

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

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens
Bei der Entwicklung neuartiger Sensortechnologien ist es notwendig, die Leistungsfähigkeit der Mess-Systeme unter möglichst realitätsnahen Bedingungen zu testen. Ziel der Untersuchungen ist es, zwei Mess-Systeme zur Bestimmung von Analytkonzentrationen in Gewebe und Blut zu testen. Weiters sollen Einflussfaktoren wie z.B. Sauerstoffgehalt in Blut und Gewebe sowie Blutgerinnung auf die Leistungsfähigkeit der Sensoren überprüft werden. Eine realitätsnahe Testung ist unerlässlich für die Vorbereitung der Systeme für die klinische Prüfung der Sensortechnologien. Die gewonnenen Informationen werden in Verbesserungsmaßnahmen umgesetzt, die die bei den neuen Technologien näher an eine jeweilige Humananwendung heranführen soll.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere
25 Hausschweine

3. Angaben über die Erfüllung der „3R“ (Vermeidung, Verminderung und Verbesserung)
Im Sinne der 3Rs werden die Tiere für Untersuchungen für 2 Fragestellungen gleichzeitig verwendet. Dadurch kann der doppelte Nutzen aus den Tierversuchen erzielt werden und gleichzeitig wird die Anzahl der Versuchstiere halbiert.

Am Menschen können die oben genannten Fragestellungen nicht untersucht werden, da dafür ein sehr hoher Entwicklungsstand der Sensorsysteme notwendig ist; und alle Biokompatibilitätsfragen bereits geklärt sein müssen, um die Patientensicherheit zu gewährleisten.

In vitro Laboruntersuchungen sind leider nicht zielführend, da in vitro weder die Insulinwirkung auf das lokale Gewebe an der Infusionsstelle, noch die Variabilität der Gewebssauerstoffkonzentration nachgebildet werden kann. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist daher nicht möglich, da die Fragestellungen nur in vivo zu beantworten sind.

Die statistische Aussagekraft der Experimente wird durch die gleichzeitige Testung von mehreren Sensoren pro Versuchstier gewährleistet, wodurch wird die Anzahl der notwendigen Tiere möglichst gering gehalten wird.

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

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

Organ-spezifische, autoimmune Entzündungsreaktionen, z.B. des zentralen Nervensystems, stellen ein großes Problem für betroffene Patienten dar, da diese Erkrankungen bisher häufig nur mittels einer generellen Unterdrückung des Immunsystems therapiert werden können. Für den Patienten bedeutet dies allerdings, dass er aufgrund seines dadurch geschwächten Immunsystems häufig mit Infektionen zu kämpfen hat, und dass er eine erhöhte Anfälligkeit für Tumorerkrankungen entwickelt. Viel sinnvoller als eine generelle Unterdrückung des Immunsystems wäre es, wenn einzelne Komponenten des Immunsystems gezielt beeinflusst werden könnten. Um dies zu gewährleisten, ist es jedoch notwendig, mehr über den Beitrag einzelner Zelltypen am Krankheitsgeschehen zu wissen. Mit den hier beantragten Versuchen soll die Beteiligung von Granulozyten bei Organ-spezifischen, T-zellvermittelten Entzündungsreaktionen näher untersucht werden. Insbesondere soll geklärt werden, inwieweit Granulozyten die Entstehung, Größe und Lage der Entzündungsherde beeinflussen können.

Leider können derartige Entzündungsreaktionen nicht in Zell- und Gewebekultursystemen reproduziert werden kann, da sich Granulozyten und T-Zellen beim physiologischen Durchwandern von Immunorganen und beim Durchqueren der Blut-Gewebs-Schranken in ihren Eigenschaften deutlich von denen in Kultursystemen unterscheiden. Deswegen kann zur Aufklärung der Rolle dieser Zellen nicht auf Tierexperimente verzichtet werden. Um die Zahl der für diese Experimente vorgesehenen Tiere zu gering wie möglich zu halten, wurde die benötigte Tierzahl durch statistische Fallzahlberechnungen ermittelt. Des weiteren werden Lewisratten verwendet, da diese Tiere nach T-Zell-Transfer hochreproduzierbar organspezifische Entzündungsherde entwickeln und wir daher nur mit sehr wenigen Ausfällen zu rechnen haben. Zur Verminderung der Krankheitssymptome und zur Verfeinerung der Experimente wird die Zahl der eingesetzten T-Zellen so gewählt, dass ein möglichst geringer Schweregrad klinischer Symptome zu erwarten sein wird. Insgesamt werden 680 Lewisratten benötigt.

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

Das Medulloblastom ist der häufigste und zeitgleich der bösartigste Hirntumor im Kindesalter. Die Überlebenschancen betragen zwar 70-80%, aber auf Grund der invasiven Kombinationstherapie von Chirurgie, Chemotherapie und Bestrahlung leiden die jungen Patientinnen unter schwerwiegenden Langzeitnebenwirkungen wie Wachstumsstörungen, neurologische oder psychosoziale Defiziten. Molekulare Analysen des Tumors haben ergeben, dass sich dieser in 4 Hauptgruppen einteilen lässt: SHH, WNT, Gruppe 3 & Gruppe 4. In unserer Forschungsgruppe haben wir entdeckt, dass zwei regulierende microRNAs, die die Genexpression von wichtigen Genen in der Gruppe 3 kontrolliert, herunterreguliert sind. In Zellkulturversuchen hat die Wiederherstellung dieser microRNAs in den Zellen zu einer Reduktion des Tumorwachstums geführt. Wir wollen nun den therapeutischen Effekt von diesen microRNAs im Tierversuch testen. Dafür werden insgesamt 182 BALB/c Mäuse benötigt.

Ziel 1: Ist ein therapeutischer Effekt auch im Tierversuch nachweisbar? (n=45)

Hierfür werden den Mäusen Medulloblastom Tumorzellen in die Flanke injiziert, die diese microRNAs exprimieren und Tumorwachstum wird mittels Kaliper gemessen. Eine Reduktion des Tumorwachstums im Gegensatz zur Kontrollgruppe wird erwartet.

Ziel 2: Wie hoch ist mittlere effektive Konzentration (EC50) von extrazellulären Vesikeln (EVs) mit microRNAs? (n=60)

Es werden extrazelluläre Vesikel, die als Transporter fungieren, mit microRNAs beladen und in verschiedenen Konzentrationen in die Tumore injiziert. Wir wollen die optimalste Konzentration für weitere Tierversuche eruieren, bei der die Tiere keine oder geringe Nebenwirkungen haben.

Ziel 3: Wie ist der Effekt der EVs mit den microRNAs auf das Medulloblastom Wachstum im Tierversuch? (n=45)

Mit der in Ziel 2 etablierten Dosis wollen wir den Effekt auf das Wachstum des Tumors analysieren. Eine Reduktion des Tumolvolumens wird erwartet.

Ziel 4: Ist Protein X ein therapeutisches Ziel in Medulloblastoma? (n=32)

Weiters haben wir ein Protein im Medulloblastom identifiziert, dessen Funktion eine maßgebliche Rolle im Tumorwachstum einnimmt. In diesem Tierversuch möchten das Tumorwachstum des Proteins im Wildtyp und im ausgeschalteten Zustand untersuchen.

3R:

Vermeidung: Der therapeutische Effekt von den microRNAs und das Ausschalten von Protein X wurde in Zellkulturen bewiesen. Ein Beweis der Gültigkeit dieses *in vitro* Ergebnisses bedarf der *in vivo* Verifizierung am lebenden Organismus.

Verminderung: Die Anzahl der Tiere bewegt sich am unteren Rand für eine adequate statistische Analyse und wurde durch eine Sample Size Calculation berechnet.

Verfeinerung: Auf eine allgemein gute Pflege und Behandlung wird geachtet. Die individuelle Streuung wird durch standardisierte Versuchsbedingungen auf ein Minimum gesenkt. Die intratumorale Injektion der EVs wird unter Vollnarkose durchgeführt um den Stress der Versuchstiere minimal zu halten.

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

Ziel dieses Tierversuches ist es, die Pathogenität eines nicht passagierten, europäischen (Genotyp 3) Hepatitis E Virus Isolates bei Hühnern zum Zeitpunkt der Legeleistungsspitze in Abhängigkeit von der Infektionsdosis und des Infektionsweges zu untersuchen. Neben den üblichen klinischen, pathologischen und diagnostischen Methoden soll die Aufarbeitung der im Tierversuch genommenen Proben zur Entwicklung einer in situ Hybridisierungsmethode für aviäres Hepatitis E Virus dienen. Darüber hinaus ermöglicht eine neu entwickelte real-time RT-PCR für aviäres Hepatitis E Virus die genaue Anzahl von Kopien aviärer Hepatitis E RNA in den Proben zu bestimmen. Damit sollen neue und detailliertere Erkenntnisse über die Pathogenese der aviären Hepatitis E Viruserkrankung gewonnen werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im vorliegenden Tierversuch werden 36 spezifiziert pathogenfreie (SPF) Hühner verwendet.

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

Infektionen mit dem aviären Hepatitis E Virus beim Geflügel sind erst in jüngster Zeit erschienen. Dahingehend sind bis dato nur wenige Tierversuche beschrieben. Dies ist auch auf den Umstand zurückzuführen, dass sich das Virus in vitro nicht vermehren lässt. Dahingehend sind zum aktuellen Zeitpunkt in vivo Studien unverzichtbar. Das Vermeiden von Tierleid wird durch genau definierte Abbruchkriterien eingehalten. Gleichzeitig wurde Tierzahl sehr klein gehalten, was dem Vorgehen einer Pilotstudie entspricht. Der vorliegende Tierversuch kann somit nicht vermieden werden, da die Pathogenese des aviären Hepatitis E Virus im Zieltier, dem Huhn, untersucht werden muss.

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

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012):

Die Möglichkeiten einer nebenwirkungsarmen lokalen Behandlung von bakteriellen Hautinfektionen mittels Antibiotika-haltiger Salben werden auf Grund steigender Resistenzraten zunehmend eingeschränkt. Die Entwicklung neuer Wirkstoffe mit guter Wirkung gegen hochresistente Bakterien und guter lokaler Verträglichkeit ist daher dringend gefordert.

Im der vorliegenden Studie wird ein neuer Wirkstoff zur Behandlung von bakteriellen Hautinfektionen getestet. Der getestete Wirkstoff zeigte *in vitro* eine ausgezeichnete Wirksamkeit gegen eine Vielzahl hochresistenter Bakterien. Die Verträglichkeit wurde vorab in einem Tierversuchersatzmodell (3d-Hautmodell) getestet. Ziel der Studie ist, die Wirksamkeit des neuen Wirkstoffes in verschiedenen Konzentrationen zu testen.

Anzahl der Versuchstiere: 50 Meerschweinchen

Angaben zur Anwendung der „3R“

Vorab durchgeführte *in vitro* Studien zeigten einheitlich vielversprechende Ergebnisse bezüglich der antimikrobiellen Wirksamkeit von SLP0904 bei niedrigster Toxizität im 3d-Hautmodell. Für die Testung der klinischen Wirksamkeit sind keine Ersatzmethoden verfügbar. Durch die vorab gewonnen Daten aus *in vitro* Studien, sowie durch die Anwendung von standardisierten Methoden und standardisierter Tierhaltung wird eine möglichst geringe Streuung und somit eine maximale Reduktion der notwendigen Tiere erreicht. Eine Fallzahlberechnung zur Reduktion der benötigten Gruppengrößen bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen wurde durchgeführt.

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

Langstreckige Trachealstenosen sind ein klinisch schwierig zu behandelndes Problem. Die therapeutischen Möglichkeiten sind limitiert und betroffene Patienten haben zumeist einen enormen Leidensdruck. Die Transplantation eines "tissue-engineered" Trachea-Ersatzes ist ein neues Behandlungskonzept. Hierfür werden sogenannte Scaffolds (=Gerüste) in Bioreaktoren mit Stammzellen besiedelt und die so entstandene Neotrachea wird an Stelle der erkrankten Luftröhre verpflanzt. Es ist heute nicht klar, welche Materialien (biologische, synthetische, hybrid) den optimalen Scaffold darstellen. Anhand dieses Tierversuchs sollen biologische (dezellularisierte humane und porcine Spendertracheen), synthetische (POSS-PCU Stents) sowie 2 Hybrid-Konstrukte (mit 2 unterschiedlichen, biologischen Materialien überzogene Stents) getestet werden. Hierfür werden 40 Schweine (Piétrain x German domestic breed) benötigt.

3 R: Das Projekt verwendet ein gut etabliertes und international akzeptiertes Großtiermodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Zur Verminderung der Streuung der Ergebnisse werden die Tierhaltung sowie die Versuche unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Die Belastung der Tiere wird durch Intensivpflege und Schmerzbekämpfung auf ein Minimum reduziert.

Anhand dieser Versuche soll der optimale Scaffold eines tissue-engineered Trachealersatzes gefunden werden. Diese Fragestellung ist nicht mittels *in vitro* Versuchen beantwortbar, deshalb ist die Erprobung am Tierversuch notwendig. Die Ergebnisse werden als Grundlage für die kontrollierte Anwendung im Menschen im Rahmen einer klinischen Phase I Studie dienen.

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

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

Die chronische Herzschwäche ist mit einem erheblichen Leidensdruck, Sterblichkeit (50% in 5 Jahren) und gesellschaftlichen Kosten verbunden. Häodynamisch ist sie definiert als die Unfähigkeit des linken Ventrikels, ein adäquates Herzzeitvolumen bei physiologischem Füllungsdruck zu gewährleisten. Sie kommt in zwei prototypischen Ausprägungen vor (1) mit Dilatation und Wandverdünnung des linken Ventrikels (HFREF, heart failure with reduced ejection fraction) und (2) mit Lumenverlust und konzentrischer Hypertrophie des linken Ventrikels (HFPEF, heart failure with preserved ejection fraction). HFREF ist typischerweise eine männliche Erkrankung infolge der kardialen Risikofaktoren Rauchen, Diabetes, Bluthochdruck, hoher Blutfette und Übergewicht. Dem gegenüber ist HFPEF assoziiert mit dem weiblichen Geschlecht, Alter, Vorhofflimmern und der Akkumulation kardiovaskulärer Risikofaktoren über die Zeit bei gleichzeitigem Mangel an körperlicher Bewegung. Während der akute Myokardinfarkt als Hauptursache des HFREF mittlerweile sehr gut behandelt werden kann, nimmt die Prävalenz des HFPEF in der alternden Bevölkerung insbesondere bei Frauen immer weiter zu.

Für das HFREF stehen zahlreiche etablierte Behandlungsstrategien zur Verfügung (β -Blocker, ACE-Hemmer, AT1-Blocker, Aldosteronrezeptorantagonisten, biventrikuläre Schrittmacher und Defibrillatoren, Herztransplantation, Kunstherzen). Hingegen existiert für HFPEF bislang keine einzige fundierte Behandlung. Dieser Missstand beruht auf der komplexen Pathophysiologie des HFPEF (linksventrikuläre Wandversteifung, arterielle Gefäßversteifung, chronotrope Inkompetenz, Vorhofdysfunktion und -flimmern, pulmonaler Hochdruck) und einem daraus resultierenden Mangel an Tiermodellen dieser Erkrankung.

Ziel des beantragten Projektes ist die Testung der Wirksamkeit eines neuartigen pharmakologischen Behandlungsansatzes (Stimulation der löslichen Guanylatzyklase) in einem kürzlich etablierten Modell des HFPEF beim Hausschwein, bei welchem ein Bluthochdruck und nachfolgend eine ausgeprägte konzentrische LV Hypertrophie schmerzfrei induziert wird. Der zu testende Wirkstoff ist erfolgreich in der Behandlung der pulmonalen Hypertonie bei Patienten und kann möglicherweise auch beim HFPEF wirksam sein, indem die Steifheit der arteriellen Gefäße und der linksventrikulären Muskulatur vermindert wird. Gleichzeitig werden Effekte dieser Behandlung auf Umbauprozesse in den Vorhöfen erfasst.

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 zur Untersuchung von Patienten eingesetzt (Echokardiographie, MRT des Herzens, elektrophysiologische Untersuchung der Vorhöfe, Druck-Volumenmessung im linken Ventrikel). In den bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere. Angesichts der Hilflosigkeit und Sterblichkeit von Patienten mit Herzinsuffizienz halten wir die mit dem Projekt verbundene Belastung der Tiere für vertretbar.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

32 weibliche Hausschweine

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

Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da das Krankheitsbild des HFPEF eine systemische Pathophysiologie umfasst und nicht z.B. in Zellkulturen nachgestellt werden kann. Da die Messungen detailliert die Erfassung z.B. des Lungendrucks, der Vorhoffunktion und der nach Wandschichten differenzierten linksventrikulären Funktion beabsichtigen, ist ein Großtiermodell erforderlich. Für die Spezies Schwein spricht die dem Menschen sehr ähnliche Anatomie des Herzkreislaufsystems und Reaktion auf chronischen Bluthochdruck. Es wird die geringst mögliche Anzahl an Tieren verwendet, die für eine statistisch signifikante Aussagekraft der Ergebnisse notwendig sind.

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

Während der Eingewöhnungszeit der Tiere sowie postoperativ werden neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes TierpflegerInnenpersonal zusätzlich zum Wohl der Tiere Enrichment in Form von Bällen, Gummiringe etc zur Verfügung gestellt. Weiters werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die Tierpflegerinnen und Projektmitarbeiterinnen gewöhnt, um die postoperativen Messungen so stressfrei wie möglich für das Tier durchzuführen.

Nichttechnische Projektzusammenfassung (gemäß § 31 TVG 2012)

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

Verschlechterte Wundheilung tritt häufig in Zusammenhang mit Diabetes, Adipositas, Mangelernährung, Gefäßerkrankungen, Pilzinfektionen, HIV/AIDS, Nierenerkrankungen, Tumorerkrankungen und dem Ehlers-Danlos-Syndrom auf und kann zu großen Problemen für den Organismus (chronisch offene Wunden, vermehrte Entzündungen, Immobilität, Notwendigkeit der Amputation von Gliedmaßen) führen. Daher ist die Erforschung von Substanzen, welche einen positiven Effekt auf die Wundheilung haben, von äußerster klinischer Relevanz. Die Wundheilung ist ein hoch komplexer Prozess, an dem eine Vielzahl von Faktoren und Immunzellen beteiligt sind. Die Mediatorenwirkung von kleinen Eiweißhormonen, den sogenannten Neuropeptiden, gewinnt in diesem Zusammenhang immer mehr an Bedeutung, da Immunzellen sowohl diverse Neuropeptide produzieren als auch Neuropeptid-Rezeptoren exprimieren. So konnten diverse Studien nachweisen, dass Neuropeptide (wie Substanz P, Calcitonin gene-related peptide, Neuropeptid Y) in der Wundheilung eine Rolle spielen. Das Neuropeptid Galanin hat in der neuronalen Regeneration eine Bedeutung und wir konnten zeigen, dass es an entzündlichen Prozessen der Haut beteiligt ist. In Folge dieser Erkenntnisse erstellen wir die Hypothese, dass Galanin und seine Rezeptoren (GalR1, GalR2, GalR3) auch während der Wundheilung und der Regeneration der Haut eine wichtige Funktion haben, da hier die erste Phase durch ein entzündliches Stadium charakterisiert wird. Das Ziel dieses Versuchsvorhabens ist neue, spezifische Funktionen und Angriffspunkte von Galanin auf den Verlauf der dermalen Wundheilung zu bestimmen und das therapeutische Potential zu evaluieren. Dabei wird ausschließlich das gut beschriebene Tiermodell der exzisionalen Wundheilung angewendet. Die resultierenden Erkenntnisse würden in weiterer Folge die Weiterentwicklung von stabilen Agonisten oder Antagonisten als mögliche Therapeutika vorantreiben. Während der gesamten Versuche ist die voraussichtliche Belastung der Versuchstiere durch Manipulationen, die mit Schmerzen und Leiden einhergehen oder Schäden hervorrufen als mittel einzuschätzen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*Mus musculus*) 211 Tiere

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

Soweit als möglich wird im Zuge der vorliegenden Fragestellung auf in vitro Versuche an Zelllinien und isolierten Primärzellen zurückgegriffen. Aus diesen in vitro Versuchen haben wir bereits Hinweise sammeln können, die auf ein Zusammenspiel diverser Zelltypen und diverser endogener Stoffe während der Wundheilung hindeuten. Um hier genauere Effekte studieren zu können, muss ein in vivo Modell herangezogen werden. Um eine ausreichende statistische Analyse im Anschluss an die Experimente durchführen zu können, darf eine gewisse Anzahl an Versuchstieren nicht unterschritten werden. Nur dann kann aus den Versuchsergebnissen eine fundierte Aussage über die erhobenen Daten getroffen werden. Aus diesem Grund planen wir 16-32 Tiere pro Versuchsgruppe. Zudem ist der Aufbau der Versuche so gewählt, dass die Ziele aufeinander aufbauen und der Versuch nur dann weitergeführt wird, sofern sich positive Effekte auf die Wundheilung zeigen. Sollte dies nicht der Fall sein, werden die Versuche unverzüglich eingestellt, um die Anzahl der Tiere für diese Fragestellung so gering wie möglich zu halten. Um die Belastung für die Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, wird die Manipulation der Haut unter Vollnarkose durchgeführt und die Tiere erhalten postoperativ eine Schmerztherapie, die je nach Zustand der Tiere fortgesetzt wird. Es werden keine weiteren Manipulationen an den Tieren durchgeführt. Die Belastung der Tiere wird mit

Hilfe eines Untersuchungsbogens beurteilt. Sollte ein Tier hier über 8 Punkte erreichen, wird das Tier unverzüglich schmerzfrei mittels CO₂ getötet. Zudem werden die Tiere zu Beginn alle 3 Stunden und im weiteren Verlauf alle 6, 12 bzw. 24 Stunden kontrolliert. Da der Hauptaugenmerk auf die Dauer der Wundheilung gerichtet ist, wird der Versuch nach maximal 14 Tagen abgeschlossen.

