert die Anzahl der für Experimente notwendigen Embryonen (alle nachkommen sind ebenfalls reinerbig) und so auch die Zahl der Tiere die für Experimente gehalten und gekreuzt werden müssen. Reinerbige Tiere sind für die Forschung unverzichtbar.

Darüber hinaus können auch transgene Linie Auffälligkeiten zeigen -in diesem Projekt reduziert sich dies auf eine spezielle Linie. Diese Linie erlaubt die subzelluläre Lokalisation von zytoskeletalen Elementen (Aktin) in lebenden Embryonen sichtbar zu machen und ist für die wissenschaftlichen Arbeiten unentbehrlich.

Der Zweck des Projektes ist also zum einen die Zucht von reinerbigen mutanten Linien, sowie die Zucht von transgenen Tieren. Die Haltung dieser Tiere ist für die Durchführung der Forschungsvorhaben absolut notwendig.

Der Schweregrad des Vorhabens ist als "gering" einzustufen. Alle Tiere sind weitgehend nicht von wildtypischen Tieren zu unterscheiden und zeigen nur zum Teil geringe Abweichungen von wildtypischen Tieren. Sie sind voll reproduktionsfähig und zeigen ein normales Schwimm-und Fressverhalten.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Die Anzahl der zu haltenden adulten Tiere hängt stark davon ab, zu welchem Masse die Nachkommen dieser Tiere in Experimenten verwendet werden. Für Linien mit geringer Nutzung werden in der Regel vier Tanks mit je 60 Tieren pro Jahr aufgezogen (total 240 Tiere). Ein Viertel dieser Tiere ist statistisch homozygot (60 Tiere pro Jahr). Bei Linien mit hoher Nutzung ist hingegen von bis zu 180 Tieren pro Jahr auszugehen. In außergewöhnlichen Fällen können sogar bis zu 300 Tiere pro Jahr aufgezogen werden. Im Falle von neu zu etablierenden gentechnisch veränderten Linien gehen wir von 150 zu Beginn injizierten Tieren mit unklarem Phänotyp aus. Bis diese Linie in der dritten Generation etabliert ist und Klarheit über den Phänotyp besteht gehen wir weiterhin von 150 Tieren pro Jahr und Linie aus.

Insgesamt rechnen wir mit der Aufzucht von 2380 Tieren mit möglichen Einschränkungen pro Jahr.

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

Im Falle von nur teilweise ausgeprägten auffälligen Erscheinungsbildern werden die tatsächlich betroffenen Tiere bereits vor Erreichen des 5. Lebensstages abgetötet. Bei Linien, bei denen eine Rettung eines embryologischen Defektes notwendig ist, werden Tiere die diesen Defekt dennoch zeigen bereits vor Erreichen des 5. Lebensstages abgetötet. Bei Linien bei denen die embryonale Aufzucht bei geänderten Umwelteinflüssen stattfinden muss, werden Tiere die dennoch einen Defekt zeigen vor Erreichen des 5. Lebensstages abgetötet. Tiere, die einen Defekt zeigen, werden bei einer deutlichen Verschlechterung des Allgemeinzustands über den durch die genetische Veränderung erwarteten Effekt hinaus umgehend schonend getötet.

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

Zielsetzungen der Forschungsarbeit:

Projektziele

Im Rahmen der Leistungskontrolle werden derzeit auf Milchviehzuchtbetrieben regelmäßig Milchproben gezogen (35-40 täglich bzw. 10 mal pro Jahr) und mit Hilfe von Mid-Infrarotspektren (MIR) auf den Gehalt an Milchfett, Milcheiweiß, Laktose, Milchharnstoff und Zellzahl untersucht.

Die vorliegende Studie dient der Prüfung, ob die Ergebnisse von MIR-Spektren auch zur retrospektiven Beurteilung der Nährstoff- und Energieversorgung von Milchkühen dienen können bzw. wie lange „Nachwirkungseffekte“ bei Rationswechsel erkannt werden können. Wenn es gelingt, auf Grund des MIR-Spektrums Veränderungen in der Nährstoff- und Energieunterversorgung auch retrospektiv (Nachwirkungen über Wochen) erkennen zu können, dann könnten zukünftig die periodische Milchuntersuchungen im Rahmen der Leistungskontrolle effizienter für die Zucht genutzt werden. Die Einbeziehung der Nährstoffversorgung und Energiebilanz in Zuchtprogramme wird derzeit durch den Mangel an schnellen, einfachen und kostengünstigen Methoden zur Messung behindert.

Bei positiven Ergebnissen könnten die periodisch erhobenen Milch- Untersuchungsergebnisse der Leistungskontrolle effizienter für die Zucht stoffwechselstabiler Kühe genutzt werden. Dies würde zur Verbesserung der Tiergesundheit sowie Wirtschaftlichkeit der Milchviehhaltung beitragen und auch die Zuchtviehvermarktungschancen erhöhen.

Anwendung der „3 R“:

Alternativ zur Blutprobenentnahme/Blutuntersuchung gibt es keine Möglichkeit, aus dem Versuchsverlauf auf physiologische Parametern schließen zu können, die den Zustand des endogenen Stoffwechsels oder innerer Organe wie der Leber beschreiben. Die Anzahl an Blutproben wurde mit 10 Entnahmen je Tier und in wöchentlichen Abständen auf ein statistisch vertretbares Mindestmaß reduziert wie auch insgesamt die Anzahl an 20 Tieren im vorliegenden Versuch zwar statistisch vertretbar jedoch insgesamt eine geringe Anzahl darstellt. Die Blutprobenentnahmen per se stellen einen geringen Eingriff dar.

Begründung für die Verwendung der Tiere:

Die Projektziele haben die Tierbiologie von Milchkühen als Grundlage, die 20 Milchkühe stammen aus dem eigenen Tierbestand

Erneute Verwendung von Tieren:

Die im Rahmen des Versuches eingesetzten Tiere wurden bislang keinem Tierversuch unterzogen, es handelt sich um keine erneute Verwendung von Tieren.

Unterbringungs-, Haltungs- und Pflegebedingungen:

Die derzeitigen Bedingungen übertreffen die derzeit geltenden Standards der 1 Tierhaltungsverordnung, entsprechen der „guten landwirtschaftlichen Praxis“ und qualifiziertes Personal für die Tierpflege und Tierbeobachtung steht dauernd zur Verfügung

Beobachtungsstrategien (Angst, Schmerzen, Leiden, Schäden)

Die 20 in den Versuch eingebundenen Tiere (Milchkühe) sind im Herdenverband integriert, werden mit der gesamten Herde versorgt, betreut und täglich mehrmals durch qualifiziertes Personal beobachtet bzw. versorgt.

Schmerzlindernde Methoden:

Bei Blutentnahmen nicht notwendig bzw. auch kaum möglich bzw. nicht sinnvoll Leidensminderung, Abbruchkriterien bzw. Tötungsmethoden: Bei geringen Eingriffen nicht anwendbar

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 11250 Mäusen gerechtfertigt ist.

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich.

Die maximale Belastung wird als „gering“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).

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

Die metabolische Rate ist ein zentraler Punkt im Netzwerk physiologischer Mechanismen, die den Merkmalen der Lebensgeschichte von Organismen zugrunde liegen und diese bestimmen. Der Energieverbrauch kann einen wesentlichen Einfluss auf die Fitness haben und Physiologie, Verhalten, Ökologie und letztlich die Evolution einer Art beeinflussen. Organismen in unterschiedlichen Lebensräumen passen ihre metabolische Aktivität den jeweiligen Bedingungen der Umgebung an. In kalten und nahrungsarmen Lebensräumen steigt zum Beispiel der Energieverbrauch. Aber wie variabel und anpassungsfähig sind Arten im Hinblick auf Unterschiede in Temperatur und Nahrung und ist diese Variabilität genetisch induziert? Die geplanten Versuche können nicht an Organen oder Zellkulturen durchgeführt werden, da der gesamte Organismus für die Messung der metabolischen Rate untersucht werden muss. Die Tiere werden durchwegs von fachkompetentem Personal betreut und die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch erforderliche Mindestmaß reduziert.

Metabolische Rate während der Inkubation im Freiland (insgesamt maximal 60 weibliche Kohlmeisen): Während der gesamten Untersuchung erleiden die Tiere keinerlei Schmerzen. Die Belastung resultiert aus dem Fang der Tiere zur Bestimmung von Alter und Körpergewicht. Außerdem werden die Weibchen über Nacht im Nistkasten eingeschlossen. Da während der Bebrütung das Weibchen ohnehin die Nacht im Nistkasten verbringt, schätzen wir die Belastung für die Tiere als gering ein.

Messung der metabolischen Rate im Labor (ohne Beeinflussung, Fütterungsexperiment, Kälteexperiment) (insgesamt maximal 48 Kohlmeisen-Küken): Die Belastung resultiert aus dem kurzfristigen Einsperren der Tiere in Stoffwechsellkäfige, der kurzzeitigen Haltung in Einzelkäfigen, dem kurzzeitigen Nahrungsentzug bzw. dem schrittweisen Abkühlen der Raumtemperatur. Nach Abschluss der Experimente werden die Tiere in ihrem ursprünglichen Lebensraum freigelassen. Die Belastung für die Tiere wird als gering eingestuft. Das Wohlergehen der Tiere steht an erster Stelle und die Veterinärmediziner werden vor und nach Durchführung der Experimente den Zustand der Tiere beurteilen. Falls nötig werden einzelne Tiere von folgenden Experimenten ausgeschlossen.

Angaben zur statistischen Versuchsplanung in Hinblick auf Zielgrößen, Fallzahlplanung und statistische Auswertung: Die Zielgrößen werden wahrscheinlich quantitativ sein und die Auswertemethode ein lineares Modell. Die Fallzahlplanung ist auch relevant für die drei "R", also für die Verminderung.

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

Die Rolle des Lichtes, ist ein von Menschen geschaffenes Umweltphänomen, dessen Einfluss auf die Umwelt, bisher zu wenig berücksichtigt wurde. Aufgrund der wachsenden Verstädterung, haben viele Organismen nachts, zunehmende künstliche Beleuchtung zu bewältigen. Die Verschmutzung durch Chemikalien, Lärm oder Zerstörung von Lebensräumen beeinflusst Ökosysteme in einer offensichtlichen Weise. Lichtverschmutzung ist subtiler und ihre Auswirkungen auf die Umwelt, noch nicht gut erforscht. Sieht man auf Satellitenfotos von Europa bei Nacht, zeigt sich, dass es kaum mehr Stellen gibt, an denen es wirklich dunkel wird. Vögel sind generell extrem lichtempfindliche Tiere, bei denen Licht einen bedeutenden Zeitgeber darstellt. Wir möchten untersuchen, wie künstliche Lichtquellen, insbesondere Nachtbeleuchtung, als photoperiodische Zeitgeber, Einfluss auf das reproduktive Verhalten einer Tiergruppe, nämlich Vögel, und im besonderen unsere Blaumeisen (*Cyanistes caeruleus*), nehmen.

Die Rolle der Lichtverschmutzung soll experimentell untersucht werden und das experimentelle Design ist so gewählt, dass der Einfluß anderer Faktoren auf das Fortpflanzungsverhalten ausgeschlossen werden kann.

Für diese Versuche werden insgesamt 80 Blaumeisenbrutpaare verwendet, das entspricht einer Anzahl von 160 adulten und ca. 700 juvenilen Tieren. 40 Brutpaare werden mit Lichtquellen entweder während der Verpaarungs- oder Nestlingaufzuchtphase ausgestattet und die Auswirkungen auf das Fortpflanzungsverhalten (Einfluss auf Partnerwahl etc.) und Auswirkungen auf die Jungenaufzucht und damit der Jungenentwicklung untersucht. 40 weitere Paare dienen als Kontrolle.

Es gibt keine andere, weniger invasive und schädliche Methode um die Rolle künstlicher Beleuchtung auf das Fortpflanzungsverhalten der Tiere unter natürlichen Bedingungen zu untersuchen. Die Stichprobengröße ist sorgfältig gewählt um auch ein aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten. Die Versuchstierart (Blaumeise) ist ein häufiger Brutvogel im Wienerwald um Wien, wo es noch relativ große und von Kunstlicht unbeeinflusste Gebiete gibt. Die Blaumeise ist ideal für diese Untersuchungen weil sie in Nistkästen brütet und daher die Manipulation der Lichtsituation und der Nestling im Nistkasten relativ einfach ist. Außerdem ist von einer korrelativen Vorstudien bekannt, dass es Lichteffekte auf das Fortpflanzungsverhalten geben könnte. Der Beweis dafür ist aber nur experimentell möglich. Die Ergebnisse dieser Experimente sind daher ein wertvoller Beitrag in der Vogelforschung, sind aber auch aus der Sicht des Naturschutzes relevant.

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

Dieses Projekt untersucht den Zusammenhang zwischen Gehirngröße und dem Immunsystem bei Fischen.

Vergleichende Studien legen solch einen Zusammenhänge nahe, ein richtiger *Versuch* wurde dazu jedoch noch nicht unternommen. Dies wird nun durch ein einmaliges Modellsystem, nämlich auf große und kleine Gehirne gezüchtete Fische ermöglicht. Diese Fische unterscheiden sich nach drei Generation künstlicher Selektion um ca. 10 % in relativer Gehirngröße. Die Immunkompetenz der beiden Gruppen soll mittels Standardmethoden der Immunbiologie - Schuppentransplantation und bakterielle Infektion - verglichen werden. Der Unterschied in der Heftigkeit der Immunantwort (bei der Transplantation) und der Anzahl der Krankheitsfälle (bei der bakteriellen Infektion) zwischen den groß- und kleinhirnigen Fischen werden dann direkte Rückschlüsse auf die Immunkompetenz zulassen. Bei der Schuppentransplantation sind nur lokale Immunreaktionen, keinesfalls aber ernstere Komplikationen oder gar Todesfälle zu erwarten, bei der bakteriellen Infektion können schwerere Beeinträchtigungen oder Todesfälle auftreten; das genaue Beobachten sollte jedoch ein vorzeitiges humanes Erlösen ermöglichen.

Jeder Selektionsversuch muss in mehreren unabhängigen Replikaten geführt werden, da sonst die Generalisierbarkeit nicht gegeben ist. Insgesamt werden 120 Fische, die in sozialen 10er-Gruppen in 45-Liter Aquarien gehalten werden, verwendet. Die Anzahl der Individuen pro Gruppe repräsentiert die niedrigstmögliche Stichprobenanzahl um einen biologisch relevanten Effekt der Gehirngröße auf die Immunkompetenz zu detektieren und ist eng angelehnt an vorhergehende Immunitätsversuche und an zu verwendende statistische Auswertungsmethoden. Die Anzahl der Gruppen ergibt sich aus dem Selektionsaufbau. Eine Verringerung der Anzahl bei entweder der Anzahl der Gruppen, oder der Tiere innerhalb der Gruppen würde eine Generalisierbarkeit gefährden bis verunmöglichen und so eine Wiederholung des Versuches notwendig machen.

Die 3 R:

Das System der gehirngrößen-selektierten Fische ist einzigartig, die Tiere können daher nicht ersetzt werden. Während des Versuches befinden sich die Tiere in großen sozialen Gruppen in Aquarien mit natürlichem Bodengrund und Moos als Versteckmöglichkeit, und sie erhalten natürliches Futter (Mückenlarven und Salinenkrebse). Wie oben beschrieben wird die absolute Mindestzahl an experimentellen Tieren eingesetzt. Außerdem wird durch ein genaues Beobachten das Frühzeitige erkennen von Krankheitssymptomen gesichert. Humane Euthanasierung ist so möglich bevor es zu gravierenden Krankheitsbildern kommt. Der Versuchsaufbau ist so entworfen, dass sowohl auf Pilotversuche als auch auf Kontrollgruppen verzichtet werden kann: Pilotversuche entfallen, da die Dosierung des Bakteriums aus der Literatur bekannt und etabliert ist; bei gegensätzlich selektierten Gruppen werden diese miteinander verglichen, ohne die Notwendigkeit einer Kontrollgruppe.

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

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Untersuchung des Einflusses der Darmmikrobiota, der Darmfunktion und -struktur auf die Futtereffizienz und Ausscheidungen an umweltrelevanten Elementen (Stickstoff und Phosphor) bei Mastschweinen, die eine gute und schlechte Futtermittelverwertung aufweisen. Die gewonnenen Daten werden das allgemeine Verständnis über die Wechselwirkungen zwischen der Darmmikrobiota und dem Wirtstier erweitern. Bisher ist wenig bekannt, welchen Einfluss die mikrobielle Zusammensetzung und Fermentation im Darm auf die Futtereffizienz beim wachsenden Schwein hat. Erste Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass die Darmmikrobiota einen starken Einfluss auf Futtereffizienz durch ihren Einfluss auf Nährstoffverdauung, Absorption und Stoffwechsel haben kann. Daher wird angenommen, dass es Unterschiede in den mikrobiellen Gemeinschaften und in der Darmfunktion von Schweinen mit einer über- und unterdurchschnittlichen Futtermittelverwertung gibt. Die in diesem Projekt gewonnenen Erkenntnisse sollen helfen, das Verständnis dieser Wechselwirkungen besser zu verstehen, um ernährungsbasierte Strategien zu entwickeln, die über die Beeinflussung der mikrobiellen Besiedlung des Darms und seiner Funktion die Futtereffizienz und Darmgesundheit fördern und der ökologischen Fußabdruck von Mastschweinen verringern können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden 102 Mastschweine geplant. Davon werden 72 Schweine bis 100 kg in ihrem Wachstum und Futteraufnahme verfolgt. Weitere 30 Tiere werden als Reserve eingeplant, falls Tiere krankheitsbedingt aus dem Versuch herausgenommen werden müssen.

Aus den 72 Schweinen werden am Versuchsende 8 gute, 8 mittlere und 8 schlechte Futterverwertende Schweine identifiziert und zur Bestimmung der Darmmikrobiota und -funktion beprobt.

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

Vermeidung:

Da es in dem vorliegenden Projekt um die Untersuchung der Auswirkung der Darmmikrobiota und -funktion auf die Futtereffizienz beim wachsenden Schwein geht, findet der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode keine Anwendung. Die Untersuchung der Effekte der Darmmikrobiota und -funktion auf die Futtereffizienz benötigt einen lebenden Gesamtorganismus. Auch können in-vitro Systeme die Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung nicht simulieren. Außerdem müssen aufgrund der tierindividuellen Unterschiede in der Darmmikrobiota die Untersuchungen zu den Wirkmechanismen zwischen Darmmikrobiota und Futtereffizienz am gleichen Gesamtorganismus durchgeführt werden. Des Weiteren können durch die Kryokonservierung von gewonnenem Probenmaterial weitere Untersuchungsreihen für Fragestellungen zum Projektthema bearbeitet werden, ohne dass erneut Tierversuche durchgeführt werden müssen.

Verminderung:

Die Anzahl der Tiere, die für diese Studien verwendet werden soll, wird durch eine sorgfältige Auswahl des Versuchsaufbaus und geeigneter statistischer Analysen, gering aber ausreichend gehalten. So wurde eine statistische Power-Test-Analyse durchgeführt, um die Tierzahl zu bestimmen, die notwendig ist, um statistische „Power“ zu erhalten.

Verfeinerung:

Um den wachsenden Schweinen unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen, werden alle erforderlichen Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen. Die Haltungs- und Pflegebedingungen der Tiere entsprechen den eingeforderten Standards. Die Schweine werden in Gruppen, soweit wie möglich mit ihren Wurfgeschwistern bis zum Beenden des Versuchs mit ca. 100kg, gehalten. Das Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die Schweine haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser und Futter. Am Versuchsende werden insgesamt 24 Schweine (8 gute, 8 mittlere und 8 schlechte Futterverwertende Schweine) zur Gewinnung der Darmproben fachgerecht narkotisiert und euthanasiert. Der Gesundheitsstatus der Tiere wird täglich mehrere Male durch das pflegende

Personal und regelmäßig tierärztlich kontrolliert. Die Hauptbelastung für die Schweine wird das wöchentliche Wiegen und die mehrmalige rektale Kotprobennahme sein. Darüber hinaus werden den Tieren keine weiteren Leiden, Schäden oder Schmerzen zugefügt. Dadurch soll eine allgemeine Stressminderung erreicht werden, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beiträgt.

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

Eine ausgewogene Fütterung, die die Bedürfnisse einer Milchkuh erfüllt, ist ein zentrales Thema der heutigen Milchviehhaltung. Insbesondere in der Phase nach dem Kalben ist der Stoffwechsel der Milchkuh besonderen Anforderungen ausgesetzt. Das geplante Projekt soll eine neue Fütterungsstrategie evaluieren, die sowohl das Risiko einer Pansenazidose reduziert, als auch die Bereitstellung von Phosphor aus dem Futter verbessern soll. In einem Fütterungsversuch mit 18 laktierenden Milchkühen erhalten die Tiere praxisübliche Rationen. Das Getreide der Versuchsgruppe soll mit verdünnter Milchsäure vorbehandelt werden, welches bereits in *in vitro* Vorversuchen getestet wurde. Im Versuch sollen grundlegende Informationen über die Stabilität der Pansenverdauung einerseits und die Phosphorverfügbarkeit aus dem Futter andererseits gesammelt werden. Es sollen Milchproben während der Melkzeiten, Blutproben aus der Schwanzvene, sowie Kot- und Harnproben gesammelt werden. Im Weiteren sollen die, in dem obigen Versuch verwendeten Futtermittel im Pansen von 6 Kühen für deren Verdaulichkeit, untersucht werden. Diese 6 Kühe sind mit einer permanenten Pansenöffnung (bzw. Pansenkanüle) versehen, welche das Einführen der Futtersäckchen im Pansen schmerzfrei und ohne Zwangsmaßnahmen an den Tieren ermöglichen. Die Belastung für die Tiere in diesem Projekt ist alleine durch Fixieren von Tieren und mehrmaligen Blutprobenahme als mittel einzustufen.

Vermeidung: Das gegenständliche Projekt hat das Ziel, den Phosphorabbau von Futtermitteln bei der Milchkuh zu optimieren. Bereits erfolgte *in vitro* Versuche konnten erste Hinweise über die Kinetik des Phosphor- und Futterabbaus und deren Manipulation durch Milchsäuren liefern und zeigten einen positiven Einfluss der Behandlung auf relevante Parameter. Ob und in wie weit die beobachteten Mechanismen *in vivo* ebenfalls funktionieren ist nicht bekannt und bedarf einer ersten Abklärung. Das Ziel, die Fütterungsstrategie in der Praxis umzusetzen, kann nur über einen solchen Tierversuch erreicht werden.

Verminderung:

Das vorliegende Versuchsdesign ermöglicht es den Fütterungsversuch in nur zwei Durchgängen durchzuführen. Die Kühe erhalten dabei praxisübliche Futterkomponenten. In einer der drei Untersuchungsgruppen wird der native Phosphorgehalt der Futtermittel eingesetzt, ohne den ansonsten üblichen Zusatz einer anorganischen Phosphorquelle. In der anderen Versuchsgruppe wird der Phosphorgehalt im Futter durch Gabe von anorganischem Phosphor im Mineralfutter erhöht. In beiden Fällen besteht laut den Fütterungsempfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE) keine Gefahr einer Über- oder Unterversorgung der Kuh mit Phosphor. Die Kühe, die für den Verdauungsversuch herangezogen werden sollen, wurden bereits in einem vorhergehenden Forschungsprojekt mit einer Pansenkanüle versetzt und werden während des Versuches laufend tierärztlich betreut. Die Probenahme, vor allem die Entnahme von Blutproben, wird auf das absolut nötige Minimum begrenzt, um die Tiere keinen unnötigen Schmerzen, Leiden oder Schäden auszusetzen.

Verfeinerung: Die Unterbringung der Tiere entspricht den bzw. übertrifft die eingeforderten Standards. Eine regelmäßige Kontrolle der Tiere durch ausgebildetes Pflegepersonal sowie Tierärztinnen/Tierärzte gewährleistet eine nahezu lückenlose Überwachung des Gesundheitszustandes der Tiere. Die Haltung der Tiere in Gruppen und die Verwendung von Stroh als Einstreu schafft eine Umgebung die den physiologischen Bedürfnissen der Tiere entspricht. Durchgehender Zugang zu Futter und sauberem Trinkwasser wird gewährleistet. Geeignete Abbruchkriterien sind definiert, die ein unnötiges Leiden der Tiere bei einem etwaigen Auftreten von Komplikationen oder Erkrankungen während des Projekts vermeiden sollen.

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

Ziel des Tierversuches ist die Produktion von monoklonalen Antikörpern zur Diagnose der viral bedingten PRRS-Erkrankung (Porzines Reproductives und Respiatorisches Syndrom). Der Erreger dieser Erkrankungen gehört zum Genus Arterivirus in der rein tierpathogenen Familie der Arteriviridae. Die produzierten Antikörper sind notwendig um einerseits kreuzreaktive Reagenzien zu etablieren, die eine umfassende serologische Diagnostik von PRRSV zu ermöglichen, und andererseits hochspezifische Reagenzien gegen neue Feldstämme zu erzeugen, so dass epidemiologische Untersuchungen zur Verschleppung der Erreger durchgeführt werden können. Da für die diagnostischen Nachweisverfahren nur wenige kommerziell erhältliche Antikörper vorhanden sind, die vor allem gegen zellkulturadaptierte Virusisolate aus den 1990er Jahren gerichtet sind, müssen für eine gezielte Diagnostik der aktuellen Feldisolate geeignete Antikörper entwickelt und produziert werden. Eine sichere Diagnosemöglichkeit ist Voraussetzung für eine erfolgreiche Bekämpfung dieser Schweinekrankheit, um in Folge dessen große wirtschaftliche Verluste, durch unentdeckte Infektionen vermeiden zu können.

Nach Stand der Wissenschaft kann die Bildung von Antikörpern ausschließlich in Versuchstieren induziert werden. Daher müssen dafür erst Tiere immunisiert werden, um die entsprechenden Immunzellen, die die Antikörper in vitro produzieren sollen, zu erhalten. Zur Herstellung der monoklonalen Antikörper sollen Balb/c und CD2F1 Mäuse eingesetzt werden, da diese für die Produktion von Antikörpern von Züchtern empfohlen werden. Diese Mäuse werden mit rekombinanten Virusproteinen immunisiert und nach Entwicklung einer Immunantwort getötet. Die Milz der getöteten Maus wird entnommen, um daraus die Antikörper produzierenden Immunzellen zu gewinnen. Nach Zellfusion und Isolierung der geeigneten Hybridome ist eine permanente in vitro Produktion von monoklonalen Antikörpern möglich. Ein weiterer Einsatz von Versuchstieren ist deshalb nicht mehr notwendig.

Es sollen insgesamt 12 verschiedene Antigene zur Immunisierung von Mäusen genutzt werden. Dabei werden neun unterschiedliche Virusproteine (N-Protein, Glykoprotein 3, 4 und 5, Nichtstrukturproteine 1, 4, 9, 10 und 11) eingesetzt, wobei teilweise zwei verschiedene Antigentypen (Typ I und II des PRRSV Virus für Glykoprotein 3, 4 und 5) für die Bildung von monoklonalen Antikörpern verwendet werden. Da pro Antigen Gruppen von fünf Mäusen nötig sind, werden insgesamt 60 Mäuse beantragt. Diese werden nach erfolgreicher Immunisierung mit den entsprechenden rekombinanten Antigenstrukturen getötet, um die Milz zu entnehmen. Um die Belastung und Zahl der eingesetzten Tiere möglichst gering zu halten, wird besonderes Augenmerk auf die Reinheit der verwendeten Antigenstrukturen gelegt. Die rekombinanten Antigene, mit deren Hilfe die entsprechenden Antikörper gewonnen werden sollen, werden durch Expression in *Escherichia coli* hergestellt und durch Affinitätschromatographie gereinigt. Pro Maus werden 10-30 µg des gereinigten Proteins mit einem Adjuvans zu einem Endvolumen von 100 µL gemischt und intraperitoneal (i.p.) in die Mäuse injiziert.

Die Applikation der Antigene erfolgt am frühen Vormittag. Die Tiere werden danach in ihre Käfige zurückgesetzt und mindestens 30 min beobachtet, um eventuelle schmerzhafteste Prozesse erkennen zu können. Die weitere Kontrolle der Tiere an einem Injektionstag erfolgt stündlich, bei Anzeichen von Schmerzen (verminderte Bewegung, Kauern, gesträubtes Fell, halb geschlossene Augen, verminderte Futteraufnahme) werden entsprechende Maßnahmen (siehe unten) durchgeführt. Ab dem nachfolgenden Tag wird die Kontrolle mindestens einmal täglich durchgeführt. Zur Linderung von Schmerzen werden 0.05 - 0.2 mg Tramadolhydrochlorid/Maus (per os) vor der Grundimmunisierung prophylaktisch eingesetzt. Falls die Tiere nach einer Immunisierung Anzeichen von Schmerzen (verminderte Bewegung, Kauern, gesträubtes Fell, halb geschlossene Augen, verminderte Futteraufnahme) zeigen, erhalten sie weitere analgetische Therapie. Sollten die Tiere während des Tierversuches unerwartet Anzeichen von Schmerz, der sich durch Gabe von

Tramadolhydrochlorid nicht lindern lässt, oder deutlichen Gewichtsverlust (> 10% des ursprünglichen Körpergewichts) zeigen, werden die Tiere durch cervikale Dislokation getötet und anschließend pathologischen Untersuchungen zugeführt, um die Ursache dafür zu eruieren.

Die Mäuse werden in einem Alter von drei bis vier Wochen erworben, um eine ausreichende Gewöhnung an den Stall und das betreuende Personal in den nächsten vier bis acht Wochen zu erreichen. Das ist Voraussetzung um ein möglichst stressfreies Handling der Tiere bei der Immunisierung im Alter von mindestens zehn Wochen zu ermöglichen. Es werden nur weibliche Tiere eingesetzt, sodass eine artgerechte Gruppenhaltung der Tiere auch im Erwachsenenalter keine Probleme darstellt. Die Tiere werden in Sechsergruppen in Makrolonkäfigen Typ III gehalten. Mit einem Kunststoffmaushäuschen und reichlich Nistmaterial im Käfig soll eine artgerechte Beschäftigung der Mäuse angeregt werden. Die Tiere werden zweimal pro Woche in saubere Käfige umgesetzt, wobei neues Nistmaterial angeboten wird; dabei wird außerdem das Körpergewicht und der Gesundheitszustand der Tiere kontrolliert. Futter und Wasser werden ad libitum angeboten. Die Tiere werden bei natürlichem Tag-/Nachtrhythmus in belüfteten Schränken (Scantainer) gehalten.

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

1. Projektziele:

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von max. 15 Tieren (10 Schafe und 5 Ziegen) für 5 Jahre gerechtfertigt ist.

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

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –Verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexheit der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Das Projekt wird keiner rückblickenden Bewertung (gem. §30 TVRÄG) unterzogen.

Die Zielsetzung des vorliegenden Tierversuchsprojektes mit Aufgabenstellung, geplanten Tierarten und Tierzahlen kann nicht durch wissenschaftlich aussagenkräftige verfügbare und behördlich anerkannte Ersatzmethode erreicht werden.

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

Die Infektion mit Trypanosomen stellt Mediziner und Tierärzte immer noch vor große Herausforderungen. Einerseits gibt es keine Immunprophylaxe (Impfung) und andererseits nehmen die Resistenzen gegen die vorhandenen Therapeutika ständig zu. Da seit Jahren keinen neuen Therapieansätze mehr gefunden wurden, die Versuche mit bestrahlten Impfstoffen eine Renaissance feiert, soll basierend auf Versuchen der 1960er Jahre die Anwendung von bestrahlten Trypanosomen zur Immunisierung erneut versucht werden. Der Ansatz ist auf Grund neuerer Untersuchungen sinnvoll, da sich seit den ursprünglichen Versuchen das Wissen in der Immunologie stark erweitert hat und gleichzeitig die Verwendung von nicht letal bestrahlten Erregern, die z.B. auch eine zelluläre Immunantwort initiieren gute Ergebnisse brachte. Das Projekt soll nun klären, ob mit replikationsinkompetenten aber metabolisch aktiven Trypanosomen eine homo-/heterologe Prophylaxe erreicht werden kann. Vorversuche in vitro haben eine Dosis/Response Kurve ergeben, die eine Applikationsdosis von ~10.000 Trypanosomen bestrahlt mit 100 -250 Gray als sinnvoll erachten lassen. Das Ergebnis wird auf der einen Seite Überleben der Impfung, bzw. des Challenges sein und auf der anderen Seite Vergleiche der Immunantwort (humoral und zellulär). Als Versuchstiere werden weibliche Mäuse der Stämme Balb c zwischen 8 und 10 Wochen eingesetzt. Insgesamt sind maximal 176 Tiere für Etablierung, Dosisfindung und Immuneffizienz eingeplant.

Diese Studie wurde unter Einhaltung des „3R“ Prinzips geplant. Es wurde für diese Zielsetzung nach Alternativmethoden in den ECVAM / ZEBET Datenbanken gesucht, aber keine entsprechenden Methoden zur Testung der Substanzen ohne Tiermodell gefunden, da alle in vitro Methoden schon ausgeschöpft wurden und das Zusammenspiel des Immunsystems nicht in vitro nachgeahmt werden kann. Natürlich wurde bei der Versuchsplanung auch eine Risikoabschätzung gemacht und versucht die Anzahl der Tiere so gering wie möglich zu halten. Weniger große Tierzahlen als die geplanten würden die erwartete Trennschärfe der Tests und deshalb die Aussagekraft der Experimente kompromittieren. Auch wurde immer beachtet das Leiden der Tiere so gering, wie möglich zu halten, z.B. durch die Abbruchkriterien bei Gewichtsverlust.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2016 vorgesehen.

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

Bei Zuchtstuten werden Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) und seine Analoga häufig zur Rosseinduktion verwendet. Die Dauer bis zum Rossebeginn nach $PGF_{2\alpha}$ -Injektion ist sehr stark vom Follikelwachstum zum Behandlungszeitpunkt abhängig. $PGF_{2\alpha}$ hat beim Pferd zum Teil erhebliche Nebenwirkungen wie Schwitzen, Tachypnoe und Koliksymptome. Bei den Prostaglandinanaloga sind klinisch nachweisbare Nebenwirkungen deutlich reduziert. Es ist jedoch nicht bekannt, in welchem Maße bei den behandelten Stuten durch die Applikation von $PGF_{2\alpha}$ -Analoga eine Stressreaktion ausgelöst wird, die allein durch Beobachtung des Tieres nicht nachgewiesen werden kann, eventuell aber zu einer Beeinflussung der pharmakologisch gewünschten Reaktion und des Wohlbefindens der Stuten führt.

In der geplanten Studie soll bei Stuten ($n=12$) der Einfluss der Injektion von zwei verschiedenen $PGF_{2\alpha}$ -Analoga auf die Konzentration des Stresshormons Cortisol im Speichel, reproduktionsrelevanter Hormone im Blut sowie Follikel- und Gelbkörperentwicklung untersucht werden. Außerdem erfolgt eine Analyse von Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität, Körpertemperatur und Körperoberflächentemperatur. Da die Auswirkungen verschiedener Hormonbehandlungen auf die Fortpflanzungsfunktionen und das Zusammenspiel verschiedener Organe nur an lebenden Tieren zu untersuchen sind, ist ein "Replacement" nicht möglich. Die verwendeten Hormonpräparate sind bei Pferden zugelassen und ihr Einsatz ist erprobt. Daher wird ihre Anwendung als unbedenklich eingestuft. Blutprobenentnahmen erfolgen entweder durch Punktion einer V. jugularis oder bei wiederholter Entnahme mittels Venenverweilkatheter. Diese Formen der Blutprobenentnahme stellen eine geringe versuchsbedingte Belastung der Tiere dar. Entnahme von Speichelproben und Messung der Herzfrequenz mittels Polar Herzfrequenzmonitoren werden gut toleriert und stellen keine Belastung dar. Die transrektale Ultraschalluntersuchung ist eine Routinemethode der Tiermedizin, die in einem Untersuchungsstand ohne weitere Fixierung oder Sedierung der Tiere erfolgt und gut toleriert wird. Die Haltung der Tiere wird durch den Versuch nicht beeinträchtigt.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verbesserung des Wohlergehens der Tiere und Produktionsbedingungen für die zu landwirtschaftlichen Zwecken aufgezogenen Tiere

Zweck des Projektes ist der Erkenntnisgewinn und das Erarbeiten von Entscheidungsgrundlagen für die Beantwortung der vom österreichischen Gesetzgeber in der 1. Tierhaltungsverordnung beschriebenen Fragen in Bezug auf die Haltung der Sauen in neuartigen Abferkelbuchten mit Bewegungsmöglichkeit für die Sau und der Möglichkeit zur zeitlich begrenzten Fixierung der Sau in einem Kastenstand. Die Untersuchungen sollen gesicherte Aussagen ermöglichen:

- über die Dauer der kritischen Lebensphase der Ferkel in Bezug auf eine erhöhte Ferkelmortalität und davon abgeleitet über den frühesten Beginn und die maximal zulässige Dauer der Fixierung der Sau im Kastenstand der Abferkelbucht
- über die tatsächliche Eignung von in einem Vorauswahlverfahren als brauchbar angesehenen neuartigen Abferkelbucht-Typen mit Bewegungsmöglichkeit für die Sau in Bezug auf das Verhalten, die Gesundheit und die Sauberkeit der Tiere.
- ob automatisierte Verfahren zur Erhebung von Verhaltensdaten für die tierindividuelle Festlegung des Beginns der Fixierung der Sau im Kastenstand hilfreich sind.

Mit Hilfe der gewonnenen Erkenntnissen sollen die österreichischen Ferkelerzeugungsbetriebe bis spätestens 2033 in die Lage versetzt werden, ihre Sauen während des Großteils der Vorgeburts- und der Säugeperiode freibeweglich, d. h. ohne die bisher übliche permanente Fixierung im Kastenstand der Abferkelbucht halten zu können, ohne dass es dadurch zur erhöhten Ferkelmortalität kommt. Aus der Sicht des Tierwohls insbesondere der Sauen wäre dies ein erheblicher Fortschritt.

Die in der Untersuchung verwendeten 140 Sauen und deren Ferkel (n=3000) sind notwendig, um statistisch abgesicherte Antworten zu den vom Gesetzgeber gestellten Fragen geben zu können. Gemessen an der praxisüblichen Schweineproduktion werden die Versuchstiere nach hohen Standards in Bezug auf das Wohlergehen gehalten. Somit entspricht der gegenständliche Versuch den wissenschaftlichen Zielen von „3R“.

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

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

Projektziele:

Klärung der Herkunft zirkulärer Wachstumsfugen in langen Röhrenknochen von fossilen und lebenden Wirbeltieren. Deren Assoziation mit für die Tiere einschneidenden Ereignissen (Klimatisch/Reproduktiv) kann durch diesen Tierversuch erstmalig experimentell erfasst werden. Hierdurch wird ein neues Monitoring Tool geschaffen und es entsteht die Möglichkeit Rückschlüsse auf die Lebensgeschichte bereits verstorbener Individuen zu ziehen.

Anzahl und Art:

Es werden vier Wiederkäuer in den Versuch eingebracht.

3R:

Die experimentelle Markierung kritischer Ereignisse in der Lebensgeschichte von Tieren können nur mit lebenden Tieren beantwortet werden. Durch einen gestaffelten Aufbau und ein langfristig geplantes Versuchsschema besteht die Möglichkeit ganz zentrale Fragestellungen mit nur vier Tieren zu beantworten. Der zu erwartende Belastungsgrad ist durch die in verschiedenen Spezies etablierte Methodik als gering einzustufen.

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

Projektziele:

Klärung der Herkunft zirkulärer Wachstumsfugen in langen Röhrenknochen von fossilen und lebenden Wirbeltieren. Die Fokussierung auf zwei zentrale Ereignisse im frühen Lebensstadium (Geburt/ Entwöhnung) soll es ermöglichen die bis dato ungeklärte Ursache für frühe Wachstumsfugen erstmalig experimentell zu erfassen. Hierdurch sollen in der Paläontologie neue Möglichkeiten geschaffen werden Rückschlüsse auf die Lebensgeschichte bereits verstorbener Individuen zu ziehen.

Anzahl und Art:

Es werden 18-24 Lagomorphe in den Versuch eingebracht.

3R:

Die experimentelle Markierung kritischer Ereignisse in der Lebensgeschichte von Tieren können nur mit lebenden Tieren beantwortet werden. Durch einen gestaffelten Aufbau und ein langfristig geplantes Versuchsschema besteht die Möglichkeit ganz zentrale Fragestellungen mit maximal 24 Tieren zu beantworten. Der zu erwartende Belastungsgrad ist durch die in verschiedenen Spezies etablierte Methodik als gering einzustufen.

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens. Eine möglichst bedarfsgerechte Versorgung der Tiere mit Nährstoffen ist das oberste Ziel in der Tierernährung. Futtermittel weisen je nach Reifegrad, Konservierung, Artzusammensetzung und auch technischer Aufbereitung unterschiedliche Nährstoffgehalte und auch Abbaugeschwindigkeiten in den Vormägen der Wiederkäuer auf. Überversorgung mit Nährstoffen sowie Unterversorgung führen zu nicht effizienter Futtermitteldauung mit den möglichen Folgen von Stoffwechselbelastung der Nutztiere, unzureichender Nährstoffumsetzung und auch erhöhten Emissionen. Im Sinne der Tiergesundheit, Lebensmittelqualität und Umweltbelastung ist eine verbesserte Rationsgestaltung von großem Vorteil.

Beim so genannten Hohenheimer Futterwerttest (HFT) und modifizierten Hohenheimer Futterwerttest (mod. HFT) wird von zwei mit Pansenfisteln versehenen Rindern Pansensaft entnommen. Das zu prüfende Futtermittel wird in einem Glaskolben mit Pansensaft vermengt und in einem Brutschrank bebrütet. Bei diesem Vorgang entwickeln sich Gärgase (primär Methan und Kohlendioxid), wobei über die Gärgasmenge durch eine Schätzformel auf die Energiekonzentration des Futtermittels rückgeschlossen werden kann. Zwischendurch wird die gebildete NH_3 -Konzentration gemessen, um auf den Proteinabbau rückschließen zu können.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Es sollen zwei kastrierte männliche Rinder (Ochsen) verwendet werden.

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

Für die methodengerechte Durchführung der Analysenmethode sind mindestens zwei Tiere notwendig – es wird also das Minimum an Tieren verwendet. Die Ochsen erleben zu Beginn des Versuches eine Operation unter Vollnarkose mit medizinischer Nachbetreuung und ständiger veterinärer Beaufsichtigung. Die weiche Pansenfistel ist zwar ein Fremdkörper in der Haut der Tiere, verursacht aber keine Druckstellen oder Scheuerwunden und die Tiere zeigen keinerlei Unbehagen.

Am Pansensaft kann eine Verdauung am genauesten nachvollzogen werden. Leider kann Pansensaft nicht künstlich hergestellt und auch nicht konserviert werden, weshalb eifrig nach Alternativen in der Futtermittelcharakterisierung gesucht werden. Leider sind diese auf Labormethoden ausgerichteten Alternativen noch sehr unausgereift bzw. erst auf wenige Futtermittel ausgerichtet. Eine Eichung am Pansensaft ist hierbei immer der schnellere und genauere Weg. Die festgestellten Charakterisierungen von Futtermitteln werden für Einstufungen herangezogen und zukünftig bei Untersuchungen als Grundlage angewandt.

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

Histomonose ist eine parasitäre Erkrankung des Geflügels, ausgelöst durch den Einzeller *Histomonas meleagridis*. Seit dem 2003 in Kraft getretenen Verbot aller gegen Histomonose wirksamer Therapeutika und Prophylaktika, kommt es vermehrt zu Ausbrüchen mit hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten in der Geflügelhaltung. Durch den akuten Therapienotstand führen Ausbrüche der Parasitose nicht nur zu hohen wirtschaftlichen Verlusten für Geflügelbetriebe, sondern stellen durch den oft schweren Krankheitsverlauf auch eine tierschutzrelevante Problematik dar. Daher ist die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Histomonose für den Einsatz im Feld dringend notwendig. In vorhergehenden Tierversuchen konnte bereits demonstriert werden, dass die Impfung mit attenuierten Histomonaden gegen eine Infektion (Challenge) mit pathogenen Parasiten schützen kann. Für die Verwendung des Impfstoffes in Geflügelbetrieben muss dieser in geeigneter Weise appliziert werden um einen möglichst effektiven Impfschutz zu gewährleisten.

Für dieses Projekt ist die Verwendung von 100 Hühner und 100 Puten geplant.

Die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Histomonose ist, wie oben beschrieben, von großer Dringlichkeit und Tierversuche hierzu können nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden. Der dazu nötige Versuch ist jedoch so erstellt, dass eine minimale Anzahl von Tieren verwendet wird, ohne die statistische Berechenbarkeit von Ergebnissen zu gefährden. Die Versuchstiere werden in kurzen, regelmäßigen Intervallen beobachtet und ihr Allgemeinbefinden evaluiert. Bei Auftreten einer starken klinischen Symptomatik wird das betroffene Tier euthanasiert und somit, wie gesetzlich vorgeschrieben, das Vermeiden von unnötigem Tierleid aufgrund der genau definierten Abbruchkriterien eingehalten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 1. Dezember 2016 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

Bei vielen Autoimmunerkrankungen spielen Autoantikörper eine entscheidende Rolle. Eine Substanz, die nicht (nur) bei der Entstehung der Autoantikörper eingreift, sondern akut gegen die Effekte der schon vorhandenen Antikörper wirkt, ist eine sinnvolle und gewünschte Ergänzung zu Standardtherapien.

Die Autoimmunthrombozytopenie (ITP) ist eine Erkrankung die durch Autoantikörper gegen Thrombozyten charakterisiert ist. Die so opsonisierten Thrombozyten werden über die Fc-Teile der Antikörper unter anderem von Makrophagen aus dem Kreislauf entfernt. Je nach Schweregrad kann die Blutungsneigung bis hin zu einer lebensbedrohlichen Situation erhöht sein. Die ITP hat verschiedene Ursachen und Verläufe (und kann auch im Rahmen einer Lupuserkrankung auftreten) wobei besonders bei chronischen Formen das Spektrum an wirksamen Therapien begrenzt ist. Basierend auf den bisherigen Daten stellt die ITP auch ein mechanistisches Model für unsere Testsubstanzen dar.

Wir wollen die vermutete Wirkung auf die Makrophagen nun in einem passiven, murinen Model der ITP verifizieren.

Vier Substanzen sollen in einem passiven Model der ITP getestet werden. Diese neuartigen Substanzen könnten ein neues Medikament, ergänzend zu Kortison, in der Indikation ITP darstellen.

Als Versuchstiere werden weibliche Mäuse der BALB/c Maus, zwischen 10 und 12 Wochen eingesetzt. Insgesamt sind maximal 590 Tiere für die Testung weiterer Derivate und Metaboliten eingeplant.

Diese Studie wurde unter Einhaltung des „3R“ Prinzips geplant.

Es wurde für diese Zielsetzung nach Alternativmethoden in den ECVAM / ZEBET Datenbanken gesucht, aber keine entsprechenden Methoden zur Testung der Substanzen ohne Tiermodell gefunden, da ja alle in vitro Methoden schon ausgeschöpft wurden. Natürlich wurde bei der Versuchsplanung auch eine Risikoabschätzung gemacht und versucht die Anzahl der Tiere so gering wie möglich zu halten. Weniger große Tierzahlen als die geplanten würden die erwartete Trennschärfe der Tests und deshalb die Aussagekraft der Experimente kompromittieren. Auch wurde immer beachtet das Leiden der Tiere so gering, wie möglich zu halten.

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

Dieses Projekt dient der Ausbildung auf dem Gebiet der Weichteil- und nicht-invasiven Chirurgie. Im Zuge einer angemessenen chirurgischen Ausbildung ist die Verwendung anästhesierter Tiere notwendig, um chirurgische Situationen nachstellen zu können. Im Zuge dieses Kurses werden 45% der Kursdauer der theoretischen Ausbildung, 40% der Arbeit an Modellen und 15% jener an anästhesierten Tieren gewidmet. Innerhalb der nächsten fünf Jahre sind zehn Kurse, unter Verwendung von insgesamt 140 Schweinen (14 Schweine pro Kurs) geplant. Alle praktischen Übungen werden in Übereinstimmung mit den Regeln der *good surgical practice* und jenen der atraumatischen Chirurgie durchgeführt. Für den Bereich der Weichteilchirurgie werden jeweils drei Kursteilnehmer an einem Patienten arbeiten. Für die Demonstrationen in der minimal-invasiven Chirurgie werden insgesamt nur zwei Tiere verwendet und die Teilnehmergruppen werden, unter Anleitung eines Instructors, rotieren. Durch dieses Vorgehen wird gesichert, dass die Anzahl der verwendeten Tiere auf das notwendige Minimum beschränkt wird. Alle Tiere werden in Allgemeinanästhesie operiert und nach Beendigung der Operationen ohne Aufhebung der Narkose schmerzfrei euthanasiert. Die Tiere werden keinerlei Schmerzen ausgesetzt.

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

Projektziele: Die Pathogenitätsmechanismen eines Erregers, der Euterentzündungen bei Schaf und Ziege verursacht, sind weitgehend unverstanden. Es wird jedoch vermutet, dass die Fähigkeit des Erregers sein Erscheinungsbild zu verändern (phänotypische Variabilität) im Infektionsgeschehen eine maßgebliche Rolle spielt. Die Variabilität des Erregers beruht hierbei auf die sich wechselnde Ausbildung (Expression) von sechs bestimmten Oberflächenmembranproteinen und in Folge von sechs bestimmten, sich wechselnden Phänotypen. Die Herstellung von Erreger-Mutanten, welche nun nicht mehr befähigt sind zu einem anderen Phänotyp zu wechseln, legte den Grundstein zur Klärung der Rolle dieser Membranproteine in der molekularen Pathogenese unter *in vivo* Bedingungen. Ziel des vorliegenden Tierversuchs ist es daher, die Bedeutung der sechs einzelnen Oberflächenmembranproteine in der Pathogen-Wirt-Interaktion aufzuzeigen. Untersuchungen zur Fitness, zum pathogenem Potential, zur Wirtsantwort sowie zum Gewebetropismus der verschiedenen Erreger-Mutanten werden die Funktionen der sechs Membranproteine präzise analysieren und neue Einblicke in die Infektionsbiologie des Erregers auf molekularer Ebene ermöglichen. Die Ergebnisse dieses Tierversuches lassen nicht nur neue Erkenntnisse über die Oberflächenantigenvariation und ihre Regulation in Reaktion auf Wirtsfaktoren erwarten, sondern werden darüber hinaus auch zu einem besseren Verständnis der Bedeutung der sechs verschiedenen Membranproteine in der Pathogen-Wirt-Interaktion führen.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere: 30 Hausschafe

Erfüllung der ‚3R‘: *Replace* - Im gegenständigen Projekt werden Pathogen-Wirt-Interaktionen und hier vor allem die Wechselwirkungen des Immunsystems auf die biologischen Eigenschaften eines Erregers, sowie pathologische Auswirkungen und Gewebetropismus im Infektionsprozess untersucht. Eine versuchstierfreie alternative Ersatzmethode ist hierfür nicht verfügbar. Es wird jedoch der Ansatz verfolgt, die Belastung der Versuchstiere auf ein mögliches Minimum zu reduzieren. Mit einer geringen Anzahl an Blutabnahmen ermöglichen wir die Gewinnung von ausreichend Material um weitere *in vitro* Untersuchungen durchführen zu können. Durch Gefrierkonservierung entnommener Materialien werden weiterführende und wiederholbare Studien ohne neuerliche Tierversuche ermöglicht. *Reduce* - Durch die Reduktion der Tierzahl auf 3 Tiere pro Gruppe findet dieser Punkt Anwendung. Maßgeblich hierfür ist die Verwendung einer homogenen Versuchstiergruppe laktierender Schafe, gewährleistet durch Decksynchronisation im Zuchtbetrieb sowie durch Verwendung gleichaltriger Schafe derselben Rasse. Durch den Einsatz technischer Analyseverfahren und geeigneter statistischer Methoden kann die erforderliche Anzahl der Tiere zum Erhalt von eindeutigen Aussagen zwischen Infektions- und Kontrollgruppen auf ein Minimum reduziert werden. *Refine* - Die allgemeinen Anforderungen an die Einrichtung in der die Tiere untergebracht werden sowie die Pflege und Versorgung der Tiere werden in vollem Umfang erfüllt. Die Haltung der Tiere in einer Gruppe in einem für die Gruppengröße angemessenen Stall mit ausreichender Belüftung, Beleuchtung und Abschirmung von äußeren Lärmeinflüssen trägt zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere während der Versuchsdauer bei. *Ad libitum* Fütterung und ständige Verfügbarkeit von sauberem Trinkwasser sowie ausreichend Einstreumaterial tragen weiterhin zur Einhaltung der physiologischen Bedürfnisse der Versuchstiere bei. Durch eine Akklimatisierungsphase von einer Woche vor Beginn des Infektionsversuches wird den Tieren die Gewöhnung an die neue Umgebung nach Verbringung vom Zuchtbetrieb ermöglicht.

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen Alzheimer Mäuse mit einer Testsubstanz behandelt werden. Die Krankheits-verbessernde Wirkung dieser Testsubstanz konnte bereits in vorherigen Studien bestätigt werden. Hier sollen transgenen APP Mäuse nach 13 Wochen Behandlung histologisch auf den Effekt der Substanz auf die Ausbildung von Mikroblutungen untersucht werden, da andere Testsubstanzen nachweislich einen negativen Effekt hatten. Mit der vorliegenden Studie soll daher ein entsprechender negativer Effekt der Substanz ausgeschlossen werden. Parallel zu dieser Studie werden weitere Tiere für 13 Wochen mit der Substanz behandelt um den Tieren zu verschiedenen Zeitpunkten Blut zu entnehmen um dieses auf die pharmakokinetischen Eigenschaften der Substanz zu untersuchen.