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

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

Die Fokal segmentale Glomerulosklerose (FSGS) bezeichnet eine Gruppe von chronischen Erkrankungen der Niere, die unbehandelt in der Mehrzahl der Fälle zu komplettem Nierenversagen führt. Sox9 ist einer der am stärksten erhöhten Transkriptionsfaktoren in Patienten mit FSGS und in vitro wurde bereits gezeigt, dass die Überexpression des Transkriptionsfaktors Sox9 die kleine, regulatorische RNA miR-193a hochreguliert. Dementsprechend möchten wir in vivo die Hypothese überprüfen, ob eine Überexpression von Sox9 und daraus resultierende Hochregulation miR193a in der Niere zu einem FSGS-Phänotyp führt. Das weitere Ziel ist, die durch Sox9-Überexpression in spezifischen Nierenzellen (Podozyten) via miR-193a Hochregulation ausgelöste FSGS-Symptomatik durch selektives Blockieren von miR-193a mittels tiny LNAs (locked nucleic acids) signifikant zu reduzieren, sowie den zugrundeliegenden Signaltransduktionsweg aufzuklären. Die Überprüfung einer FSGS in vivo erfolgt über die Albumin Creatinin Ratio. Dadurch kann volumenunabhängig die Menge des Albumins im Harn und damit die Proteinurie als Leitsymptom der FSGS überprüft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse unterschiedlichen Genotyps:

Insgesamt müssen 280 Tiere gezüchtet werden, um entsprechend des erforderlichen Genotyps 122 Tiere für experimentelle Untersuchungen einsetzen zu können. Um die Auswirkung von Sox9-Überexpression auf die Podozytenstruktur und -funktion zu analysieren werden ein gewebspezifisch induzierbares Sox9-Mausmodell Tg(Sox9^{loxP/loxP}) mit einem Mausmodell das podozyten-spezifische Expression der induzierbaren aktivierenden Cre-Rekombinase (Tg(NPHS2-rtTA,tetO-cre)1Holt) gekreuzt. Sollte SOX9 Überexpression FSGS auslösen UND die Expression von miR193a signifikant erhöht sein, ist in Folge ein Therapieexperiment geplant: Hier werden kleine LNA ("anti-microRNA") gegen miR193a verwendet, um die pathologischen Effekte von miR193a zu blockieren. Hierzu müssen beide Stränge von miR193a (3p, 5p) und auch beide Stränge zusammen inhibiert werden (3p+5p).

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

Die zugrundeliegenden Hypothesen der vorliegenden Versuche wurden ausführlich in vitro getestet und bestätigt. Eine weitere Aufklärung erfordert die Überprüfung in einem in vivo Modell, vor allem für die Charakterisierung der zu erwartenden FSGS durch funktionelle, histologische und molekularbiologische Untersuchungen besteht keine in vitro Alternative. Die benötigte Tierzahl wurde durch eine Fallzahlberechnung ermittelt, um eine gesicherte Aussage zu erzielen. Zur weiteren Minimierung werden die Versuche unter standardisierten und reproduzierbaren Bedingungen durchgeführt ..

„Behandlung von Hypothermie induzierter Alzheimer Pathologie“

Ziel dieser Studie ist 1. Die Validierung einer Methode zur Induktion von Hypothermie als Modell der Alzheimer Krankheit in nicht transgenen, und 2 transgenen Alzheimer Mausmodellen. Anschließend sollen 2. wildtyp Mäuse mit einer Testsubstanz behandelt werden und anschließend Hypothermie induziert werden. Durch die Applikation der Testsubstanz mittels subkutan implantierter Minipumpen wird erwartet, dass sich die durch Hypothermie induzierten Alzheimer Symptome und die hirnpathologischen Veränderungen verbessern. Dies soll durch histologische und biochemische Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden.

Schaden und Nutzenabklärung: In der heutigen Zeit stellt die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) die häufigste altersbedingte Demenz in den Industrieländern dar. Neben Herz-Kreislauf-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.

In dieser Studie sollen neue Substanzen gefunden werden, um die Alzheimer Erkrankung erfolgreich zu therapieren. Der Nutzen überwiegt dem Schaden am Tier, da durch die Austestung einer Substanz gegen die Alzheimer Erkrankung ein neues Medikament entwickelt werden soll, das in weiteren Schritten als Therapie zur Verfügung stehen soll.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 120 nicht transgene und 60 transgene Alzheimer Mäuse beantragt.

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

Um die Alzheimer Erkrankung erfolgreich zu behandeln 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 sie schlussendlich Marktreife erlangen. Die Tiere stehen unter ständiger tierärztlicher Kontrolle.

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

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

Ziel des Tierversuchs ist die Identifikation von "Live-History-Linien" im Knochen- bzw. Zahngewebe bei Feldhasen mittels subcutaner Injektionen von Frabmarkierungen. Dadurch lassen sich im Knochen- und Zahngewebe die postulierte "Geburtslinie" und die "Entwöhnungslinie" nachweisen. Solche Nachweise sind bislang in der Fachliteratur nicht bekannt geworden. Beide Momente in der Ontogenie eines Säugers sind durch physiologischen Stress charakterisiert, der sich aus der Umstellung der Ernährung über die Plazenta zur Milch und von der Milch zur Pflanzennahrung, sowie dem gleichzeitigen Aufbau einer Darmflora, ergibt. Im Zusammenhang mit der Rekonstruktion von Live-History-Events, insbesondere der Altersbestimmung durch die Auswertung von "Jahresringen" (so genannten "lags", lines of arrested growth) im rezenten oder fossilen Knochen- u. Zahngewebe ist der Nachweis der "Geburts"- und "Entwöhnungslinie" von wesentlicher Bedeutung.

2. Art und Anzahl der Tiere Für den Nachweis bzw. die Indektifikation der Linien ist nur eine Häsin (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) und ihr Wurf (1 -5 Neonate bzw. Säuglinge) notwendig.

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

„Vermeidung“

Der Nachweis, bzw. die Lokalisation der Geburts- und Entwöhnungslinien können nur im lebenden Tier durch Färbung der Gewebepartien infolge von Injektionen von Farbstoffen erfolgen. Diese Technik wird generell in der Knochenwachstumsforschung angewandt.

„Verminderung“

Insgesamt haben wir vor, ein Minimum an Tieren zur Darstellung der Life-History-Linien zu verwenden: eine Häsin und deren Nachwuchs aus einem Wurf. Die Versuchsdauer wird auf ein Minimum von ca. 30 Tagen (kurz vor Geburt bis zur Entwöhnung der Säuglinge) festgesetzt.

"Verfeinerung"

Die Häsin und ihr Wurf verbleiben während des gesamten Versuchs in ihrer gewohnten Box, sodass mit keinem zusätzlichen Stress durch geänderte Lebensraumverhältnisse zu rechnen ist.

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 (PVE) 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 in diesen Fällen zu wenig restliches Lebergewebe vorhanden, sodass es zum Leberversagen käme. Deshalb kommt seit einiger Zeit eine Methode zur Anwendung, bei der die Gefäße welche die tumortragenden Leberanteile versorgen, verschlossen werden, damit der andere Leberanteil sich entsprechend vergrößern (hypertrophieren) kann. Ist die Hypertrophie ausreichend, so erfolgt in der Regel nach sechs bis acht Wochen die Resektion des tumortragenden Leberanteils. Patienten mit unzureichenden Hypertrophie können bisher nicht operiert werden und haben damit keine weitere kurative oder lebensverbessernde Chance. Mit Hilfe dieser 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 40 Wistar 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)

Für unsere Studie benötigen wir eine normal durchblutete Leber mit ähnlicher Physiologie und Anatomie wie beim Menschen, sodass die PVE am Tier vergleichbar ist und unsere applizierten Zytokine genauso wirken können wie es physiologisch zu erwarten ist. Daher ist diese Studie an einzelnen Organen oder Zellkulturen nicht möglich. Es wurde die Mindestanzahl an Tieren genommen, die für die Statistik notwendig sind um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen sind.

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. Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen für entsprechendes Enrichment gesorgt. Die Tiere stehen dabei unter regelmäßiger Beobachtung und Betreuung von erfahrenen Veterinärmedizinerinnen und entsprechend geschulten Tierpflegern.

Nichttechnische Projektzusammenfassung (gemäß § 31 TVG 2012)

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

Um den Zusammenhang und den Einfluß perivaskulärer Zellen an der Pathologie im glaukomatösen Auge detailliert untersuchen zu können, soll ein okuläres Hypertensionsmodell etabliert werden. Dieses Rattenmodell ermöglicht uns eine präzise Charakterisierung der Perizyten während der Vorstufe zum Grünen Star. Ziel der beantragten Versuche ist es, ein mögliches therapeutisches Fenster und auch zelluläre Kandidaten (perivaskulären Zellen) für eine Intervention bei okularer Hypertension zu finden.

Zum Erreichen des Versuchsziels sollen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Wird die Anzahl oder Verteilung der Perizyten im okulären Hypertensionsmodell verändert (Sehnerv, Retina)?
2. Kann ein Zusammenhang der Perizytenveränderung mit der Stärke und Dauer der Augendruckerhöhung gezeigt werden?
3. Kommt es zu einer Aktivierung der Perizyten (Stammzeleigenschaften), besitzen sie Regenerationspotential?
4. Ist die Interaktion der Perizyten mit Astrozyten (Gliazellen) im Sehnerv und der retinalen Gangliozellschicht durch die okuläre Hypertension beeinflusst?
5. Besteht ein Zeitfenster zwischen der Stressreaktion und/oder Aktivierung der Perizyten und dem Absterben von retinalen Nervenzellen (retinale Ganglienzellen)?

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die beantragten Versuche sollen Brown Norway Ratten (männlich und weiblich, sowie Tiere aus der eigenen Zucht) verwendet werden. Basierend auf den Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe mit Ratten und den in der Literatur publizierten Standardabweichungen für Augendruckerhöhungen mit diesem Modell werden pro Gruppe 10 Tiere benötigt, um einen Effekt mit $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$ und einer Power von 0.8 nachweisen zu können. Die Effektgröße (in den nachfolgenden Untersuchungen) wurde hierbei basierend auf Erfahrungen der Arbeitsgruppe mit 10% angenommen. Die Tiere einer Gruppe werden nach jeweils 1, 2, 3, 4, 5 und 6 Wochen nach Induktion der okulären Hypertension euthanasiert. Die einzelnen Gruppen werden sequentiell bearbeitet, insgesamt ist bei 60 Versuchstieren mit einer Gesamtdauer von 2 Jahren zu rechnen.

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

Im vorliegenden Projektantrag soll ein mögliches therapeutisches Fenster und auch zelluläre Kandidaten (perivaskulären Zellen) für eine Intervention bei okularer Hypertension gefunden werden. Da diese Untersuchungen am humanen Augen nicht möglich sind, ist eine Versuchsreihe an Tieren unumgänglich. Für das Modell der okulären Hypertension gibt es etablierte Rattenmodelle. Bisher wurden in der Literatur verschiedenste Methoden zur Erzeugung einer Augendruckerhöhung beschrieben (Johnson et al 2009). Die drei gängigsten Methoden zur Augendruckerhöhung sind

- 1) "Hypertonic saline model" (Morrison et al 1997): durch die Injektion einer hypertonen Salzlösung werden die limbalen episkleralen Venen verschlossen und es kommt zu einer Reduktion des Kammerwasserabflusses.
- 2) Laserbasierte Stauung des venösen Abflusses/Trabekelwerkes (Ueda et al. 1998).
- 3) "Microbead occlusion model"-durch die Injektion von Mikrobeads in die vordere Augenkammer wird der Kammerwasserabfluß blockiert und in Folge der Augendruck erhöht (Sappington et al. 2010). Unsere Methode stellt eine Weiterentwicklung/Verfeinerung des "Microbead occlusion models" dar. Durch die Verwendung von magnetischen Microbeads können diese mit Hilfe eines Stabmagneten direkt in den Kammerwinkel positioniert werden. Daher dann eine Beeinträchtigung

der visuellen Achse der Ratte ausgeschlossen werden und eine zusätzliche visuelle Beeinträchtigung wird vermieden. Die oben angeführte Versuchsplanung ist auf eine Minimierung der Versuchstiere ausgelegt.

Referenzen:

Johnson, E.C., et al, Neurotrophin roles in retinal ganglion cell survival: Lessons from rat glaucoma models. *Exp Eye Res*, 2009. 88(4): p. 808-15
Morrison, J.C., et al, A rat model of chronic pressure - induced optic nerve damage. *Exp Eye Res*, 1997.64(1): p.85-96.
Ueda, J, et al, Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of India ink. *Jpn J Ophthalmol*, 1998.42(5): p.337-44.

Sappington, R.M, et al, The microbead occlusion model: a paradigm for induced ocular hypertension in rats and mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010.51(1): p. 207-16.

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 –

Ziel des Projektes ist es durch lokale und 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 (Debridement der Epidermis mittels Handdermatom), die Autophagie anzukurbeln und damit das Nachbrennen zu verhindern bzw. zu reduzieren sowie die Wundheilung zu beschleunigen bzw. verbessern (Narbenqualität).

Nutzen: Geringere Gewebeschädigung, schnellere und verbesserte Wundheilung

Erwartender Schaden: dzt. in der aktuellen Literatur keine schädliche Wirkung bekannt

2. Art und Anzahl der Tiere –

Es werden 3 Gruppen mit jeweils 10 Ratten pro Gruppe gebildet. Bei Ratten (sowohl männlichen als auch weiblichen Tieren, immer in einem 1:1 Verhältnis) wird eine 30%-ge, drittgradige Verbrühung erzeugt und die Brandwunden, nach Debridement der Epidermis mittels Handdermatom, unterschiedlich behandelt.

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

Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur in vivo zu beantworten sind. Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Versuchsgruppengrößen und sequentiell, um u.a. durch die im jeweiligen Versuch gewonnen Daten die notwendigen Versuchstierzahlen des nächsten Versuches möglichst gering halten zu können. Auf die übrigen Kontrollgruppen aus dem ersten Tierversuch wird verzichtet, da aus vorangegangenen Untersuchungen bereits bekannt ist, dass diese bei den zur Anwendung kommenden höheren Spermidin - Dosen, keine andere biologische Wirkung entfalten können. Da die Spermidin-Therapie bei einer Dosis, wie aus dem ersten Tierversuch ermittelt wurde, am besten wirkt, sollte die regelmäßige Überwachung der Wundheilung bzw. Hautregeneration eine sehr effiziente Behandlung ohne akute und chronische Nebenwirkungen bei den Versuchstieren erlauben. Die Spermidin Behandlung wird täglich (topisch) und jeden 2. Tag (intraperitoneal) in 10 Tagen erfolgen, ein Zeitraum, innerhalb dessen aus Erfahrungswerten (aus dem ersten Tierversuch) eine Hautregeneration und reduzierte Gebeschädigung in der tiefe zu erwarten ist.

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 -Text hier eingeben
Da es bei der Entfernung der VAC-Schwammsysteme oftmals, aufgrund ihrer hohen Adhäsionseigenschaften, zu Materialrückständen in Körperhöhlen und im Wundbett kommt, sollen in einem Tier-Versuch Vliesstrukturen aus resorbierbaren Polymeren für den Einsatz als Matrix zur Wundkonditionierung mittels Vakuumtechnik (VAC -Technik) Verwendung finden. Diese Vliesstrukturen haben sich in "in vitro" Zellversuchen als biokompatibel, mechanisch stabil unter hydrolytischen Bedingungen während der Zellbesiedelung sowie für das Einsprossen von Gefäßen und das nachhaltige Einwachsen von Fibroblasten und Keratinozyten besonders vorteilhaft gezeigt. Erwartender Nutzen: Biokompatibel, Integration bzw. vollständige Resorption im Gewebe ohne lokaler oder systemischer Reaktion.

Erwartender Schaden: mögliches Auftreten von lokalen oder systemischen Entzündungs- oder Fremdkörperreaktionen.

2. Art und Anzahl der Tiere -Text hier eingeben

10 Hausschweine

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

Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die Fragestellungen nur in vivo zu beantworten sind. Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Versuchsgruppengrößen und sequentiell, um u.a. durch die im jeweiligen Versuch gewonnen Daten die notwendigen Versuchstierzahlen des nächsten Versuches möglichst gering halten zu können. Auf Kontrollgruppen ohne VAC Behandlung wird verzichtet, da aus vorangegangenen Untersuchungen bereits bekannt ist, dass eine Wundbehandlung ohne VAC eine längere und wenig effektive Wundheilung bewirkt. . Da die VAC-Therapie nur lokal und nicht systemisch wirkt, sollte die regelmäßige Überwachung der Wundheilung, eine sehr effiziente Behandlung ohne akute und chronische Nebenwirkungen bei den Versuchstieren erlauben. Die VAC Behandlung erfolgt in der Zeitdauer von 8-12 Wochen, ein Zeitraum, innerhalb dessen aus Erfahrungswerten beim Menschen, aber auch aus dem Tiermodell, eine vollständige Wundheilung zu erwarten ist.

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. 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. 50 Mäusen, 100 Meerschweinchen, 150 Kaninchen und max. 10 Ziegen und 5 Schafe 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. Die Schäden für die Tiere in Form von Leiden, Schmerzen und Ängsten sind unter Berücksichtigung ethischer Erwägungen durch das erwartete Ergebnis gerechtfertigt sind um letztlich Menschen zugutekommen zu können.