Schaden und Nutzenabklärung: In der heutigen Zeit stellt die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) die häufigste altersbedingte Demenz in den Industrieländern dar. Neben Herzkreislauf Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Krankheit - einer fortschreitenden, degenerativen und unheilbaren Gehirnstörung. Betroffen sind etwa 3 % der Bevölkerung von 65-74 Jahren, 20 % der von 75-84 Jahren und 50 % der über 85-jährigen. Ungefähr 15 Prozent der österreichischen Bevölkerung sind 65 Jahre und älter. Heutigen Schätzungen zufolge leiden in Österreich ca. 300 000 bis 700 000 Menschen an einer Form von Demenz, mit einem 50 Prozent Anteil an der Alzheimer Krankheit. Bei der Alzheimer Erkrankung kommt es zu starken Gedächtnis- und Orientierungsverlusten. Im Frühstadium ist die Erkrankung nicht erkennbar, so dass auch keine effektiven Möglichkeiten der Diagnose oder Therapie zur Verfügung stehen.

Die hier Anwendung findende Testsubstanz wurde bereits erfolgreich auf ihre APP Plaque inhibierende Wirkung untersucht. Mit der vorliegenden Studie soll die Sicherheit der Testsubstanz untersucht werden bevor sie in klinischen Studien auf ihre Wirksamkeit getestet werden kann.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 342 transgene APP Mäuse beantragt.

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

Um die Sicherheit einer Testsubstanz zu untersuchen ist es unabdingbar auf Tiermodelle zurückzugreifen. Ersatzmethoden können zwar Ansätze liefern, doch um die Wirkung von Substanzen in weiteren Schritten zu testen, ist es erforderlich sie bei Tiermodellen einzusetzen. Nur so können die Substanzen dann in weiteren Schritten am Menschen getestet werden und schlussendlich Marktreife erlangen. Die Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle.

Der Schweregrad der Studie wird als „gering“ eingestuft.

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

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

Im Rahmen von Tumorerkrankungen kommt es unter anderem zu Veränderungen der Stoffwechselfvorgänge. Die Deregulation des Fettstoffwechsels und daraus resultierende Folgeerscheinungen können zu einer verkürzten Überlebenszeit bei Tumorpatienten führen. Um ein besseres Verständnis für die regulatorischen Mechanismen zu erhalten, wurden in der Vergangenheit bereits verschiedene Mausmodelle etabliert. Ziel des Projektes ist ein besseres Verständnis der Stoffwechsel-Zusammenhänge, mit Schwerpunkt Fettstoffwechsel, im Tumorgeschehen und die Identifikation regulativer Substanzen. In weiterer Folge könnte eine positive Beeinflussung des deregulierten Fettstoffwechsels zu einer Verbesserung der Lebensqualität bei Tumorpatienten führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden 1030 Mäuse benötigt.

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

Da die Aussagekraft von Zellkulturexperimenten begrenzt ist und sie nicht den Zusammenhang der Funktion eines Gens im ganzen Organismus widerspiegeln bzw. nicht die in vivo Situation darstellen, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. In diesen, für den medizinischen Fortschritt wichtigen Untersuchungen, wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt.

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

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

Ziel unseres Projektes ist es, zu erforschen welche Faktoren für die Entstehung und Entwicklung der Lungenfibrose (PF) verantwortlich sein können. PF ist eine sehr schwerwiegende chronische Erkrankung mit letztlich tödlichem Ausgang, die durch eine stetige Abnahme der Lungenfunktion gekennzeichnet ist. Der Begriff Lungenfibrose steht für eine Vernarbung des Lungengewebes, die zu einer ständig zunehmenden Atemnot führt. Die Fibrose hat meistens eine schlechte Prognose. Daher besteht ein dringender Bedarf an Grundlagenforschung. In unserem Projekt konzentrieren wir uns bei der Erforschung von PF auf ein Protein, für das es ein Tiermodell gibt, mit welchem wir schon gute Erfahrungen gemacht haben.

Mäuse, insgesamt 348.

Die Lungenfibrose stellt ein komplexes Krankheitsbild dar, welches verschiedene Mechanismen und Zelltypen involviert. Aufgrund der Komplexität der Erkrankung und der Involvierung von verschiedenen Zelltypen, welche miteinander interagieren, sind in vitro Experimente nicht ausreichend und damit Tierversuche unerlässlich. In diesem Forschungsgebiet sind keine Alternativen zum Einsatz von Tierversuchen veröffentlicht worden, mit denen diese Erkrankung erforscht werden könnte. Um die Anzahl der verwendeten Tiere zu verringern, schlagen wir einen experimentellen Aufbau vor, der die Anzahl der Tiere in den Kontrollgruppen reduziert. Eine zusätzliche Reduzierung der Tierzahl erreichen wir durch eine optimierte Zuchtstrategie. Darüber hinaus haben wir die Menge an Informationen, die wir von einem Tier erhalten, durch die Wahl unserer Versuchsanordnung maximiert. Alle Tiere werden unter optimalen, kontrollierten und schmerzfreien Bedingungen gehalten. Alle Tiere werden von ausgebildeten Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Um das Wohlbefinden der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnels zur Verfügung gestellt.

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

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

Im Laufe seines Lebens verliert fast jeder Mensch Zähne aufgrund von Karies, Parodontalerkrankungen oder infolge eines Traumas. Die prothetische Rehabilitation der Ästhetik sowie der Kau- und Sprechfunktion bei Zustand nach teilweisem oder vollständigem Zahnverlust mithilfe von dentalen Implantaten stellt eine der größten Errungenschaften der modernen Zahnmedizin dar. Die Methode vereint viele Vorteile (z. B. besserer Kaukomfort, ästhetisch ansprechenderes Ergebnis, Verminderung fortschreitender Alveolarfortsatzatrophie), es besteht jedoch bei der Planung einer Implantation die Notwendigkeit eines ausreichenden Knochenangebots zur suffizienten Verankerung des Implantats und um die Einheilung in den Knochen, die sogenannte „Osseointegration“ zu gewährleisten. Häufig bestehen im Bereich der geplanten Implantation lokale Knochen"defekte", sogenannte Dehiszenz- oder fenestrierende Defekte z.B. durch eine vorausgegangene horizontale Alveolarfortsatzatrophie oder infolge der Zahnextraktion oder eines Zahntraumas. Auch aufgrund einer bestehenden Parodontalerkrankung kann eine solche Situation vorliegen. Kann die Implantatposition aus prothetischen Gesichtspunkten nicht anders gewählt werden ist, um einen vorzeitigen Implantatverlust zu vermeiden, eine lokale Knochenregeneration (sogenannte "guided bone regeneration - GBR") anzustreben. Ziel des beantragten Projektes ist es, anhand unseres Schafsmodells drei unterschiedliche Techniken zur GBR systematisch zu vergleichen um Behandlern die Auswahl der sinnvollsten Augmentationstechnik zu erleichtern.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

8 Schafe

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

Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da der Knochenstoffwechsel ein systemischer Prozess ist und nicht z.B. in Zellkulturen nachgestellt werden kann. Da zur Beurteilung periimplantärer Regeneration eine Implantatinserterion in den Unterkiefer erfolgen soll, ist ein Großtiermodell erforderlich. Für die Spezies Schaf spricht die dem Menschen relativ ähnliche Knochenanatomie im Bereich des Unterkiefers. Durch die exakt definierte Fragestellung wird angestrebt, den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen.

Sollten sich statistisch eindeutige Ergebnisse bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden.

Da bisher keine Augmentationsversuche am Unterkiefer des Schafs beschrieben wurden, handelt es sich bei dem vorgesehenen Projekt gleichfalls um eine Studie zur Etablierung des entsprechenden Modells, weshalb zunächst an einer Pilotgruppe von 2 Tieren gearbeitet wird. Alle Verfahren sind theoretisch, sowie am Kadaver und analog am Menschen etabliert und werden ebenso bei Patienten eingesetzt (Zahnextraktionen, Implantatinserterionen und Augmentationen mit autologem Knochen und/oder Knochenersatzmaterial in unterschiedlichen Techniken).

Es findet über den Versuchszeitraum die regelmäßige Beobachtung und ein täglicher Umgang mit den Tieren durch die Experimentatoren, Tierärzte und Tierpfleger statt, damit sich die Tiere an diese Personen gewöhnen und Probleme früh erkannt werden. Die Schafe werden artgerecht gehalten.

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen transgene Parkinson Mäuse intraperitoneal bzw. oral mit verschiedenen Konzentrationen einer Testsubstanz oder Lovastatin oder Quinpramin als Positivkontrolle behandelt werden. Die Tiere werden anschließend im Beam Walk und RotaRod Test charakterisiert und die Gewebe im Anschluss biochemisch und histologisch auf Aggregate, Oxidativen Stress und Cholesterin untersucht. Durch die Behandlung mit der neuen Testsubstanz soll diese auf ihre Wirksamkeit gegen die Parkinsonkrankheit untersucht werden.

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 lebensbeschränkende 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 auf seine Wirksamkeit untersucht werden.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 240 transgene Parkinson Mäuse und 120 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): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten

Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) gehören zu den häufigen chronischen Erkrankungen in der westlichen Welt, wobei in der Regel alle Altersgruppen betroffen sind. Die lange Verlaufsdauer und auch die komplexe Behandlung verursachen erhebliche Kosten. Ursachen und Mechanismen dieser Erkrankungen sind noch nicht ausreichend geklärt und es hat sich gezeigt, dass eine Vielzahl von Faktoren mit deren Auftreten in Zusammenhang steht. Neben genetischen Faktoren hat die Zusammensetzung der Darmflora, Ernährung, Infektionen sowie Stressfaktoren Einfluss auf die Entstehung von CED. In einem Mausmodell für CED wollen wir die Wirkung von natürlichen Mineralien auf den Verlauf und die Abheilung von CED untersuchen, insbesondere in Hinblick auf die von uns erwarteten positiven Veränderungen der Darmflora, sowie durch Bindung von entzündungsfördernden Zytokinen.

Für den hier durchgeführten Tierversuch werden insgesamt 40 Mäuse verwendet. Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da CED und die Interaktion der Darmflora mit dem Darmepithel ein prinzipiell intaktes Organ erfordern und die Untersuchung der Verbesserung der Abheilung den intakten Organismus voraussetzt. Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist. Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.

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

Chronische metabolische Lebererkrankungen (Fettleber, entzündliche Fettleber, Zirrhose, Leberkarzinom) stellen eine erhebliche Gesundheitsbelastung dar. Ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung dieser Erkrankungen ist die Zusammensetzung der Darmflora die durch verschiedenste Parameter, so auch Ernährung oder Lebensstil beeinflusst wird. In diesem Projekt soll die positive Wirkung von bestimmten Mineralien auf diese Lebererkrankungen über die Beeinflussung der Darmflora untersucht werden. Dazu werden bereits bekannte Mausmodelle für Lebererkrankungen (insbesondere Fettleber, entzündliche Fettleber und Leberkarzinom) verwendet und die positive Wirkung dieser Mineralien, sowie der Einfluss auf die Darmflora untersucht. Herkömmliche Therapien (z. B. Fibrate, Statine) sind nur teilweise effektiv, und bergen das Risiko von teilweise schweren Nebenwirkungen. Durch das Verständnis der Wirkung dieser Mineralien wird es möglich sein, neue Behandlungs- und Präventionsmethoden rational zu entwickeln, die aufgrund der nachgewiesenen Unbedenklichkeit risikoarm einsetzbar sind. Darüber hinaus ergeben sich durch Erkenntnisse aus diesen Untersuchungen auch weitere Ansätze für die Prävention (z. B. durch begleitende Ernährungsumstellung, etc.) Für den hier durchgeführten Tierversuch werden insgesamt maximal 380 Mäuse verwendet, sowie weitere 150 für die Zucht. 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, was aufgrund der Fragestellung (Wechselwirkung der Darmflora mit Lebererkrankungen) nur in einem intakten Organismus möglich ist. Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist. Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.

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

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

Es werden die Ursachen, Mechanismen und neue Therapiemöglichkeiten für entzündliche Darmerkrankungen und für das Kolonkarzinom untersucht. Diese Erkrankungen sind schwer zu behandeln und neue Ansatzpunkte für eine Pharmakotherapie sind erforderlich. Entzündungsmechanismen und deren Mediatoren spielen nach neuesten Erkenntnissen eine wesentliche Rolle auch bei der Karzinogenese. Im Projekt werden Enzyme aus Zellen des Immunsystems und Rezeptoren, die auf der Darmschleimhaut und auch im Immunsystem vorkommen, auf ihre entzündungsfördernde und kanzerogene Wirkung untersucht. Deren Ausschaltung soll den Entzündungsprozess und die Karzinogenese verlangsamen und damit positiv auf eine Heilung einwirken.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Insgesamt sollen 506 Mäuse verwendet werden. Es werden außerdem 530 transgene Mäuse gezüchtet, von denen aber nur ein geringer Anteil in die Versuche einfließen soll.

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

Entzündliche Darmerkrankungen und das Kolonkarzinom sind komplexe Erkrankungen, an denen das Zusammenwirken von Immunzellen aus dem Knochenmark und lymphatischer Organe mit verschiedenen Zelltypen aus der Darmschleimhaut, wie Epithelzellen und Krebszellen eine wichtige Rolle spielen. Diese unterschiedlichen Zelltypen und Organsysteme interagieren untereinander nur in einem intakten Organismus. Fragestellungen zu den entzündlichen Darmerkrankungen und Entzündungsmechanismen, die das Kolonkarzinom induzieren und fördern, können daher nicht an einem isolierten Organsystem oder einer Zellkultur adressiert werden, sondern nur am Gesamtorganismus. Ausgehend von Versuchen in Zellkulturen und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Dies geschieht durch genaue Planung des Versuchs. Durch eine statistische Analyse, basierend auf Vordaten oder Daten aus der Literatur, kann die Anzahl der Tiere in der Versuchsgruppen weitgehend gut geschätzt und die Gruppen klein gehalten werden. Die analytische Bestimmung von biologischem Material wird so gut wie möglich auf viele Parameter ausgedehnt. Damit wird das vorhandene biologische Material optimal ausgenutzt. Die Tiere werden während der Versuche von geprüften Tierpflegern betreut und versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Für das Wohlbefinden der Tiere wird ihnen Enrichment in Form von Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

Chronische metabolische Lebererkrankungen (Fettleber, entzündliche Fettleber, Zirrhose, Leberkarzinom) stellen eine erhebliche Gesundheitsbelastung dar. Ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung dieser Erkrankungen sind Veränderungen des Energiestoffwechsels der Leber, insbesondere hervorgerufen durch Veränderungen in der Funktion der Mitochondrien, der Regulation des Fettstoffwechsels und der Stressantwort. Wir haben beobachtet dass ein wichtiger Regulator dieser Stoffwechselforgänge in dem Mausmodell für Steatohepatitis bereits frühzeitig und nachhaltig herunterreguliert ist. Wir wollen diese Deregulation antagonisieren und haben auch bereits erste Resultate erzielt was die Reduzierung des Krankheitsbildes und Verbesserung der Stressantwort betrifft. Ein zentraler Faktor bei Steatohepatitis ist jedoch die Schädigung der Mitochondrien, die wesentlich zur Funktionseinschränkung der Leber beiträgt. Wir wollen wissen, ob und wie sich die Restauration der Stressantwort und des Fettstoffwechsels auf die Mitochondrienfunktion auswirkt.

Für den hier durchgeführten Tierversuch werden 140 Mäuse verwendet. 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. Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist. Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.

Zweck des Tierversuches ist die angewandte Forschung zur Behandlung von Krankheiten beim Menschen.

Laut Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wurde im Jahr 2008 weltweit bei 12,7 Millionen Menschen eine Krebserkrankung diagnostiziert, 7,6 Millionen Patienten starben an dieser Krankheit. Die WHO geht davon aus, dass bis zum Jahr 2030 die Zahl der jährlich neu diagnostizierten Krebsfälle auf 22 Millionen ansteigen wird. In Österreich wurde im Jahr 2010 bei 36.733 Menschen eine Krebserkrankung dokumentiert, bei 19.672 führte diese zum Tod. Damit sind Krebserkrankungen für ein Viertel der jährlichen Todesfälle in Österreich verantwortlich und nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache.

Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse und mit Hilfe modernster Technologien innovative Behandlungsansätze für Krebserkrankungen zu entwickeln, die zu einer Verlängerung des Lebens der Patienten und einer Verbesserung der Lebensqualität führen. Die Tierversuche haben das Ziel, die Funktionen des menschlichen Körpers und der menschlichen Erkrankung in einem Gesamtorganismus zu simulieren, um nachfolgende klinische Studien mit Krebspatienten mit höchstmöglicher Sicherheit und hoher Wahrscheinlichkeit für Wirksamkeit durchzuführen.

Die Tiere werden in den Versuchen einer geringen bis mittelgradigen Belastung ausgesetzt. Anzahl und Art der zu verwendeten Tiere in dem für eine Dauer von 5 Jahren ausgelegten Versuch: bis zu maximal 16.000 Mäuse und 520 Ratten pro Jahr

Im Tierversuch werden ausschließlich Wirkstoffe geprüft, die nach einem mehrstufigem Testverfahren auf Basis zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und zellbiologischer *in vitro* Untersuchungen, insbesondere an Kulturen menschlicher Tumorzellen, als besonders erfolgversprechend bewertet werden. Die Anzahl der Versuchstiere und die Versuchsdauer werden dadurch so gering wie möglich gehalten. Um die auftretenden Belastungen für die Tiere weiter zu reduzieren, werden die Methoden zur Durchführung und Auswertung der Versuche laufend an den neuesten Stand von Wissenschaft und Technik angepasst.

Eine rückblickende Bewertung findet nach jedem Modul sowie nach Abschluss des Projektes (2019) statt.

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

Atherosklerose und deren Folgekrankheiten stellen in den westlichen Industrienationen nach wie vor die Todesursache Nr. 1 dar. Aktuell gibt es außer der konsequenten Beherrschung der beeinflussbaren Risikofaktoren (Bluthochdruck, Hypercholesterinämie, Nikotinabusus, Diabetes) wenige Möglichkeiten, Atherosklerose vorzubeugen oder gar rückgängig zu machen. Gerade was die Hypercholesterinämie betrifft, gab es seit der Entwicklung der Statine in den 1980ern keine wesentlichen Neuerungen.

Wir möchten einerseits die genetische Beteiligung zweier wichtiger Genprodukte, die entscheidende Schnittstellen zwischen Lipid- und Eisenmetabolismus darstellen können. Des Weiteren möchten wir einen wichtigen Beitrag zur Klärung der Rolle von Chlamydien in der Entstehung der Atherosklerose leisten, welche bisher kontrovers diskutiert wurde.

In weitere Folgen sollen die Resultate fundamentale Einblicke in die Interaktionen von Eisen-, Lipidstoffwechsel und Chlamydien ermöglichen und den Weg für neue Therapiemöglichkeiten für den Menschen (z.B. durch Veränderung des Eisenstoffwechsels) ebnen.

Das Zusammenspiel vom Element Eisen, Lipidstoffwechsel und Chlamydieninfektionen ist äußerst komplex und kann nicht in ein in-vitro System übertragen werden, da dabei nur ein isolierter Zelltyp außerhalb eines funktionierenden Organismus beobachtet werden kann. Dies erlaubt keine Aussage über die komplexen Zusammenhänge, die im Gesamtorganismus ablaufen. Somit stellt sich die Notwendigkeit, diese Fragestellung im Rahmen eines in-vivo Projektes zu untersuchen.

Insgesamt sollen im Verlauf von 3 Jahren in mehreren Versuchsreihen 480 Mäuse in das Projekt eingeschlossen werden. Die Tiere werden von diplomierten Tierpflegern und einem Tierarzt fachgerecht betreut und täglich kontrolliert. Außerdem führen eine genaue Datenaufzeichnung und die Messung von möglichst vielen Parametern dazu, dass die Versuchsreihen nicht unnötigerweise wiederholt werden müssen.

Einige Tiere werden durch die Chlamydien für einen kurzen Zeitraum einer mittleren Belastung ausgesetzt sein. In dieser Zeit wird der Gesundheitszustand der Tiere mehrmals täglich kontrolliert, um gegebenenfalls den Versuch ehestmöglich abubrechen und so die Belastung so gering wie möglich zu halten.

Zusammenfassend ist dieses Projekt von größter klinischer Relevanz und soll helfen, wichtige Fragen in Bezug auf den Eisenstoffwechsel, Atherosklerose und Chlamydieninfektion zu lösen und somit bessere Behandlungsmöglichkeiten für Patientinnen entwickeln zu können.

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

Abwägung von Schaden und Nutzen: In Anbetracht von steigender Mortalität in der westlichen Bevölkerung durch Bluthochdruck, kardiovaskuläre Ereignisse, metabolische Erkrankungen und verschiedene Tumorentitäten und der verglichen dazu geringe Schaden für die Tiere (Schweregrad der Experimente) ist die Versuchsreihe ethisch vertretbar.

Anzahl und Art der Tiere: 160 Mus musculus für einen Zeitraum von 2 Jahren; die komplette Durchführung der Versuchsreihe erfolgt nur falls die ersten Versuche positiv (d.h. einen Erkenntnisgewinn liefern) verlaufen.

Vermeidung, Verminderung und Verbesserung:

- a.) Es gibt kein in vitro System um dieses Tiermodell zu ersetzen.
- b.) Es erfolgt ein stufenweises Vorgehen bei der Durchführung der Experimente, d.h. sollten erste Versuche keinen Erkenntnisgewinn liefern, wird die Versuchsreihe abgebrochen. Für die jeweiligen Experimente werden nur so viele Tiere verwendet, wie für das Erreichen der statistischen Signifikanz notwendig sind. Es werden so wenig wie möglich, aber so viel wie nötig Tiere im Versuch eingesetzt.
- c.) Die Tiere werden in Gruppen gehalten, der Krankheitsverlauf wird beobachtet und klare Abbruchkriterien sind definiert, bei Eingriffen werden die Tiere entsprechend narkotisiert und analgisiert und die Versuche werden zum frühestmöglichen Zeitpunkt beendet.

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

Atherosklerose und deren Folgekrankheiten stellen in den westlichen Industrienationen nach wie vor die Todesursache Nr. 1 dar. Aktuell gibt es außer der konsequenten Beherrschung der beeinflussbaren Risikofaktoren (arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, Nikotinabusus, Diabetes) wenige Möglichkeiten, Atherosklerose vorzubeugen oder gar rückgängig zu machen. Gerade was den erhöhten Cholesterinspiegel (Hypercholesterinämie) betrifft, gab es seit der Entwicklung der Statine in den 1980ern keine wesentlichen Neuerungen.

Das sogenannte gute HDL-Cholesterin betreffend, gab es in den letzten Jahren einen Paradigmenwechsel. Zwar war man aufgrund epidemiologischer Daten aus den 1970ern bisher immer der Meinung gewesen, dass je höher der Cholesterinanteil dieser HDL-Partikel, desto besser sei die kardiovaskuläre Situation und desto geringer das Mortalitätsrisiko. Aktuell mehrten sich jedoch die Hinweise, dass die *Funktion* und nicht die Menge der HDL Partikel ausschlaggebend ist. Hierfür ist es wichtig die zentrale Rolle von HDL im sogenannten Reversen Cholesterintransport (RCT) zu definieren. Der RCT beschreibt ein Konzept, wonach überschüssiges Cholesterin (bspw. aus atherosklerotischen Plaques) über HDL zurück zur Leber transportiert wird, um von dort entweder als freies Cholesterin oder nach Umwandlung in Gallensäuren in die Galle, und schließlich in die Faeces ausgeschieden wird.

Die Entwicklung RCT-fördernder Therapien stellt im Moment einen neuen Ansatz dar, Atherosklerose entgegenzuwirken, bzw. den Rückgang atherosklerotischer Plaques zu bewirken. Wir planen verschiedene Therapieansätze zu testen, bzw. die Relevanz am RCT beteiligter Transporter und Rezeptoren zu untersuchen. Die geplanten Tierversuche wurden unter strikter Anwendung der „3R“ verfasst und die Tierzahl auf ein solches Mindestmaß reduziert, dass eine statistische Aussagekraft gegeben ist. Für die Versuchsreihe werden insgesamt 690 Mäuse verschiedenster Genotypen beantragt. Alle Tierversuche entsprechen den internationalen Guidelines zu *good laboratory practice*. Die Mäuse werden in geeigneten, mit Nistmaterial und Rückzugsmöglichkeiten ausgestatteten Käfigen gehalten und der Gesundheitszustand der Tiere wird täglich von den Versuchsbeteiligten, den Tierpflegern, sowie von einem Veterinärmediziner kontrolliert. Die geplanten Versuche werden standardisiert und von geschultem Personal durchgeführt.

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

1.) Projektziel

Das Neuroblastom ist eine kindliche Krebserkrankung, die zumeist im Säuglings- oder Kleinkindalter auftritt und je nach Stadium eine sehr schlechte Prognose hat. Bei Stadium IV der Erkrankung liegt das Überleben der kleinen Patienten trotz hoch dosierter Chemo- und Strahlentherapie bei nur etwa 60%. Zusätzlich steigt bei Kindern die mit hohen Chemotherapie- oder Strahlendosen behandelt werden, die Gefahr, dass sie, auch wenn sie von der ursprünglichen Krebserkrankung geheilt werden, später an einer durch die erste Therapie hervorgerufenen, weiteren Krebserkrankungen erkranken und daran versterben. Deshalb ist es besonders bei kindlichen Krebserkrankungen äußerst wichtig, Behandlungsmöglichkeiten zu finden, mit denen die Dosis der Chemotherapie-Medikamente reduziert werden kann. Im vorliegenden Projekt wird die Rolle des Transkriptionsfaktors FOXO3 für die Entstehung chemoresistenter Neuroblastomtumore in einem syngenem Tumortransplantations-Mausmodell untersucht. Die in den vorausgegangenen, umfangreichen Zellkulturexperimenten gewonnenen, sehr vielversprechenden Ergebnisse müssen nun im lebenden Tier untersucht werden, da die in vitro Möglichkeiten ausgeschöpft sind. Nur durch die entsprechenden Versuche im Tier können weitere Erkenntnisse gewonnen, um eine entsprechende Therapie für diese Krebserkrankung zu entwickeln. Wir erwarten uns durch diese tierexperimentelle Studie eine klare Aussage über die Rolle dieses Transkriptionsfaktors bei der Resistenz gegen bestimmte Chemotherapeutika und hoffen durch diese Experimente die Diagnostik und die Chancen der an Neuroblastom erkrankten Kinder zu verbessern.

2.) Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

36 Mäuse

3.) Angaben über die Erfüllung der „3R“

Das beantragte Tierexperiment baut auf umfangreichen Zellkulturexperimenten auf, mit denen die Möglichkeiten der in vitro Analyse weitgehend ausgeschöpft wurden. Allerdings können in der Zellkultur nicht sämtliche Effekte einer Behandlung simuliert werden, die im Organismus eines Tieres auftreten, sodass dieses Tierexperiment zur in vivo Verifizierung dieser Behandlungsmethode und einem signifikanten Informationsgewinn unerlässlich ist. Mit diesen Experimenten soll eine klare Aussage über die Relevanz des Transkriptionsfaktors FOXO3 als mögliches therapeutisches Target bei dieser schweren kindlichen Krebserkrankung erzielt werden, um damit die Therapieoptionen der kindlichen Patienten zu verbessern.