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

Hintergrund: Hochdruck im Darmvenensystem (Pfortadersystem - als portale Hypertension bezeichnet) entwickelt sich vorwiegend bei Patienten mit langdauernden Lebererkrankungen wie Leberzirrhose. Portale Hypertension ist eine ernstzunehmende Krankheit mit fatalen Komplikationen (Ösophagusvarizenblutung, bakterielle Infektionen, hepatischer Enzephalopathie bis Coma hepaticum) und potentiell tödlichem Ausgang. Die Erkrankung basiert auf entzündlichen und gefäßneubildenden Prozessen, welche nicht vollständig geklärt sind. Wir testen in unserem Antrag eine Substanz (Pioglitazon), welche die Entzündung sowie die Gefäßneubildung hemmen kann.

Projektziel: Der Effekt von Pioglitazon auf die portale Hypertension in einem Rattenmodell mit isolierter portaler Hypertension zu untersuchen, um so die Wirkungsweise von Pioglitazon differenziert betrachten zu können.

Tiere: Für das Projekt werden entsprechend einer Fallzahlberechnung 34 männliche Sprague Dawley Ratten beantragt.

Methodik: Die isolierte portale Hypertension wird mittels partieller Pfortaderligatur unter Ketamin/Xylazin Narkose erzeugt. In einer Kontrollgruppe werden Scheinoperationen ohne Pfortaderligatur durchgeführt. Beide Tiergruppen erhalten nach der Operation Schmerzmittel (Piritramid) und werden beginnend mit dem ersten postoperativen Tag täglich mit Pioglitazon (10mg/kg) behandelt. Nach 7 Therapietagen erfolgt die Nachuntersuchung, bei der unter Narkose der Pfortaderdruck, der arterielle Druck, sowie der Blutfluss im Darmgebiet und in den Kollateralen gemessen werden. Danach werden die Tiere eingeschläfert und Gewebeproben von Leber und Darmgebiet entnommen, um molekularbiologisch und histologisch Entzündungs- und Gefäßneubildungsmarker zu untersuchen.

3R: Effekte auf den Blutfluss und Organsysteme sind nur in vivo messbar. Für unser Experiment beantragen wir die kleinst-nötige Tierzahl um eine fundierte wissenschaftliche Aussage zu treffen, welche mittels einer Fallzahlberechnung bestimmt wurde. Die Eingriffe erfolgen basierend auf international etablierten und verfeinerten Methoden unter sterilen Bedingungen und werden von erfahrenen Medizinern durchgeführt. Um die inter-experimentelle Variabilität gering zu halten, erfolgen die Tierhaltung (SPF) und Versuchsanordnung unter standardisierten Bedingungen, die Einteilung der Gruppen unterliegt zudem einer rotatorischen Ordnung. Die Belastung der Tiere wird durch Narkose und Schmerzmittelgabe möglichst gering gehalten und dadurch als mittel eingeschätzt.

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

Projekt: Untersuchungen zur Anwendung von Propylenglycol bei Milchkühen

1. Angaben über die Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens, Die Ziele der Untersuchung sind es:

- Erfassung der physiologischen Antwort (Insulinausschüttung und Veränderung von Parametern des Energiestoffwechsels) auf eine orale Gabe von Propylenglycol an Milchkühe zu unterschiedlichen Zeiträumen
- Dosisbestimmung an Propylenglycol in unterschiedlichen Zeiträumen
- Bestimmung der notwendigen Häufigkeit der Propylenglycolgabe zur Erzielung des optimalen Effektes (Feldstudie)

Zu erwartende Schäden und Nutzen:

- Schaden: keine Schäden zu erwarten, die Tiere tolerieren die Blutentnahme ohne klinische Probleme, die Gabe von Propylenglycol ist Routine
- Nutzen: Feststellung der optimalen Dosis und Frequenz für Propylenglycol

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere,

Es werden 7 Kühe im Teil 1 und 45 Kühe im Teil 2 in das Projekt einbezogen.

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

Die Untersuchungen von klinisch angewandten Studien müssen an der Zieltierart erfolgen, ein Ersatz steht nicht zur Verfügung. Durch die Wahl der Stichprobengröße in Teil 2 ist die minimal sinnvolle Stichprobengröße gewählt worden. Die Manipulationen sind als gering einzuschätzen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012):

1. Grundlagenforschung

Projektziele, einschließlich des zu erwartenden Schadens und Nutzens:

Die Projektziele und der zu erwartende Nutzen definieren sich primär über eine zukünftige verbesserte Bewahrung des Restgehörs und eine Reduktion der Nebenwirkungen nach Cochlea-Implantation durch die Evaluierung einer neuen Applikationsart (intratympanisches Hydrogel im Bereich der Rundfenster-Nische) des derzeitigen Goldstandards Dexamethason.

Der zu erwartende Schaden inkludiert die Verabreichung des Wirkstoffs durch das Trommelfell in das Mittelohr (Tiere in Narkose), den operativen Eingriff der Cochlea-Implantation und die wiederholte Anästhesie zur Durchführung der objektiven Hörmessungen.

Anzahl und Art der Tiere: 40 pigmentierte männliche und weibliche Meerschweinchen

„3R“: Um eine statistische Aussagekraft zu gewährleisten ist die angegebene Anzahl an Tieren nötig, wobei die Invasivität bereits auf ein Minimum reduziert wurde und der Einsatz eines etablierten Modells zur internationalen Vergleichbarkeit beiträgt. Die verwendete Gruppengröße wurde aufgrund einer Fallzahlplanung berechnet. Durch Standardisierung aller Versuchsbedingungen wird die Streuung der Versuchsergebnisse vermindert und somit die Tierzahl zusätzlich auf das notwendige Minimum gesenkt.

„Haltung, Zucht und Charakterisierung von transgenen MitoRats“

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen neu entwickelte transgene MitoRats Ratten im Alter von 1, 3 und 6 Monaten auf ihre allgemeine Gesundheit, Aktivität, Ängstlichkeit, Motorik und Kognition getestet werden. Durch die Charakterisierung wird es im Folgenden möglich sein diese Tiere für die Austestung von neuen Medikamenten gegen mitochondrial-bedingte Krankheiten einzusetzen.

Schaden und Nutzenabklärung: In den letzten Jahren konzentriert sich die Forschung im Bereich neurodegenerativer Erkrankungen vermehrt auf die Analyse von mitochondrialen Misregulationen, da nachgewiesen werden konnte, dass z.B. bei Alzheimer oder Parkinson Patienten die mitochondriale Funktion gestört ist. Das hier zu charakterisierende MitoRats Rattenmodell wird daher zur Grundlagenforschung als auch zur Austestung neuer Substanzen zur Behandlung von mitochondrial-bedingten Krankheiten dienen und somit die Forschung in diesem Bereich erleichtern und beschleunigen. Die Forschung im Bereich mitochondrialer Erkrankungen ist noch sehr neu, die Anzahl der Veröffentlichungen zu diesem Thema ist jedoch in den letzten Jahren stetig steigend. Dies beweist wie wichtig dieser Forschungsbereich ist und dass schon bald neuartige Medikamente zur Behandlung der mitochondrialen Symptome im Tiermodell zu testen sein werden. Die hier zu charakterisierende transgene Ratte stellt daher ein gutes Modell dar um diese Medikamente zu testen.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 120 transgene MitoRats Ratten und 120 nicht transgene Geschwistertiere beantragt. Die Ratten überexprimieren eine RNAi gegen das mitochondriale Protein Cytochrome C. Die RNAi führt dazu, dass die Expression des Cytochrome C gehemmt wird und dadurch die Funktion der Mitochondrien gestört wird.

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

Um mitochondrial-bedingte Krankheiten 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 Charakterisierung von mitochondrial gestörten Ratten kann es möglich sein, neue und effiziente Medikamente gegen Mitochondrien-bedingte Erkrankungen zu testen.

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht von 40 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 der einzelnen Stämme auf mögliche Beeinträchtigungen in ihrem allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten.

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

Für diese Untersuchungen und die Erhaltung von 40 Mausstämmen über einen Zeitraum von 5 Jahren wird eine Anzahl von insgesamt 14.400 Mäusen beantragt. Von diesen Stämmen sind 10 (3600 beantragte Tiere) aufgrund ihrer genetischen Eigenschaften als möglicherweise mit Schweregrad: gering belastet einzustufen. Die übrigen 30 Stämme (10.800 beantragte Tiere) sind genetisch unbelastet, der derzeitigen Rechtsauffassung folgend jedoch genehmigungspflichtig, weil die Bestimmung ihrer genetischen Eigenschaften eine Gewebeprobe (Schwanzspitzenbiopsie oder Venenpunktion) erfordert.

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. Der Großteil der hier beantragten Tiere wird in anderen wissenschaftlichen Projekten weiterverwendet werden.

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

Ad 1.: Nahrungsmittelallergien stellen ein steigendes Gesundheitsrisiko dar und betreffen bis zu 4% der gesamten Bevölkerung. Allerdings werden bis heute die Mechanismen, warum manche Patienten schwere allergische Reaktionen auf Kontakt mit den entsprechenden Allergenen zeigen, nicht zur Gänze verstanden. Aus Gründen der Sicherheit ist es daher ganz entscheidend, Risikofaktoren für schwere allergische Reaktionen aufzuklären und genau zu untersuchen. Das Ziel der vorliegenden Studie ist es, Risikofaktoren wie Umweltverschmutzung, Entzündungen im Körper oder den Alterungsprozess, die alle eine bestimmte Form der Eiweißveränderung hervorrufen, bei Nahrungsmittelallergien auf ihre heftigen Reaktionen zu untersuchen. Bisherige Daten in Zellversuchen legen nämlich nahe, dass in den oben angeführten Situationen ein verstärktes Risiko für schwere allergische Reaktionen bestehen könnte. Laborstudien mit Zellen haben gezeigt, dass der Einsatz von chemisch veränderten Eiweißbestandteilen zu einer vermehrten Freisetzung von allergieauslösenden Botenstoffen führen kann. Allerdings ist es nicht möglich, die genauen Auswirkungen an Zellkulturen weiter abzuklären. Es ist daher von klinischen wie auch gesundheitspolitischem Interesse diese genauen Mechanismen am lebenden Organismus im Tiermodell abzuklären.

Ad 2.: 288 BALB/c Mäuse

Ad3.:

Unveränderte Nahrungsbestandteile werden verwendet, um in den Tieren eine allergische Reaktion ähnlich wie beim Nahrungsmittelallergischen Patienten auszulösen. Im Anschluss daran, soll der Einfluss der chemisch veränderten Nahrungsbestandteile auf die klinische Reaktion der Tiere untersucht werden. Nach dem sog. "Konzept der 3 R" (Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung) wurden vor Einreichung des vorliegenden Projektes sämtliche Möglichkeiten zellulärer Experimente zur Untersuchung der Auswirkung auf bestehende Nahrungsmittelallergien ausgeschöpft. Eine Standardisierung aller Versuchsbedingungen ermöglicht die Streuung der Ergebnisse so gering wie möglich zu halten, die zu verwendende Tieranzahl wurde durch genaue statistische Planung auf das Minimum reduziert. Zur Schonung der Tiere werden die chemisch veränderten Nahrungsbestandteile erst kurz vor Abschluss der Experimente eingesetzt.

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

Ad1:

Ziel der vorliegenden Studie ist es, ein Mikrodialysemodell zur kontinuierlichen Probenahme im Kaninchenauge zu etablieren, um in weiterer Folge Substanzen testen zu können, die die Aufnahme von Medikamenten in das Patientenaug verbessern. Pharmakologische Messungen von Substanzkonzentrationen in der Vorderkammer und im Glaskörper des Auges gestalten sich wegen der besonderen Anatomie und Physiologie dieses Organs schwierig. Die Messung eines verabreichten Wirkstoffs im Blut lässt nur bedingt Rückschlüsse auf die Konzentration im Inneren des Auges zu. Dies macht eine Probenahme direkt am Wirkort notwendig. Da das Kaninchenauge dem des Menschen ähnlich ist, wird meist diese Tierart für Untersuchungen am Auge herangezogen. Im Rahmen von präklinischen Studien zur Untersuchung der Sicherheit und Wirksamkeit einer Substanz wird bei der konventionellen Datenerhebung von zeitlichen Konzentrationsverläufen im Auge eine große Anzahl an Versuchstieren benötigt, um die zur Erstellung eines Wirkstoffprofils benötigten Daten zu erhalten.

Ad2:

44 weibliche Kaninchen (New Zealand White)

Ad3:

Das vorliegende Projekt hat zum Ziel, eine international anerkannte Probenahmetechnik am Auge mittels Mikrodialyse zu etablieren und zu nutzen und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der anzuwendenden Methode. Es steht derzeit kein ausreichend komplexes in vitro Ersatzmodell für pharmakologische Messungen im Kammerwasser und dem Vitreus zur Verfügung, um durch die kontinuierliche Messung im Zielorgan einen kompletten zeitlichen Konzentrationsverlauf eines Individuums zu erstellen. Dies stellt eine deutliche Verminderung der notwendigen Tierzahl bei punktuellen Messungen dar. 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

Projektziele: Ultraviolette (UV) Strahlung schädigt Hautzellen und kann zu frühzeitiger Hautalterung und zu Hautkrebs führen. Die Pigmentierung der Haut, die von einem bestimmten Hautzelltyp, dem Melanozyten, bewirkt wird, bietet einen teilweisen Schutz gegen UV Strahlen. Weiters verfügen Hautzellen über intrazelluläre Reparatur- und Regenerationsmechanismen, von denen man annimmt, dass sie zum Schutz gegen UV Schäden beitragen. Einer dieser Mechanismen ist die Autophagie, ein evolutionär konservierter Prozess zur Entfernung schadhafter Zellbestandteile. In früheren Studien wurde gezeigt, dass Autophagie auch in Melanozyten des Menschen und der Maus aktiv ist. Um die Rolle der Autophagie im Schutz der Melanozyten gegen UV Schäden bestimmen zu können, wurde ein Mausstamm kreiert, in dem die Autophagie spezifisch in Melanozyten inaktiviert ist. In der jetzigen Studie werden Mäuse dieses Stammes und Mäuse, die zur normalen Autophagie in Melanozyten fähig sind, mit UV bestrahlt. Die Auswirkungen der Bestrahlung werden in beiden Mausstämmen 24 Stunden und 4 Wochen nach Ende der Bestrahlung untersucht. Durch Vergleich der UV Wirkungen in beiden Mausstämmen können die beiden Forschungshypothesen getestet werden, dass Autophagie zum Schutz der Melanozyten gegen UV Schäden beiträgt und dass Autophagie in Melanozyten notwendig für die UV-induzierte Zunahme der Hautpigmentierung ist. Die erwarteten Erkenntnisse können in der Entwicklung von präventiven und therapeutischen Strategien gegen UV Schäden helfen. Negative Effekte der geplanten Untersuchungen sind nicht zu erwarten.

Art und Zahl der benötigten Tiere: Insgesamt werden 200 Mäuse benötigt, von denen die Hälfte genetisch so verändert sind, dass die Autophagie spezifisch in Melanozyten abgeschaltet ist.

3Rs: Den 3R Prinzipien wird in dieser Studie dadurch Rechnung getragen, dass die Anzahl an eingesetzten Mäusen so weit wie möglich reduziert wird, um noch statistisch aussagekräftige Analysen Ergebnisse zu erhalten. Die gewählten Bestrahlungsbedingungen werden so gewählt, wie sie in früheren Studien als relevant und wenig belastend erruiert wurden. Ergänzende Studien werden mit kultivierten Zellen in vitro durchgeführt.

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

Heutige Milchkühe werden üblicherweise mit energiereichen Rationen gefüttert, um eine hohe Milchleistung und Kosteneffizienz zu gewährleisten. Obwohl diese Fütterungspraxis notwendig ist, um die Milchproduktion kosteneffizient zu maximieren, wird sie den verdauungsphysiologischen Bedürfnissen der Milchkühe oft nicht gerecht. In direkter Konsequenz der Verfütterung energiereicher Rationen an Kühe steigt die Inzidenz der Stoffwechselerkrankungen wie zum Beispiel die subakute Pansenazidose (SARA), die eine wichtige Verdauungsstörung bei Wiederkäuern ist. Infolge von SARA sinkt die Futtermittelverwertungseffizienz und es kommt zu Produktionseinbußen. Besonders schwerwiegend für die Tiergesundheit sind die durch SARA ausgelösten metabolischen Veränderungen. Immer mehr Studien deuten darauf hin, dass SARA die Barrierefunktion des Pansenepithels von Rindern negativ beeinflusst, bisher fehlen jedoch Erkenntnisse über die exakten Mechanismen, die hinter der erhöhten Durchlässigkeit des Epithels und den mikrobiologischen Veränderungen im Pansen stehen, und über die Transportmechanismen von im Pansen generierten Stoffen in den Blutkreislauf. Das geplante Projekt soll dabei helfen, ein breites Wissen und Verständnis über die metabolischen Auswirkungen der Ernährung bei Rindern und die daraus resultierenden Veränderungen im Pansen zu gewinnen. In einem Versuch mit 8 Milchkühen sollen grundlegende Informationen über mögliche Anpassungs- und Stoffwechselprozesse des Pansenepithels und des angeborenen Immunsystems der Kühe gewonnen werden. Bei den vorgesehenen Untersuchungen handelt es sich um methodisch sehr aufwendige Arbeiten, die die Verwendung kleiner Tierzahlen erzwingen. Die tierindividuelle Streuung soll dabei durch Wiederholungsvarianten im lateinischen Quadrat in dem jeweiligen SARA-Modell eliminiert werden. Die Kühe werden mit einer Pansenfistel (ϕ 100 mm) versehen, die die mehrmalige Entnahme von Pansensaft und Verdauungsbrei ermöglichen. Die Dauerimplantation von Pansenfisteln (Silikonkanülen) wird nach bisherigen Erfahrungen (seit 1972) kurz- wie langfristig gut toleriert. Die Entnahme von Pansensaft durch die Kanülen ist schmerzfrei und ohne Zwangsmaßnahmen an den Tieren durchführbar.

Vermeidung: Das gegenständliche Projekt hat das Ziel, die metabolischen Prozesse des Pansenepithels und des angeborenen Immunsystems von Milchkühen zu untersuchen und zu verstehen. Die zu untersuchenden Parameter benötigen die Verwendung eines lebenden Gesamtorganismus, da ein enges Zusammenspiel der einzelnen Komponenten des Stoffwechsels bzw. Immunsystems vorliegt, welches detailliert untersucht werden soll. Der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode hat in diesem Fall keine Anwendung, denn die zu untersuchende Parameter, wie die Expression ausgewählter Gene im Pansenepithel und eine durch SARA ausgelöste Immunantwort, können in alternativen Ansätzen (Zellkultur oder künstlichen Systemen) nicht untersucht werden.

Verminderung: Bei den vorgesehenen Untersuchungen handelt es sich um methodisch sehr aufwendige Arbeiten, die die Verwendung kleiner Tierzahlen erzwingen. Die tierindividuelle Streuung soll dabei durch Wiederholungsvarianten im lateinischen Quadrat in dem jeweiligen SARA-Modell eliminiert werden. Durch das Versuchsdesign als Lateinisches Quadrat (4x 4) und geeignete statistische Auswertungen ist es möglich, die Tierzahl auf ein Minimum von 8 Tieren zu reduzieren. Eine Anzahl von 8 Tieren ist jedoch notwendig und hat ausreichend Aussagekraft ($>85\%$; $\alpha = 0.05$), um die Nullhypothese für SARA betreffende Variablen zu widerlegen. Da eine Pansenfistel auch langfristig von den Kühen gut toleriert wird, sehen wir keinen Anlass, für jeden Durchgang neue Tiere einem operativen Eingriff zu unterziehen und aus Milchproduktionskette zu entfernen. Um sicher zu stellen, dass die Tiere gesund sind und nicht leiden, werden sie auch zwischen den Versuchsdurchgängen tierärztlich betreut. Vor Beginn eines neuen Versuchsdurchgangs wird zusätzlich durch eine klinische Untersuchung sichergestellt, dass die Tiere gesund sind und keine Schwierigkeiten haben werden, den folgenden Durchgang gut zu durchlaufen.