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

Ein großer Verlust von Körperflüssigkeit, ausgelöst z.B. durch eine Massivblutung im Rahmen von Traumen oder großen Operationen (Leberchirurgie, Operationen an der Hauptschlagader, der Aorta oder auch große orthopädische Eingriffe, z.B. an der Wirbelsäule), führt zum klinischen Bild des hämorrhagischen Schocks. In dieser Situation ist es notwendig, möglichst rasch das verlorene Volumen durch geeignete Flüssigkeiten, sog. Plasmaexpander, zu ersetzen. Ausreichende Flüssigkeitstherapie ist die unabdingbare Voraussetzung für die Aufrechterhaltung eines adäquaten Perfusionsdrucks zur Vermeidung einer Minderdurchblutung und Sauerstoffunterversorgung aller Organe. Die Debatten darüber, welche Flüssigkeiten sich hierfür am besten eignen, gehen bereits auf die 1940-er Jahre zurück; grundsätzlich scheiden sich die Meinungen darüber, ob eher kochsalzähnliche Flüssigkeiten, sog. „Kristalloide“, oder Flüssigkeiten die aus größeren Molekülen bestehen, sog. „Kolloide“, verwendet werden sollen. Letztere besitzen den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer Molekülgröße wesentlich länger im Gefäßsystem verbleiben als Kristalloide, was impliziert, dass geringere Mengen an Kolloiden notwendig sind, um das Kreislaufsystem wieder aufzufüllen, als wenn Kristalloide verwendet werden, die relativ rasch wieder aus dem Gefäßsystem verschwinden.

Die im vorliegenden Antrag vorgestellte Studie beschäftigt sich mit drei verschiedenen Kolloiden im Rahmen eines akuten Blutungsschocks (1. Hydroxyethylstärke, abgekürzt mit „HES“, 2. Gelatine und 3. pegyliertes Humanalbumin, abgekürzt mit „PEG Alb“). Frühere Studien konnten zeigen, dass Kolloide im Vergleich zu Kristalloiden die wünschenswerte Eigenschaft besitzen, dass sie die kleinsten Gefäße des Körpers, die sog. Mikrozirkulation im Zustandsbild des Schocks besser perfundieren und offen halten, wodurch letzten Endes ein Multiorganversagen mit unter Umständen letalen Folgen, verhindert werden kann. Andererseits haben Kolloide auch zahlreiche unerwünschte Nebenwirkungen: Abhängig von der Art des verwendeten Präparats können sie allergische Reaktionen auslösen, sich in Organen ablagern und damit zu Organschäden führen (z.B. in der Niere) und sie beeinträchtigen je nach verwendetem Produkt in unterschiedlichem Ausmaß den Vorgang der Blutgerinnung, was bei stark blutenden Patienten natürlich ein großes Problem darstellt.

Studien haben gezeigt, dass ein neuer Plasmaexpander, nämlich PEG Alb, der in der vorliegenden Studie auch verwendet werden soll, die Durchblutung der kleinsten, aber enorm wichtigen Gefäße am besten aufrechterhalten kann. Zusätzlich nimmt man an, dass diese Substanz, die auf dem körpereigenen Molekül Albumin basiert, besser verträglich ist und daher ein geringeres Nebenwirkungspotential im Vergleich zu bisher verwendeten Kolloiden aufweist.

Ziel dieses Projekts ist es:

- a) Zu untersuchen, ob PEG Alb im Vergleich zu den konventionell verwendeten Plasmaexpandern HES und Gelatine zu einer besseren Stabilisierung von akut blutenden Patienten führt;
- b) Zu untersuchen, welches Nebenwirkungsprofil diese Substanz besitzt, v.a. in Bezug auf die Blutgerinnung;
- c) Dadurch letzten Endes PatientInnen besser behandeln zu können.

Die hierzu notwendigen Versuche werden an 10-14 Wochen alten deutschen Hausschweinen durchgeführt. Da alle bisherigen Versuche mit PEG Albumin an Nagetieren durchgeführt wurden, ist es nun notwendig auf eine Tierspezies zu wechseln, die der menschlichen Physiologie näher ist. Die Tiere werden in Narkose versetzt und ähnlich einem Patienten auf einer Intensivstation mit arteriellen und venösen Kathetern versorgt. Nach einer initialen Stabilisierungsphase und Sicherstellung einer adäquaten Narkosetiefe wird den Tieren ein großer Teil ihres Blutvolumens über die großen liegenden Katheter abgezogen und durch eine der 3 Testsubstanzen (HES, Gelatine oder PEG Alb) ersetzt. Nach Wiederauffüllung des Kreislaufsystems werden die Tiere weiterhin in tiefer Narkose gehalten und Kreislaufparameter, Blutgase und Gerinnungswerte werden gemessen und aufgezeichnet. Dieses Versuchsprotokoll ist notwendig, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten; weniger aufwändige Vorgehensweisen würden die Fragestellungen dieser Studie nicht in angemessener Weise beantworten. Am Ende des Versuchs werden die Schweine in tiefer Narkose euthanasiert.

Für diese Versuche werden in Summe 34 Tiere benötigt. Durch ständige statistische Auswertungen der Ergebnisse wird sichergestellt, dass eine Versuchsreihe sofort nach Erreichen der statistischen Signifikanz abgebrochen wird, damit nicht unnötig viele Tiere verwendet werden. Dennoch benötigt man normalerweise mindestens 10 Tiere pro Gruppe, um eine statistische Aussage über verschiedene Parameter treffen zu können. Die Versuchstiere werden nach höchstem medizinischem Wissensstand- und Standard gleich einem humanen Intensivpatienten behandelt. Es werden dieselben Medikamente und Gerätschaften verwendet wie sie auf humanen Intensivstationen zum Einsatz kommen. Durch diese Versuche können neue Erkenntnisse für eine eventuelle spätere Anwendung dieser Substanzen am Menschen gewonnen werden wodurch besseren Behandlungsstrategien für den akuten Blutungsschock entwickelt werden können.

Dendritische Zellen (DCs) repräsentieren potente Immunmodulatoren in Hinblick auf Krebs, Autoimmunität und Entzündungen. Sie reagieren auf Gefahrensignale von Pathogenen, wie z.B. Lipopolysaccharid (LPS), indem sie stark immunstimulatorisch auf T Zellen wirken. Eine T Zelle vermittelte Abwehr von Pathogenen aber auch von Tumorzellen ist als einer der stärksten Abwehrmechanismen in Vertebraten einzustufen. Wir konnten zeigen, dass das immunstimulatorische Potential von DCs auf etwa einen Tag nach dem Kontakt mit einem Gefahrensignal limitiert ist. Danach schalten DCs auf einen immunsuppressiven Modus um, von dem angenommen wird, dass er Immunreaktionen daran hindern soll, außer Kontrolle zu geraten.

Wir gehen von der Hypothese aus, dass negativ-regulatorische Rückkopplungsschleifen vom selben Gefahrensignal aber mit etwa einem Tag Verzögerung angeschaltet werden. Die Reifung von DCs nach Aktivierung durch Gefahrensignale wurde intensiv studiert und ist sehr gut beschrieben. Dem gegenüber ist nur wenig Information über Mechanismen beziehungsweise Moleküle, welche in DC-gesteuerte Immunsuppression involviert sind, vorhanden. Unser vorrangiges Ziel besteht daher darin, das Wissen über negativ-regulatorische Rückkopplungsschleifen ausgehend von DCs zu vertiefen.

RNA-Interferenz in DCs gegen durch LPS hoch regulierte Gene ermöglichte die Auffindung von Proteinen (MK2, JAK1, RGS16, IRG1), die an den negativ-regulatorischen Rückkopplungsschleifen beteiligt sein könnten. Ein wichtiges Ziel besteht daher darin, in Mausmodellen das Potential von DCs, welche für potentiell regulatorische Zielgene defizient sind, hinsichtlich anti-tumoraler Immunmodulation zu analysieren. Eine Blockade der untersuchten immunregulatorischen Gene in DCs kann daher zu einer verbesserten Immunantwort gegen Tumore führen.

Die Verwendung von Immunzell-spezifischen (Dendritische Zellen, Makrophagen, T-Lymphozyten) „Knock out systemen“ soll die Einsetzbarkeit von Inhibitoren in Kombination mit DCs in einer klinischen Studie zur Behandlung von Tumoren zeigen. Nebeneffekte wie verstärkte Autoimmunität und auftretende Entzündungen müssen aber in Betracht gezogen werden. Daher werden neben Untersuchungen in transplantierten und spontanen Tumormodellen auch Autoimmun und Entzündungsmodelle angewendet. Unsere Studien stellen die Basis für die Herstellung einer neuen Generation von verbesserten DC-Immuntherapeutika dar, die zur Behandlung von Krebs eingesetzt werden können. Zusätzlich können wertvolle Erkenntnisse über Mechanismen zur Kontrolle von Autoimmunität aber auch für die Toleranzinduktion zur Verbesserung der Akzeptanz allogener Transplantate gewonnen werden. Es werden 4.976 Mäuse verwendet.

Eine rückblickende Bewertung gemäß § 30 TVG 2012 wird jährlich (am 31. Dezember 2014, am 31. Dezember 2015, am 31. Dezember 2016) stattfinden.

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

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

Die Organtransplantation stellt heutzutage die Methode der Wahl in der Therapie von terminalem Organversagen, wie z.B. der chronischen Niereninsuffizienz, dar, und hat sich in den letzten Jahrzehnten zu einem routinemäßig angewandten Verfahren entwickelt. Trotz der hervorragenden Kurzzeitergebnisse nach Transplantationen, stellt der chronische Gefäßschaden nach der Organverpflanzung eine bedeutende Hürde dar, welche eine langfristige, gute Transplantatfunktion deutlich einschränken kann. Auslöser dieses Schadens können eine Reihe von Störfaktoren sein, welche unmittelbar vor und während der Wiederherstellung des Blutflusses im Rahmen der Operation auftreten, wie z.B. die Störung der gefäßständigen Zuckerschicht (Glykokalyx).

Derzeit wird eine Vielzahl von Medikamenten und Substanzen in verschiedenen Untersuchungen eingesetzt, um diese störenden Faktoren auszuschalten, um somit eine langfristige gute Organfunktion zu gewährleisten.

Albumin ist ein weitverbreitetes Blutprotein und somit für eine Vielzahl von verschiedenen Funktionen verantwortlich. Unter anderem hat es Anteil am körpereigenen Puffersystem und Stofftransport und ist essentiell für die Aufrechterhaltung des kolloidonkotischen Drucks. Neben diesen Eigenschaften konnte in kürzlich erschienenen Arbeiten auch gezeigt werden, dass es zum Schutz der Glykokalyx beiträgt und diese wiederum wichtig ist für die Gefäßintegrität. Es verhindert somit den Verlust von Blutbestandteilen in das Gewebe wie auch unerwünschte Immunzellmigration. Es ist nun Ziel dieser Studie den Einfluss und die Wirkung von Albumin in der Aufbewahrungslösung von soliden Organen auf den nach Organtransplantation auftretenden Schaden zu untersuchen. Zudem ist es Ziel dieser Studie zu untersuchen ob diese Therapie auch erfolgreich die chronisch verlaufende Gefäßverengung/-schädigung im transplantierten Organ verhindern kann.

2. Art und Anzahl der Tiere:

Insgesamt werden innerhalb von 3 Jahren maximal 1009 Mäuse verwendet

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

Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es keine alternativen *in vitro* bzw. virtuellen Methoden, welche die natürlich vorkommenden Prozesse im Rahmen der akuten und chronischen Organschädigung simulieren können und zur Untersuchung der oben genannten Fragestellung Anwendung finden können. Die Herztransplantation in der Maus stellt daher die geeignete Methode dar um immunologische und nicht-immunologische Prozesse im Rahmen des akuten und chronischen Gefäßschadens zu untersuchen. Der Umgang mit Tieren ist ausschließlich geschultem Personal erlaubt und bei täglichen Kontrollen werden alle Maßnahmen ergriffen um den Tieren größtmögliches Wohlergehen zu ermöglichen.

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

1.

Die Naxos-Krankheit ist eine seltene, aber schwere, angeborene Krankheit. Typische Kennzeichen sind schwere Hautveränderungen an Handflächen und Fußsohlen ab Geburt und eine meist tödlich verlaufende Kardiomyopathie („Herzversagen“), die meist in der Pubertät beginnt. Alle Personen mit der Naxos-Krankheit haben im Gen *JUP* stets dieselbe Mutation. *JUP* kodiert („ist Verantwortlich für“) das Protein Plakoglobin, welches Zellen im Herz und in der Haut zusammenhält. Bis heute gibt es für die Naxos-Krankheit und für viele ähnliche seltene, angeborene Krankheiten leider nur symptomatische Therapie-Versuche (z.B. Cremes für Hände und Füße).

Eine neue Therapie-Option ist es nun, das falsche (mutierte) Protein durch ein richtiges (gesundes) Protein zu ersetzen (Protein-Ersatz-Therapie). Da die Patienten ein krankes Herz und eine kranke Haut haben, muss die Therapie systemisch (überall, als Tablette, Spritze oder Infusion) verabreicht werden. In unserem aktuellen Projekt wollen wir die neuen Medikamente (Protein-Ersatz-Therapie) in Dosierung und Nebenwirkungen austesten. Erkenntnisse aus diesem Projekt dienen nicht nur den Naxos-Patienten, sondern auch Patienten mit anderen, ähnlichen genetisch bedingten Krankheiten, bei denen wir heute die genetische Ursache genau kennen, aber keine Therapie anbieten können.

2.

260 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren

3.

Replace („Vermeiden“): Wir haben ein exzellent etabliertes, international anerkanntes, patentiertes 3D-Vollhaut-Modell-System (künstliche Haut), an dem wir alle Vortests (Dosierung, Toxizität und andere) durchführen. Effekte auf das Herz können so nicht erkannt werden.

Reduce („Vermindern“): Um Organ-spezifische Toxizitäten („Giftigkeiten“) rechtzeitig zu erkennen, werden neue Substanzen und Konzentrationen in 2D/3D Zellkulturen ausgetestet. Wir verwenden Maus-Keratinozyten („Hautzellen“) und Maus-Kardiomyozoten (Herzzellen), denn zum Herz und zur Haut sollen unsere Medikamente transportiert werden.

Refine („Verbessern“): Die Tiere werden ständig von ausgebildetem und geschultem Personal überwacht und bei Verdacht auf Schmerzen oder Beeinträchtigung behandelt, bzw. dem Versuch entzogen.

Dieses Projekt ist der erste Versuch eine schwere, komplexe, genetisch bedingte Erkrankung des Menschen ursächlich durch eine Kombination von Protein-Ersatz und Allele-spezifischer Gen-Ausschaltung zu therapieren. Wir entwickeln also eine individualisierte, auf den einzelnen Patienten zugeschnittene Therapie für Personen mit einer sehr seltenen und lebensbedrohlichen Erkrankung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. April 2019 vorgesehen.

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

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

Eisen dient als ein wichtiges Mikroelement für eine Reihe zellulärer Prozesse, wie DNA Synthese und Energiegewinnung. Der Eisengehalt im gesunden Organismus muss jedoch streng reguliert werden, da das überschüssige Eisen die Zerstörung zellulärer Komponenten verursachen und Infektionen fördern kann. In diesen Prozessen nehmen die im Gewebe ansässigen Makrophagen eine Schlüsselrolle ein. Sie versorgen die Zellen mit diesem Element und speichern den Überschuss.

Wir nehmen an, dass die Immunzellen, die in Brustkrebs vorkommen, in der Lage sind, schnell wachsende Tumorzellen mit notwendigem Eisen zu versorgen und dadurch das Tumorstadium zu beschleunigen. Diese Annahme beruht auf Experimenten, die in vitro zeigen konnten, dass Makrophagen unter dem Einfluss spezieller Botenstoffe, die vor allem von Brustkrebszellen produziert werden, dazu gebracht werden, den Tumor mit dem lebenswichtigen Eisen zu versorgen. Im Rahmen des Projekts soll untersucht werden, ob eine genetische Entfernung der Eisenexport- und Eisenspeicherproteine das Tumorstadium beeinflussen kann. Die Resultate sollen zur Entschlüsselung eines neuen Mechanismus führen, der zur Tumorentwicklung beiträgt und sollen der Identifizierung von Zielen (Eisenproteine) für die Krebstherapie dienen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die zeitaufwändige Etablierung und Erhaltungszucht der Mäusestämme sowie für Experimente werden 1920 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren benötigt.

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

Die Belastung für das Tier ist in diesem Projekt durch die Tumore verursacht. Die Experimente werden jedoch unverzüglich beendet, sobald der Tumor eine kritische Größe überschreitet und wenn eine starke Belastung für das Tier auftritt (Zeichen eines Schmerzes, Apathie, verringerte Wasser- und Futteraufnahme). Die Eingriffe werden möglichst schmerzfrei, unter Narkose durchgeführt. Der Zustand der Tiere unterliegt einer täglichen klinischen Kontrolle durch geschultes Personal.

Es wurde gezeigt, dass die durch die Anwendung von Tumorzellkulturen in vitro gewonnenen Ergebnisse nur sehr beschränkt auf den Menschen übertragbar sind. Während des ganzen Projektes kommt es zu einer detaillierten Aufzeichnung, damit die Durchführung nachfolgender Projekte erleichtert wird und um eine maximale Informationsmenge aus den Versuchen zu erhalten.

Versuchsspezifische Minimierung der Anzahl der Tiere pro Gruppe auf die für das jeweilige Experiment benötigte Anzahl (10 Tiere, max. 40 Tiere), um eine statistische relevante Aussage zu erreichen.

Bedeutung des Projekts für Humanmedizin: Brustkrebs ist die häufigst diagnostizierte Tumorerkrankung bei Frauen und weist, trotz bedeutsamer Fortschritte von Therapie und Früherkennung, eine hohe Rezidiv- und Mortalitätsrate auf. Die Befunde des Projekts können in Zukunft eine Anwendung in der Klinik finden. Spezifisch können die für den Eisenstoffwechsel und zugleich für das Tumorstadium wichtigen Proteine als Ziele neuer, in der Klinik wirksamer Arzneimittel gegen Brustkrebs dienen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Juli 2019 vorgesehen.

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

Einleitung

Das entscheidendste medizinische Problem bei EmpfängerInnen von Organtransplantaten ist bekanntlich die gefürchtete immunologisch bedingte Abstossungsreaktion, weil in den meisten Fällen genetisch voll verträgliche Spenderorgane nicht verfügbar sind. Bei den in erster Linie für die Abstossungsreaktion verantwortlichen Zellen des Immunsystems handelt es sich um eine Untergruppe der sogenannten Lymphozyten, die als T-Zellen bezeichnet werden. Die TransplantationspatientInnen werden daher vor dem chirurgischen Eingriff und in den ersten Tagen nach der Transplantation intravenös mit dem Serum von Tieren (meist Kaninchen) behandelt die mit menschlichen T-Zellen immunisiert worden sind und daher sogenannte anti T-Zell Antikörper (anti-CD3 Antikörper) enthalten. Diese Therapie kann allerdings nur kurzzeitig durchgeführt werden, weil die intravenöse Verabreichung von Fremdeiweissstoffen ebenfalls zu einer fulminanten Immunreaktion bis hin zum Schock führen kann. Die Elimination von T-Zellen als immunsuppressive Massnahme ist nicht nur in der Transplantationsmedizin, sondern auch für die viel grössere Gruppe von Autoimmunerkrankungen ein therapeutisches Ziel.

Rationale und Projektziele

In Vorversuchen im Rahmen des Projekts „T-Oral“ haben wir die überraschende Beobachtung gemacht, dass die Verfütterung – also nicht intravenöse Injektion - von anti-CD3 Antikörpern an Versuchstiere ebenfalls zu einer Unterdrückung der T-Zell bedingten Immunreaktion führt. In diesen Fällen kommt es allerdings zu keiner Verminderung von T-Zellen im Blut und im Lymphgewebe (Lymphknoten, Milz), sondern diese Art der Immunsuppression muss über andere Mechanismen wirksam sein. Die perorale Verabreichung von anti-CD3 Antikörpern aus einer von der Art des Empfängers verschiedenen Tierart birgt jedenfalls die oben erwähnten Risiken der intravenösen Verabreichung nicht in sich.

Die Ziele des vorliegenden Projekts sind folgende:

- (a) Die Klärung der Frage, ob peroral verabreichte anti-CD3 Antikörper die Fähigkeit haben, nicht nur die Abstossung von Organtransplantaten zu verhindern bzw. zu verzögern, sondern auch einen präventiven bzw. therapeutischen Effekt bei Autoimmunerkrankungen haben. Ersteres wird in einem bereits etablierten Modell der Herztransplantation bei der Maus untersucht, letzteres in bezug auf zwei Autoimmunerkrankungen bei der Maus, den Typ I Diabetes und ein von uns entwickeltes autoimmunes Modell der Atherosklerose.
- (b) Die Aufklärung des zellulären Wirkungsmechanismus der durch die Verabreichung von anti-CD3 Antikörpern induzierten, sogenannten oralen Toleranz. Es ist nämlich bekannt, dass bei den meisten Menschen und Tieren (mit Ausnahme solcher mit genetischer allergischer Prädisposition) über die Nahrung aufgenommen Fremdeiweissstoffe vom Immunsystem toleriert werden. Dies ist durch die Bildung sogenannter regulatorischer T-Zellen im Magen-Darm Trakt bedingt, welche die Fähigkeit haben, die oben erwähnten angreifenden T-Zellen (T Effektor Zellen) in Schach zu halten.

Experimentelle Vorgangsweise:

Das vorliegende Projekt stellt einen wichtigen Schritt von der reinen Grundlagenforschung zur klinischen Anwendung dar. Es werden nämlich sogenannte transgene Mäuse verwendet, deren Immunsystem auf genetischem Wege „humanisiert“ wurde, so dass ihre T-Zellen menschliche Oberflächenmerkmale (menschliches CD3) tragen. Auf diese Weise ist es möglich, von Kaninchen stammende anti-human CD3 Antikörper zu verabreichen, also eine Antikörperpräparation, die bereits jetzt intravenös für die oben skizzierte Immunsuppression beim Menschen verwendet wird. Die transgenen Mäuse für unsere Zucht werden von einem französischen Kooperationspartner zur Verfügung gestellt.

Berücksichtigung der der „R“

Vermeiden:

Die perorale Verabreichung mittels Sonde ist für die Versuchstiere weitaus weniger schmerzhaft als die intravenöse, subkutane oder intramuskuläre Injektion.

Vermindern:

Wir haben nach Rücksprache mit StatistikerInnen besonders darauf geachtet, nur die geringstmögliche Anzahl von Versuchstieren zu verwenden, die für eine statistisch aussagekräftige Auswertung notwendig sind.

Verfeinern:

Die oben skizzierte innovative Versuchsordnung wird, falls die Experimente erfolgreich verlaufen, eine weitaus raschere Übersetzung der Resultate in die Anwendung beim Patienten erlauben als dies mit konventionellen Ansätzen - und damit die Erfordernis von weit höheren Versuchstierzahlen - möglich wäre.

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

1) Informationen über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens sowie der Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere.

Das Projektziel liegt in der Aufklärung molekularer Mechanismen, die zur Entstehung und pathologischen Ausprägung von akuten Entzündungen in Mensch und Tier beitragen um die potentielle Nebenwirkung von neuen Substanzen, die zur Behandlung von Krebs eingesetzt werden sollen besser einschätzen zu können. Diesbezüglich wird besonders die Rolle von programmiertem Zelltod (Apoptose) hinterfragt. Dies geschieht in der Regel in verschiedenen Experimenten in Zellkultur, wobei primäre Zellen aus Mausstämmen mit Zelltod-Defekten und veränderter Tumorneigung isoliert werden. Im Besonderen soll hier die Rolle eines zelltodfördernden Proteins untersucht werden welches zu entzündungsbedingter Leberschädigung beitragen soll.

Von fünf verschiedenen genetisch veränderten Mausstämmen werden dafür im kommenden Jahren maximal 150 Tiere gezüchtet (30 Tiere/Stamm) und für diese Untersuchungen zum Einsatz kommen.

2)den Nachweis über die Erfüllung derAnforderungen der Vermeidung, Verminderung und Verbesserung („3R“) sowie

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Akute Entzündungserkrankungen sind multifaktorielle Pathologien, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden können.

Verminderung: In der Regel werden pro Genotyp maximal 2 Zuchtkäfige verwendet und die Zahl der erwachsenen Tiere in einer etablierten Kolonie beträgt, je nach Bedarf, in der Regel zwischen 10-20 Tieren. Wenn biologisch möglich werden immer Tiere mit homozygot veränderten Allelen verpaart, um das Entstehen von nicht analysierbaren Genotypen (Heterozygote oder Wildtyp Tiere) zu minimieren.

Verbesserung: Die Tiere werden im Versuch in Gruppen zu je 5 Tieren/Käfig gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig Einstreu, Stroh als auch ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden.

3) Es ist davon auszugehen, dass die Maximalzahl der benötigten Tiere nicht erreicht wird.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2016 vorgesehen.

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

Autoimmunerkrankungen (AIE) sind krankmachende und meist tödlich verlaufende Störungen des Immunsystems, gegen die es bislang noch keine Therapie gibt. Es gibt verschiedene AIE, wie z.B. Diabetes mellitus, Atherosklerose, rheumatoide Arthritis, zystische Fibrose, systemische Sklerose, Hashimoto's Schilddrüsenentzündung, Morbus Basedow, usw. Allen Autoimmunerkrankungen gemeinsam liegt eine Fehlfunktion des Immunsystems zu Grunde. Dabei kann das Immunsystem nicht mehr zwischen "selbst" und "fremd" unterscheiden und attackiert dann körpereigene Zellen, Gewebe und Organstrukturen. Diese Autoaggression führt bei den betroffenen menschlichen Patienten zu schweren Funktionsstörungen und schließlich zum Tod. Die Ursache(n), die zu einer solchen Entgleisung des Immunsystems und damit zur Entstehung von AIE führen, sind bis heute ungeklärt. Daher kommt der Aufklärung von grundlegenden Pathomechanismen von AIE und der Entwicklung von erfolgreichen Behandlungsmöglichkeiten gegen die Immunattacke, eine besonders große klinische Bedeutung zu. Bei diesem Projekt werden insgesamt 400 Hühnerküken gezüchtet, die eine vererbte AIE entwickeln, welche der systemischen Sklerose (SSc) des Menschen in vielerlei Hinsicht vergleichbar ist. Die klinischen Zeichen der SSc bei diesen Küken sind vor allem entzündliche Veränderungen der Haut. Der Schweregrad dieser Veränderungen wird bei einigen der erkrankten Hühner als "mittel" zu bewerten sein und entspricht daher demselben Schweregrad wie beim menschlichen SSc-Patienten. Daher ist die Zucht und Haltung dieser Hühner genehmigungspflichtig. Die Betreuung dieser Hühner erfolgt nur durch geschulte und erfahrene Personen, sodass Schmerzen, Leiden und Belastungen minimiert sind. Diese Hühner werden für weitere wissenschaftliche Untersuchungen verwendet, insbesondere für die Entwicklung von innovativen Ansätzen zur Therapie von Autoimmunerkrankungen des Menschen. Für diese Projekte werden jedoch eigene Anträge auf behördliche Genehmigung gestellt.

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 30 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. Eine rückblickende Bewertung des Tierversuchsprojekts wird nicht stattfinden.

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

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

Versuchsziel ist die Analyse der Funktion eines Proteins im Säugetiermodell der Maus. Unsere Arbeitsgruppe verfügt über Mäuse, bei denen ein bestimmtes Protein fehlt (werden im weiteren Text als KO-Mäuse bezeichnet). Diese Mäuse dienen als Krankheitsmodell, da ähnliche Schäden auch bei Patienten beobachtet wurden. Die Erkenntnisse aus diesen Versuchen könnten eine wissenschaftliche Grundlage für zukünftige Behandlungsansätze bei einer Reihe bisher unheilbarer Krankheiten liefern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Um die Rolle des Proteins von Interesse in den verschiedenen Geweben und Organen untersuchen zu können, ist die Zucht von Mäusen zur Erhaltung der Linien notwendig. Insgesamt ist die Zucht von maximal 6000 Mäusen vorgesehen.

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

Da die Haut, die Skelettmuskulatur und die anderen zu untersuchenden Gewebe komplexe Organe aus hochdifferenzierten Zellpopulationen darstellen, könnten für die in diesem Antrag beschriebenen Haltungsexperimente keine anderen Systeme als lebende Tiere verwendet werden. Daher gibt es auch keine Ersatzexperimente die ohne die Verwendung von Mäusen durchgeführt werden könnten. Bezüglich der Anzahl der für die Haltung verwendeten Tiere wird ein Minimum gewählt, das einerseits die Erhaltung der Linien gewährleistet, und andererseits garantiert, dass keine Tiere "umsonst" gezüchtet werden. Sämtliche Mäuse werden unter Bedingungen gehalten, die den Schutz der Tiere garantieren und invasive Eingriffe minimieren.

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

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

Das Ziel dieses Projektes ist es, die Rolle eines vielseitigen Zytoskelett-Proteins in der Autophagie in der Skelettmuskulatur zu untersuchen. Wir konzentrieren uns auf einen selektiven durch mechanische Belastung induzierten Proteinabbau-Mechanismus, der vor allem bei intensiver Muskelbeanspruchung eine wichtige Rolle spielt. Patienten mit Mutationen im Protein von Interesse leiden an einer schweren Muskeldystrophie, während Mäuse, die dieses Protein in der Skelettmuskulatur nicht exprimieren, viele krankhafte Veränderungen (massive Desmin-Aggregate, Fehlausrichtung der Z-Scheiben, Ablösung des Sarkolemma und verringertes Mitochondrien-Netzwerk) aufweisen. Unsere Arbeitshypothese ist, dass die Abwesenheit dieses Proteins den Abbau von beschädigten Proteinen beeinträchtigt, mit der Folge, dass sich geschädigte Muskel-Komponenten in der Zelle anreichern und die Muskelzelle destabilisieren. Der Mechanismus, wie dieses Protein den Proteinabbau reguliert, ist unbekannt. Da diese spezifische Art des Proteinabbaus nur in konstant kontrahierendem Muskelgewebe aktiv ist, müssen wir lebende Mäuse untersuchen. Unser oberstes Ziel ist es herauszufinden, ob das Protein von Interesse für den korrekten und effizienten Ablauf der Muskelarbeit, vor allem bei intensiver Muskelkontraktion während körperlicher Anstrengung, essentiell ist.

2. Art und Anzahl der Tiere

Um die Rolle des Proteins von Interesse beim Proteinabbau zu untersuchen, wollen wir den Schwerpunkt auf die Analyse bereits früher generierter spezifischer Knock-out-Mäuse legen, die einen Mangel an diesem Protein aufweisen. Die maximale Gesamtzahl der Mäuse, die getestet wird, ist 240. Die (normale) Wildtyp-Mauslinie wird zusammen mit der mutierten Mauslinie gezüchtet um geeignete Kontroll-Mäuse zur Verfügung zu haben.

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

Erste Experimente mit Myoblastenkulturen und nicht gestressten Skelettmuskel-Gewebeproben von Mäusen, bei denen das Protein von Interesse fehlt, deuten auf dessen Wichtigkeit für das Funktionieren des Proteinabbaus hin. Weitere Untersuchungen in vivo werden klären, ob erhöhte Muskelarbeit bei körperlicher Anstrengung zu schwerwiegenden Veränderungen, aufgrund eines beeinträchtigten Proteinabbaus, führt (z.B. Induktion und Anhäufung von Proteinaggregaten; erhöhte Expression von Autophagie-verwandten Proteinen). Studien an lebenden Mäusen werden uns helfen zu verstehen, wie der Mangel des jeweiligen Proteins die Effizienz der Muskelarbeit beeinflusst. Der Zweck der in diesem Tierversuchsantrag beschriebenen Experimente ist es, Eigenschaften von Muskelfasern zu beurteilen, die in keinem anderen System, d.h. mit keinen anderen Mitteln als mit lebenden Tieren analysiert werden können. Für dieses Projekt planen wir nur eine Mindestanzahl von Mäusen zu verwenden, die ausreicht, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erhalten und die es erlaubt, wissenschaftlich zuverlässige Aussagen zu treffen. Alle Experimente werden unter Bedingungen durchgeführt werden, bei denen invasive Eingriffe minimiert werden, um für den Schutz der Tiere zu garantieren. Versuchsplanung, Durchführung der phänotypischen Tests, sowie statistische Datenanalysen und Interpretation werden durch professionelle Mitarbeiter und Experten auf diesem Bereich streng überwacht und gesteuert werden.

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

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

Ad 1. Ziel des Tierversuches ist die Erzeugung polyklonaler Antikörper, welche als molekulare Sonden zum spezifischen Nachweis einer neuen Spezies von respiratorischen Viren in infizierten Zellen in Kultur sowie Geweben infizierter Patienten dienen. Ein Befall durch diese Viren führt meist zu harmlosen grippalen Infekten, ist aber auch häufig an der Verschlechterung chronischer Atemwegserkrankungen beteiligt. Sie sind weiters ein Hauptfaktor für das Auftreten von Asthma (Asthma bronchiale) bei Erwachsenen in Anschluss an eine symptomatische Infektion im Kindesalter. Mit den produzierten Virus-spezifischen Antikörpern soll ein besseres Verständnis der Pathogenese erreicht werden, wie beispielsweise die Identifizierung des noch unbekanntem Rezeptors für die Bindung an die Wirtszelle. In weiterer Folge sollen die gewonnenen Erkenntnisse eine möglichst zielgerichtete Entwicklung innovativer Arzneimittel zur Bekämpfung dieser neuartigen respiratorischen Viren ermöglichen.

Ad2. Es werden 15 Kaninchen (New Zealand Whites) benötigt.

Ad 3. Zurzeit gibt es für polyklonale Antikörper noch keinen adäquaten *in vitro* Ersatz. Monoklonale Antikörper werden zwar in Zellkultur produziert, die Generierung der entsprechenden B-Zell Hybridoma Klone erfordert aber ebenfalls die Immunisierung und letztlich Tötung von Versuchstieren (Maus, Ratte, Hasen etc). Standardisierte Immunisierungs-Protokolle gepaart mit der Durchführung dieser Versuche durch entsprechend sehr gut ausgebildetes Personal gewährleistet, dass das Leiden der Tiere in Bezug auf den Zeitraum sowie Höhe der Belastung (Stress, Folgen der Injektion) minimiert wird. Die artgerechte Haltung der Versuchstiere erfolgt ebenfalls nach neuestem Stand des Wissens. Die Experimente mit dem jeweiligen Antigen werden ad hoc terminiert sobald aus Literatur Recherche bzw. über internationale Kontakte und Meetings bekannt wird, dass Antikörper dafür schon existieren und von der/den Arbeitsgruppe(n) ohne nichterfüllbare Auflage(n) zur Verfügung gestellt werden. Gleiches gilt natürlich auch, sollte/n diese inzwischen käuflich erwerbbar werden.

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

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

Ziel dieses Projektes ist es, eine orale Formulierung für das bisher nur parenteral verabreichbare Bendamustin zu entwickeln und in vivo zu evaluieren. Bendamustin, ein N-Lost Derivat und zur Gruppe der alkylierenden Zytostatika gehörend, wird zur Behandlung chronisch lymphatischer Leukämien und Non-Hodgkin-Lymphom eingesetzt. Die Entwicklung eines oralen Abgabesystems für dieses Medikament ist für die Patienten von größtem Nutzen, da unerwünschte Nebenwirkungen wie Angst vor der Injektion, Schmerz der Injektionsstelle sowie das Injektionsrisiko vermieden werden könnten. Die neu entwickelte Darreichungsform soll in Kombination mit mukoadhäsiven Polymeren eine kontrollierte Wirkstofffreisetzung ermöglichen und Schwankungen in der Bioverfügbarkeit verhindern. Um eine mögliche Belastung der Versuchstiere zu reduzieren, wird die Zeit des Experiments auf ein Minimum verkürzt.

2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben

Für den Versuch werden 20 männliche Ratten (Spargue Dawley) benötigt, die in 4 Gruppen mit jeweils 5 Tieren unterteilt werden.

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) -Text hier eingeben das Leid der Versuchstiere zu vermeiden oder zu verringern:

Die Entwicklung einer oralen Applikationsform für ein Zytostatikum, welches bisher nur parenteral verabreicht wird, stellt eine enorme Verbesserung in der Patientenversorgung und Compliance dar. Damit die Tierversuche nicht unnötig durchgeführt werden, wurden bereits vorab in vitro Experimente praktiziert. Um jedoch die Bedingungen so real wie möglich zu gestalten, sowie eine sichere und optimale Darreichungsform zu entwickeln, sind die Versuche am Tier unerlässlich. 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.

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

Mutationen im CACNA1D Gen führen bei Menschen zu Hypertonie und vermehrter Aldosteronsekretion und in schwereren Fällen auch zu Symptomen von Seiten des Gehirns und des Herzens. Bis heute ist lediglich bekannt, dass diese Mutationen zu einer abnormen Aktivierung eines bestimmten Ionenkanals führen. Unverstanden ist hingegen, wie diese Aktivierung zu veränderter Funktion in den betroffenen Geweben führt. Besseres Verständnis dieses Mechanismus könnte helfen, Krankheiten welche durch eine Überfunktion dieses Kanals ausgelöst werden, besser zu behandeln (z.B. durch Blocker dieser Kanäle). Ziel dieses Projekts ist es daher ein Mausmodell zu entwickeln, welches eine dieser menschlichen Mutationen trägt. In diesem Projekt werden diese Mäuse im Rahmen einer Kooperation mit einem ausländischen Partner hergestellt und im eigenen Labor gezüchtet. Es werden keine Experimente am lebenden Tier durchgeführt. Die Tiere werden lediglich zur Entnahme von Organen gezüchtet und mit speziellen Mausstämmen (sog. transgenen Cre-Mäusen) verpaart. Sollte die Mutation zu schweren Symptomen führen, werden die Mäuse sofort nach Auftreten dieser Symptome schmerzlos getötet und die Organe zur Analyse entnommen. In einem kollektiven Ansatz zur Verminderung der Anzahl von Versuchstieren entsprechend den Prinzipien der Europäischen Richtlinien wird eine Gesamtzahl von insgesamt 980 Versuchstieren für die geplanten Experimente für einen Zeitraum von vier Jahren beantragt. Diese werden ausschließlich für Zuchtzwecke verwendet und erfordern eine Genotypisierung durch Entnahme einer winzigen Gewebeprobe. In allen Stadien des Projekts werden sog. "break points" implementiert, also Kriterien, anhand welcher entschieden werden soll, wie lange Tiere allfälligem Leid (sofern dieses durch die Mutation nach Geburt überhaupt auftritt) ausgesetzt sein dürfen.

Implementierung der "3 R":

1. Basierend auf engmaschiger Kontrolle der Tiere kann die Zahl der für die Zucht (und Organentnahmen) nötigen Tiere für die einzelnen Experimente auf das minimale Maß reduziert werden.
2. Implementierung spezifischer "break points" (siehe oben) stellt wissenschaftlich ungerechtfertigte Verwendung sicher.

Es werden alle nötigen Maßnahmen ergriffen, um nicht nur die Anzahl der Versuchstiere zu reduzieren, sondern auch um jegliche unnötige Belastung zu verhindern. Die Tiere werden regelmäßig sowohl von wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen als auch von ausgebildeten Tierpflegerinnen auf ihr Wohlbefinden überwacht und im Falle unnötigen Leids sofort mittels Überdosis eines Anästhetikums eingeschläfert. Mäuse stellen für diese Untersuchungen den international akzeptierten und verwendeten Modellorganismus dar. In diesen lassen sich sowohl genetische Veränderungen (einschließlich solcher die spontan bei Menschen auftreten) einbringen und auch humane Erkrankungen (wie die oben geschilderten) simulieren. Damit kann durch die gezielte Aktivierung (oder Inaktivierung) bestimmter Ionenkanäle ihre krankheitsrelevante Rolle bei diesen Störungen genau studiert werden und somit auch die mögliche Wirksamkeit von Medikamenten vorhergesagt werden. Bei entsprechendem Nachweis ermöglicht dies möglicherweise die Entwicklung von neuen Medikamenten gegen diese Erkrankungen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2018 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 mittel lt. TVG 12 §3 (1) zuzuordnen. Die zu untersuchenden Tiere sind Spargue Dawley Ratten (132 Tiere). Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie, 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. Eine rückblickende Bewertung wird jeweils am 31. Dezember stattfinden.

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

Punkt 1

Zweck des Tierversuches ist die Verhinderung von Abstoßungen von transplantierten Organen (insbesondere Niere und Herz). Organabstoßungen führen zum Verlust des betroffenen Organes und auch zum Tod des Patienten wenn sie nicht mit massiver Chemotherapie behandelt werden, die das Immunsystem des Empfängers niederschlägt. Es wäre optimal, wenn Abstoßungen überhaupt verhindert werden könnten. Das folgende Projekt entwickelt die Beobachtung, dass neugebildete Lymphgefäße in transplantierten Organen durch das Anlocken von immunsupprimierenden Zellen eine neue Möglichkeit der Organtoleranz bieten könnte und damit eine Abstoßung verhindert. Dazu werden die Nieren von Mäusen, in welchen die Dichte der Lymphgefäße durch genetische Maßnahmen erhöht oder reduziert werden können, in andere Mausstämmen transplantiert und damit eine Abstoßungsreaktion in der Niere hervorgerufen. Es soll untersucht werden, ob eine massive Erhöhung der Lymphgefäße in den Spendernieren zur Toleranz führt. Angesichts des möglichen großen Nutzen für den Menschen, erscheint der zu erwartende Schaden, der den Mäusen zugefügt werden muss, als akzeptabel.

Punkt 2

280 Mäuse

Punkt 3

Am menschlichen Biopsiematerial wurde ein Trend zur Verbesserung der Transplantat Stabilisierung bereits beobachtet. Allerdings bedarf es eines Tiermodells, um die genauen Umstände der Organduldung zu erforschen und schlussendlich der humanen Transplantation zugänglich zu machen. Angesichts der zu erwartenden chirurgischen Problematik ist die angesetzte Zahl von Tieren in den Versuchsreihen notwendig, um statistisch sinnvolle Aussagen machen zu können.

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

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

Versuche am isolierten Herzen sind für die kardiovaskuläre, hämodynamische sowie die pharmakologische Forschung seit Jahrzehnten etabliert, Basis der Erythrozytenperfusatlösung bildet aufbereitetes Rindervollblut

Die Belastung der Tiere während und nach der Blutabnahme ist als gering einzustufen. Die entnommene Blutmenge ist so gewählt, dass für die Tiere kein Schaden entsteht. Jedes Rind wird maximal zweimal pro Jahr zur Blutentnahme herangezogen, um eine ausreichende Blutbildung zu gewährleisten.

2. Art und Anzahl der Tiere

26 Vollblutpunktionen an 13 Rindern pro Jahr

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

Die Blutabnahmen werden durch qualifiziertes Personal durchgeführt. Es wird nur so viel Blut wie nötig abgenommen.

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

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

Ziel ist, die onkogene oder tumorsupprimierende Wirkung der beiden Transkriptionsfaktoren cJun und JunB auf die Entstehung von Prostatakarzinomen zu untersuchen. Das Wachstum der Tumore soll in den verschiedenen Mausstämmen über eine Versuchsdauer von 19 bzw. 45 Wochen untersucht werden, um auch zeitliche Faktoren im Krankheitsverlauf berücksichtigen zu können. Es wird ein gesteigertes oder gesenktes Tumorstadium von mindestens 25% bei Knockout von cJun und JunB erwartet. Metastasierung wird in dem Untersuchungsintervall nicht erwartet.

Die Wirkung von cJun und JunB auf den Androgenrezeptor, der eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Prostatakarzinoms spielt, soll untersucht werden. Die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sollen mit Hilfe der den Versuchsmäusen entnommenen Tumore durch *in vitro* Versuche aufgeklärt werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Pten-Mausmodell: 600 Mäuse/Jahr, inklusive Zucht → 1.800 Mäuse/3 Jahre

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

Das Design dieser Studie fand unter genauer Berücksichtigung der 3R Regeln statt, wobei hierbei auch besonderes Augenmerk darauf gelegt wird, die Anzahl der verwendeten Tiere durch verbesserte Zuchtplanung so gering wie möglich zu halten. Die Anzahl der Tiere wurde nach Berechnung der Stichprobengröße auf das erforderliche Mindestmaß reduziert. Die Tierhaltung und Durchführung der Studie erfolgt unter standardisierten Bedingungen, sodass die Streuung der Ergebnisse weitgehend reduziert werden kann.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen
Atherosklerose und deren klinische Komplikationen, wie Myokardinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen Hypercholesterinämie und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für Die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. Bei den geplanten Versuchen handelt es sich um Tierversuche ohne operative Eingriffe, es werden Zellen des Knochenmarks durch intravenöse Injektionen zwischen den transgenen Mauslinien übertragen. Dies kommt einem Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis gleich. Im Detail sollen hierbei verschiedene Gruppen von genetisch modifizierten Mäusen hinsichtlich des Ausmaßes atherosklerotischer Gefäßveränderungen untersucht werden. Durch die Durchführung der beschriebenen Versuche soll die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose besser verstanden werden, wodurch in Zukunft neue Vorbeugungs- und Therapieansätze entwickelt werden könnten.

2. Art und Anzahl der Tiere: 90 Mäuse

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, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. Die Fragestellung (Funktion des Fehlens von MGL bzw CGI58 in Makrophagen und Auswirkungen auf die Bildung atherosklerotischer Plaques) ist nur in vivo zu beantworten.

Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei den Kontrollen und Messungen, etc. zu minimieren.

Ziel des Projektes ist die translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten bei Menschen sowie die Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln.

Das Projektziel ist die Erforschung, Entwicklung und Evaluierung von neuartigen Impfstoffkandidaten zur Behandlung von (nosokomialen) Infektionskrankheiten, welche aufgrund weltweit auftretender multi-resistenter „Superkeime“ ein schwerwiegendes Problem darstellen. Die humanen Krankheitsverläufe dieser Infektion sind in großem Ausmaß letal und stellen für bestehende Gesundheitssysteme, aufgrund der wesentlich limitierten Behandlungsmöglichkeiten, eine signifikante Belastung dar.

Das humane, klinische Bild dieser Erkrankungen kann wesentlich durch Verwendung von vernünftig aufgesetzten Tiermodellen, welche die Impfstoffentwicklung erst ermöglichen, repliziert werden. Aus diesem Grund liegt der zu bemessende Schaden der Tiere wesentlich unter dem zu erwartenden Nutzen der zu erwartenden Versuchsergebnisse sowie dem Wohl der Patienten. Die zur Anwendung kommenden Mausmodelle repräsentieren sehr gut etablierte Testsysteme, die weltweit für Wirksamkeitsstudien herangezogen werden.

Bei den geplanten Experimenten ist die voraussichtliche Belastung der Versuchstiere im Falle von subletalen Modellen als „leicht“ (~ 10 % der beantragten Versuchstiere) bis „mittel“ (~ 20% der beantragten Versuchstiere) beziehungsweise im Fall letaler Modelle als „schwer“ (~ 70% der beantragten Versuchstiere) zu bemessen.

In der Studienzeit von 3 Jahren werden maximal 8.200 Mäuse eingesetzt. Alle Versuche werden in unterschiedlichen Stämmen weiblicher oder männlicher wild-typ Mäuse aus akkreditierten Zuchtbetrieben durchgeführt. Das Alter entspricht bei Versuchsbeginn mindestens der 6. Lebenswoche.

Die geplanten Versuche konnten aufgrund international anerkannter Methoden und hoch-moderner Optimierung (in vitro als auch in vivo) sowie Ergebnissen aus vorangegangenen Tierversuchen (Erkenntnisse zur statistischen Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit der Versuche) auf ein notwendiges Minimum an einzusetzenden Versuchstieren reduziert werden. Im Rahmen dieser Versuche wird allen Anforderungen Rechnung getragen, die zur Vermeidung, Verminderung sowie Verfeinerung der Tiermodelle beitragen.

Eine rückblickende Bewertung wird am Ende des Tierversuches (2017) stattfinden.

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

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

Schimmelpilze der Gattung *Alternaria* befallen geerntete und gelagerte Nahrungsmittel und sind wesentliche Kontaminanten gekühlter Früchte und Gemüse. Von ca. 120 *Alternaria*-Sekundärmetaboliten werden ca. 30 als toxisch für Mensch und Tier eingestuft. Die toxikologische Relevanz für den Menschen ist jedoch ungeklärt, da für die Mehrzahl der Toxine ihr Potential, im Besonderen potentielle genotoxische Mechanismen, nie untersucht wurden. Als Folge gibt es weltweit bis jetzt keine Regelungen dafür. *Alternaria*-Toxine repräsentieren sogenannte "emerging mycotoxins", da sie zwar nicht kontrolliert werden, aber in den letzten Jahren die Evidenz der Notwendigkeit von Studien zur toxikologischen Relevanz wächst. Extrakte von *Alternaria alternata* besitzen genotoxische und mutagene Eigenschaften. Das geplante Forschungsprojekt soll das genotoxische Potential der *Alternaria*-Inhaltstoffe klären unter besonderer Berücksichtigung des Phase I und II Metabolismus und ob "DNA adduct formation" auftritt. Biomarker, die unter *in vitro* Bedingungen identifiziert wurden, sollen im Tierversuch überprüft werden, einschließlich Topoisomerase-Interferenz und Induktion von oxidativem Stress. Das Ziel ist, die toxikologische Bedeutung von *Alternaria*-Toxinen in Nahrungsmitteln zu klären.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

100 Ratten

3. Angaben über die Erfüllung der 113R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung).

Dem Tierversuch gehen umfangreiche *in vitro* Untersuchungen voraus. Deren Ergebnisse müssen zum Teil *in vivo* verifiziert werden, um Rückschlüsse auf eine eventuelle Gefährdung des Menschen ziehen zu können. Die akute Toxizität von *Alternaria*-Toxinen ist niedrig. Durch die gewählten Untersuchungszeitpunkte von 3 bzw. 24 h nach Verabreichung ist keine nennenswerte Belastung der Tiere zu erwarten.

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

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

Das Bakterium *Staphylococcus aureus* ist ein Teil der normalen Bakterienflora des Menschen und besiedelt vor allem die Haut und die oberen Atemwege von 10-30% aller Menschen. Es kann aber auch schwere Infektionen verursachen, die zu Hautabszessen, Wundinfektionen und lebensbedrohenden Zuständen, wie etwa Sepsis und Toxic Shock Syndrome (TSS) führen können.

Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S.aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. Besonders in Kliniken (z.B. auf Intensivstationen) kommt es nach Operationen und/oder durch eine geschwächte Immunabwehr zu Staphylokokken Infektionen mit schwerwiegenden Folgen. Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten.

Nun soll ein entwickelter Kandidatimpfstoff gegen *S. aureus* einer klinischen Prüfung an humanen Probanden unterzogen werden. Zuvor muß dieser Impfstoff um unerwünschte pharmakologische Wirkungen auszuschließen auf eine eventuelle blutdrucksenkende Wirkung im Tier getestet werden. Die Messung erfolgt über die zentrale Ohrarterie. Eine Narkose der Tiere ist nicht notwendig. Die Belastung der Tiere durch die Messmethode und durch die Applikation der Vakzine ist geringgradig.

2. Art und Anzahl der Tiere

15 Kaninchen

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

Die Versuche sind erforderlich um eine weitgehende sichere Anwendung bei humanen Probanden in der klinischen Studie zu gewährleisten und können nicht durch in-vitro Untersuchungen ersetzt werden. Es werden die minimal erforderlichen Tierzahlen verwendet um ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten. Die Studie erfolgt unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen.

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

Ad 1. Mehr als 90% aller Karzinompatienten versterben an der Metastasierung des primären Tumors in Fernorgane. Die molekularen Mechanismen, die der Dissemination von Karzinomzellen zugrunde liegen, sind bisweilen wenig untersucht. In diesem Projekt wollen wir die Rolle möglicher Schlüsselgene in der Tumorprogression und Metastasierung untersuchen. Dazu werden genetisch modifizierte Karzinomzellen der Maus sowie des Menschen nach (i) subkutaner Implantation, (ii) orthotoper Transplantation sowie (iii) Injektion in die Schwanzvene von immundefizienten Mäusen auf eine mögliche Tumorentstehung und/oder metastatische Kolonienbildung makroskopisch, zell- und molekularbiologisch analysiert. Durch diese Tierversuche werden die funktionellen Einflüsse spezifischer Genprodukte an der Karzinomprogression bestimmt, um in weiterer Folge neue diagnostische und verbesserte therapeutische Strategien zur Tumorbekämpfung zu entwickeln.

Ad2. Für die statistische signifikante Auswertung der Versuchsergebnisse sind 725 immundefiziente Mäuse notwendig.

Ad 3. Um die Zahl der Tierexperimente zu vermindern, werden weitestgehende Zeilkultur-Experimente im Vorfeld durchgeführt. Ferner wird mit verfeinerten Methoden der Tierhaltung darauf geachtet, den Stress für die Versuchstiere zu reduzieren.

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

Veränderungen in unserem Lebensstil sind Ursache einer besorgniserregenden Zunahme des Typ 2 Diabetes („Zuckerkrankheit“ = erhöhte Glukosekonzentration im Blut). Vor diesem Hintergrund besteht die dringende Notwendigkeit, Strategien zur Prävention und Behandlung dieser Stoffwechselstörung zu entwickeln. Das vorliegende Projekt beschäftigt sich mit aktuellen Fragestellungen zu diesem Themenkomplex und untersucht die Wirkung diverser Interventionen auf den Glukosestoffwechsel von Mäusen und Ratten.

Das Projekt besteht aus drei Teilen: *Teil 1* untersucht, wie neu entwickelte Appetithemmer (sogenannte MCH1-Antagonisten) auf den Glukosestoffwechsel wirken. Die erwarteten Ergebnisse sind für die weitere Entwicklung und für die Einschätzung der zukünftigen Brauchbarkeit solcher Mittel entscheidend. Diese Experimente haben unter anderem das Potenzial, unbrauchbare Substanzen mit nachteiligen Eigenschaften zu identifizieren und so zur Reduktion bzw. Vermeidung tierverbrauchender Entwicklungsprogramme beizutragen. *Teil 2* vergleicht die Wirkung von reduziertem Sauerstoff in der Atemluft mit jener des derzeit meistverwendeten Medikaments für Typ 2 Diabetes (Metformin). Dies ist unter anderem für das Verständnis der Wirkungsweise von Metformin wichtig, weil Metformin eine hemmende Wirkung auf die Zellatmung haben dürfte. Die Informationen könnten zur zukünftigen Entwicklung optimierter Behandlungsstrategien wesentlich beitragen. *Teil 3* beinhaltet die erstmalige Untersuchung der antidiabetischen Wirksamkeit von Substanzen, die aus einem Naturheilmittel entwickelt wurden und als neue Diabetesmedikamente in Frage kommen.