Verfeinerung: Um den Tieren jegliches unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen werden mehrere Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen sollen. Die Unterbringung der Tiere entspricht den 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 Holzspänen als Einstreu schafft eine Umgebung die den physiologischen Bedürfnissen der Tiere entsprechen. Durchgehender Zugang zu Futter und sauberem Trinkwasser wird gewährleistet. Geeignete Abbruchkriterien wurden definiert, die ein unnötiges Leiden der Tiere bei etwaigen auftretenden Komplikationen oder Erkrankungen während des Tierversuchs vermeiden sollen.

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

Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen die Todesursache Nr. 1 in Österreich dar. Eine besondere Rolle kommt hier -als größte Gruppe -den koronaren Herzerkrankungen (KHK) zu, die häufig zu einem Herzinfarkt bzw. Herzversagen und in der Folge zum Tod des Erkrankten führen. Trotz großer Bemühungen in den vergangenen 10 Jahren neue Therapien für KHK zu entwickeln, sind die therapeutischen Erfolge in der Klinik nach wie vor deutlich begrenzt. Das menschliche Herz ist eines der wenigen Organe im Körper das nur über sehr begrenzte Selbstheilungskräfte verfügt. Die Vorgänge und Mechanismen der Selbstheilung im Herzen sind jedoch praktisch unverstanden. Ziel dieser Studie ist es 1) diese Selbstheilungskräfte zu studieren, zu verstehen, und 2) diese Vorgänge im Rahmen neuer Therapien zu aktivieren und zu verstärken. Wie bei vielen Tierversuchen entsteht im Versuchstier Leid. Durch eine intensive Betreuung und Versorgung mit schmerzlindernden Medikamenten wird die Belastung der Versuchstiere so gering wie möglich gehalten (die Vorgehensweise entspricht denen bei einer Operation von Menschen). Durch die Entwicklung neuer Therapien zur Behandlung von koronaren Herzerkrankungen kann Millionen von Menschen geholfen werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden 328 Ratten benötigt.

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

► Obwohl in vorangegangenen Projekten -wo immer möglich -mit Organkulturen und Zellkulturen gearbeitet wurde, ist es in diesem Fall zwingend nötig die Untersuchungen im Tiermodell durchzuführen. Der Hauptgrund dafür besteht in der Tatsache, dass die Vorgänge im Herzen, nach Herzinfarkt, sowie in der Therapiephase durch eine Unzahl von Faktoren bedingt ist, die in Zell- bzw. Organkulturmodellen nicht adäquat simuliert werden können. Neben lokalen Ereignissen im Herzen, sind v.a. das Immunsystem, und anderen Blutzellen zentral beteiligt. Die Effekte einer neuen Herzinfarkttherapie müssen -um Auswirkungen auf die Herzleistung prüfen zu können -über einen längeren Zeitraum untersucht werden. Dies ist zur Zeit ausschließlich in einem Tier möglich.

► Die Anzahl der benötigten Versuchstiere wurde so weit wie möglich und wissenschaftlich vertretbar auf ein Mindestmaß reduziert.

► Durch den Eingriff am Versuchstier entsteht für das Tier eine deutliche Belastung (vgl. Herzoperation beim Menschen). Die Tiere werden daher -ähnlich klinischen Patienten -intensiv betreut, ständig überwacht und erhalten während der gesamten postoperativen Zeit eine umfassende Schmerzbehandlung.

► Eine große Anzahl von Proben, die bei diesem Versuch gewonnen werden, können in Folgeprojekten erneut verwendet werden. Die Anzahl der Tierversuche und die Anzahl benötigter Versuchstiere werden somit reduziert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2017 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 Masthühnern, die eine gute und schlechte Futterverwertung 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 monogastrischen Nutztier, z.B. beim Masthuhn, haben. Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Darmmikrobiota einen starken Einfluss auf Futtereffizienz und auf die Schlachtkörperqualität durch ihren Einfluss auf Nährstoffverdauung, Absorption und Stoffwechsel haben kann. Daher wird angenommen, dass sich die mikrobielle Gemeinschaft und die Darmfunktionen von Masthühnern mit einer über- und unterdurchschnittlichen Futterverwertung unterscheiden. Ein verbessertes Verständnis dieser Wechselwirkungen wird es ermöglichen, ernährungsbasierte Strategien zu entwickeln, die die mikrobielle Besiedlung des Darms und seine Funktion derartig beeinflussen, dass die Futtereffizienz und Darmgesundheit von Masthühnern gefördert werden, und die gleichzeitig helfen, den ökologischen Fußabdruck zu verringern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden 250 Masthühner geplant, die sich in 4 Durchgänge mit 50 Tieren und in einem Reserve-Durchgang mit 50 Tieren aufteilen. Es ist geplant, die Masthühner vom Schlupf bis zu einem Alter von 6-7 Lebenswochen zu halten.

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 Masthuhn geht, findet in diesem Fall der Ersatz durch eine versuchstierfreie Methode keine Anwendung. Die untersuchten Parameter benötigen die Verwendung eines lebenden Gesamtorganismus, da der Effekt der Darmmikrobiota und -funktion auf die Futtereffizienz untersucht werden soll. Alternative Ansätze (in-vitro Systeme) können diese Effekte nur teilweise widerspiegeln, da die Futteraufnahme und Gewichtsentwicklung nur am Gesamtorganismus untersucht werden können. Außerdem müssen durch die tierindividuelle Mikrobiota zur genauen Untersuchung der Wirkmechanismen zwischen Darmmikrobiota und Futtereffizienz die Parameter am gleichen Gesamtorganismus gewonnen werden. Die Gewinnung von Probenmaterial (Blut, Darmgewebe, Leber und Muskel) für andere Projektpartner, ermöglicht es, Tierversuche an diesen Partnerinstitutionen zu vermeiden. Insgesamt ermöglicht die Kryokonservierung von gewonnenem Probenmaterial weitere Untersuchungsreihen für Fragestellungen zum Projektthema, ohne dass neue 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 Masthühnern unnötiges Leid zu ersparen und den physiologischen Bedürfnissen der Tiere nachzukommen, werden mehrere Maßnahmen ergriffen, die zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere beitragen sollen. Die Haltings- und Pflegebedingungen der Tiere entsprechen den eingeforderten Standards. Die Haltung der Masthühner in einem angemessenen Versuchsraum mit ausreichender Belüftung, Beleuchtung und Abschirmung von äußeren Lärmeinflüssen trägt zum allgemeinen Wohlbefinden der Tiere während des Versuchs bei. Die Käfige sind mit Wärmeplatten ausgestattet, um eine optimale Umgebungstemperatur für die Küken zu schaffen. Die Käfige werden täglich gereinigt. Das Futter ist bedarfsgerecht formuliert und die

Masthühner haben ständigen Zugang zu sauberem Trinkwasser und Futter. Der Gesundheitsstatus der Tiere wird täglich mehrere Male durch das pflegende Personal und regelmäßig tierärztlich kontrolliert. Die Hauptbelastung für die Masthühner wird die Einzelhaltung, das wöchentliche Wiegen und die 24-Stunden Helligkeit ab dem 22. Lebenstag sein. Darüber hinaus werden den Tieren keine weiteren Leiden, Schäden oder Schmerzen zugefügt. Zur Gewinnung der Darmproben werden die Masthühner am Versuchsende fachgerecht euthanasiert.

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Zucht von PPAR α knockout Mäusen, ATGL knockout Mäusen und ATGL knockout Mäusen mit herzspezifischen ATGL Expression. Diese anerkannten Mausmodelle dienen der Krebsforschung und der Forschung im Bereich des Stoffwechsels.

2. Art und Anzahl der Tiere

3500 Tiere für Zucht von ATGL KO ctg+ , wt ctg + bzw ATGL Ko (Erfahrungswert aus unserer Zucht)
400 Tiere für Zucht von PPAR (200 wt und 200 PPAR KO), auch bei homozygoter Zucht werden Schwanzspitzenbiopsien durchgeführt um Zuchtfehler zu erkennen, die phänotypisch nicht festgestellt werden können.

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

Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht den Zusammenhang mit der Funktion eines Gens im ganzen Organismus wiedergeben bzw. die in vivo Situation darstellen, sind knock-out Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung in der Krebs- und Stoffwechselforschung und zur Überprüfung möglicher Therapieansätze.

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

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

Die Verbindung von Sehnen mit dem Knochen erfolgt über sog. Enthesen (Ansatzzonen). Am Beispiel der Achillessehneninsertion am Fersenbein (Calcaneus) handelt es sich um eine faserknorpelige Ansatzzone. Diese ist charakterisiert durch einen vierzonalen Aufbau am Sehnen-Knochen-Übergang: Sehne, unmineralisierter Faserknorpel, mineralisierter Faserknorpel und Knochen. Typisch für Faserknorpel ist die Fähigkeit sowohl Zug- als auch Druckkräfte zu bewältigen. Daher nimmt die Flexibilität der Sehnen physiologischerweise allmählich und nicht abrupt ab und kann sich somit verschiedenen Winkelverhältnissen anpassen ohne schnell zu verschleifen. Sehnenansatzverletzungen stellen häufige Verletzungen in der Orthopädie und Unfallchirurgie dar. Viele dieser Verletzungen sind sportbedingte Traumata, aber auch degenerative, rheumatoide und entzündlich-bedingte Enthesopathien kommen vor. Die häufigsten Verletzungen betreffen die Achillessehne, die Supraspinatussehne der Rotatorenmanschette im Schultergelenk, die Flexorsehnen der Hand, das vordere Kreuzband und das mittlere Seitenband des Kniegelenks. Sehnenrupturen an der knöchernen Ansatzzone sind bisher nicht mit befriedigenden Langzeitresultaten zu behandeln. Sie heilen sehr langsam, neigen zu einer schlechten Vaskularisierung und daher zu Rezidivrupturen. Immer noch handelt es sich daher bei der rein chirurgisch-rekonstruktiven Therapie vielmehr um Reparation als um Regeneration des betroffenen Gewebes. Dies mündet für den Patienten häufig in einer dauerhaften Störung der Beweglichkeit mit Funktionsverlust, Degeneration und Schmerzen. Ideal wäre eine Regeneration des vierzonalen Aufbaus der Enthese mit zufriedenstellenden biomechanischen Eigenschaften. Der Einsatz von Stammzellen ist heutzutage in der regenerativen Medizin nicht mehr wegzudenken. In der folgenden Studie möchten wir uns sowohl das regenerative Potential von mesenchymalen Stammzellen, die aus dem Knochenmark isoliert wurden (BMSCs, bone marrow derived stem cells), als auch von adulten Vorläuferzellen, die aus Sehnenzellen isoliert (TDSCs, tendon derived stem cells) und anschließend *in vitro* kultiviert und vermehrt wurden, zu Nutzen machen. TDSCs konnten erst in letzter Zeit erfolgreich aus Sehnen isoliert werden. BMSCs kommen aufgrund ihrer Pluripotenz bereits in vielen (prä-) klinischen Studien zur Anwendung. Basierend auf eigenen präklinischen und bereits publizierten Daten ist allerdings anzunehmen, dass TDSCs für die Regeneration der Achillessehnen-Enthese bessere Resultate erzielen könnten. Es konnte gezeigt werden, dass diese in Kultur ein erhöhtes proliferatives und tenogenes Differenzierungspotential aufweisen und ektopisch Entheseähnliche Strukturen ausbilden. Für den geplanten Versuch werden von transgenen Spenderratten, die ein grün fluoreszierendes Protein exprimieren ("Green Fluorescent Protein") Vorläuferzellen aus dem Knochenmark und aus Sehnenzellen isoliert und in Kultur gebracht werden. Diese werden dann auf speziellen Matrices (sog. Scaffolds), die den Zellen als extrazelluläre Matrix dienen sollen, ausgesät und anschließend in den Achillessehnenansatz-Defekt eingebracht. Als Kontrollgruppen dienen eine Gruppe operierter Tiere ohne implantierte Zellen und ohne Scaffold, sowie eine weitere Gruppe mit Scaffold aber ohne Zellbesiedelung. Zwei weitere Gruppen bilden die Tiere, die mit BMSCs bzw. TDSCs besiedelten Scaffolds erhalten haben. Nach 10 Wochen werden die Tiere euthanasiert und die Gewebeproben histologisch, biomechanisch und molekularbiologisch untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Rattus norvegicus, Stamm Fischer 344, weiblich und männlich, Alter 3 Monate, Gewicht ca. 300 g, 80 Tiere

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

Bei der Heilung von Sehneninsertionen spielen viele unterschiedliche Faktoren eine Rolle bspw. vaskuläre, entzündliche oder die Rolle von Wachstumsfaktoren. Diese lassen sich in ihrer Gesamtheit nicht *in vitro* nachvollziehen. Daneben bedarf es zur Beurteilung orthopädischer Studien dem Einfluss des Körpergewichts und der Bewegung auf die betroffenen Strukturen. Um dem translatorischen Gedanken gerecht zu werden, dass Ergebnisse bei Tieren in der Humanmedizin am Patienten Anwendung finden sollen, bedingen zunächst ein Studium der Abläufe im Tiermodell. Es wird die

minimale Anzahl an Tieren für den Versuch herangezogen, um eine signifikante Aussage treffen zu können. Im Vorfeld haben wir bereits alle notwendigen in vitro Vorversuche durchgeführt. Zudem wurde anhand von intensiven Literaturrecherchen sichergestellt, dass der beantragte Versuch in dieser Form noch nicht durchgeführt bzw. veröffentlicht wurde.

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

Multiple Sklerose ist eine der Hauptursachen für eine Beeinträchtigung im jungen bis mittleren Erwachsenenalter. Im Verlauf dieser Krankheit kommt es immer wieder zu Schüben, deren Frequenz mit steigendem Alter zunimmt, während sich gleichzeitig die nachfolgende Regeneration verschlechtert. Das Ziel dieses Projekts ist es, mittels eines Modells für chemisch-induzierte Demyelinisierung, altersabhängige Regenerationsmechanismen zu untersuchen, mit einem besonderen Augenmerk auf den Beitrag von endogen vorhandenen neuronalen Vorläuferzellen, und der Rolle von Vaskularisierung und Entzündungsreaktionen. Um diese Fragestellung zu untersuchen, wird in Mäusen vorübergehend eine MS-ähnliche Symptomatik induziert, um in weiterer Folge in diesem Modell die Mechanismen die zu einer spontanen völligen Regeneration führen, zu untersuchen. Während der Demyelinisierungsphase werden die Mäuse täglich sorgfältig beobachtet, um zu gewährleisten, dass der Versuch sofort abgebrochen wird, falls sichtbare Anzeichen für Schmerzen oder Leiden bzw. ein Gewichtsverlust von mehr als 15% auftreten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Maximal 160 Mäuse.

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

Um die Anzahl der Tierexperimente bestmöglich zu verringern, wurden im Vorfeld extensive in vitro Versuche in der Zellkultur durchgeführt. Die Verwendung von Tierexperimenten ist für die oben beschriebene Fragestellung jedoch unumgänglich, da nur so das Zusammenspiel der verschiedenen Faktoren (Alter, Demyelinisierung, Entzündung, endogene regenerative Zellen, sowie Vaskularisierung) gemeinsam mit ihrer Auswirkung auf Motorik und Verhalten untersucht werden kann. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Anzahl der verwendeten Tiere auf ein Minimum zu reduzieren, so dass gerade noch statistische Signifikanz mit der erwarteten Effektgröße erreicht wird. Zusätzlich werden die Tiere über den gesamten Versuchsverlauf sorgfältig beobachtet (allgemeiner Eindruck, Gewicht, eventuelle Anzeichen von Schmerzen oder Leiden) und gegebenenfalls Gegenmaßnahmen eingeleitet.

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

Versuchstiere mit gezielten genetischen Veränderungen stellen wertvolle Instrumente für die biomedizinische Forschung dar. Allerdings können manche genetische Veränderungen bereits ohne experimentelle Eingriffe Gesundheit und Wohlbefinden der Versuchstiere beeinträchtigen. Solange für einen konkreten Stamm diese Möglichkeit nicht durch systematische Untersuchungen ausgeschlossen werden kann, ist ihre Zucht und Haltung genehmigungspflichtig. Im gegenständlichen Projekt wird daher die Genehmigung für die Erhaltungszucht einer gentechnisch veränderten Ratte beantragt, die in der Regenerationsforschung verwendet wird. Die genetische Veränderung der Ratte bewirkt, dass in allen Geweben GFP (grün fluoreszierendes Protein) produziert wird mit dessen Hilfe transplantierte Gewebe oder Zellen in Wildtypempfängertieren leicht identifiziert werden können. Ziele des vorliegenden Projektes sind (i) die Erhaltung des Stammes über die Projektdauer von 5 Jahren sowie (ii) die systematische Untersuchung auf mögliche Beeinträchtigungen im allgemeinen Erscheinungsbild, Gesundheitszustand und Verhalten.

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

Für diese Untersuchungen und die Erhaltung des Stammes über einen Zeitraum von 5 Jahren wird insgesamt eine Anzahl von 150 Ratten beantragt.

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

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

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

Wir wollen der Bedeutung von Giften bei der Verteidigung erforschen und werden in diesem Zusammenhang die Hautdrüsensekrete von Erdkröten (*Bufo bufo*) untersuchen. Es soll festgestellt werden, ob Krötenlarven die Giftproduktion an die Anzahl der in ihrer Umgebung befindlichen Räuber anpassen können, und ob Änderungen in der Menge und Zusammensetzung des Giftsekrets die Überlebenswahrscheinlichkeit von Kaulquappen erhöhen, und somit evolutive Anpassungen darstellen. Bei Tieren weiß man lediglich, dass die Giftproduktion zwischen verschiedenen Lebensphasen und zwischen Populationen unterschiedlich sein kann. Gänzlich unerforscht und unbekannt ist wie Änderungen in den Umweltbedingungen, z.B. hervorgerufen durch den Klimawandel, die Produktion von Giftstoffen, und als Folge, das Überleben von Tieren beeinflussen.

Für den Versuch werden 12 Erdkröten (*Bufo bufo*) und 12 Grasfroschpaare (*Rana temporaria*) zum züchten verwendet. Die Kaulquappen werden unter unterschiedlichen Umweltbedingungen aufgezogen und ihre Giftproduktion bestimmt. Wir werden insgesamt 11520 *Bufo bufo* und 11520 *Rana temporaria* Kaulquappen halten und davon 300 konservieren. Aus den Gelegen werden jeweils 7640 Kaulquappen für die weiteren Experimente verwendet. Die Tiere werden nach den Versuchen in die Ursprungslebensräume der Eltern zurückgebracht.

Mit Hilfe von Kaulquappen aus natürlichen Populationen soll die Bedeutung und Relevanz der Experimente überprüft werden.

Die nötigen Stichprobengrößen wurden auf Basis früherer ähnlicher Studien kalkuliert. So sollen statistisch relevante Ergebnisse erzielt werden. Für die Versuche werden die Kaulquappen möglichst naturnahe gehalten um die geringstmögliche Störung zu verursachen und zu verhindern dass keine unnötigen Konditionsverluste entstehen.

Die Ergebnisse werden in international anerkannten wissenschaftlichen Journalen publiziert und an internationalen Kongressen präsentiert. Weiters werden die Ergebnisse auch öffentlichkeitsgerecht für Zeitungsbeiträge aufbereitet und auch dem -Management und anderen regionalpolitischen Organisationen zur Verfügung gestellt.

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

Projektziel

Die Rotmaulseuche (Enteric Redmouth Disease) ist eine schwerwiegende Erkrankung der Salmoniden, verursacht durch das Bakterium *Yersinia ruckeri*. Aus diesem Grund stellt sie eine signifikante Ursache von Mortalitäten in Fischfarmen dar und kann zu substanziell finanziellen Verlusten für den Fischhalter führen. Des Weiteren besteht während eines Ausbruchs das Risiko, dass Wildfisch-Bestände auch infiziert werden. Obwohl Impfungen gegen diese Erkrankung in den Fischfarmen weit verbreitet sind, stellen diese keinen 100%igen Schutz dar und es kommt immer wieder zu Krankheitsausbrüchen. Zum jetzigen Zeitpunkt werden diese Ausbrüche fast ausnahmslos mit Antibiotika behandelt. Dieses führt zu erhöhten Bedenken, betreffend den Einfluss auf die Umwelt und die Entstehung bakterieller Resistenzen, die auf andere potenzielle Human-Pathogene übertragen werden könnten. Aus diesem Grund ist es wichtig, neue Wege zu finden, um Infektionen mit *Yersinia ruckeri* vorzubeugen und zu behandeln. Eine vielversprechende Alternative ist der Einsatz von probiotischen Futtermittelzusätzen. Diese können als eine Mischung von nützlichen Bakterien definiert werden, die für ihren Wirt förderlich sind. Sie können als Konkurrenten zu schädlichen Bakterien um Nährstoffe und Ressourcen agieren. Darüber hinaus können sie Nischen besetzen und die Ansiedlung von Bakterien verhindern oder sogar antimikrobielle Bestandteile freisetzen. Leider sind Probiotika, obwohl sie vielversprechend sind, erst eine recht neue Entwicklung. Durch die hohe Zahl an Bakterienstämmen, die ein Potenzial als Probiotikum haben und bedingt durch vielfältige Wechselwirkungen zwischen den pathogenen Keimen und dem Immunsystem der Fische, ist dieses Thema sehr komplex. Aus diesem Grund zielt diese Studie darauf ab, die Effizienz von kommerziell erhältlichen probiotischen Futtermittelzusätzen zu untersuchen. Dies wird erreicht durch Fütterung der Fische, einerseits mit kommerziellem Futter ohne Zusatzstoffe, andererseits mit einer niedrigen und mit einer hohen Dosis an Probiotika. Nach drei Wochen mit diesem Ernährungsplan werden die Fische mit *Yersinia ruckeri* infiziert, um protektive Effekte durch den Futtermittelzusatz zu untersuchen.

Der erwartete Nutzen besteht im Gewinn an Information über den positiven Effekt von Probiotika bei der Prophylaxe der Rotmaulseuche. Eine Reduzierung der Krankheitsausbrüche und Mortalitäten in den Forellenteichwirtschaften und die verringerte Abhängigkeit von Antibiotika wären die Folgen.

Der erwartete Schaden betrifft die Versuchsfische, die am Ende des Versuchs getötet werden müssen.

Art der verwendeten Fische: Regenbogenforelle, *Onchorynchus mykiss*

Anzahl der verwendeten Fische: 360 Regenbogenforelle, *Onchorynchus mykiss*

Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Verwendung von Tieren

Da darauf abgezogen werden, die einzigartige Wechselwirkung zwischen den Probiotika, den pathogenen Bakterien, der natürlichen intestinalen Flora der Fische und deren Immunsystem zu untersuchen, ist keine alternative Versuchsdurchführung möglich. Gleichmaßen wurde die Anzahl der Fische so ausgewählt, dass die Wahrscheinlichkeit, statistisch signifikante Resultate zu erhalten, maximiert wird. Eine Reduzierung dieser Anzahl würde das Risiko mit sich bringen, dass die Repräsentativität und die Brauchbarkeit der Ergebnisse sinken. Die exponierten Regenbogenforellen wurden ausgesucht, um eine Spezies und eine Lebensphase zu repräsentieren, in der die Erkrankung eine große Bedeutung für die Farmen hat. Gleichfalls wird eine einfache Manipulation gewährleistet und handhabungsbedingte Verletzungen werden somit minimiert.

Die Fische werden zu ihrem Wohlergehen in adäquaten Aquarienraum mit Durchfluss gehalten und vor der Handhabung betäubt. Ebenso werden sie durch das Eintauchen in eine letale Dosis eines Anästhetikums auf tiergerechte Art und Weise euthanasiert, wenn sie entsprechend klinisch schwer erkrankt sind. Die Probenentnahme findet post-mortem statt.

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

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

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

Erkrankungen des Herz-Kreislaufsystems stellen in der westlichen Welt die Todesursache # 1 dar. Für das Jahr 2011 führt die Todesursachenstatistik der Statistik Austria (erstellt am 11.6. 2012) 32374 Todesfälle bedingt durch Krankheiten des Herz-Kreislaufsystems an. Dies belegt die dringende Notwendigkeit weiterer Forschungen an diesem System. Die derzeit vorliegenden Studien zum Herz-Kreislaufsystem von Maus und Ratte sind jeweils spezifischen, vorrangig molekularbiologischen, zellbiologischen, physiologischen und entwicklungsbiologischen Fragestellungen zuzuordnen. Untersuchungen zur räumlichen Struktur des mikrovaskulären Gefäßbettes und der sie bedingenden Parameter sind daher dringend notwendig.

Im gegenständlichen Forschungsprojekt wird die Mikrovaskularisation von Gehirn, Herz, Lunge und Leber gesunder adulter männlicher und weiblicher Mäuse und Ratten mittels mikrocomputertomografischer (μ -CT) Untersuchungen an aus Kunststoffen hergestellten Gefäßausgusspräparaten modellhaft untersucht.

Ziel des Projektes ist es, Gefäßdurchmesser, Gefäßabstände, Abstände der Gefäßaufzweigungen und Gefäßaufzweigungswinkel zu erheben und daraus die Transportkapazitäten des betrachteten Blutgefäßsystems oder einzelner Territorien zu erheben, die ihnen zugrundeliegenden Konstruktionsprinzipien zu verstehen und so die Folgen natürlicher (etwa altersbedingter) oder krankhafter (etwa bluthochdruckbedingter) Systemveränderungen für die Versorgung des Organes mit Nährstoffen und Atemgasen besser als bisher vorhersagen und abschätzen zu können.

Zu erwartender Schaden: Um die Projektziele erreichen zu können werden 112 (bzw 116) Tiere (Mäuse, Ratten) in tiefer Betäubung und Analgesie sterben.

Zu erwartender Nutzen: Gewinnung wichtiger Erkenntnisse über die, die räumliche Ausbildung des mikrovaskulären Gefäßbettes des Gehirns, des Herzens, der Lunge und der Leber bestimmenden Parameter und der daraus ableitbaren Transportkapazitäten der in der biomedizinischen Forschung sehr häufig eingesetzten Tiermodelle Maus und Ratte.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 2 Tierarten (CD 1-Maus, Sprague-Dawley-Ratte) x 2 Geschlechter (männlich, weiblich) x 4 Organe (Gehirn, Herz, Lunge, Leber) x n =7 Individuen = 112 Tiere + 4 Tiere als Reserve (je 1 männliche und 1 weibliche Maus und Ratte) verwendet.

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

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

Verminderung: Es ist nicht möglich, die Anzahl der Tiere (insgesamt: 116 Tiere) zu reduzieren, da aufgrund unserer langjährigen Erfahrung mit der Technik der Gefäßausgusspräparation (siehe Publikationsverzeichnis im Anhang) eine vollständige Füllung des Gefäßbettes der interessierenden Organe bisher nur bei maximal 30-50% der Organe erreichbar ist. Für die Darstellung der Gefäße des Herzens der Ratte wird von sehr erfahrenen Kollegen eine maximal 50%ige Erfolgsrate angegeben.

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

„Behandlung von Parkinson Mäusen mit einer Testsubstanz“

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen transgene Parkinson Mäuse intraperitoneal mit einer Substanz behandelt werden. Die Tiere werden anschließend im Verhalten charakterisiert und dann euthanasiert um Blut, Gehirnflüssigkeit und Gehirn zu gewinnen. Durch die Behandlung mit der Substanz sollen die Symptome der Parkinson Erkrankung, wie z.B. motorische Defizite verringert werden. Durch dieses Projekt soll es möglich sein ein neues Arzneimittel gegen die Parkinson Erkrankung zu entwickeln.

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

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

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

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 240 transgene Parkinson Mäuse und 60 nicht transgene Mäuse beantragt.

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

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

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

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

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

Im vorliegenden Projekt sollen die suchterzeugenden Eigenschaften von als Rauschmittel missbräuchlich verwendeten Amphetaminen (wie z.B. Ecstasy) in Abhängigkeit der im Nervengewebe vorkommenden Kalzium- und Calmodulin-abhängigen Kinase II (CamKII) geprüft werden. Es soll ein möglicher Angriffspunkt zur Behandlung der Sucht von diesen Mitteln gefunden werden. Die Tiere erhalten dazu die in den von Menschen konsumierten Drogen per Intrapertoneal-Injektion verabreicht. Dabei werden die Amphetamin-Effekte auf die Bewegung der Tiere mit Hilfe von Video-Messungen untersucht. Es sind für die Tiere keine unerwünschten Effekte oder sonstige Schäden durch die Behandlung und Video-Aufzeichnungen zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Zwei Arten von C57bl/6-129sve Mäusen werden eingeschlossen: Wildtyp Mäuse und Mäuse ohne CamKII zum Vergleich; insgesamt 180 Tiere. Einer Anzahl von 180 heterozygoten Mäusen (Zuchterwartung 50%) wird aufgrund der für die Genotypisierung notwendigen Schwanzspitzen-biopsie diese geringgradig einzustufende Belastung zugefügt.

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

Replacement/Vermeidung: Wir haben dem angesuchten Tierexperiment umfassende in vitro-Studien vorangehen lassen und wollen nun die Experimente durch eine Beobachtung in einem physiologischen Kontext absichern. Entsprechend dem Anspruch des TV-Gesetzes prüfen wir nur diejenigen Fragen im tiermedizinischen Experiment, die sich nicht durch in vitro-Zellkulturen überprüfen lassen. Dazu gehören die verhaltenspharmakologische Auswirkung von Sucht- und Abhängigkeit.

Verminderung/Reduction: Wir haben Abbruchkriterien definiert, welche in Kraft treten werden: damit können wir Tierversuche sinnvoll vermeiden und tragen so zu deren Verminderung bei.

Für jedes Experiment erfolgt eine a priori Berechnung der Fallzahl (mit Hilfe des online sample size calculators (<http://www.quantitativeskills.com/sisa/>)), wobei die hohe statistische Power auf 95% gewählt wurde, weil auf diese Weise die Experimente eindeutige Antworten liefern werden und damit nicht wiederholt werden müssen. Dies hilft entscheidend mit, die Anzahl der zu verwendenden Tiere zu begrenzen. Die Anzahl der Tiere wird auch gering gehalten, da wir Tiere aus einem homogenen genetischen Background verwenden, die unter standardisierten Bedingungen gehalten werden. Gleiches gilt für den Ablauf der Experimente, die unter ebenfalls standardisierten Bedingungen durchgeführt und ausgewertet werden. Auch dies führt zu einer entscheidenden Verbesserung der Ergebnisse und damit zu einer Verminderung der einzusetzenden Tierzahlen.

Refine/Verbesserung der Verwendung von Tieren: Der jetzige Ansatz wird mit genetisch modifizierten Tieren durchgeführt, bei denen die Abwesenheit der CamKII durch Entfernung des Gens in den entsprechenden Zielstrukturen ausgeschaltet ist. Damit kann eine wesentlich eindeutigere Antwort erzielt werden als durch den Einsatz pharmakologisch wirksamer Inhibitoren. Weil sowohl die Aktivität als auch das Sucht- und Abhängigkeitsbildende Potential gemessen wird, ist so eine tiefere Interpretation der Befunde gewährleistet.

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

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

Mit diesem Antrag ersuchen wir - gemäß §42 Tierversuchsgesetz 2012 (BGBl. I Nr. 114/2012 vom 28. 12.2012) - unter Berücksichtigen von 3R - um eine Bewilligung zur Zucht transgener Mäuse und Genotypisierung mittels Schwanzspitzenbiopsie der Mäuse für den Zeitraum ab jetzt bis 30.6.2016. Der Schwerpunkt unserer Forschung liegt in der Analyse von Reaktionen der Blutgefäße, die für physiologische, pathophysiologische und klinisch wichtige Prozesse wie Wundheilung, Gefäßversorgung von Tumoren und Atherosklerose von Bedeutung sind. Basierend auf dem Verständnis solcher Prozesse ist es ein weiteres Ziel Strategien für Diagnose und Behandlung solcher Krankheiten zu entwickeln, einschließlich neuer Medikamente und Gentherapie. Hinsichtlich der angewandten Methodik sollen die oben erwähnten Forschungsziele mittels biochemischer, molekularbiologischer, zellbiologischer und tierexperimenteller Untersuchungen erreicht werden. Darüber hinaus werden auch Aspekte anderer Wissensgebiete in interdisziplinärer Weise mit einer Reihe von nationalen und internationalen Kooperationspartnern bearbeitet. Die angestrebten Versuchsziele können nicht durch andere Methoden und Verfahren (Ersatzmethoden) erreicht werden.

Schaden: die gezüchteten Mäuse werden durch die Modifizierung des Genoms geringgradig bis mittelgradig und durch die Genotypisierung geringgradig belastet.

Nutzen: Erhalt neuer Erkenntnisse, vor allem im Bereich Physiologie und Pathophysiologie der humanen Erkrankungen.

2. Art und Anzahl der Tiere:

Anzahl der Mäuse der 7 verschiedenen transgenen Linien, die durch Zucht innerhalb der nächsten 3 Jahre geringgradig bis mittelgradig belastet werden, beträgt bis zu 2245 Mäuse. Ein Teil dieser Mäuse und auch andere Mäuse mit nicht belastetem Phänotyp werden mittels Schwanzspitzenbiopsie genotypisiert.

Gesamtzahl aller Mäuse, die durch die Modifizierung des Genoms geringgradig bis mittelgradig und/oder durch die Genotypisierung geringgradig belastet werden, beträgt bis zu 4645 Mäuse. Diese Tiere werden mittels Organentnahme analysiert, um Erkenntnisse über die Rolle verschiedener Proteine sowie physiologische und pathophysiologische Prozesse zu gewinnen.

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

Vermeidung: Die Zucht der in diesem Antrag angegebenen transgenen Tiere und auch die Genotypisierung der Mäuse sind für die Schwerpunkte unserer Forschung und unserer Kooperationspartner - Erforschung der physiologischen und pathophysiologischen Prozesse - notwendig. Die angestrebten Versuchsziele können nicht durch andere Methoden und Verfahren (Ersatzmethoden) erreicht werden. Mit dieser Zucht wird gewährleistet, dass diese transgenen Linien für unsere Forschung und für die Organ-Entnahmen – zugänglich sein werden. Die geplante Analyse der Rolle der von uns untersuchten Proteine kann nicht in einem in vitro Modell durchgeführt werden.

Verminderung: Die Anzahl der gezüchteten Tiere und der Tiere, die genotypisiert sein werden, wird mittels Standardisierung der Versuchsbedingungen so gering wie möglich gehalten.

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

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

Ziel dieses Projektes ist die Vorbereitung einer ex-vivo Gentherapie zur Behandlung von Epidermolysis bullosa simplex Typ Dowling-Meara (EBS-DM) sowie rezessiv dystropher Epidermolysis bullosa (RDEB). Dabei handelt es sich um eine genetisch bedingte blasenbildende Hautkrankheit, für die keine kausale Therapie existiert. Zur Zeit ist nur die Behandlung der Symptome möglich. In diesem Tierversuch werden in vitro hergestellte Hautäquivalente auf CD1⁺ Mäuse transplantiert. Die Hautäquivalente werden aus genetisch korrigierten Hautzellen von EBS-DM und RDEB Patienten hergestellt. Die genetische Korrektur erfolgt auf Ebene der mRNA, durch Spliceosome-mediated RNA Trans-splicing (SMaRT). Es soll überprüft werden, ob sich die transplantierten, korrigierten Hautäquivalente zu einer funktionsfähigen Haut differenzieren. Ein positiver Ausgang dieses Versuches würde einen deutlichen Fortschritt in der Behandlung von EB-Patienten bedeuten. Mit genetisch korrigierten Hautäquivalenten könnten besonders schwer betroffene Körperareale abgedeckt, und die Lebensqualität der betroffenen Personen bedeutend verbessert werden.

Zu erwartender Nutzen: Die Funktionalität der korrigierten Hautäquivalente soll in diesem Tierversuch überprüft werden, um die Anwendbarkeit als gentherapeutische Behandlung am Menschen zu überprüfen.

Zu erwartender Schaden: Ein Schaden für die Versuchstiere (Schmerzen, Leiden, etc.) wird durch Anästhesie, Analgesie und optimale Haltungsbedingungen vermieden. Der Tierversuch endet mit dem Tod der Tiere zum Zwecke der Biopsieentnahme für die histologische Auswertung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Crl:CD1-Foxn1tm (strain code 086)

Anzahl: Gesamt 100 Tiere (50 männlich, 50 weiblich)

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

Wir, der Projektleiter und die an der Durchführung beteiligten Personen, sind uns der 3R-Regel bewusst (Replacement, Refinement, Reduction; Russell und Burch, 1959). Bei der Planung und Konzeption des Tierversuches hatte das Wohl der Labortiere den selben Stellenwert wie der erfolgreiche Ausgang der Studie. Im Hinblick auf die 3R-Regel kommen wir zu folgender Feststellung:

Replacement:

Tierversuche sollen durch alternative Methoden ersetzt werden. Die Herstellung von Hautequivalenten unter in-vitro Bedingungen in der Zellkultur, kann man mittlerweile als Routine bezeichnen. Die physiologische Funktionalität dieser Hautequivalente, zum Zwecke einer ex-vivo Gentherapie, kann allerdings nur und ausschließlich am lebenden Tier getestet werden. Für den vorliegenden Tierversuch gibt es daher keine in Frage kommenden Ersatzmethoden.

Refinement:

Die Belastung für das Labortier soll auf das unablässliche Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Forderung durch 1. Artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, 2. die Sachkunde der beteiligten Personen, 3. optimale Operationstechniken und 4. optimale post-operative Betreuung.

Reduction: Die Anzahl an benötigten Labortieren soll auf ein Mindestmaß reduziert werden. Die Anzahl an benötigten Tieren für den vorliegenden Tierversuch resultiert aus dem Studiendesign, der Gruppengröße und der Anzahl an positiv und negativ Kontrollen. Wir begründen dies im Detail unter Punkt (G) in der Beilage zum Projektantrag.

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.

Im Zuge der allergischen Sensibilisierung müssen Allergene, wie z.B. das Birkenpollenallergen Bet v 1, über das Lungenepithel transportiert werden, um mit den Zellen des Immunsystems wechselwirken zu können. In unseren Studien konnten reproduzierbar verschiedenste Bakterienspezies auf frischen Birkenpollen identifiziert werden, die einen bedeutsamen Einfluss auf den transepithelialen Transport von Bet v 1 ausüben. Am Beispiel des Umweltkeims *Bacillus cereus* (*B. cereus*) wurde in *in vitro* Experimenten gezeigt, dass *B. cereus* den Transport von Bet v 1 über einen epithelialen Monolayer signifikant förderte, während andere Bakterienstämme (z.B. *Bacillus megaterium*) keinen Effekt auf die epitheliale Schutzbarriere ausübten.