Für die geplanten Untersuchungen werden insgesamt maximal 264 Mäuse und 555 Ratten benötigt.

Die Versuche am intakten Organismus werden im Sinne des Replacement (Vermeidung von Tierversuchen) durch in Vitro-Untersuchungen ergänzt. Sie können aber nicht gänzlich durch in Vitro-Forschung ersetzt werden, weil es in allen Teilen des Projekts um Wirkungen auf die Blutglukose geht, die im Zusammenspiel vieler, teilweise noch ungeklärter, Mechanismen und Organe reguliert wird. Durch vorausschauende Fallzahlberechnungen, entsprechende Planung der Abläufe, sowie durch standardisierte Haltungsbedingungen und Versuchsprotokolle wird im Sinne der Reduktion (Verminderung von Tierversuchen) maximaler Informationsgewinn bei minimaler Tierzahl sichergestellt. So ist beispielsweise die Reihenfolge der Untersuchungen bewusst in einer Weise gestaltet, dass zuerst in Experimenten mit äußerst geringem Belastungsgrad und Tierbedarf Informationen über geeignete Dosierungen und Versuchsbedingungen gesammelt werden. Auf Basis dieser Daten kann der Bedarf an nachfolgenden Versuchen minimiert werden.

Im Sinne des Refinement (Verfeinerung von Tierversuchen) entsprechen die eingesetzten Arten, Stämme und Krankheitsmodelle (= Tiere mit erblichem oder ernährungsbedingtem Übergewicht), sowie das Verwendungsalter der Tiere langjährigen Konventionen in der Stoffwechselforschung, sodass auch bei geringem Tierverbrauch bestmögliche Vergleichbarkeit und Interpretationssicherheit in Bezug auf frühere Ergebnisse besteht. Versuchsabläufe und Haltungsbedingungen sind standardisiert und folgen dem aktuellen Stand der Wissenschaft.

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

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

Die Medikation mit Statinen beugt Herz-Kreislaufkrankungen vor, indem die Produktion von Cholesterin in der Leber gesenkt wird und der Cholesterinspiegel im Blut sinkt. Statine hemmen aber nicht nur die Synthese von Cholesterin, sondern auch von anderen wichtigen Verbindungen, sodass Patientinnen auf Statinmedikation mit zum Teil starken Nebenwirkungen wie Muskelschmerzen konfrontiert sind.

Wir haben Substanzen identifiziert, die in Zellkulturversuchen die Produktion von Cholesterin spezifischer als die Statine hemmen, weil sie einen anderen Syntheseschritt blockieren. Für diese Substanzen wollen wir im Tierversuch folgende Hypothese prüfen: Die von uns identifizierten Cholesterinsyntheseinhibitoren erhöhen die Cholesterinaufnahme in die Leber von Mäusen, senken den Plasmacholesterinspiegel und vermindern die Entstehung von Arteriosklerose.

Dazu sollen 4 Substanzen, die in Zellkulturversuchen umfassend getestet wurden, in Mäusen durch Applikation über zwei Wochen getestet werden. Substanzen, die die Cholesterinsynthese senken und die Cholesterinaufnahme in die Leber erhöhen werden weiter in transgenen Mäusen getestet um humane Fettstoffwechselstörungen nachzustellen.

Wir erwarten von diesem Tierversuch einen Beitrag zur Entwicklung neuartiger Lipidsenker. Diese sind in Zeiten des Nahrungsüberangebots und der erhöhten Fettaufnahme in industrialisierten Ländern von immenser Bedeutung.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Mit diesem Antrag wird um Tierversuchsbewilligung für maximal 315 Mäuse unterschiedlichen Genotyps ersucht.

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

ad Vermeidung:

Der Erkenntnisgewinn dieser Studie kann nicht aus bereits verfügbaren Daten abgeleitet werden. Für die Regulation des Plasmacholesterinspiegels und der Entstehung von Arteriosklerose sind keine adäquaten Zellkulturmodelle verfügbar, da diese Prozesse im Zusammenspiel von Leber, Niere, Darm, Fettgewebe, Blutgefäßen, Immunzellen und Plasmaenzymen moduliert werden. Geeignete Ersatzmethoden stehen daher nicht zur Verfügung und der Nachweis über die Wirksamkeit der Inhibitoren kann nur mit Hilfe von Tierversuchen analysiert werden.

ad Verminderung:

Die Anzahl der benötigten Versuchstiere wurde durch statistische Fallzahlberechnung bestimmt und ist so niedrig wie nötig gehalten. Die Hypothesen werden in drei Versuchszielen abgearbeitet, wobei für jedes Versuchsziel Hauptzielparameter definiert werden. Ausschließlich Substanzen, die die Hauptzielparameter eines Versuchsziels erreichen, werden im nächsten Versuchsziel getestet. Dadurch wird garantiert, dass nur die wirksamsten Substanzen umfassend getestet werden, was zu einer Reduktion der Tieranzahl führt.

ad Verfeinerung:

Die Inhibitoren wurden in Vorversuchen in Zellkultur umfassend getestet, sodass nur vielversprechende und wirksame Substanzen im Tierversuch getestet werden. Die Verwendung eines etablierten Tiermodells garantiert das erfolgreiche Testen der gestellten Hypothesen unter minimaler Belastung der Tiere.

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

Ad 1:

Ziel der vorliegenden Studie ist es, ein bestehendes optisches Kohärenztomographie (OCT)-System zur Messung von Gefäßen in der Netzhaut auf das Minischwein zu transferieren. In diesen Tieren soll ein Vitrektomiemodell etabliert werden, um in weiterer Folge Substanzen zu testen, die als Ersatz ihr den Glaskörper des Auges eingesetzt werden können.

Die Pars plana Vitrektomie ist die erste Wahl bei der Behandlung unterschiedlicher Netzhauterkrankungen des Menschen, wobei für den Erhalt der Funktionsfähigkeit des Auges der Ersatz des Glaskörpers nach diesem Eingriff von essentieller Bedeutung ist. Trotz jahrzehntelanger Forschung konnte noch kein ideales Material gefunden werden, das als permanenter Vitreusersatz uneingeschränkt geeignet ist.

Biopolymere gelten nun seit längerem als potentieller Vitreusersatz nach durchgeführter Vitrektomie, da sie gegenüber Silikonöl einige Vorteile besitzen. Sie haben positive Eigenschaften wie verringerte biologische Abbaubarkeit, antiinflammatorische, gefäßerweiternde und neuroprotektive Wirkung bei einem annähernd gleichen Brechungsindex wie der Glaskörper. Da das Schweineauge dem des Menschen sehr ähnlich ist, wird diese Tierart für Untersuchungen am Auge herangezogen. Im Rahmen dieser Studie sollen die Eigenschaften einer potentiell als Glaskörperersatz eingesetzten Substanz untersucht werden.

Ad 2:

18 Minischweine

Ad 3:

Das vorliegende Projekt hat zum Ziel, eine vielfach durchgeführte Messtechnik der Augengefäße (OCT) kombiniert mit einer international anerkannten Operationstechnik (Vitrektomie) im Minischwein zu etablieren.

Es steht derzeit kein ausreichend komplexes in vitro Ersatzmodell für diese Fragestellung zur Verfügung. Die zu applizierenden Versuchssubstanzen gelten auf Grund von in der Literatur beschriebenen Tests als unbedenklich.

Eine Fallzahlberechnung zur Reduktion der benötigten Gruppengrößen bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen wurde durchgeführt. Alle Haltungs- und Versuchsbedingungen sind standardisiert, um die Streuung der Versuchsergebnisse möglichst gering zu halten.

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

Ad 1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens
Lipide sind für die Funktion und das Weiterleben jeder Zelle lebenswichtig, weil sie als die Hauptkomponenten der biologischen Zellmembranen benötigt werden. Lipidstoffwechsel ist sehr komplex und erzeugt kraftvolle Signalmoleküle im Zentralnervensystem und im peripheren Nervensystem. Endocannabinoide sind eine Klasse der Lipide, die Cannabinoidrezeptoren aktivieren, um die intrazelluläre Kommunikation zu kontrollieren. Obwohl die psychologischen Effekte der Lipide- und Endocannabinoidsignalisierung bei Erwachsenen gut verstanden werden, ist ihre Rolle in der embryonalen Entwicklung noch unklar. In der letzten Zeit haben wir bewiesen, dass diese Lipide wichtige Signale sind, um Neurone während der Entwicklung des Gehirns zu platzieren und zu differenzieren. Insbesondere haben wir gefunden, dass Lipide die Entstehung von bestimmten Kommunikationsverbindungen (Synapsen) zwischen den Neuronen kontrollieren. Wir fanden, dass Veränderungen im Lipid-Signal-Weg zur Beeinflussung des Proteinnetzwerks "zur falschen Zeit am falschen Ort" bei schwangeren Müttern induziert wird, wodurch ein Ungleichgewicht während der Entwicklung entsteht, und die falschen Neurone mit einander verbunden werden. Eine Störung der Entwicklung der Lipidsignalisierung kann auch neuropsychiatrische Störungen wie Schizophrenie, Epilepsie, Alzheimer-Krankheit und Parkinson-Krankheit beschleunigen. Weil Endocannabinoide Lipid-basierte Moleküle sind, können auch fettreiche Diäten den Spiegel an Endocannabinoiden sowohl bei der Mutter als auch bei dem sich entwickelnden Fötus beeinflussen. Diese molekularen Mechanismen, die für die Endocannabinoidsignalisierung im fötalen Gehirn zur Entwicklung von neuropsychiatrischen Krankheiten und Verhaltensdefiziten, der Entstehung einer fehlerhafter Schmerzschaltung oder Fettleibigkeit zugrunde liegen, sind aber noch unklar.

Ad 2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

2.270 Mäuse mit unterschiedlichen Genotyp

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

Zur Reduzierung und Verfeinerung der beantragten Tierstudie werden parallel und ergänzend verschiedene Zellkulturtechniken und Untersuchungen an Fruchtfliegen (*Drosophila melanogaster*) eingesetzt. Zur Verfeinerung werden zudem Mäuse unterschiedlichen Genotyps eingesetzt. Der Ersatz der Mäuse ist derzeit in dieser Studie nicht möglich, jedoch sollen für zukünftige Studien bereits Ersatzmöglichkeiten vergleichend geprüft werden. Zur Berechnung der minimalen Tierzahl und Gruppengröße wurde eine statistische Power Analyse durchgeführt, um ein aussagekräftiges signifikantes Ergebnis zu erlangen. Alle Tiere werden in optimalen standardisierten Haltungsbedingungen untergebracht und von geprüften und geschulten Tierpflegerinnen sowie Projektmitarbeiterinnen betreut.

Das Projekt dient der translationalen oder angewandten Forschung zur Entwicklung und Herstellung sowie Qualitäts-, Wirksamkeits- und Unbedenklichkeitsprüfung von Arzneimitteln. Das Arzneimittel soll der Vorbeugung oder Behandlung potentiell lebensbedrohlicher Erkrankungen dienen, weshalb die Verwendung von 11500 Tieren (10000 Mäuse, 1000 Ratten, 500 Kaninchen) gerechtfertigt ist.

Das Projekt wurde im Hinblick auf Verminderung (Verwendung geringstmöglicher Tierzahlen bei aussagekräftigen Ergebnissen), Verbesserung (in Tierhaltung und –verwendung) geprüft; die komplette Vermeidung ist aufgrund der Komplexität der Erkrankung und Therapie nicht möglich.

Die maximale Belastung wird als „gering“ eingestuft, es erfolgt keine rückblickende Bewertung (§30 Abs. 2 TVG 2012).

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

1. Projektziel

Das Frühsommermeningoenzephalitis (FSME) Virus ist ein bedeutender Krankheitserreger des Menschen in vielen Regionen Europas und Asiens. Um die biologischen Eigenschaften dieses Virus weiter zu erforschen, soll im Rahmen einer internationalen Zusammenarbeit die Struktur dieses Virus mittels modernster elektronenmikroskopischer Methoden aufgeklärt werden. Dazu werden Viruspräparationen aus verschiedenen Phasen des viralen Vermehrungszyklus hergestellt und inaktiviert. Um eine Kontamination der wissenschaftlichen Einrichtungen bzw. eine Infektion der Mitarbeiter zu verhindern, muss im Mausversuch (dem sensitivsten Virusnachweissystem) sichergestellt werden, dass die zu analysierenden Viruspräparationen vollständig inaktiviert sind.

2. Anzahl und Art der verwendeten Tiere

Für diesen Zweck werden insgesamt 110 Mäuse benötigt.

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“

Aufgrund der erfahrungsgemäß sehr effektiven Virusinaktivierungsverfahren ist mit einer nur geringen Belastung der Tiere zu rechnen. Es wird die minimal mögliche Anzahl von Mäusen ($n=10$) pro Viruspräparation eingesetzt und die Beobachtungsdauer beträgt 14 Tage. Die Tiere werden unter standardisierten Bedingungen gehalten.

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

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

Chronische Schmerzen sind weltweit ein bedeutendes Gesundheitsproblem. Sie verursachen nicht nur schweres Leid bei den betroffenen Patienten, sondern stellen auch für das Gesundheitssystem eine große Herausforderung dar. Wichtig sind bei chronischen Schmerzen neben dem sensorischen Aspekt vor allem die kognitiven und affektiven Komponenten. Psychiatrische/psychologische Komorbiditäten sind beim chronischen Schmerz weit verbreitet. Fast alle in der präklinischen Forschung verwendeten Schmerzmodelle in Ratten und Mäusen messen aber Schwellenantworten auf schmerzhafte Reize, und untersuchen damit vor allem spinale Mechanismen der Schmerzverarbeitung. Nur sehr wenige Verhaltenstests sind für die Messung der Schmerzempfindung unter Beteiligung supraspinaler Hirnzentren validiert. Deshalb soll mit dieser Studie ein neuer Test entwickelt werden, der unterschwellige Hitzereize mit aversiven Stimuli kombiniert. Dieser Test wird für gängige inflammatorische und neuropathische Schmerzmodelle bei Ratten validiert. Um zu untersuchen, ob es möglich ist, mit einem einzelnen Test den Einfluss von Medikamenten auf die verschiedenen Schmerzkomponenten (sensorisch und affektiv) zu differenzieren, werden unterschiedliche Arzneimittelklassen wie Opioide, Lokalanästhetika, angstlösende Medikamente und entzündungshemmende Substanzen eingesetzt. Dieser neue Verhaltenstest könnte die Entwicklung und die Einführung neuer Schmerzmittel in die Klinik verbessern und beschleunigen.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere.

Es werden maximal 261 Ratten verwendet.

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

Tierversuche mit geeigneten Modellen sind unverzichtbar für die Entwicklung von Arzneimitteln, welche in der Humanmedizin Verwendung finden sollen. Das Ziel dieser Studie ist die Entwicklung eines verbesserten Verhaltenstests zur Messung von Schmerzen, welcher klinisch relevanter ist als die vorhandenen. Dies erlaubt eine validere Forschung und dadurch eine Verringerung der notwendigen Tierzahlen, verglichen mit Tests, welche jeweils nur einzelne Aspekte des Schmerzempfindens messen können. Die Einbeziehung multipler Endpunkte (Schmerz, Vermeidung, Lokomotion, Angst) in demselben Experiment erlaubt die weitere Verminderung der Tierzahlen. Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch erforderliche Mindestmaß reduziert. Die Experimente sind aufeinander aufgebaut. Sollte ein vorhergehendes Experiment nicht erfolgreich sein, wird das Projekt abgebrochen.

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

Das Ziel dieses Projektes ist (I) die Etablierung eines nicht-invasiven nuklearmedizinischen Bildgebungsverfahrens, um Entzündungs- und Knochenumbauprozesse in Tiermodellen mit Gelenkentzündungen *in vivo* darstellen zu können und (II) die therapeutische Wirkung von Radiotherapienukliden in der entzündlichen Gelenkerkrankung zu untersuchen. Diese Untersuchungen sollen neue Erkenntnisse in der Pathogenese und der Behandlung der chronischen Polyarthritiden erzielen. Für die Durchführung dieser Studie wird eine maximale Anzahl von 141 transgenen und 129 nicht-transgenen Mäusen (*Mus musculus*) benötigt. Nicht-invasive *in vivo* bildgebende Verfahren unterstützen maßgeblich die Reduktion von Versuchstieren, da die Untersuchungen in ein- und denselben Individuen stattfinden können, wodurch zusätzliche Tiere für die Erhebung des Krankheitsstatus zu Therapiebeginn ausgeschlossen werden können. Zur Erfüllung der „3R“ wird im Rahmen dieses Projektes die Zahl der Tiere entsprechend der Fallzahlberechnung so gering wie möglich gehalten. Außerdem tragen die standardisierten Versuchsbedingungen zur Verringerung der Tieranzahl bei. An der Verbesserung der Durchführung wird stetig weitergearbeitet. Die gestellten Projektziele können nicht durch Ersatzmethoden wie *in vitro* Versuche ersetzt werden und dienen unmittelbar neuer klinischer Erkenntnisse.

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

Das Ziel dieses Projektes ist die Aufrechterhaltung einer transgenen Tierkolonie, die durch eine konstitutive Überexpression eines proinflammatorischen Zytokins eine spontane Gelenkentzündung entwickeln. Diese Kolonie wird international für die Untersuchung von neuen Therapiestrategien sowie zur Erforschung neuer molekularer Pathomechanismen eingesetzt. Für die Zucht wird eine Anzahl von 114 human Tumornekrosefaktor transgenen Zuchttieren (C57BL/6 Hintergrund) und 1830 Jungtiere (*Mus musculus*, C57BL/6 Hintergrund) benötigt. Weiters soll die Rolle von C-Typ-Lektin Rezeptoren in der Pathogenese der Gelenkentzündung untersucht werden. Für die Zucht werden 198 human Tumornekrosefaktor transgene Mäuse sowie 3500 Jungtiere benötigt. Unter Berücksichtigung der „3R“ werden alle transgenen Zuchttiere mit einem Zytokinblocker behandelt, um den Ausbruch einer Gelenkentzündung zu verhindern. Außerdem wird bei ausreichender Wurfgröße die Anzahl der Zuchttiere verringert werden. Im Rahmen dieses Projektes wird die Zahl der Tiere entsprechend der Fallzahlberechnung so gering wie möglich gehalten. Außerdem tragen die standardisierten Versuchsbedingungen zur Verringerung der Tieranzahl bei. An der Verbesserung der Durchführung wird stetig weitergearbeitet. Die gestellten Projektziele können nicht durch Ersatzmethoden wie *in vitro* Versuche ersetzt werden und dienen unmittelbar neuer klinischer Erkenntnisse.

Das Projekt dient dem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn in der biomedizinischen Grundlagenforschung.

Aufgrund der Genomforschung ist heute die Anzahl der Gene bei Modellorganismen wie der Maus, aber auch beim Menschen bekannt. Unser Wissen um die genaue Aufgabe der einzelnen Gene im Organismus ist allerdings noch sehr begrenzt. Genmodifizierte Mäuse sind heute ein anerkanntes und unerlässliches Mittel, um die Funktion spezifischer Gene zu analysieren. Systeme, die das gezielte Ein- und Ausschalten eines Gens zu einem bestimmten Zeitpunkt während der Entwicklung oder in einem spezifischen Gewebe erlauben, sind mittlerweile aus der Genforschung nicht mehr wegzudenken. "Knock-out Mäuse", bei denen mittels genetischer Manipulation gezielt ein Gen deaktiviert wurde, dienen dabei ebenso als zentrales Werkzeug wie transgene Tiere. Diese exprimieren das zu untersuchende Gen entweder höher als normal oder gar nicht.

In diesem Projektantrag geht es um immunologische Verfahren zur gezielten Aktivierung oder Inaktivierung der Genexpression. Den Versuchstieren - transgenen und Knock-out Mäusen sowie Kontrolltieren - sollen verschiedene Immunstimulanzien verabreicht werden, um so eine Immunantwort hervorzurufen. Die Reaktion des Immunsystems auf die Applikation des Antigens soll mittels klassischer immunologischer Methoden untersucht werden.

Ziel unseres Projekts ist es, im Mausmodell die Aktivität spezifischer Gene zu beeinflussen und deren Funktion bei der Blutzelldifferenzierung und während der Immunabwehr zu analysieren. Auch die Rolle dieser Gene bei der Tumorbildung soll im Detail geklärt werden. Unsere Versuche sollen dabei helfen, neue Erkenntnisse zur Auswirkung von Mutationen und zur Funktionsweise bestimmter Gene in einzelnen Organsystemen oder im gesamten Organismus zu gewinnen. Diese können auf lange Sicht zur Entwicklung effizienter Therapien gegen Leukämie und Immunerkrankungen beitragen.

Im Verlauf des gesamten Projekts werden Mäuse verschiedener Inzuchtstämme und gemischter Stämme unterschiedlichen Geschlechts verwendet. Transgene oder Knock-out Versuchstiere werden gemeinsam mit Kontrolltieren analysiert. Für einen Tierversuch werden durchschnittlich 20 experimentelle Tiere und 20 Kontrolltiere verglichen. Für das Projekt werden insgesamt 640 transgene Mäuse und 160 Wildtyp Mäuse benötigt. Die Anwendungen werden dem erwachsenen Tier verabreicht.

Die dem Projektantrag zugrunde liegenden Fragestellungen lassen sich nicht durch Untersuchungen von Zelllinien beantworten, sondern nur im intakten Organismus, wo vielfältige Wechselwirkungen zum Tragen kommen.

Der Einsatz von qualifiziertem und umfassend geschultem Personal sowie die Fachkompetenz der beteiligten WissenschaftlerInnen garantieren dafür, dass die Zahl der Tiere und die Schmerzen und Ängste, denen sie ausgesetzt sind, so gering wie möglich gehalten werden.

Die Auswirkungen der Applikationen und eventuelle Effekte auf Körpergewicht und das allgemeine Wohlbefinden der Tiere werden täglich kontrolliert. Treten vor dem geplanten Versuchsende beobachtbare pathologische Veränderungen oder andere für das Wohlbefinden des Tieres nachteilige Effekte auf, wird das Tier vor Ablauf der Versuchsdauer getötet. Das Töten von Versuchstieren erfolgt nach erprobten, weitgehend schmerz- und stressfreien Standardverfahren.

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

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

Bei der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) handelt es sich um eine Krankheit, bei der Patienten Lipide in der Leber akkumulieren. NAFLD-Patienten zeigen wenige bis keine Symptome, aber durch verschiedene Mechanismen kann die Beschaffenheit der Leber zu Krankheiten führen, welche im Schweregrad variieren können. Im schlimmsten Fall entwickeln NAFLD-Patienten Leberkrebs. Die genaue Ursache und der Mechanismus, die dem Voranschreiten der Krankheit zugrunde liegen, sind derzeit noch unbekannt. Jedoch spielen Fettleibigkeit und Insulin-Resistenz wahrscheinlich eine große Rolle im Krankheitsverlauf.

Lipasen sind Enzyme, die zum Abbau von Fetten in der Nahrung beitragen, sodass diese über den Dünndarm absorbiert werden können. Kürzlich wurde gezeigt, dass Mutationen in Lipase-Genen die Möglichkeit des Körpers Fett abzubauen verändern, wodurch die Anzahl der Fettdepots in der Leber erhöht wird. Bisher gab es nur wenige zufriedenstellende Studien, welche sich mit der Untersuchung der molekularen Mechanismen beschäftigen, bei welchen Schlüssel-Lipasen eine Rolle in der Entstehung von NAFLD spielen.

Basierend auf unseren bisherigen Resultaten vermuten wir, dass eine Mutation in der Lipase den Anstieg des Leberfettes verursacht, was schließlich zu NAFLD führen kann. Zusätzlich könnte diese Lipase eine Rolle in der Entwicklung von Leberzirrhose und Leberkrebs spielen. Aus diesem Grund wollen wir ein transgenes Mausmodell verwenden, welches diese Lipase in ihrer normalen und mutierten Form exprimiert.

Darüber hinaus wollen wir diese Mäuse verschiedenen Diäten aussetzen, damit wir untersuchen können, wie die mutierte Form der Lipase zur Pathologie von NAFLD und den damit verbundenen Begleiterscheinungen beiträgt.

Wenn sich unsere Hypothese bewahrheitet, sollten diese Mäuse eine erhöhte Lipidakkumulation in der Leber aufweisen und zusätzlich anfällig für Leberzirrhose und Leberkrebs sein. Dadurch könnte die Entwicklung von Medikamenten, welche die Aktivität dieser Lipase verändern, eine neue vielversprechende Strategie sein um Patienten mit NAFLD zu behandeln und folglich mögliche schwerwiegende Leberkrankheiten zu verhindern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Transgene Tiere: 888 und Nicht transgene Tiere: 232

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

- **Vermeidung:** Zur Verringerung beziehungsweise Vermeidung der Tierexperimente werden in vitro Experimente durchgeführt. In diesen Zellkultur-Experimenten werden wir die Überexpression von normalen und mutierten Lipasen (in der Zellkultur) studieren. Aufgrund dessen ist die Verabreichung dieser Komponenten an Tiere nicht notwendig.
- **Verminderung:** Um die minimal notwendige Anzahl an Tieren zu gewährleisten werden die Experimente sequentiell durchgeführt. Falls die erste Pilotstudie unsere Hypothese nicht belegt, werden keine weiteren Versuche durchgeführt.
- **Verfeinerung:** Alle angeführten experimentellen Techniken wurden in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt um bestmögliches Wohlergehen der Versuchstiere zu gewährleisten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Juli 2019 vorgesehen.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen Das Projektziel ist es durch diese Versuche neue Erkenntnisse über die Wirkungsweise von beta Rezeptorantagonisten am Auge zu gewinnen. Es werden Daten gewonnen die in Summe detailliert Auskunft über die Zusammenhänge von Durchblutungsregulation und Kammerwasserdynamik unter Einfluss von beta Rezeptorantagonisten geben. Diese Ergebnisse sind von enormen Nutzen für die Therapie von Patienten die an einer Erkrankung leiden, deren Ursache unter anderem durchblutungsbedingte Störungen sind, wie zum Beispiel dem grünen Star oder der altersbedingten Makuladegeneration.

2. Art und Anzahl der Tiere Die Durchführung der Versuche zu dieser Studie sind mit 84 Kaninchen Ouve Nile weiße Neuseeländer Kaninchen, 2-2,5 kg, im Zeitraum von 2 Jahren geplant. Diese Kaninchen sind nicht pigmentiert und daher ideal zur Messung der Durchblutung mittels Laser Doppler Flussmessung am Auge geeignet.