Ziel des vorgelegten Projektes ist zu testen, ob die identifizierten Bakterienspezies *in vivo* die allergische Reaktion auf das Birkenpollenallergen Bet v 1 verstärken können. Nachdem bereits die medizinische Relevanz der gastrointestinalen Mikrobiota in den letzten Jahren in den Vordergrund getreten ist, könnte die Beeinflussung der nasalen Mikrobiota ebenfalls eine neue potentiell unterstützende Strategie in der Behandlung von (Pollen)Allergien eröffnen. Dadurch könnte eine Verbesserung zukünftiger Therapeutika erzielt werden, die sich anschließend in einer Reduktion der Zahl und der Dauer der Behandlungen von Pollenallergien äußern würde. Geplant ist daher ein erstes Experiment in etablierten Mausmodellen, in dem die Versuchstiere zunächst mit dem Birkenpollenallergen Bet v 1 und einer steigenden Dosis an *Bacillus cereus* oder *Bacillus megaterium* als Kontrolle nasal behandelt werden. Dabei liegt die verwendete Bakterienmenge deutlich unter der Infektionsdosis, die für eine Infektion des Gastrointestinaltraktes notwendig wäre, um eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere bei möglichst hohem Wissenszuwachs zu gewährleisten. Die verwendeten Methoden fallen daher ausschließlich in die geringste Schweregradkategorie. 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 70 Versuchstieren. Dabei handelt es sich ausschließlich um Mäuse vom Stamm BALB/c. Um die Zahl der Versuchstiere möglichst gering zu halten, wurden sämtliche Vorexperimente mit Hilfe von Zellkulturtechniken ausführlich getestet.

Daher werden die *in vivo* Experimente nur mit dem ausgewählten Bakterienstamm *B.cereus* durchgeführt, der sich zuvor *in vitro* als besonders effizient sowohl bezüglich seiner Beeinflussung der epithelialen Schutzbarriere und des verstärkten Transports von Bet v 1 über das Epithel gezeigt hat.

Die aus dem vorgelegten Projekt zu erwartenden Ergebnisse können einerseits helfen, den möglichen Einfluss von Umweltbakterien auf die Ausprägung von Allergien zu zeigen und somit besser zu verstehen. Ebenfalls könnte in fortlaufenden Projekten die Beeinflussung der nasalen Mikrobiota auf Pollenallergien getestet werden, indem die nasale Mikrobiota von Allergikern und Nichtallergikern analysiert wird beziehungsweise probiotische Bakterienstämme zur unterstützenden Therapie von Pollenallergien eingesetzt werden.

Zusammenfassend kann erwartet werden, dass die im Rahmen des vorgelegten Projektes gewonnen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer effizienter Therapeutika gegen allergische Erkrankungen beitragen können. 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

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

Ziel des Projektes ist es bei juvenilen Gartenschläfern (*Eliomys quercinus*) den Einfluss der Nahrungsverfügbarkeit (ad libitum Fütterung im Vergleich zu Nahrungsbegrenzung) und des Geburtszeitpunktes (früh im Jahr im Vergleich zu spät im Jahr Geborenen) auf die Wachstumsrate, die Fettakkumulation vor dem Winterschlaf und damit verbundene energetische Strategien zu untersuchen. Des Weiteren werden die Konsequenzen dieser Strategien auf den Winterschlaf sowie den Fortpflanzungserfolg und die Fitness der Individuen untersucht. Dieses Projekt wird neue Erkenntnisse zur Ökophysiologie des Winterschlafs beitragen. Es wird helfen zu verstehen, wie juvenile Winterschläfer mit Einschränkungen zurechtkommen, die auch in der Natur allgegenwärtig sind (wie z.B. verringerte Nahrungsverfügbarkeit oder eine verkürzte Zeit vor dem Winterschlaf) und welche Langzeitauswirkungen diese Einschränkungen im weiteren Leben haben. Das Risiko, dass die juvenilen Testindividuen während der Zeit vor dem Winterschlaf Schaden nehmen ist vernachlässigbar gering, da die experimentellen Einschränkungen (Nahrungsrestriktion und zeitliche Beschränkung der Entwicklung) im ökologischen und physiologischen Bereich dessen liegen was Gartenschläfer auch in der Natur erfahren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden 72 Gartenschläfer (*Eliomys quercinus*) im Versuch verwendet. Die Tiere wurden weder vor noch während des Versuchs in anderen Tierversuchen verwendet, dementsprechend besteht keine Wiederverwendung von Tieren. Alle überlebenden Tiere werden nach Abschluß des Versuches in die Zuchtgruppe der Gartenschläferkolonie rückgeführt.

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

„**Vermeidung**“ Ziel dieser Studie ist die Untersuchung juveniler Gartenschläfer. Im Besonderen sollen Wachstumsraten, Fettakkumulation und metabolische Aktivität bestimmt werden. In diesem Kontext kann auf die Verwendung von Tieren nicht verzichtet werden, da diese Fragestellungen nicht in alternativen nicht-Tier Modellen, wie Zellkulturen oder Computersimulationen, untersucht werden können.

„**Verminderung**“ Mit Hilfe einer statistischen Power-Analyse entsprechend wurde geschätzt, dass sechs Tiere pro Gruppe ausreichen um signifikante Gruppenunterschiede bezüglich der gewünschten Parameter (Wachstum und Körperzusammensetzung) zu erhalten. Mit 8 experimentellen Gruppen und 4 Sentinel-Gruppen werden somit 72 Tiere im Zuge der zwei Jahre des Experiments gebraucht.

„**Verfeinerung**“ Stabile Isotope werden häufig benutzt um die Körperzusammensetzung und den Energieverbrauch von Tieren unter natürlichen Bedingungen zu bestimmen. Daher wird diese Methode auch hier verwendet um die Notwendigkeit der Manipulation der Tiere zu minimieren. Aus dem gleichen Grund werden außerdem kleine Temperaturlogger verwendet um Daten zur Körperkerntemperatur der Tiere während des Winterschlafs zu erhalten.

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

a. Bedeutung und Begründung des Projektes

Akute myeloische Leukämie (AML) und myelodysplastische Syndrome (MDS) sind aggressive Neoplasien der Myelopoese, die durch maligne Transformation hämatopoetischer Stamm- und Vorläuferzellen verursacht werden. Verantwortlich dafür sind pathologische Veränderungen der intrazellulären Signaltransduktion als Folge somatischer Mutationen in Onkogenen und/oder Tumor-Suppressoren. Die Prognose dieser Erkrankungen ist advers mit 5-Jahres-Überlebensraten von 30 - 40%, die im höheren Alter auf unter 10% absinken. Eigene Vordaten haben gezeigt, dass mehr als 20% der Patienten mit AML einen Expressionsverlust eines bestimmten Tumor-Suppressors aufweisen, der spezifisch in den Leukämiezellen der Patienten auftritt. In diesem Projekt sollen die funktionellen Auswirkungen dieses Expressionsverlusts in der physiologischen Hämatopoese und myeloischen Leukämogenese abgeklärt werden. Durch die Durchführung dieses Projektes können wir mehr i) über die physiologische Hämatopoese, ii) über die Entstehung myeloischer Leukämien, und iii) über die biologische Funktion dieses Tumor-Suppressors erfahren. Zukünftig kann dieses Mausmodell auch die Möglichkeit zur Entwicklung neuer, zielgerichteter therapeutischer Strategien für Patienten, die an dieser fatalen Erkrankung leiden, eröffnen.

b. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere, Unterbringung, Pflege, Verminderung von Leiden, Tötungsmethoden

1794 C57BL/6 transgene Mäuse. Diese werden an einer speziellen Zuchteinrichtung unserer Institution gehalten und täglich auf ihren Gesundheitszustand überwacht. Die Betreuung erfolgt dabei durch geprüfte Tierpfleger und Tierärzte, die Erfahrung in der Betreuung von transgenen Mausmodellen aufweisen. Krankheit ist dabei nur bei Mäusen mit dem vollem genetischen Muster zu erwarten, dieses wird nach ca. 3-4 Lebenswochen durch eine Genotypisierung der DNA (die aus den Schwanzspitzen gewonnen wird) bestimmt. Bei Verschlechterung des Gesundheitszustandes werden die betroffenen Mäuse aus ethischen Gründen geopfert und danach für weitere Untersuchungen herangezogen. Zur Tötung wird dabei ein Genickbruch nach vorheriger Anästhesie mit 4% Isofluran durchgeführt. Bei Mäusen mit allen anderen Genotypen ist keine Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes zu erwarten.

c. Angaben zur Erfüllung der „3R“

Dieses Projekt beruht auf bereits publizierten in-vitro Vordaten, die in myeloischen Zelllinien erhoben wurden. Dabei zeigte sich ein starker Hinweis darauf, dass ein Expressionsverlust dieses Proteins an der Leukämogenese beteiligt ist. Zur weiteren Abklärung und Bestätigung dieser bisherigen Ergebnisse sind die Mausversuche dieses Projektes unbedingt notwendig. Die Versuche wurden aufgrund der bereits vorliegenden in-vitro Daten optimal geplant, dadurch konnte bereits eine Reduktion der benötigten Mausezahl erreicht werden (Beschränkung auf durch in-vitro Vordaten „sinnvolle“ Versuche). Weiters wurde ein Statistiker in die Berechnung der Mausezahlen eingebunden, um die minimal benötigte Gruppengröße im Rahmen der einzelnen Experimente zu berechnen.

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

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

Entzündliche Fettleber (Steatohepatitis) eine Manifestation des metabolischen Syndroms ist eine der Hauptursachen chronischer Leberschäden beim Mensch, und kann in der Folge zu Leberzirrhose und Leberkrebs führen. Entwicklung neuer Therapien zur Behandlung der Steatohepatitis ist von großer Bedeutung, da es bisher keine spezifische Therapie gibt und, insbesondere durch die Zunahme des Typ II-Diabetes, kombiniert mit Fettleibigkeit, mit einer weltweiten Zunahme der Steatohepatitisfälle von 3-7% gerechnet werden kann. Die charakteristischen pathophysiologischen und morphologischen Veränderungen in der Leber, die bei Steatohepatitis auftreten, wie Vergrößerung (Ballonierung) der Leberzellen, die mit einer Zerstörung des Keratinskeletts und dem Auftreten von Proteinaggregaten (Mallory-Denk Körpern) einhergeht, können durch Langzeitfütterung der chemischen Verbindung 3,5diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidin (DDC) in der Maus herbeigeführt werden. p62 (Sequestosome-1) ist ein zelluläres Protein, das eine wichtige Rolle bei der Übermittlung von Zellantworten und damit bei der Regulierung des Abbaus von Zellbestandteilen und Krebsentstehung spielt. Die Vermutung liegt somit nahe, dass die Bindung von p62 an abnorm gefaltete Keratine, Leberzellen erlauben, potenziell schädliche Proteine in einem biologisch unschädlichen Zustand zu entsorgen. Der Prozess der Ausbildung von Mallory-Denk Körpern während des Verlaufs der DDC-induzierten Steatohepatitis soll nun in p62-Knockout Mäusen, denen p62 in der Leber fehlt, genauer analysiert werden. Eine weitere Auswirkung der Steatohepatitis betrifft die Entwicklung von Insulinresistenz wie sie auch beim Diabetes auftritt. Studien der letzten Jahre haben ergeben, dass Mäuse, denen p62 im gesamten Organismus fehlt, einen altersabhängigen Übergewichts-Phänotyp entwickeln, der von veränderter Glukose- und Insulintoleranz begleitet wird. Im Zusammenhang mit der Entwicklung von Steatohepatitis, wirft dies nun die Fragestellung auf, ob p62 in der Beta-Zelle an der Übermittlung von Zellantworten mittels Insulin teilnimmt und dadurch eine regulatorische Rolle im Glukosestoffwechsel d.h. Regulierung des Blutzuckers einnimmt. Um dieser Frage nachgehen zu können, ziehen wir eine Mauslinie heran, der p62 spezifisch in der Bauchspeicheldrüse fehlt. Im Vergleich mit p62 total Knockout Mäuse kann dadurch die physiologische Bedeutung dieses Stress-induzierten Proteins in diesem Gewebe erforscht werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für Experimente werden 450, für Erhaltungszucht werden 1200 Tiere verwendet.

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

Bisher gibt es leider bis auf die Anfütterung mit DDC keine weiteren Methoden, die eine einfachere Herbeiführung von Steatohepatitis im Mausmodell ermöglichen würde. Die Experimente müssen zudem in genetischen Mausmodellen in vivo durchgeführt werden, da die komplexen Störungen in der Stoffwechselsituation bei Diabetes und Fettleibigkeit sowie die Pathogenese der Steatohepatitis, bei der unterschiedliche Zelltypen beteiligt sind, nicht in einer für die menschliche Situation relevanten Form in isolierten Zellen reproduziert werden können. Parallel zu den beschriebenen Ansätzen, werden jedoch ohnehin soweit wie möglich Zellkulturexperimente für einzelne Aspekte der Fragestellung durchgeführt. Von den analysierten Tieren wird soweit wie möglich Gewebe, welches nicht unmittelbar für Analysen verwendet wird in flüssigem Stickstoff für allfällige weitere Untersuchungen gelagert. Da Lebererkrankungen schmerzlos verlaufen, und auch sonst keine weiteren Beeinträchtigungen festgestellt wurden, zeichnet sich ein solches Modell jedoch durch eine sehr geringe Belastung für die Tiere aus.

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

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

Bakterielle Infektionen gehören zu den am meisten verbreiteten Erkrankungen und stellen eine der häufigsten Todesursachen dar. So waren laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) in 2008 die Infektionen des respiratorischen Traktes für mehr als 6% der jährlichen Todesfälle weltweit verantwortlich, und somit die dritthäufigste Todesursache. In den meisten Fällen ist eine unzureichende Immunabwehr für die Entstehung der Infektion mit verantwortlich. In diesem Zusammenhang ist die demographische Entwicklung der Bevölkerung ein wesentlicher Risikoparameter, da mit zunehmendem Alter das Immunsystem generell schwächer wird. Es ist daher von großer Bedeutung, Wege zu erkunden, die zur Stärkung der Immunabwehr führen. Dies ist umso wichtiger, da die Resistenz gegen Antibiotika stetig zunimmt und alternative therapeutische Ansätze zurzeit kaum zur Verfügung stehen. In den geplanten Tierversuchen soll untersucht werden, ob durch die Ausschaltung des Gens für Tristetraprolin (HP) die Immunabwehr gegen bakterielle Infektionen gestärkt werden kann. HP bindet an die Boten-BNA (mRNA) vieler immunologisch wirksamer Gene wie Zytokine und Chemokine. Die Bindung von TTP führt zum Abbau der mRNA. Folglich führt die Ausschaltung des HP-Gens zur Stabilisierung vieler Zytokin-mRNAs und dadurch zur erhöhten Zytokinproduktion und einer verstärkten Aktivierung des Immunsystems. In den geplanten Experimenten soll überprüft werden, ob diese gesteigerte Immunsystemaktivierung zur verbesserten Abwehr gegen ausgewählte, für den Menschen relevante bakterielle Infektionen führen kann. Es sollen Modelle für invasive Wundinfektionen und Lungenentzündung analysiert werden.

Ein positives Ergebnis der geplanten Tierversuche würde die Entwicklung von Wirkstoffen ermöglichen, die auf die Inhibition von HP abzielen. Diese Pharmaka würden der Medizin neuartige Werkzeuge zur Behandlung von Infektionskrankheiten zur Verfügung stellen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Als Versuchstiere werden Mäuse des Stammes 6731/6 eingesetzt in denen das TTP-Gen in immunologisch wichtigen Zelltypen wie Makrophagen und T-Zellen ausgeschaltet ist. Kontrolltiere sind ebenfalls Mäuse der Stammes CS7Bl/6, jedoch mit einer normalen HP-Funktion. Die Tiere werden im Alter zwischen 7 und 9 Wochen sein und mit ca. 20 — 25 g Körpergewicht. Vom Stamm 6781/6 ist bekannt, dass er für die ausgewählten Infektionsmodelle sehr gut geeignet ist. Insgesamt sind maximal 2688 Tiere für Etablierung, Dosisfindung und Analyse der Immunabwehr eingeplant.

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

Diese Studie wurde unter Einhaltung des 3 R Prinzips (Replacement - Refinement - Reduction) geplant.

Für die Fragestellung existieren keine alternativen experimentellen Ansätze, da nur im Gesamtorganismus die komplexen Wirt-Pathogen Wechselwirkungen zur Geltung kommen. Die vielschichtigen Steuerungsmechanismen des multizellulären Immunsystems können ebenfalls nur im Gesamtorganismus analysiert werden. Gerade auf dem Gebiet der Immunologie hat sich die Maus als Schlüsselorganismus für die Etablierung neuer Therapien entwickelt — so wurde z.B. die Einführung der TNFalpha Blockade als erfolgreiche Therapie für Rheumatoide Arthritis und Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen erst durch Versuche in der Maus möglich gemacht.

Zeitgleiche Untersuchung von Tieren mit ausgeschalteter HP-Funktion in unterschiedlichen Immunzellen reduziert die notwendige Anzahl der Kontrolltiere. Dadurch wird die Anzahl der Tiere so gering, wie möglich gehalten. Durch effizientes Monitoring der Experimente wird das Leiden der Tiere auf ein Minimum reduziert.

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

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

Im Blut schwangerer Frauen lassen sich sowohl intakte Zellen als auch DNA von Zellen des Fetus nachweisen. Dieses wird in der pränatalen Diagnostik genutzt. Wenn diese fetalen Zellen in der Mutter beschädigte Gewebe besiedeln, differenzieren sie zu den verschiedensten Zelltypen aus und ersetzen an diesen unterschiedlichen Stellen beschädigte ursprünglich dort vorhandene Zellen. Diese Zellen besitzen also die für Stammzellen typische Eigenschaft, sich zu den unterschiedlichsten Zelltypen ausdifferenzieren zu können.

In der Amnionhöhle des Fetus finden sich frei in der Flüssigkeit schwimmende Zellen, diese stammen vom Fetus und können sich *in vitro* in die verschiedensten Zelltypen ausdifferenzieren. Es konnte bisher nicht nachgewiesen werden, dass diese Zellen aus der Amnionhöhle dieselben sind, die später im Körper der Mutter nachzuweisen sind. Bisher sind als pluripotente Zellen nur embryonale Stammzellen (ES-Zellen) und induzierbare pluripotente Zellen (iPS-Zellen) bekannt. Bei Ersteren besteht das ethische Dilemma, dass zu ihrer Gewinnung Embryonen zerstört werden müssen. Bei Letzteren ist das Risiko einer unkontrollierten tumorartigen Entartung groß.

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

2. Art und Anzahl der Tiere

576 Mäuse

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

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

Eine Reduzierung der Tierzahl (Reduction) findet folgendermaßen statt: Da die Ergebnisse deskriptiv sind, müssen bei überzeugenden Resultaten nicht alle Weibchen pro Trächtigkeitsstadium verwendet werden. Damit reduziert sich nicht nur die Anzahl der verwendeten Weibchen, sondern auch die Zahl der geborenen Jungtiere. Bei negativen Resultaten kommen die als Negativ-Kontrollen vorgesehenen Weibchen nicht zum Einsatz, auch deren Jungtiere entfallen dann.

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

Die Tiere bekommen in der Käfighaltung nicht nur Nestbaumaterial zur Verfügung gestellt sondern auch weiteres Enrichment wie Häuschen oder kleine Röhren als Rückzugsmöglichkeit.

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

Fumonisine sind Gifte, die von verschiedenen Schimmelpilzarten in Getreidepflanzen gebildet werden. Fumonisin B1 (FB1) ist eines der häufigsten weltweit in Nahrungs- und Futtermitteln vorkommenden Schimmelpilzgifte und verursacht dadurch nicht nur hohe finanzielle Verluste, sondern auch eine Vielzahl an gesundheitsschädigenden Effekten in Mensch und Tier. Die chemische Struktur von Fumonisinen kann durch Prozesse während der Nahrungsmittelherstellung oder durch bestimmte Stoffwechselforgänge in Pflanzen verändert werden. Zum einen können Teile des FB1-Moleküls abgespalten werden, wodurch teilweise oder vollständig hydrolysiertes FB1 entstehen. Zum anderen kann FB1 an verschiedene Moleküle, z.B. Zucker oder Proteine, gebunden werden. Diese Verbindungen werden auch als maskierte Fumonisine bezeichnet, da sie mit Routinenachweismethoden nicht erfasst werden. Obwohl das Vorkommen dieser Fumonisin-Derivate bereits in Nahrungsmitteln nachgewiesen werden konnte, ist deren Toxizität in Mensch und Tier größtenteils noch völlig unbekannt. Ziel unseres Projektes ist es daher, die Toxizität von hydrolysierten und maskierten Fumonisinen in Ratten zu bestimmen. Die Ergebnisse des Versuches sollen einen wichtigen Beitrag zur Risikobewertung von Lebensmitteln und zum Kenntnisstand bezüglich der Verstoffwechslung und der Toxizität von Fumonisinen leisten.

Dafür werden 32 männliche Hsd:Sprague Dawley Ratten (5 Wochen alt, 110-120 g schwer) in 8 Gruppen eingeteilt. Die verschiedenen Fumonisine werden den Tieren über einen Zeitraum von drei Wochen über das Futter verabreicht. Die Konzentration der Schimmelpilzgifte ist dabei so niedrig gewählt, dass keine Krankheitserscheinungen bei den Tieren auftreten. Nach einer Eingewöhnungsphase von 7 Tagen, in welcher die Tiere herkömmliches Futter erhalten, werden die Tiere zum eigentlichen Versuchsbeginn (Tag 0) und an den Tagen 7, 14 und 21 für 24 Stunden in einem Stoffwechselkäfig gehalten, um Kot- und Urinproben zu gewinnen. Am Tag 22 (Versuchsende) werden die Tiere unter Anwendung der gesetzlich vorgeschriebenen Methoden getötet und danach werden Darm-, Nieren-, Leber- und Lungenproben entnommen. Die Toxizität wird anhand von Änderungen einer spezifischen Kenngröße (Sphingarin-zu-Sphingosin Verhältnis) im Urin der Tiere erfasst. Darüber hinaus werden im Urin, im Kot und in den Organproben die Stoffwechselprodukte der verabreichten Fumonisine bestimmt. Alle Analysen erfolgen mittels Methoden, die dem neuesten Stand der Forschung entsprechen (Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie).

Die größte Belastung der Versuchstiere im Tierversuch stellen die Sammlungen von Urin- und Kotproben dar, die mit einer Einzelhaltung in Stoffwechselkäfigen verbunden ist. Im Sinne des positiven Lernens werden die Tiere bereits vor der ersten Sammelperiode immer wieder für kurze Zeitintervalle in den Stoffwechselkäfig gesetzt. Somit können sich die Ratten an die veränderte Umgebung gewöhnen, was eine Reduzierung der Belastung während den nachfolgenden Probenahmen bewirken soll. Weitere Maßnahmen zur Verfeinerung dieses Tierversuches beinhalten die Bereitstellung von Spieltunneln und den bewussten Verzicht auf invasive Probenentnahmen. Die benötigte Tierzahl (4/Gruppe) wurde basierend auf Daten aus einem Vorversuch berechnet und minimiert. Aufgrund der Ergebnisse dieses Vorversuches konnte auch die Versuchsdauer von 4 auf 3 Wochen reduziert werden. Für die Risikobewertung von Schimmelpilztoxinen ist es unumgänglich, Erkenntnisse zu deren Toxizität und Verstoffwechslung *in vivo* zu erlangen. Daher ist ein Ersatz dieses Tierversuches durch *in vitro* Methoden nicht möglich.

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 eine solche Kombinationstherapie in Mäusen getestet. Die in 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 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

42 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 (maximal 42 Tiere) zur *in vivo* Verifizierung dieser Behandlungsmethode und einem signifikanten Informationsgewinn unerlässlich ist.

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

Städte sind ein Komplex unterschiedlichster Lebensräume. Sie grenzen sich vom Umland durch einen hohen Anteil an versiegelten Flächen und damit weniger Grünflächen ab und sind einer starken Dynamik unterworfen. Zahlreiche europäische Metropolen blicken auf eine lange Tradition stadtoökologischer Forschung zurück, wobei in der Zoologie im speziellen die Avifauna (Vogelwelt) ein hochaktuelles Forschungsgebiet darstellt. Bisher wurden in Städten lediglich die Verbreitung von Vogelarten, ihre Nahrungsökologie und die Brutbiologie untersucht, selten jedoch entlang eines urbanen Gradienten, d.h. vom Stadtzentrum bis zum Stadtrand. Eine Reihe von Vogelarten hat sich an das Leben in der Stadt angepasst, indem sie beispielsweise in höheren Populationsdichten vorkommen, den tageszeitlichen Rhythmus verlängern und die Fortpflanzungsperiode ausdehnen oder auch das Zugverhalten reduzieren. Der Erfolg einer Art als Großstadt-Besiedler ist vor allem von der erreichbaren Nahrungsgrundlage abhängig. Erst wenn diese gesichert ist und andere Randbedingungen passen, wie das Vorhandensein von Nistgelegenheiten, kann sich eine Brutpopulation etablieren. Unter den Greifvögeln ist der Turmfalke (*Falco tinnunculus* Linnaeus, 1758) mit etwa 400 Brutpaaren die häufigste Greifvogelart in Wien. Die großflächige Populationsdichte von etwa 104 Paaren 1100 km² ist damit deutlich höher als in ländlichen Gebieten Ostösterreichs und in anderen mitteleuropäischen Städten. Die Art verbringt nur die Brutzeit in der Stadt. Ausschlaggebend dafür sind eine abwechslungsreiche Habitatstruktur und ein scheinbar damit verbundenes reichhaltiges Nahrungsangebot.

Erste Ergebnisse zeigen, dass Kleinvögel die bedeutendste alternative Nahrungsquelle für die zentrumsnahe Turmfalkenpaare darstellen, da Kleinsäuger kaum vorhanden sind. Richtung Peripherie nimmt hingegen der Anteil von Kleinsäugetieren zu. Mehr als zwei Drittel der Turmfalken brüten in Dachluken historischer Bauwerke, die anderen auf Bäumen oder in Blumenkisten. Bemerkenswerter Weise ist die Siedlungsdichte im Stadtzentrum am höchsten, aber die Gelegegröße, und Anzahl flügger Jungvögel signifikant geringer, was darauf hindeutet dass die Stadt als "ökologische Falle" fungieren könnte. Bei der natürlichen Jungensterblichkeit verhungern die kleineren Männchen häufiger, was zu einem überproportional hohen Anteil an Weibchen führt.

Im Rahmen dieses Projektes ist es geplant, die Erfolgsstrategien städtischer Turmfalken unter solcher extrem hoher Siedlungsdichte näher zu beleuchten. Neben den genannten Habitatanalysen und der Nahrungsnutzung im Vergleich zum Beuteangebot stehen mehrere fortpflanzungsökologische Fragen im Mittelpunkt des Projektes. Dazu soll den Jungvögeln Blut abgenommen werden, um folgende Fragenkomplexe zu beantworten:

Unterscheiden sich die Geschlechterverhältnisse der Nestlinge in den verschiedenen Stadtzonen in Abhängigkeit von der Lebensraumzusammensetzung und/oder witterungsbedingt?

Wie viele Vaterschaften können innerhalb einer Brut festgestellt werden? Gibt es Unterschiede vom Stadtzentrum bis zum Stadtrand?

Sind in den urbanen Turmfalken Blutparasiten im fitnessbeeinträchtigten Ausmaß vorhanden?

Zur Beantwortung dieser Fragen sollen pro Jahr 150-200 Nestlinge aus 50-70 Brutten vermessen und beringt werden. Für die genetische Untersuchungen und die Blutaustriebe zur Identifizierung der Blutparasiten sollen den Turmfalken vor dem flügge werden geringe Mengen Blut abgenommen. Der Projektzeitraum ist für 2013-2015 veranschlagt.

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

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

Osteoarthritis (OA) ist weltweit die häufigste Gelenkerkrankung und sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin von großer Bedeutung. Weltweit leiden bereits 5 -15 % der Menschen im Alter von 35 -74 Jahren an Kniegelenks-DA, wobei die Häufigkeit der Erkrankung mit dem Alter zunimmt. Durch die zu erwartende steigende Lebenserwartung wird die DA in der Medizin eine noch größere Bedeutung gewinnen. Zahlreiche bekannte Auslöser für DA, wie zum Beispiel genetische Disposition, starke Traumen oder eine Serie an Mikrotraumen, induzierenden mechanische und chemische Faktoren, welche in die fein justierte Balance zwischen Knorpelauf- und -abbau eingreifen. So kommt es zu Aufrauung, Fibrillation und Degeneration des betroffenen Knorpels bis hin zum Knorpelverlust. Die körpereigenen Regenerationsmechanismen sind äußerst limitiert und nicht in der Lage, neues Gewebe mit identischen morphologischen, biochemischen und mechanischen Eigenschaften von gesundem Knorpel zu bilden. Auch die derzeit verfügbare medikamentöse Behandlung kann in den Pathomechanismus der Gelenksdestruktion nur geringfügig eingreifen und eine Progredienz der Erkrankung nicht aufhalten. Das derzeitige Hauptziel liegt in der Schmerztherapie und einer Verbesserung der Lebensqualität. Oft ist dabei die letzte therapeutische Möglichkeit das Implantieren künstlicher Hüft- und Kniegelenke, ein schwerwiegender Eingriff, der oft auf schlechte Patientenakzeptanz trifft. Es ist daher das Ziel, die Behandlung in Zukunft zu verbessern. Große Hoffnungen ruhen dabei in der regenerativen Medizin. Zelltherapien oder zell-basierende Gentherapien mit adulten, multipotenten Stammzellen (mesenchymalen Stammzellen) könnten in Zukunft die Behandlung von vielen Erkrankungen, einschließlich DA, revolutionieren. Das Ziel dieses Tierversuchs ist Unterschiede in der Immunreaktion auf syngene bzw. allogene Spenderzellen in einem Ratten-Modell in Abhängigkeit von Differenzierungsgrad der MSC zu untersuchen und die langfristige Sicherheit einer intraartikulären MSC-Therapie zu beurteilen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen dieses Tierversuchs sollen insgesamt 838 Ratten aus drei verschiedenen Inzuchtstämmen verwendet werden.

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

Um Stammzell-basierende Therapien als Therapien für jegliche Erkrankungen, insbesondere für OA, routinemäßig nutzen zu können, müssen Risikofaktoren wie eine mögliche Immunreaktion ausgeschlossen werden und eine langfristige Sicherheit der Therapie gewährt sein. Diese Art von Studien kann lediglich in einem immunkompetenten Tiermodell durchgeführt werden, da etwaige Migrationsrouten im gesamten Organismus untersucht werden müssen. Aufgrund der langjährigen Expertise, gut ausgebildetem Personal und der notwendigen Infrastruktur haben wir die Voraussetzungen, um bei der Durchführung von Versuchen dieser Art die Belastung der Tiere und die Tierzahlen so niedrig wie möglich zu halten. Alle Tiere erhalten *prä-* und *post operationem* schmerzstillende Mittel und werden während des gesamten weiteren Versuchs im Hinblick auf das Vorliegen definierter Abbruchkriterien (Allgemeinbefinden, Gewichtsverlust, etc.) tiermedizinisch genau überwacht.

„Behandlung von Alzheimer Mäusen mit 7 neuen Testsubstanzen gegen die Alzheimer Krankheit“

Für diese Studie sollen transgene Alzheimer Mäuse und ihre nicht transgenen Geschwistertiere wöchentlich für 12 Wochen mit 7 verschiedenen Testsubstanzen oder mit einer Kontrollsubstanz behandelt werden. Den Tieren wird zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach der Behandlung Blut abgenommen. Die Tiere werden im Verhalten (Morris Water Maze) auf ihre kognitiven Fähigkeiten untersucht. Im Anschluss daran werden die Tiere euthanasiert und Blut, Gehirnflüssigkeit und Gehirn entnommen und pathohistologisch auf positive Veränderungen durch die Substanz untersucht.

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 hier verwendeten genetisch veränderten Tiere zeigen keine lebensbeschränkende Symptome. Durch die Verhaltenstests, der Applikation der Testsubstanzen oder der Kontrollsubstanz und der Blutabnahme kommt es zu keiner wesentlichen Beeinträchtigung des Wohlergehens oder des Allgemeinzustandes der Tiere. Der Schweregrad des Tierversuches wird deshalb als „gering“ eingestuft. In dieser Studie sollen neue Substanzen gegen die Alzheimer Krankheit zum Einsatz kommen, die die kognitiven Fähigkeiten der Tiere verbessern und die Hirnpathologie verringern. Dadurch soll es in naher Zukunft möglich sein, neue und effiziente Medikamente gegen die Alzheimer Krankheit auf den Markt zu bringen.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden insgesamt 300 Alzheimer Mäuse und 20 nicht transgene Mäuse beantragt.

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

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

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

Vorhofflimmern manifestiert sich durch einen unregelmäßigen, zumeist rasenden Herzschlag und Puls. Typische Symptome sind Schwindelgefühle, fallweise Ohnmacht und eine starke Beeinträchtigung der Leistungsfähigkeit. Folgeerkrankungen wie z.B. Schlaganfall reduzieren die Lebenserwartung oder verursachen eine bleibende Behinderung. Die Sterblichkeitsrate bei Personen über 55 Jahren wird durch Vorhofflimmern nahezu verdoppelt. In der industrialisierten Welt liegt der Anteil der Betroffenen Bevölkerung mit einem Lebensalter unter 60 Jahren bei 0,5 % und steigt auf rund 10 % bei den über 70-jährigen.

Die Erfolgsraten medikamentöser Langzeittherapien sind mit rund 40 % nach 3 Jahren gering. Viele dieser Medikamente können schwerwiegende Nebenwirkungen verursachen. Darüber hinaus müssen für die kontinuierliche Behandlung erhebliche Medikamenten- und Untersuchungskosten in Kauf genommen werden.

In den letzten Jahren hat die Therapie von Vorhofflimmern mittels Katheterablation massiv an Bedeutung gewonnen. Trotz dieses Zuwachses sind die Erfolgsraten mit 60 % – 70 % weiterhin enttäuschend. Zudem kann es bei bis zu 5% der Eingriffe zu schweren Komplikationen mit in Einzelfällen sogar tödlichem Ausgang kommen.

Vorhofflattern ist eine weitere Rhythmusstörung, die in ihrer typischen Form im rechten Vorhof des Herzens auftritt. Diese Rhythmusstörung tritt sehr häufig im Wechsel mit Vorhofflimmern auf. Wenngleich die Ergebnisse der Katheterablation bei rechtem Vorhofflattern im Vergleich zu Vorhofflimmern wesentlich besser sind, handelt es sich auch bei dieser Katheterablation nach wie vor um eine häufig sehr zeitaufwändige Prozedur, die mit einem Katheter zur Erzeugung linearer Läsionen deutlich verkürzt werden könnte.

Bluthochdruck ist einer der häufigsten Risikofaktoren für alle Herz-Kreislaufkrankungen. Die effektive Behandlung des Bluthochdrucks ist unerlässlich, um die Entwicklung eines sogenannten End-Organenschadens an Herz, Nieren und Gefäßsystem zu verhindern. Es konnte gezeigt werden, dass das sympathische Nervensystem bei Patienten mit arterieller Hypertonie eine hohe Aktivität aufweist. Eine Vielzahl von experimentellen Studien zeigte einen blutdrucksenkenden Effekt nach medikamentöser oder chirurgischer Unterbrechung der verantwortlichen Nierennerven (=renale Denervation). Diese Beobachtungen führten zum Konzept der minimal-invasiven renalen Sympathikus-Denervation mittels Katheter. Bluthochdruck ist außerdem ein wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung von Vorhofflimmern. Eine aktuelle Studie deutet darauf hin, dass renale Denervation in Verbindung mit der Therapie von Vorhofflimmern mittels Katheterablation bei Patienten mit wiederkehrendem Vorhofflimmern positiven Einfluss auf das Wiederauftreten des Flimmerns ausübt.

Die Entwicklung von Kathetern, die eine verlässliche, effiziente und gleichzeitig komplikationsarme Behandlung an Herz und in den Nierenarterien ermöglichen, ist ein wichtiger Schritt in der Weiterentwicklung der Therapie von Vorhofflimmern und Bluthochdruck.

Die Funktionsweise unserer Katheter wurde am Glasherzmodell bereits eingehend geprüft. Die Erzeugung von Gewebsnekrosen konnte bereits *in vitro* nachgewiesen werden.

Auch der Einfluss niedriger Temperaturen auf Herzmuskelzellen wurde schon *in vitro* untersucht. Dies erfolgte mit Hilfe von Zellkulturen auf Petrischalen, auf deren Boden Messelektroden angebracht sind. Mit diesem System ist man in der Lage, die elektrischen Signale von Muskelzellen unter Einfluss verschiedener Temperaturen zu untersuchen.

Die Optimierung unserer Katheter im Tierversuch ist ein unerlässlicher Schritt in der Entwicklung von Kathetern zur Therapie von Vorhofflimmern beim Menschen. Durch die veranschlagten 80 Versuche (=80 Hausschweine) erwarten wir eine signifikante Verbesserung der Effektivität der Behandlung bei gleichzeitig reduziertem Komplikationsrisiko. Die Vorgehensweise bei den Tests wird dabei 1:1 aus dem seit Jahren etablierten Eingriff beim Menschen übernommen, sodass die Belastung der Hausschweine durch eine optimale Prämedikation und Narkose während der gesamten Katheterablation auf ein Minimum begrenzt wird.

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

Die Ziele der Untersuchung sind es:

- die Kaliumkonzentration im Intrazellulärraum in die Betrachtung des Kaliumstoffwechsels einzubeziehen,
- einschätzen, ob bei Kühen mit verminderter Futteraufnahme tatsächlich eine Kaliumdepletion eintritt oder lediglich Verschiebungen vom intra- zum extrazellulären Raum
- einen Vergleich zwischen intra- und extrazellulären Kaliumkonzentrationen durchzuführen und die Eignung der Blutkaliumkonzentration zur Abschätzung der Kaliumhomöostase unter diesen Bedingungen einzuschätzen

Nutzen und Schaden:

- Die gewonnenen Erkenntnisse sollen in das Verständnis der Pathophysiologie Verbesserung und in Prophylaxe bzw. Behandlungsempfehlungen münden
- Schäden sind durch die minimale Invasivität der Probenahme nicht zu erwarten

2. Anzahl und Art der zur verwendenden Tiere.

Es werden insgesamt 70 erwachsene Rinder in die Studie einbezogen.

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

- **Vermeidung:** Für die Untersuchung ist die Zieltierart Rind unbedingt notwendig, da die pathophysiologischen Abläufe nicht simulierbar sind.
- **Verminderung:** Es handelt sich um eine Pilotstudie mit Gruppengrößen, die für ähnliche klinische explorative Studien üblich sind. Da bisher keine publizierten Untersuchungen vorliegen zur Thematik vorliegen, war keine statistische Abschätzung der Gruppengröße möglich (Poweranalyse). Falls es sich im Verlauf der Studie zeigt, dass bereits mit weniger Tieren eine Aussage getroffen werden kann, kann die Tieranzahl noch vermindert werden.
- **Verfeinerung:** Die Untersuchungen sind bereits minimalinvasiv (Stich mit Injektionsnadel bzw. Muskelbiopsienadel unter Lokalanästhesie), die das Wohlbefinden der Tiere nicht oder nur geringfügig und kurzzeitig beeinträchtigen. Die Tiere stehen unter täglich mehrfacher klinischer Kontrolle, so dass selbst auf unwahrscheinliche Komplikationen sofort diagnostisch oder therapeutisch reagiert werden kann. Alle lokalen Veränderungen an der Einstichstelle oder durch die Untersuchung vermindertes Allgemeinverhalten führt zum Ausschluss des Tieres aus der Untersuchung.