3. Erfüllung der "113R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) Messungen der Durchblutungsregulation am Auge haben eine große Bedeutung um das Regulationsverhalten bestimmter Durchblutungsgebiete wie etwa der Aderhaut und des Ziliarkörpers zu charakterisieren und den Einfluss von physiologisch aktive Substanzen aber auch von Medikamenten zu untersuchen. Diese komplexen physiologischen Zusammenhänge zwischen Durchblutung und starken Schwankungen des Blutdrucks sind nur in komplexen Organismen zu untersuchen und lassen sich nicht beispielweise in Gewebekulturen nachstellen. Zur Überprüfung der Versuchshypothese werden in verschiedenen Untergruppen mit einer Größe von bis zu 14 Tieren die einzelnen Fragestellungen beantwortet. Die Fallzahlberechnung ($\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$) beruht zum einen auf der Erfahrung unserer Arbeitsgruppe bezüglich der Standardabweichung von physiologischen Parametern bei Kaninchen. In jeder Versuchsgruppe erfolgt nach der Hälfte der beantragten Tiere eine Zwischenauswertung, gegebenenfalls wird danach die Anzahl der verwendeten Tiere reduziert, sollte der Effekt mit weniger Tieren statistisch signifikant darstellbar sein. Die Versuchstiere werden von _ angeliefert und mindestens für eine Woche in der laboreigenen Tierhaltung untergebracht. Während dieser Zeit werden die Tiere mehrmals wöchentlich von Tierpflegern betreut und einmal pro Woche die Käfige gereinigt. Die Tierhaltung befindet sich direkt im Anschluss an die Räumlichkeiten in denen die Versuche durchgeführt werden. Dadurch ergeben sich keine langen Transportwege von der Tierhaltung bis zum Tierversuchslabor und der Stressfaktor der Tiere wird nicht unnötig erhöht. Am Versuchstag wird das Versuchstier aus dem Käfig gehoben, abgewogen und in einem Restraîner platziert. Eine seitliche Ohrvene wird punktiert und Pentobarbital wird intravenös verabreicht. Innerhalb von 1-2 Minuten hat das Kaninchen das Bewusstsein verloren und in der darauffolgenden Minute das Stadium der Narkose erreicht. Somit dauert der gesamte Vorgang vom Herausnehmen des Kaninchens aus seinem Käfig bis zum Beginn der Narkose höchstens 3-4 Minuten und ist damit als äußerst stressfrei zu bezeichnen. Während des Versuchs wird die Narkose mit Pentobarbital aufrecht erhalten und am Ende des Versuchs eine Überdosis Pentobarbital verabreicht. Der Tod des Versuchstiers wird durch Herabfallen des Blutdrucks sowie aller Durchblutungsparameter auf Null und Aussetzen der Atemtätigkeit festgestellt. Durch diese Maßnahmen wurde versucht die Belastungen für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen Ziel dieser Studie ist die Testung eines neuen biomedizinischen Konzeptes, das auf der Modulation des Endothelin-Systems basiert und als Grundlage für die Entwicklung von neuen, verbesserten Therapieansätzen für Augenerkrankungen, die mit Durchblutungsstörungen assoziiert sind, dient. Die Ergebnisse aus diesem Projekt sollen ein Proof-of-Principle für die Durchführbarkeit und Wirksamkeit der Behandlung liefern. Der Nutzen daraus ist eine verbesserte Therapie von Durchblutungsstörungen im Auge, welche durch die lokale Applikation des inhibierenden Faktors eine systemische Applikation der Substanz umgeht und potentielle systemische Nebenwirkungen ausschließt.
2. Art und Anzahl der Tiere Für die Durchführung der Untersuchung werden insgesamt 186 juvenile weiße Neuseeländer Kaninchen benötigt. Das Kaninchenmodell ist ein bewährtes Modell in der experimentellen ophthalmologischen Forschung und gibt Einblicke in physiologische Prozesse, die für Anwendungen in der translationalen Forschung wesentlich sind.
3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) Physiologische und funktionelle Zusammenhänge in einem Organismus können nur bedingt unter in-vitro Bedingungen untersucht werden. Um eine genaue Aussage über die Verhältnisse im Organismus machen zu können, sind in-vivo Messungen unbedingt erforderlich. Studien belegen, dass das Endothelin-System im Kaninchen bereits sehr gut erforscht ist und dass Durchblutungsmessungen sehr gut durchführbar sind. Basierend auf den bereits publizierten Daten ist das Kaninchenmodell für das beantragte Projekt bestens geeignet, wodurch die Kriterien Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung erfüllt werden können. In diesem Sinne ist die Versuchsplanung auf eine Minimierung der Anzahl der Versuchstiere ausgelegt. Die Fallzahlberechnung ($\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$) beruht zum einen auf der Erfahrung bezüglich der Standardabweichung von physiologischen Parametern beim Kaninchen und zum anderen aus in der Literatur publizierten Daten.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen -Text hier eingeben
Traumatische Rückenmarksverletzungen führen zu schwerwiegenden, teils lebenslangen, Konsequenzen für das betroffene Individuum. Fortschritte der modernen Medizin erlaubten einen deutlichen Rückgang der Sterberate. Die Morbidität hingegen bleibt jedoch nach wie vor sehr hoch, da jedes Organsystem vom Rückenmark aus durch Efferenzen und Afferenzen innerviert wird. Neuere epidemiologische Daten zeigten eine höhere Inzidenz an traumatischen Rückenmarksverletzungen als bisher angenommen. Ein wichtiger Aspekt dabei ist, dass das Durchschnittsalter der Verletzung stetig zunimmt in Richtung einer älteren Hauptkohorte. Dies wird sich auch durch die Tatsache begünstigt, dass alters-assoziierte Krankheiten, wie degenerative Wirbelsäulenveränderungen und Diabetes parallel dazu zunehmen. Es ist daher absehbar, dass das Gesundheitssystem mehr und mehr mit älteren Querschnittspatienten umgehen müssen wird. Neueste klinische Arbeiten zeigten deutlich, dass ältere Personen verglichen zu einer jüngeren Querschnittsgruppe eine schlechtere Prognose und ein geringeres neurologisches Regenerationspotential aufwiesen. Es ist nun Aufgabe der Grundlagenforschung diese altersabhängigen Faktoren zu identifizieren und ausreichend zu charakterisieren. Mit diesem Projekt wollen wir die altersabhängigen Faktoren definieren und analysieren, da diese potentiell mit einem schlechteren Outcome einhergehen. Um diese Frage zu beantworten, würden wir ein Kontusionmodell verwenden, da dies der humanen Situation am nächsten kommt. Durch die Regenerationsfähigkeit von Nagetieren wird bei dieser Form der Rückenmarksverletzung kein andauernder schwerer Schaden erzeugt. Innerhalb der ersten zwei Wochen nach Eingriff ist eine partielle Wiederkehr einer gewissen Funktionsfähigkeit zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben

84 transgene Fischer 344 Ratte. Die gewählte transgene Linie exprimiert das Reporter-gen dsRed in neurale Vorläuferzellen. Die Ratten stammen aus der Eigenzucht.

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

Die oben angeführten Argumente legen einen in vivo Versuch nahe. Um Erkenntnisse für die humane Situation zu gewinnen, sind entsprechende Tierversuche unumgänglich und werden auch gefordert. Durch die gewählten -möglichst aseptischen -Operationsmethoden, ausreichender Anästhesie, Analgesie und Antibiose sowie sorgfältiger prä-und postoperativer Kontrollen kann die Anzahl der Tieren auf jenes Minimum reduziert werden, welches noch erlaubt statistische Vergleiche durchzuführen und mögliche Effekte weder über-noch unterzubewerten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31.12.2016 vorgesehen.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen: Das Tierversuchsvorhaben dient der Untersuchung der potentiellen Rolle des UCP2 Proteins bei der Entstehung von rhythmogenen Ereignissen. Im Projekt soll folgende Hypothese untersucht werden: Ein UCP2 Mangel kann über eine erhöhte ROS-Produktion und v. a. über einen möglichen eingeschränkten intrazellulären Ca²⁺-Kompensationsmechanismen bei erniedrigter mitochondrialer Ca²⁺-Aufnahme eine erhöhte Anfälligkeit des Myokards für Arrhythmien verursachen.

2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben

Maus, C57B/6 (wt):Anzahl: 30; Maus, ucp2-/(knock-out):Anzahl: 30

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

Vermeidung: Das EKG-Monitoring ist ein wenig invasives, valides Verfahren zur Überwachung von Rhythmusstörungen. Den Mäusen werden an den Extremitäten EKG-Elektroden angelegt. Um spontane/ mutationsbedingte bzw. narkosebedingte Arrhythmien auszuschließen, erfolgt zuerst ein basales EKG-Monitoring für einen Zeitraum von 5 Minuten. Nach diesem Zeitraum erfolgt eine intraperitoneal Medikamentengabe (Isoproterenol 2,5 mg/kg bzw. Bay K 8644 4 mg/kg bzw. Kontrollgruppe: 0,5 ml 0,9% NaCl). Danach erfolgt ein EKG-Monitoring für einen Zeitraum von 15 min. Die betäubten Tiere werden anschließend mittels Genickbruch getötet, um ein mögliches, unnötiges, postinterventionelles Leiden durch eine mögliche Medikamentenwirkung zu vermeiden. Weniger invasive, etablierte Methoden zur Rhythmusüberwachung finden sich in der Literatur nicht. Verminderung: Um gemäß good scientific practice (n=10) ein statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten, werden für dieses Projekt 30 Wildtyp Tiere und 30 UCP2 Knockout Tiere benötigt. Verbesserung: Um interventionsbedingten Stress zu minimieren, werden die Versuchstiere mittels Ketamin (150mg/kg; basierend auf Erfahrungswerten für männlich C57B/6) intraperitoneal betäubt. Die Mäuse werden in Bauchlage auf einer Wärmeplatte, die eine Körpertemperatur von 37°C gewährleistet, gelagert. Über eine Temperatursonde wird die Temperatur des Versuchstieres kontrolliert. Vor Beginn des EKG-Monitorings erfolgt die Überprüfung der Narkosetiefe mittels Testung des Zehenzwischenreflexes. Erst beim Auftauchen eines negativen Zehenzwischenreflexes wird mit dem eigentlichen Experiment begonnen. Während des EKG-Monitorings erfolgt in regelmäßigen Abständen die Überprüfung des Zehenzwischenreflexes, um eine ausreichende Narkosetiefe zu kontrollieren. Nach dem EKG-Monitoring werden die noch betäubten Tiere mittels Genickbruch getötet.

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

Zweck der Tierversuche: Ausbildung Ziel des tierexperimentellen Kurses: 24 hocherfahrene, interventionell tätige Endoskopiker in einer neuartigen endoskopischen Operationstechnik, der endoskopischen Submukosadissektion (ESD), experimentell auszubilden (d.h. Durchführung von je 5 ESDs und Komplikationsmanagement am lebenden Schwein [im Magen, Kolon, evtl. Ösophagus]), um sie auf die selbständige Durchführung von ESD-Eingriffen am Patienten vorzubereiten, also für ESD von mukosalen Frühkarzinomen oder Vorläuferläsionen (im Magen, Dickdarm, Ösophagus).

Nutzen: a) Allgemein: Nur die ESD ist ein tumorchirurgisch einwandfreies Verfahren zur Abtragung von Frühkarzinomen und präkarzinomatösen Neoplasien (z.B. lateral spreitende Tumore des Dickdarms = LSTs). Der größte Fortschritt der letzten Jahrzehnte in der Onkologie der Karzinome des Gastrointestinaltraktes ist die Frühdiagnose und die endoskopische Operation von Frühkarzinomen (Nutzen: Heilungsrate »95%, OP-Mortalität 0 -<1 %, minimal invasive OP mit erhaltener Organfunktion). Er muss umgehend in der westlichen Welt auf japanischem Qualitätsniveau etabliert werden. Diese neuartige OP-Technik ist auch für hocherfahrene interventionelle Endoskopiker sehr schwierig zu erlernen. Sobald die ESD in Mitteleuropa (in einigen Jahren) etabliert sein wird, wird die ESD ohne Tierversuche unter direkter Anleitung (Tutoring) am Patienten erlernt werden (wie in Japan). b) Ausbildung: Vorerst besteht noch dringender tierexperimenteller Ausbildungsbedarf für hocherfahrene interventionelle Endoskopiker aus Schwerpunktzentren. Durch das tierexperimentelle Training im Workshop unter direkter Anleitung von international anerkannten Experten wird die Risikoeinschätzung und die korrekte und schonendste ESD-Technik vermittelt. Dadurch werden die Risiken für die Patienten bei Anwendung der ESD minimiert. Begründung: Fünf Workshops (2009-2013) mit hocherfahrenen interventionellen Endoskopikern als Teilnehmern zeigten, dass diese trotz ihrer Grundkenntnisse in den neuen Messerpräparationstechniken durchaus Bedarf für ein intensives hands-on training in vivo haben. Die ESDs wurden zwar von den dreiköpfigen Teilnehmerteams (20 min Präparationszeit je Teilnehmer am selben Tier) relativ schnell durchgeführt (durchschnittliche Dauer von 57, 68, 67, 88 bzw. 92 min, [2009/2013]). Die hohe Komplikationsrate (33% Perforationen bezogen auf 74 Eingriffe [2009] bzw. 30% Perforationen bezogen auf 88 Eingriffe [2010]) reduzierte sich 2011, 2012 auf 9% bzw. 10,6%, und 2013 auf null. Die sichere Dissektionstechnik entsprach 2013 einer geringeren Geschwindigkeit (3,1 anstatt 4,1 bzw. 4,0 cm²/Std in 2012 / 2011). Am Jungschwein-Kolon wurden 34 ESDs (41 % Perforationen) im Workshop 2011, und 12 ESD mit 33% Perforationen im WS 2012 und 28 ESDs mit null Perforationen im WS 2013 durchgeführt. Dies zeigt auch die Präzision der Anleitung und Kontrolle durch die Tutoren (Verbesserung des Lehrerfolges). Denn am "hauchdünnen" Jungschwein-Kolon hatten früher auch japanische Experten bis zu 25% Perforationsrate. Das Jungschwein-Kolon verlangt noch akribischere ESD-Technik als das Kolon von Patienten. Schaden: Schaden am Patienten entsteht (nach tierexperimenteller Ausbildung der Endoskopiker), wenn a) Frühkarzinome mittels ESD schadhaft (Fehlbeurteilung durch den Pathologen) oder inkomplett (Tumorrezidiv) reseziert werden, oder b) eine Verletzung des Organs mit Folgen (Blutung, Perforation und Peritonitis) auftritt. a) Onkologische Risiken (Tumorstaging und Fehlbeurteilung, inkomplette Resektion) werden im Rahmen des Vorbereitungs-Seminars und des Theorie-Tages ausführlich demonstriert einschließlich der Strategien zur Risikominimierung. b) Organverletzungen (Blutung, selbst kleine Perforationen) werden von technisch hierfür versierten Endoskopikern ohne Schaden für den Patienten beherrscht. Es war allerdings ein wichtiger Kritikpunkt der Teilnehmer der Workshops 2009-2013, dass das Training des endoskopischen Komplikations-Managements nicht ausreichend gewesen sei. Inzwischen wurden auch hierzu eine Reihe von verfeinerten Techniken zur Stillung von (arteriellen) Blutungen oder Verschluss von Organperforationen (am Magen, Darm) publiziert. Dieses Defizit wird nun behoben durch Einführung je einer 4. Station pro Sitzung (s. Schema) zum Training der endoskopischen Versorgung von Komplikationen.

Begründung: Kleine ESD-Perforationen werden bei sachgerechtem endoskopischem Verschluss (Clipping) konservativ ohne Operation behandelt. Laut strukturierter Befragung haben die 18 Teilnehmer des ESD-Workshops 2009 in den nach-folgenden 12 Monaten 144 ESD, z.T. auch in schwierigeren Organen/Lokalisationen, an Patienten durchgeführt Sechs der Teilnehmer hatten 10-20 ESDs durchgeführt

und waren zu schwierigeren ESD Lokalisationen übergegangen. Insgesamt kam es zu Perforation bei 9,7% der 144 ESD. Die Perforationen wurden endoskopisch erfolgreich geclipped (6,2%) oder operiert (3,5%), es gab keine letalen Komplikationen und keine persistierende Morbidität. Die Komplikationsrate in der frühen klinischen Lernkurve lag aber damit im oberen Bereich der Studien der japanischen Literatur. Allerdings hatte eine französische Sammelstatistik (188 ESDs an 16 Zentren) über die ESD-Lernkurve ohne experimentelles ESD-Training sogar wesentlich höhere Perforationsraten gezeigt (insgesamt 18%, besonders in schwierigeren Lokalisationen: 50% im Caecum, 66% im rechten Colon und im Sigma, 100% im Duodenum) und 11,2% Blutungen. Durch dieses Training im Workshop wird die Risikoeinschätzung unter direkter Anleitung von international anerkannten Experten vermittelt und das ESD-Risiko für die Anwendung am Patienten bereits minimiert. Aber gezieltes Training des Komplikationsmanagements und damit sichere Beherrschung von Komplikationen in der Lernkurve machen die ESD noch sicherer für die Patienten.

2. Art und Anzahl der Tiere Art: Zuchtschwein (*Sus scrofa*) aus Nutztierhaltung. Speziell Jungschweine (20-25 kg) sind für Standardendoskope (aus Humanmedizin) anatomisch am besten geeignet. Tierversuchsumfang: 4 -5 ESDs pro Teilnehmer, nur 3 Teilnehmer pro Schwein, da sonst die hands-on Trainingszeit zu kurz bemessen ist. Insgesamt vier Trainingssitzungen je 4,5 Std) mit je 8 Trainingsstationen an zwei Tagen. Anzahl der Tiere: 4 x 8 Tiere = 32 Tiere. Reduktion der Anzahl verwendeter Tiere: Falls einzelne Versuchstiere nach der Morgensitzung so stabil sind, dass sie für die ganze Nachmittagsitzung verwendet werden können, reduziert sich die verwendete Anzahl an Tieren dementsprechend (z.B. um 4 Tiere, die dann in der Nutztierhaltung verbleiben).

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) a) Vermeidung von Verlusten verwendeter Tiere: Mortalität während des Tierversuchs: Die jungen Tiere sind respiratorisch sehr vulnerabel, ein Halbseitenpneumothorax führt (im Gegensatz zum Menschen) unverzüglich zum Tod durch Asphyxie. Die Tutoren bevorzugen dennoch dieses experimentelle Modell gegenüber maschinell beatmeten Tieren, da die intravenöse Narkose mit Spontanatmung eine hohe Analogie zum klinischen ESD-Eingriff zeigt und die Risikokonstellation an das Risikobewusstsein der Teilnehmer appelliert. Die OP-Mortalität war im Workshop 2009 sehr hoch gewesen (33% der Tiere bzw. 10,8% der Eingriffe (Perforation > Asphyxie durch Hemipneumothorax). Zur Vermeidung der OP-Mortalität im Tierversuch wurde ESD im Ösophagus äußerst vorsichtig (z.B. nur mit Haken=hook-Messer) und erst am Ende der Sitzungen durchgeführt. In den folgenden Workshops gab es 2010 keine, 2011 nur zwei, 2012 und 2013 keine letale Komplikation (OP-Mortalität 0%,8%,0%,0%). Reduktion der Anzahl verwendeter Tiere, falls einzelne Tiere kardiorespiratorisch in langer Narkose so stabil sind, dass sie für beide Sitzungen eines Tages (Vollnarkose über 11 Std. Dauer) verwendet werden können (siehe Beilage zum Antrag).

b) Verminderung der experimentellen Belastung der Tiere (s. Beilage Abschnitte h-j): Vorbereitungsphase (48 Std): Die Tiere werden getrennt aufgestallt und erhalten am Vortag nur Breikost und Trinkwasser ad libitum (erste 24 Std). Am zweiten Tag erhalten sie zur Magen-/ Darm-Entleerung inertes Abführmittel (Movicol-Darmspüllösung, wird gerne getrunken) stundenweise im Trinkwasser (ad libitum) und über die letzten 12 Std nur "Wasserfasten" (intermittierend mit Wasser bzw. Zusatz von Darmspüllösung). Transport (6 km) zur Verwendung: Die Tiere werden im Lieferbetrieb über eine intravenöse Kanüle am Ohr tierärztlich sediert (mit Azaperon und Ketamin) und in Wärmeschutzdecken unter tierärztlicher Begleitung im Tiertransportwagen transportiert. Tierversuch (5 bis 11 Stunden): Durchführung der endoskopischen OPs unter tierärztlicher Vollnarkose, schonender Lagerung (Wärmedecken), Monitoring (Puls, Atmung, Temp., Reflexe), Verwendung hochwertiger humanmedizinischer Therapieinstrumentarien, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens (schmerz-/ angstlose Endpunkte) und finaler Euthanasierung durch die Tierärzte.

c) Verfeinerung der Lerninhalte: In den Workshops (2009-2013) wurden Experten aus Mittel- und Westeuropa mit großer regionaler Streuung ausgebildet, mit dem Ziel ESD-Zentren flächendeckend zu etablieren. Lerninhalte: Die Teilnehmer lernen und erwerben praktische Erfahrung mit a) den vier wichtigsten Messertechniken (Dual, Hook, Flush/Hybrid), b) Problem-/ Risikoeinschätzung und technische

Selbsteinschätzung, c) Standard Operating Procedures für ESDs am Magen, Oesophagus, Rektum/Colon, d) akribischer, schwieriger ESD-Technik am (sehr zarten!) Kolon (technische Perfektion), e) neuen Techniken zur Beherrschung von Komplikationen (Blutungen, Perforation etc.), insbesondere werden an Station Nr. 4 und Nr. 8 bewusst Komplikationen gesetzt ("intentional complications"), um die Technik der endoskopischen Korrektur (Hämostase, Wandverschlusstechniken nach Perforation) zu demonstrieren und trainieren. Der ESD Expert Workshop vermittelt in experimentellem Training unter direkter Anleitung von anerkannten Experten die diagnostischen Kenntnisse und technischen Fertigkeiten für die Durchführung von ESDs -zur Verminderung des Behandlungsriskos der Patienten.

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

Zu den klassischen Verfahren zur Analyse von Zellvorgängen im Gehirn gehört die Immunohistochemie, bei welcher fixierte Hirnschnitte mittels spezifischer Antikörperkombinationen angefärbt und ausgewertet werden. Ein großer Nachteil dieser wie auch vieler anderer Methoden ist die große benötigte Anzahl an Tieren um verschiedene Zeitpunkte zu untersuchen. Eine dynamische Beobachtung der Vorgänge ist in der Regel nicht möglich. Hierfür wurde die sogenannte Biolumineszenz-Analyse entwickelt. Gentechnisch veränderte Tiere, bei welchen lumineszierende bzw. fluoreszierende Reportergene mit dem Gen von Interesse fusioniert wurden, können mittels Live-Imager nicht invasiv über Wochen beobachtet werden. Eine Erhöhung der Expression des Gens von Interesse führt gleichzeitig zu einem Anstieg des Reporters und somit des Leuchtsignals in diesen Zellen. Durch diese innovative Methode sinkt die benötigte Anzahl an Tieren erheblich, da man nur ein Tier für verschiedene Zeitpunkte benötigt. Für die Messung wird das Substrat (Luciferin) für das Enzym Luciferase intraperitoneal verabreicht. Nach kurzer Anflutzeit wird Luciferin über die Blutbahn im Körper verteilt und gelangt somit zu den Zellen im Gehirn. Das Leuchtsignal ist abhängig von der Konzentration an Substrat, weshalb bei Messungen immer die gleiche Menge pro Körpergewicht induziert werden muss. Zellen im Gehirn sind im gesunden Individuum durch die sog. Blut-Hirn-Schranke getrennt, eine beschränkt permeable Barriere für Stoffe wie beispielsweise Sauerstoff, Signal-Moleküle oder auch Luciferin. Unter verschiedenen Umständen wie etwa Schlaganfall kann es jedoch zu einer Öffnung dieser Barriere kommen, was zu einem erhöhten Einfließen von Stoffen aus dem Blutkreislauf führt. Hier muss jedoch erst geklärt werden, ob ein Leuchtsignalanstieg direkt von einer erhöhten Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke und einer somit erhöhten Verfügbarkeit von Luciferin kommt. Mit diesen geplanten Experimenten wollen wir diese Frage mittels dem "Middle Cerebral Artery Occlusion" Model für ischämischen Schlaganfall klären. Dieses Modell ist das meist verwendete präklinische Modell für einen Schlaganfall

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Mäuse DCX-Luciferase C57BL/6 (männlich)

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

Um eine möglichst kleine Anzahl von Tieren zu verwenden, werden für diesen Versuch bereits etablierte und anerkannte Protokolle für einen Schlaganfall und Luciferin-Messungen verwendet. Die Verwendung von Tieren ist für dieses Projekt jedoch unumgänglich, da das Konstrukt der Blut-Hirn-Schranke eingebettet in das Hirnparenchym *in vitro* nicht ausreichend simuliert werden kann. Aufgrund langjähriger Erfahrung mit Biolumineszenz Messungen und dem benutzen Schlaganfallmodell kann die Anzahl der verwendeten Tiere jedoch auf ein Minimum reduziert werden. Eine Verbesserung und Verminderung des Leidens der Tiere wird insofern gewährleistet, als dass die Anästhesie während der Operation engmaschig überwacht wird und die Tiere anschließend von unserem geschulten Tierpersonal versorgt und betreut werden.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen -Text hier eingeben
Neovaskularisierung ist ein Schlüsselprozess in der Regeneration von Geweben und kann erst im Tierversuch umfassend untersucht werden. Der Galanin-Rezeptor 3 ist ein interessanter Angriffspunkt, um Patienten mit schlecht-heilenden Wunden zu behandeln, bzw. um pathologische Neovaskularisierung in Erkrankungen wie Schuppenflechte oder Tumoren zu verhindern. Ziel dieser Studie ist es, die Rolle von Galanin und dem Galanin-Rezeptor 3 in der Neovaskularisation zu definieren.

2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben
20 NSG (NOO scid gamma) Mäuse werden bezogen

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) -Text hier eingeben
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. Eine Vergleichbarkeit mit etablierten Mausmodellen muss gegeben sein, nur dann behält die Aussage der Ergebnisse Gewicht.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen -Text hier eingeben Krebszellen beziehen ihre Energie vor allem aus Zucker. Mittels einer kohlenhydratarmen fett-reichen Diät (ketogene Diät; mit spezieller Zusammensetzung der Fette) soll das Wachstum der Krebszellen im Tiermodell verlangsamt werden. Die ketogene Diät soll anschließend als adjuvante Behandlung zur traditionellen Chemotherapie verwendet werden. damit soll die Ansprechrate erhöht und die Dauer der Behandlung bzw. Dosis der Chemotherapie reduziert werden. Die Therapie von subkutanen Tumoxenografts (Neuroblastom, Nierenzellkarzinom, Onkozytom) in athymischen Nacktmäusen dient der Entwicklung von adjuvanten Therapien, die das Reduzieren der in der klinischen Anwendung befindlichen hoch toxischen Chemotherapie in ermöglichen sollen. 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 Diäten, 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 -Text hier eingeben Eingesetzt werden maximal 1450 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 der Versuchstiere weiter zu verringern.
3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) -Text hier eingeben Zur Erfüllung der 3 R wurden folgende Maßnahmen getroffen: Der Antrag folgte aufbauend auf signifikante in vitro und in vivo 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): Ausbildung an Hochschulen oder Ausbildung zwecks Erwerb, Erhaltung oder Verbesserung von beruflichen Fähigkeiten

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

Die Blasenfunktion ist besonders bei Querschnittspatienten von Bedeutung, da sie regelhaften funktionellen und strukturellen Veränderungen unterworfen ist. Diese treten nach der Querschnittsläsion nach einem relativ einheitlichen zeitlichen Verlaufsschema auf und können in der Regel nicht unterbrochen werden. Im Rahmen der Forschungsarbeiten in der Urologie soll definiert werden, ob die Blasenpathophysiologie nach Querschnittsläsion therapeutisch günstig beeinflusst oder sogar gestoppt werden kann. Im Rahmen einer neu angeschafften Catamount Small Animal Cystometry Station (Catamount Einheit) können nun erstmals Blasenfunktionen einzelner Tiere stressfrei über einen längeren Versuchszeitraum hinweg beobachtet und dokumentiert werden. Dadurch eröffnen sich neue Möglichkeiten, um Therapieansätze zur Blasenrehabilitation im anerkannten Modelorganismus Ratte zu untersuchen und Aussagen zur Therapiewirksamkeit zu erhalten. Bis heute erfolgen die konventionellen urodynamischen Messungen der Ratten über eine Zystometriemessstation in tiefer Narkose. Diese Untersuchungen sind aufgrund der Invasivität des operativen Eingriffes in jedem Fall eine terminale Analyse. Durch dieses derzeitige Standardverfahren können gewisse Fragestellungen nicht behandelt werden, und es sind mehrere und grössere Versuchstiergruppen nötig, um eine Fragestellung zu bearbeiten. Ziel ist es, durch die hier gewonnenen Ergebnisse ein Standardverfahren zur Blasendruckmessung zu etablieren, welches für zukünftige urologische Fragestellungen zur Verfügung steht.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für das Experiment werden 15 weibliche Fischer Ratten 344 verwendet. Sämtliche Ratten stammen aus der Eigenzucht wobei ausschließlich Tiere bezogen werden, die für andere Versuche nicht mehr geeignet sind und in keinen anderen Versuch mehr eingeschlossen werden können (Reduktion).

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

Die "Catamount Small Animal Cystometry Station" wird europaweit noch nicht verwendet und stellt ein Novum auf dem Gebiet der in vivo Urodynamikmessung bei Nagern dar. Um Erkenntnisse über die Modalitäten der Einheit, der Physiologie der Rattenharnblase sowie der technischen Einstellungen zur Messung der Blasenfunktion der Ratte zu erhalten, ist ein Endpunktversuch an Ratten ohne Wiederherstellung der Lebensfunktionen notwendig.

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen Ziel dieses Projekt ist es, die durch periphere Stimulation hervorgerufenen Reaktionen auf okuläre Parameter genau zu charakterisieren um in einem zweiten Schritt herauszufinden, welche Neuromodulatoren für die Effekte auf die Augendurchblutung und den Augendruck, die durch die periphere Stimulation hervorgerufen werden können, verantwortlich sind. Durch die Testung von Antagonisten gegen verschiedene Rezeptoren sollen bestimmte vasoaktive Substanzen auf ihr Verhalten vor und nach parasympathischer Nervenstimulation untersucht werden. Dadurch werden Daten gewonnen die zum genaueren Verständnis auf dem Gebiet der parasympathischen Innervation am Auge beitragen. Diese Ergebnisse sind von großen Nutzen für die Entwicklung neuer Medikamente gegen Erkrankungen die mit Durchblutungsstörungen am Auge assoziiert sind wie dem grünen Star und der altersbedingten Makula Degeneration.
2. Art und Anzahl der Tiere Die Durchführung der Tierversuche für die hier beschriebene Studie ist über einen Zeitraum von 3 Jahren geplant. Insgesamt sind dazu max. 168 Kaninchen Uuvenile, 2 -2,5 kg, eingeplant. Es handelt sich dabei um weiße Neuseeländer Kaninchen. Diese Spezies ist nicht pigmentiert und daher zur Messung der Durchblutung mit laser Doppler Flussmessung am Auge ideal geeignet.
3. Erfüllung der 113R " (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) Der parasympathische Einfluss auf die Durchblutung im Auge soll in dieser Studie untersucht werden. Dabei wird der N. facialis der parasympathisch das Auge innerviert mittels einer Elektrode stimuliert die sich im Mittelohr befindet. Diese komplexen physiologischen Zusammenhänge zwischen Durchblutung und nervaler Stimulation lassen sich nicht in Gewebekulturen untersuchen. Zur Überprüfung der Versuchshypothese werden in verschiedenen Untergruppen mit einer Größe von bis zu 14 Tieren die einzelnen Fragenstellungen beantwortet. Die Fallzahlberechnung ($\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$) beruht zum einen auf der Erfahrung unserer Arbeitsgruppe bezüglich der Standardabweichung von physiologischen Parametern bei Kaninchen. In jeder Versuchsgruppe erfolgt nach der Hälfte der beantragten Tiere eine Zwischenauswertung, gegebenenfalls wird danach die Anzahl der verwendeten Tiere reduziert, sollte der Effekt mit weniger Tieren statistisch signifikant darstellbar sein. Die Versuchstiere werden von _ angeliefert und mindestens für eine Woche in der laboreigenen Tierhaltung untergebracht. Während dieser Zeit werden die Tiere mehrmals wöchentlich von Tierpflegern betreut und einmal pro Woche die Käfige gereinigt. Die Tierhaltung befindet sich direkt im Anschluss an die Räumlichkeiten in denen die Versuche durchgeführt werden. Dadurch ergeben sich keine langen Transportwege von der Tierhaltung bis zum Tierversuchslabor und der Stressfaktor der Tiere wird nicht unnötig erhöht. Am Versuchstag wird das Versuchstier aus dem Käfig gehoben, abgewogen und in einem Restrainer platziert. seitliche Ohrvene wird punktiert und Pentobarbital wird intravenös verabreicht. Innerhalb von 1-2 Minuten hat das Kaninchen das Bewusstsein verloren und in der darauffolgenden Minute das Stadium der Narkose erreicht. Somit dauert der gesamte Vorgang vom Herausnehmen des Kaninchens aus seinem Käfig bis zum Beginn der Narkose höchstens 3-4 Minuten und ist damit als äußerst stressfrei zu bezeichnen. Während des Versuchs wird die Narkose mit Pentobarbital aufrecht erhalten und am Ende des Versuchs eine Überdosis Pentobarbital verabreicht. Der Tod des Versuchstiers wird durch Herabfallen des Blutdrucks sowie aller Durchblutungsparameter auf Null und aussetzen der Atemtätigkeit festgestellt. Durch diese Maßnahmen wurde versucht die Belastungen für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten.

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

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

Da das Fehlen von Etherlipiden, einer speziellen Klasse der Phospholipide, im Menschen dramatische Konsequenzen in Form einer tödlichen Erkrankung hat, untersuchen wir die molekularen Ursachen dieser Krankheit mit Hilfe eines Mausmodells. Bisherige Studien weisen darauf hin, dass Etherlipiddefizienz mit verringerter Herzfunktion verbunden sein könnte. Um diese Fragestellung zu klären, wollen wir kardiologische Untersuchungen, wie sie auch beim Menschen üblich sind, in Etherlipid-defizienten Mäusen durchführen. In weiterer Folge möchten wir Substanzen, die als mögliche Therapeutika in der entsprechenden humanen Erkrankung im Gespräch sind, auf ihre Fähigkeit testen, einen durch Etherlipiddefizienz hervorgerufenen Herzdefekt zu heilen. Die Studie sollte daher einen wichtigen Schritt darstellen, um einerseits die molekulare Basis einer bis jetzt großteils unverstandenen Erkrankung aufzuklären und andererseits den Weg für eine Therapie zu ebnet.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für die Charakterisierung des kardialen Phänotyps bei Etherlipiddefizienz kommen insgesamt maximal 70 wt- und *Gnpat-knockout*-Mäuse zum Einsatz. Sollte sich dabei eine Funktionsstörung am Herzen feststellen lassen, werden weitere 110 Tiere zur Evaluierung der therapeutischen Substanz verwendet.

Für die Erhaltung der Mauslinie und die Zucht der notwendigen Tierzahlen werden voraussichtlich zusätzliche 940 Tiere genotypisiert.

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

Um den Einsatz von Tierversuchen nach Möglichkeit zu vermeiden, haben wir alle Voruntersuchungen zu unserer Fragestellung entweder in Zellkulturen oder in isoliertem Gewebe durchgeführt. Eine endgültige Antwort kann jedoch nur durch Studien am lebenden Organismus erhalten werden. Durch die hohe Standardisierung des Versuchsablaufs sowie die genaue Planung des Experiments und der statistischen Auswertung der Ergebnisse versuchen wir einerseits, die Zahl der verwendeten Tiere so gering wie möglich zu halten, gleichzeitig aber auch genügend Tiere einzusetzen, um eine eindeutige Antwort auf unsere Fragestellung zu erhalten und so weitere Tierversuche zu verhindern.

Unsere Versuchsplanung zielt außerdem darauf ab, die entstehenden Belastungen für die Tiere möglichst gering zu halten. Außerhalb des Versuchszeitraums werden die Mäuse durch geschultes Personal fachgerecht gepflegt. Auch die langjährige Erfahrung der beteiligten Personen mit ähnlichen Experimenten gewährleistet eine für die Tiere möglichst schonende Durchführung der Versuche sowie den Erhalt aussagekräftiger Resultate.

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

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

Messung des okulären Blutflusses ist wichtig für die Erforschung von verschiedenen Augenerkrankungen, wie beispielsweise dem Glaukom oder der diabetischen Retinopathie. Die am meisten verwendeten Verfahren zur Bestimmung des okulären Blutflusses basieren vor allem auf in den Blutkreislauf injizierten Substanzen, aufgrund deren Bewegung in den Gefäßen auf die Blutflussgeschwindigkeit rückgeschlossen werden kann. Dafür werden unter anderem injizierbare Mikrosphären oder markierte Erythrozyten verwendet. Nachteil dieser Verfahren ist vor allem die Invasivität der Messmethode, die meist die Euthanasie des Versuchstieres notwendig macht sowie die oft große Streuung der Methode. Die optische Kohärenztomographie ist ein neues nicht invasives Verfahren welches, bis auf die Narkose, keinerlei Belastung für das Versuchstier darstellt. Dieses Verfahren soll mit einem Punktscanner, welcher die genaue Detektion von markierten Erythrozyten ermöglicht, verglichen werden.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Für das Projekt werden 18 Ratten (*Rattus norvegicus*) vom Stamm Long-Evans verwendet.

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

Die verwendete Technik des Doppler OCT wurde speziell für die Verwendung an Kleintieren modifiziert. Es handelt sich dabei um eine nicht invasive Technik, welche für die Versuchstiere, abgesehen von der benötigten Narkose, keine Belastung darstellt. Dieses neue Verfahren soll in Zukunft invasive Methoden zur Blutflussmessung ablösen. Aufgrund der Invasivität des Vergleichsverfahrens ist es nicht möglich die vorliegende Fragestellung durch Experimente am Menschen zu beantworten.

Die Anzahl der Tiere ist so gewählt, dass möglichst wenige Tiere eingeschlossen werden und trotzdem ein aussagekräftiges Ergebnis zu erwarten ist.

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

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

Das Hauptziel des Projektes ist die Prävention des postischämischen akuten Nierentransplantatversagens durch eine microRNA Blockade im Spenderorgan. Das akute Nierenversagen (ANV) ist der Hauptrisikofaktor für einen vorzeitigen Transplantatverlust nach einer Nierentransplantation. Trotz intensiver Bemühungen gibt es keine etablierte Prävention des ANV. Daher hat unsere Studie das Potential, eine völlig neue Präventionsstrategie dieses klinischen Problems zu etablieren.

Spezifisch in diesem Tierversuch soll der Zeitpunkt und die Konzentration der microRNA Blockade Behandlung bestimmt werden und darauf folgend die Auswirkung der microRNA Blockade auf den Ischämie / Reperfusionsschadens in der Niere untersucht werden.

Die Belastung der Tiere wird als mittel-gradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Mäuse (C57BL/6) und 63 Ratten (Sprague dawley)

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

Obwohl zur Erreichung unserer Projektziele Tierversuche unabdingbar sind, versichern wir, dass die Anzahl an Tieren (Ratten), die für konklusive Ergebnisse nötig sind (statistische Fallzahlberechnung), auf ein Optimum (Minimum) reduziert wurden. Um redundante Tierversuche zu vermeiden, wurde die Fachliteratur (PubMed und Altweb) mit themenspezifischen Suchbegriffen genauestens durchsucht. Erfahrens und zertifiziertes Personal wird mit der Betreuung der Tiere und Durchführung der Experimente beauftragt. Die Tiere werden in adäquater Umgebung mit freier Bewegungsmöglichkeit, Futter und Wasser ad libitum gehalten. Die Belastung der Tiere während des Tierversuches wird dahingehend auf ein Minimum reduziert, da wir die Versuche unter Vollnarkose durchführen. Falls Technikverbesserungen und neue Erkenntnissen zur Verfügung stehen, werden wir diese in unserem Versuchsablauf einbinden.

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 348 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): 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

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

Das Bakterium *Staphylococcus aureus* ist ein Teil der normalen Bakterienflora des Menschen und besiedelt vor allem die Haut und die oberen Atemwege von 10-30% aller Menschen. Es kann aber auch schwere Infektionen verursachen, die zu Hautabszessen, Wundinfektionen und lebensbedrohenden Zuständen, wie etwa Sepsis und Toxic Shock Syndrome (TSS) führen können. Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar. Besonders in Kliniken (z.B. auf Intensivstationen) kommt es nach Operationen und/oder durch eine geschwächte Immunabwehr zu *Staphylokokken* Infektionen mit schwerwiegenden Folgen. Die wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten.

Nun soll ein entwickelter Kandidatimpfstoff gegen *S. aureus* einer klinischen Prüfung an humanen Probanden unterzogen werden. Zuvor muß dieser Impfstoff um unerwünschte pharmakologische Wirkungen auszuschließen auf eine eventuelle blutdrucksenkende Wirkung im Tier getestet werden. In Narkose erfolgt eine Messung des Blutdruckes an der zentralen Ohrarterie. An 5 Tieren wird das Model durch Applikation einer blutdrucksenkenden Substanz validiert. Die Belastung der Tiere durch die Messmethode und durch die Applikation der Vakzine und durch die kurzfristige Blutdrucksenkung ist geringgradig.

2. Art und Anzahl der Tiere

15 Kaninchen

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

Die Versuche sind erforderlich um eine weitgehende sichere Anwendung bei humanen Probanden in der klinischen Studie zu gewährleisten und können nicht durch in-vitro Untersuchungen ersetzt werden. Es werden die minimal erforderlichen Tierzahlen verwendet um ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis zu erhalten. Die Studie erfolgt unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen.

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* Eine Pfortaderembolisierung wird bei Patienten durchgeführt, bei denen in der Leber ein besonders großer Tumor, zahlreiche kleine Tumore oder eine ungünstige Lage des Tumors vorliegt. Bei einer einfachen operativen Entfernung wäre zu wenig Lebergewebe vorhanden und es käme zum Leberversagen, sodass ein Überleben des Patienten kaum möglich ist. Deshalb werden in letzter Zeit die Gefäße, die den tumortragenden Leberanteil versorgen, verschlossen, damit der andere Leberanteil sich entsprechend vergrößern (hypertrophieren) kann. Ist die Hypertrophie ausreichend, so erfolgt in der Regel nach sechs bis acht Wochen die Operation mit der Resektion des tumortragenden Leberanteils. Jene Patienten mit unzureichender Hypertrophie können bisher nicht operiert werden und haben damit keine weitere kurative oder lebensverbessernde Chance. Mit Hilfe einer tierexperimentellen Studie wollen wir die Methode der Pfortaderembolisierung neben dem Verschluss der Gefäße, durch zusätzliche Gabe von Wachstumsfaktoren und Hormone verbessern, um die Zahl inoperabler Patienten deutlich zu verringern und jenen Patienten deutlich bessere Chancen zu ermöglichen. Von diesen Faktoren ist dabei bekannt, dass sie in der Leberphysiologie eine große Rolle spielen.

2. *Art und Anzahl der Tiere* Für unsere experimentelle Studie arbeiten wir insgesamt mit 60 Ratten, welche in unserem Tierversuchsstall unter normalen Standardbedingungen mit Futter und Wasser und unter Aufsicht gehalten werden.

3. *Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung)* Entscheidend ist die Regeneration der Leber nach einer Pfortaderembolisierung zu evaluieren und darüber hinaus den Effekt der gegebenen Wachstumsfaktoren und Hormone zu beurteilen. Dazu ist eine normal durchblutete Leber notwendig mit ähnlichen anatomischen Verhältnissen und ähnlicher Physiologie wie beim Menschen. Letztlich muss es nach der Studie möglich sein die Ergebnisse so gut wie möglich auf den Menschen bzw. den Patienten umlegen zu können, weswegen wir uns dafür entschieden haben diese tierexperimentelle Studie durchzuführen. Das Wohlergehen der Tiere während der Studie ist uns dabei ein großes Anliegen, weswegen sie unter dauerhafter Beobachtung und Überwachung von geschulten Tierpflegern und von Veterinärmedizinern stehen werden. Darüber hinaus wird darauf geachtet, dass die Tiere so wenig Stress wie möglich erfahren. Dazu erhalten alle Ratten eine ausreichende Adaptionszeit an ihre Umgebung und jeder Eingriff wird selbstverständlich unter Narkose durchgeführt mit minimaler Kreislaufdepression und ausreichender Analgesie. Zusätzlich bekommen alle Ratten vorsorglich eine Schmerzmedikation injiziert, damit sie letztlich auch nach dem Eingriff keine Schmerzen haben. Dies alles soll dazu beitragen, den Stress der Tiere so gering wie nur möglich zu halten. Auch haben wir unsere Studie insoweit verfeinert, dass wir alle Eingriffe in minimal invasivem Ausmaß durchführen und darüber hinaus haben wir uns auch mit anderen Forschern ausgetauscht, um den Ratten von vorneherein eine gute Adaption und Haltung zu ermöglichen.

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

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

In den letzten Jahren ist der Bedarf an Implantaten für Osteosynthesen in der Kindertraumatologie gestiegen und mit der Entwicklung von kinderspezifischen Versorgungstechniken von Frakturen, wie der elastisch stabilen Marknagelung (ESIN), konnten Komorbiditäten drastisch reduziert werden. Die Kinder profitieren durch minimal invasiven perkutanen Zugangsweg, verminderte Schädigung des umgebenden Weichteilmantels, früher Mobilisierung und verkürzten Krankenhausaufenthalt. Diese Entwicklung endet in der Maxime mit minimalstem Aufwand den größtmöglichen Erfolg zu gewähren. Bezogen auf die Kinder bedeutet dies; möglichst wenige Operationen respektive Anästhesien, eine möglichst geringe Störung der immer stattfindenden Heilung und eine höchstmögliche Reduzierung von Komplikationen. Dies alles führt letztendlich auch zu einem ökonomischen Benefit -kurzer stationärer Aufenthalt bzw. eine schnelle Wiedereingliederung in die alltägliche Betreuungslage, um den Arbeitsausfall für betreuende Mütter und Väter zu reduzieren.

Diesem Ziel könnte ein weiterer Schritt hinzugefügt werden, wenn eine erneute stationäre oder ambulante Operation zur Metallentfernung durch Verwendung eines bioresorbierbaren Implantates entfallen könnte.

In den letzten Jahren haben sich Magnesium-basierte Legierungen als vielversprechendstes Material mit biodegradierenden Eigenschaften zur intramedullären Stabilisierung herausgestellt. Es ist gelungen erfolgreich eine Mg-Legierung herzustellen, die die notwendigen mechanischen Eigenschaften und die erforderliche Korrosionsresistenz erbringt und dabei ganz ohne die Beimischung von seltenen Erden auskommt -ein Durchbruch in der Materialentwicklung der letzten Jahre.

Sämtliche schmerzhaften Eingriffe bei den Versuchstieren inklusive der Tötung zur abschließenden Probenentnahme erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose. Alle Verfahren sind technisch in der Arbeitsgruppe etabliert und werden analog auch in der Behandlung von Patienten eingesetzt. In den bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere.

Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere Insgesamt 56 Bergschafe

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

Replace -In vitro Untersuchungen und Zelltestungen ohne Tierversuche wurden bereits mit den genannten Materialien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei langsamer Degradation des Materials keine Zytotoxizität und gute Biokompatibilität vorhanden ist und das Material gut von den Zellen verstoffwechselt wird. Ein finaler Versuch am Großtiermodell zur kombinierten Bestätigung von in vitro und in vivo Ergebnissen der vorhergehenden Studien ist zur anschließenden Durchführung einer klinischen Studie unumgänglich.

Reduce -Zur Senkung der Tieranzahl auf ein Minimum, wurde angestrebt möglichst viele Versuche in vivo durchzuführen. Durch die nicht invasive und nicht destruktive Untersuchung mittels humanem CT bleibt das Gesamtkollektiv der Versuchstiere bis zum Ende Studienlaufzeit erhalten und erlaubt eine möglichst geringe, statistisch relevante Anzahl an Tieren.

Refine -Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress wurden Blutabnahmen zu den Zeitpunkten der CT Untersuchungen festgelegt, da sich die Tiere hierfür bereits in Narkose befinden. Die Tiere werden außerdem beginnend von Ihrem Eintreffen an der Biomedizinischen Forschung bis zum Ende der Studie nach tierärztlichem Protokoll betreut

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

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

Chronische Lungenerkrankungen wie chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD) und Lungenfibrose (IPF) sind eine extreme gesundheitliche Last für die gesamte Weltbevölkerung und die Gesundheitssysteme. Die Entstehung einer mit diesen Lungenerkrankungen assoziierten vaskulären Erkrankung schränkt die Überlebenschancen der betroffenen Patienten zusätzlich erheblich ein. Diese vaskulären Erkrankungen werden durch einen stetigen Anstieg der pulmonalvaskulären Resistenz charakterisiert, was im Verlauf der Erkrankung zu Rechtsherzdysfunktion und schlussendlich zum Tod der betroffenen Patienten führen kann. Die diesen vaskulären Erkrankungen zugrundeliegenden Mechanismen und Prozesse sind noch nicht zur Genüge charakterisiert. Das Wissen über die Zusammenhänge der Prozesse und Interaktionen verschiedener Signalmoleküle und -wege sind jedoch von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen. Im Zuge dieses Projektes werden diese molekularen Mechanismen und Gen-Defekte, die der Entstehung einer chronischen Lungenerkrankung im Patienten zugrunde liegen untersucht. Ein Schwerpunkt dieser Forschung spielt dabei die Charakterisierung genetisch veränderter Mausmodelle.

2. Art und Anzahl der Tiere

12.800 Mäuse (3.200 Mäuse pro Jahr für eine Dauer von 4 Jahren)
zusätzlich 6.800 Mäuse

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

Multiple *in vitro* Vorversuche zeigten bereits eine mögliche relevante Rolle spezifischer Gene bei chronischen Lungenerkrankungen und lassen eine Rolle dieser Gene in den an der Erkrankung beteiligten Prozesse und Signalwege vermuten. Wenn möglich sollen in diesen Experimenten Primärzellen aus den genetisch veränderten Mäusen genutzt werden um Signalwege aufzuklären. Dies ist jedoch leider nicht für jede Fragestellung möglich. Komplexe pathophysiologische Zusammenhänge, die diesen chronischen Lungenerkrankungen zugrunde liegen, können nur im lebenden Organismus untersucht werden. 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 transgene und knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze. Zur Reduzierung der Gesamtzahl an genutzten Mäusen, werden nur so viele Mäuse wie für das Experiment benötigt gezüchtet. Zur Erhaltung eines Mausstammes werden zwei Zuchtpaare behalten um für weitere Züchtungen die Geschwisterverpaarung zu vermeiden.

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

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

Das Hauptziel des Projektes ist die Prävention des postischämischen akuten Nierentransplantatversagens durch eine microRNA Blockade im Spenderorgan. Das akute Nierenversagen (ANV) ist der Hauptrisikofaktor für einen vorzeitigen Transplantatverlust nach einer Nierentransplantation. Trotz intensiver Bemühungen gibt es keine etablierte Prävention des ANV. Daher hat unsere Studie das Potential, eine völlig neue Präventionsstrategie dieses klinischen Problems zu etablieren.

Spezifisch in diesem Tierversuch soll der Zeitpunkt und die Konzentration der microRNA Blockade Behandlung bestimmt werden und darauf folgend die Auswirkung der microRNA Blockade auf den Ischämie / Reperfusionsschadens in der Niere untersucht werden.

Die Belastung der Tiere wird als mittel-gradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Mäuse (C57BL/6) und 63 Ratten (Sprague dawley), ZUSÄTZLICH 21 RATTEN

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

Obwohl zur Erreichung unserer Projektziele Tierversuche unabdingbar sind, versichern wir, dass die Anzahl an Tieren (Ratten), die für konklusive Ergebnisse nötig sind (statistische Fallzahlberechnung), auf ein Optimum (Minimum) reduziert wurden. Um redundante Tierversuche zu vermeiden, wurde die Fachliteratur (PubMed und Altweb) mit themenspezifischen Suchbegriffen genauestens durchsucht. Erfahrens und zertifiziertes Personal wird mit der Betreuung der Tiere und Durchführung der Experimente beauftragt. Die Tiere werden in adäquater Umgebung mit freier Bewegungsmöglichkeit, Futter und Wasser ad libitum gehalten. Die Belastung der Tiere während des Tierversuches wird dahingehend auf ein Minimum reduziert, da wir die Versuche unter Vollnarkose durchführen. Falls Technikverbesserungen und neue Erkenntnissen zur Verfügung stehen, werden wir diese in unserem Versuchsablauf einbinden.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen – Text hier eingeben

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 – Text hier eingeben

Mäuse (C56Bl6/J or N)
236 (156 Mäuse um zusätzlich 80 Mäuse erhöht)

3. Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) – Text hier eingeben

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

Eine möglichst frühe Diagnosestellung stellt bei vielen Erkrankungen des Menschen bis heute eine große Herausforderung dar. Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre brachten neurologische Erkrankungen in Zusammenhang mit krankhaften Proteinveränderungen. Die aktuelle Studie setzt Bildgebungsmethoden wie Magnetresonanz- und Positronen-Emissions-Tomografie in speziellen Mäusen ein und soll dazu beitragen den Krankheitsverlauf zu verfolgen und potentielle Krankheitsanzeichen früher als solche zu erkennen. Es ist geplant 560 Mäuse innerhalb von 3 Jahren für diese Studie zu verwenden.

Es gibt kein *in vitro*-System, um diese Tierversuche zu ersetzen. Es wird während allen Experimenten großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Mäuse so gering wie möglich gehalten werden. Alle Mäuse werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Tierpflegerinnen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Alle Eingriffe werden von erfahrenen Personen bei tief narkotisierten Mäusen mit anschließender Behandlung durch Schmerzmittel durchgeführt, sodass die Tiere keinerlei Schmerzen oder Leiden verspüren.