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

Um das Risiko einer Übertragung von transmissiblen Spongiformen Enzephalopathien (TSE), wie die Creutzfeldt-Jakob Krankheit, zu minimieren, wird von der European Medicines Agency empfohlen für biopharmazeutische Herstellungsverfahren eine Überprüfung der Prionensicherheit im in vivo Modell durchzuführen. Bisher ist der Nachweis von Prionenverunreinigungen im Endprodukt der Herstellung gescheitert, da er niemals die Sensitivität erreichen konnte, die ein in vivo Test bietet. Somit steht bis heute nur die Überprüfung der Aufreinigungsschritte der Herstellungsprozesse per se als Qualitätskontrolle zur Verfügung.

Dabei werden durch Zugabe einer definierten Menge von „spike“ Material die einzelnen Prozessschritte des Herstellungsverfahrens im in vitro Labormaßstab simuliert. Die so gewonnen Proben werden als Verdünnungsreihe in vivo inokuliert und auf diese Weise die Abreicherungskapazität des zu untersuchenden Prozessschrittes effektiv nachgewiesen. Es besteht die Möglichkeit, dass Tiere im Laufe der Studie klinische Symptome der Scrapie Erkrankung zeigen. Dem gegenüber stehen jedoch der Nutzen im Sinne einer Kontrolle der Produktionsqualität biopharmazeutischer Arzneimittel und folglich auch eine Sicherstellung der menschlichen Gesundheit. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere Da die Genauigkeit solcher Tests gesetzlich bei +/- 0.5 log festgelegt ist, kann man mittels Spearman-Kärber Methode die Gruppengröße berechnen, die für ein 95%iges Konfidenzintervall notwendig ist. Auch eine vorhergehende in vitro Western Blot Analyse unterstützt die Festlegung der Verdünnungsreihe.

2. Art und Anzahl der Tiere

2498 Hamster

Als Goldstandard -„spike“ Material für diese Art von Untersuchungen wird das TSE Modell 263K (hamster-adaptierte Scrapie) angesehen. Dieses Prion ist resistent gegenüber einem Proteinase K Verdau, wodurch man anschließend in den Gehirnproben der Tiere zwischen dem 263K-Protein und möglichen anderen Prionen-Proteinen im Testmaterial differenzieren kann. Es werden adulte Gold Hamster für alle Untersuchungen verwendet.

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

Durch statistische Berechnungen kann man die Gruppengröße berechnen, die notwendig ist um eine sichere Aussagekraft zu erreichen (95% Konfidenzintervall). Damit wird die Tierzahl von 112/Test Substanz gerechtfertigt. Tiere werden in kleinen Gruppen mit Enrichment gehalten und Futter und Wasser wird auch am Baden angeboten.

Die Applikation der Test Substanz wird unter Narkose durchgeführt und Tiere auf ihren Gesundheitszustand täglich genauestens kontrolliert. Abbruchkriterien sind genau definiert und werden angewandt um unnötiges Leid zu verhindern.

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

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

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

Zur Behandlung von Knochendefekten im Mund-, Kiefer- und Gesichtsbereich kommen heutzutage standardmäßig Knochenaufbau- und Knochenersatzmaterialien zum Einsatz. Die Anwendung erfolgt in Form von Pulvern, Granulaten oder vorgefertigten Blöcken. Gerade die Anwendung von Pulvern und Granulaten ermöglicht oft keine zufriedenstellende Anpassung an die individuellen anatomischen Verhältnisse. Weiters kommt es aufgrund der mangelnden Stabilität zu Verformungen während der Heilungsphase.

Ziel des vorliegenden Versuches ist es, diese Nachteile durch die Kombination der genannten Materialien mit Thrombozytenkonzentrat (Blutplättchen) menschlichen Ursprungs auszugleichen. Das beigemengte Thrombozytenkonzentrat soll als biologische Klebstoff dienen und die Form der Materialien stabilisieren. Weiters wird entsprechend der Funktion der Thrombozyten während der normalen Wundheilung ein positiver Effekt auf die gewünschte Knochenheilung erwartet. Durch die Verwendung vom Thrombozytenkonzentrat ist eine Stabilisierung der äußeren Form sowie eine beschleunigte knöcherne Heilung zu erwarten und folglich wäre die klinische Routineanwendung der beschriebenen Methode das langfristige Versuchsziel.

2. Art und Anzahl der Tiere

Der vorliegende Versuch ist im Grosstiermodell Schaf an insgesamt 12 Tieren geplant.

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

Das Schaf zeigt große Ähnlichkeiten zum menschlichen Knochenstoffwechsel. Da knöcherne Heilung sowie Knochenregeneration bis dato nicht ausreichend untersucht werden kann, ist die in vivo Testung nicht unmittelbar ersetzbar (Replace). Geplant ist die Durchführung des Tierversuches in 2 Gruppen zu je 6 Tieren mit Beobachtungszeiträumen von 4 und 12 Wochen (Reduce). Im Versuch werden in Allgemeinanästhesie verschiedenen Mischungen von Knochenmaterial und Thrombozytenkonzentrat in kleine Bohrlöcher in den Rippen der Tiere eingebracht und die Wunden dicht verschlossen. Die Tierversuche werden unter möglichst geringer Belastung der Tiere in Narkose und postoperativer Schmerzbekämpfung durchgeführt (Refine).

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

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

Chronische virale Infektionen und metabolische Lebererkrankungen wie entzündliche Fettleber (Steatohepatitis) sind die Hauptursachen für chronische Leberschäden in der westlichen Welt. Sie können bei einer maßgeblichen Zahl der Patienten in der Folge zu Leberzirrhose und später zu Leberkrebs (hepatozelluläres Karzinom) führen. Die morphologischen Veränderungen bei Steatohepatitis betreffen insbesondere das Keratin-Zytoskelett. Keratin-Knockout Mäuse erlauben daher die Rolle der Keratine (Keratin 8 und 18) bei der Entstehung von Steatohepatitis zu untersuchen. Dies ist umso wichtiger als Keratin 18-Knockout Mäuse ohne weitere Intervention nach etwa einem Jahr spontan den Steatohepatitis-Phänotyp entwickeln, der sich in der Folge zu Leberkrebs weiterentwickelt, was dem Ablauf der menschlichen Erkrankung sehr nahe kommt. Demgegenüber zeigen Keratin 8-Knockout Mäuse Leberschäden ohne die Steatohepatitis-typischen Veränderungen. Wir wollen an diesen Tieren den Einfluss von Keratinen auf den Energiemetabolismus, die mitochondriale Funktion und Autophagie/Mitophagie untersuchen, die sich in früheren Untersuchungen als wichtige Faktoren bei der Entstehung der Steatohepatitis gezeigt haben. Der Schweregrad wird als gering eingestuft. Gleichzeitig sollen die homozygoten Wildtyp- und Knockout-Mauslinien durch Zucht weiter erhalten werden (je 9 Zuchttiere plus temporär je 50 Tiere aus denen weitere Zuchttiere selektiert werden).

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Experiment werden insgesamt 80 Tiere, für die Erhaltungszucht 1200 Tiere für 24 Monate geplant.

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

Vermeidung: Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben. Der Umstand, dass Keratin 18 Knockout-Mäuse ohne weitere Intervention die Krankheitsbilder Steatohepatitis und Leberkrebs entwickeln, vermindert die Belastung im Tierversuch und erlaubt gezieltere Untersuchung der Krankheitsmechanismen in Hinblick auf die Rolle der Keratine. **Verminderung:** Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist. **Verfeinerung:** Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

Entzündliche Fettleber (Steatohepatitis), eine Manifestation des metabolischen Syndroms ist eine der Hauptursachen chronischer Leberschäden, und kann in der Folge zu Leberzirrhose und Leberkrebs führen. Das Risiko, die Erkrankung zu entwickeln ist aber individuell sehr unterschiedlich. Mausmodelle für solche Lebererkrankungen zeigen ebenfalls, in Abhängigkeit vom verwendeten Mausstamm, unterschiedliche Prävalenz für Steatohepatitis. Damit können Mausmodelle auch dazu eingesetzt werden, Risikogene für Steatohepatitis zu identifizieren. Die Mauslinie C57BL/6 weist zwei Varianten auf, die sich in ihrer Suszeptibilität für toxisch induzierte Steatohepatitis deutlich unterscheiden. In jener Variante, die den Steatohepatitis-Phänotyp nur gering ausbildet ist das Enzym NNT (Nikotinamid-nukleotidtranshydrogenase) ausgefallen, was sich auf den anabolen und Energiestoffwechsel auswirkt. Dies könnte die Effektivität der Kompensationsreaktion bei gestörter Mitochondrienfunktion beeinflussen, sodass zwar chronischer Leberschaden auftritt, aber die Kompensationsreaktion eine andere ist. Wir wollen daher die Linien mit funktioneller und dysfunktioneller NNT hinsichtlich der Art der metabolischen Veränderungen und der Kompensation der mitochondrialen Dysfunktion vergleichen um Aufschluss über den Einfluss der Störung dieser Vorgänge auf die Entwicklung des Steatohepatitis-Phänotyps zu bekommen.

Gleichzeitig soll die NNT -Bacline ^{+/+} Mauslinie durch Zucht weiter erhalten werden (je 9 Zuchttiere plus temporär je 50 Tiere aus denen weitere Zuchttiere selektiert werden). Der Schweregrad der Experimente wird als gering eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Experiment werde 45 Tiere, für die Erhaltungszucht 250 Tiere für 18 Monate benötigt.

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

Vermeidung: Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben. Verminderung: Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist. Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

Chronische metabolische Lebererkrankungen wie Steatohepatitis sind die Hauptursachen für chronische Leberschäden in der westlichen Welt. Sie können bei einer maßgeblichen Zahl der Patienten in der Folge zu Leberzirrhose und später zu hepatozellulärem Karzinom führen. Wir haben kürzlich massive Veränderungen im Energiestoffwechsel der Leber, wie sie für Steatohepatitis beschrieben wurden, beobachtet. Unter anderem haben diese Veränderungen zur Folge, dass Enzyme des endoplasmatischen Retikulums (Hämoxigenase, Cytochrom P450 2a5 [Cyp2a5]) in Mitochondrien einwandern und dort auch aktiv sind. Die biologische Bedeutung dieses Vorgangs ist noch nicht bekannt, sie unterstützt wohl die Kompensation des Ausfalls der Succinatdehydrogenase, der die mitochondriale ATP-Produktion stark einschränkt. Wir wollen mit Cyp2a5-Knockout Mäusen insbesondere die (mitochondriale) Funktion dieses Enzyms verstehen: zum einen ist es wichtig, in diesem Fall die eventuell auftretenden Kompensationsmechanismen zu identifizieren, andererseits kann sich der Ausfall des Enzyms auf die hohe Langzeittoleranz des chronischen Leberschadens im Mausmodell auswirken, und damit wichtige Hinweise zur Ursache der klinischen Unauffälligkeit und eventuell zur konservativen Behandlung humaner Steatohepatitis geben. Der Schweregrad der Experimente wird als gering eingestuft. Gleichzeitig sollen die homozygoten Wildtyp- und Knockout-Mauslinien durch Zucht weiter erhalten werden (je 9 Zuchttiere plus temporär je 50 Tiere aus denen weitere Zuchttiere selektiert werden).

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Experiment werden 50, für die Erhaltungszucht werden insgesamt 600 Tiere in 24 Monaten verwendet.

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

Ersatzmethoden für diese Studien sind nicht verfügbar, da es sich um Experimente handelt, die die Lebensdauer von primären Leberzellen in Kultur, die durch simple Organentnahme gewonnen werden könnten, bei weitem übersteigen. Kultivierte immortalisierte Zellen können für diese Experimente nicht verwendet werden, da die phänotypischen Veränderungen der Steatohepatitis in keiner uns bekannten Leberzelllinie auftreten. Ebenso werden in solchen Linien viele charakteristische Gene nicht exprimiert, oder der Metabolismus der Zellen unterscheidet sich wesentlich von Hepatozyten in situ. Auch ist in reinen Zellkulturexperimenten der Kontext der Funktionsänderung im Gesamtorganismus nicht gegeben. Der Schweregrad der Experimente ist als gering anzusetzen. Verminderung: Die Tieranzahl im Experiment ist minimal bemessen, doch so dass bei den Ergebnissen statistische Signifikanz gegeben ist. Verfeinerung: Für das Wohl der Tiere wird durch veterinärmedizinische Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen.

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

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

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

In diesem Projekt soll im Maus-Modell erforscht werden, wie sich die Erkrankung entwickelt, wenn unterschiedliche Stämme des Pilzes als Verursacher auftreten, darunter solche, die *in vitro* („im Reagenzglas“) gegen bestimmte Medikamente unempfindlich sind, und wie sich dabei die Verwendung dieser Medikamente auf den Verlauf der Krankheit auswirkt. Dies soll auch helfen, das Risiko abzuschätzen, ob es zukünftig zur Ausbreitung solcher unempfindlichen (resistenten) Erreger kommen wird oder ob diese auf Grund mangelnder „Fitness“ von normalen „Wildtyp“- Stämmen verdrängt werden. Weiters wollen wir klären, ob bestimmte Therapien zur Ausbreitung von resistenten Stämmen beitragen könnten.

Der bezweckte Nutzen der Studie besteht in einem besseren Verständnis, wie gefährlich (virulent) bestimmte Medikamenten-resistente Stämme des Pilzes sind, ob sie im Tiermodell (und daher möglicherweise auch im Menschen) gleich unempfindlich gegen die Medikamente sind wie im Labor, und ob die Therapie mit diesen Medikamenten möglicherweise sogar ihre Ausbreitung fördern könnte. Wir hoffen, durch die neuen Erkenntnisse zukünftig die Therapie der Patienten so gestalten zu können, dass sich nur wenige resistente Erreger entwickeln oder gefördert werden.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

196 Mäuse

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

Vermeidung: Bisher wurden bereits zahlreiche Experimente zur Klärung der Frage, wie Pilze durch Medikamente selektioniert werden können, *in vitro*, d.h. „im Reagenzglas“, durchgeführt. Für die Fragen, ob diese Mechanismen auch in Organismen (*in vivo*) wirken, sind wir jedoch auf das Tiermodell angewiesen, da bisher keine alternativen Methoden dafür bekannt sind.

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

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

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

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

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

Projektziel: Das Projektziel ist es zu untersuchen, ob die Antagonisierung des Cannabinoid Rezeptors CB2 einen positiven Effekt auf allergisch-entzündliche Erkrankungen wie Asthma bronchiale hat. Asthma bronchiale ist eine chronische entzündliche Erkrankung der Atemwege, die durch eine Überempfindlichkeit des Bronchialsystems und wiederkehrende Episoden einer Atemwegsverengung gekennzeichnet ist. In vielen Fällen ist die Behandlung dieser Erkrankung schwierig und nicht zufriedenstellend. Daher ist es unbedingt erforderlich neue pharmakologische Angriffspunkte zu finden. Eine zentrale Rolle in der Pathogenese des bronchialen Asthmas spielen Entzündungsmediatoren, die die Einwanderung der Entzündungszellen regulieren. Wenn man diese Mediatoren selektiv blockiert, so resultiert daraus eine Hemmung der Entzündung und eine Verhinderung der Asthmaanfälle. Unsere Hypothese ist, dass bisher nicht charakterisierte Entzündungsmediatoren einen neuen Angriffspunkt für die Therapie allergisch-entzündliche Erkrankungen darstellen und daher ist es von äußerster Wichtigkeit entsprechende Wirkstoffe in einem Tiermodell systematisch zu überprüfen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 500 Mäuse für diese Versuche benötigt.

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

Wir haben bereits sehr positive Ergebnisse aus Studien an menschlichen Blutzellen, die nun im Tierversuch überprüft werden müssen. Die Annahme, dass die vorgeschlagenen Wirkstoffe eine neue Klasse von Therapeutika zur Behandlung von allergisch-entzündlichen Atemwegserkrankungen darstellen, kann nur im Tierversuch bestätigt werden, da Asthma bronchiale eine systemische Pathophysiologie aufweist und nicht z.B. in Zellkulturen nachgestellt werden kann. Da die Studie eine detaillierte Dokumentation der Lungenfunktion und der Zytokin-Ausschüttung im Gewebe umfasst, ist ein entsprechendes Tiermodell erforderlich. Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist daher nicht möglich.

Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren verwendet, die für eine statistisch signifikante Aussagekraft der Ergebnisse notwendig ist. Sollten sich Signifikanzen bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden. Jegliches unnötiges Leid sowie Stresssituationen werden vermieden. Die Mäuse haben nachdem sie geliefert werden eine Eingewöhnungszeit von einer Woche bevor mit dem Versuch begonnen wird. Die Versuche erfolgen so, dass es gewährleistet ist, dass jene Tiere, die auf die Behandlung warten, visuell und akustisch getrennt sind. Die Tiere werden an die Umgebung und die Tierpfleger durch vermehrten Kontakt gewöhnt um Stress bei der Versuchsdurchführung zu vermeiden. Neben den Standardbedingungen der Haltung wird den Tieren ausreichend Enrichment wie Häuschen und Nestbaumaterial zur Verfügung gestellt.

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

Das Prostatakarzinom gilt als eine der häufigsten Krebserkrankungen des Mannes in Westlichen Industrieländern. Die Behandlung erfolgt je nach Schweregrad der Erkrankung operativ durch Entfernung der Prostata (Prostatektomie) und/oder Bestrahlung bzw. durch Hormonentzug. Patienten mit lokal-beschränktem Prostatakarzinom können mittlerweile sehr effektiv behandelt werden. Im Gegensatz dazu wirkt die Behandlung bei Tumoren, die bereits weiter fortgeschritten sind und das umliegende Gewebe infiltrieren oder bereits metastasieren, leider nur palliativ. Die meisten dieser Patienten gehen in Progress und erreichen schließlich ein "Kastrationsresistentes" Stadium, in welchem es bis dato nur wenige Behandlungsmöglichkeiten gibt, die das weitere Fortschreiten der Erkrankung zwar vorübergehend bremsen aber nicht stoppen können. Eine neue Form der Behandlung stellt die Verwendung von sog. Ziel-gerichteten Therapien dar, bei welchen eines oder mehrere zentrale Schlüsselmoleküle in den Tumorzellen ausgeschaltet werden. Im geplanten Projekt werden solche Ziel-gerichteten Substanzen getestet, die spezifisch und effizient zwei zentrale Schlüsselmoleküle in der Zelle ausschalten. Ziel ist es, zu untersuchen, ob eine Hemmung dieser Schlüsselmoleküle zu einer Beeinträchtigung des Tumorwachstums führen kann und in weiterer Folge als neue Therapie beim Prostatakarzinom eingesetzt werden kann. Der zu untersuchende Tumorthherapieansatz wurde zuvor intensiv in mehreren Zellkulturmodellen des Prostatakarzinoms analysiert. Die in vitro Ergebnisse haben gezeigt, dass das Ausschalten dieser Moleküle tatsächlich zu einer starken Hemmung des Wachstums von Prostatatumorepithelzellen führt. Da diese in vitro Experimente auf die Effekte in einem Zelltyp, nämlich Epithelzellen, beschränkt ist, muss in einem nächsten Schritt geklärt werden, ob die Therapie auch Tumore in ihrem "natürlichen Umfeld", also eingebettet in Stroma und Blutgefäßsystem -in-vivo gleich wirksam ist. Aufgrund der vorliegenden erfolgversprechenden in vitro Daten konnte der Tierversuch so geplant werden, dass die Versuchstieranzahl möglichst gering gehalten werden kann. Es werden humane Tumore subkutan in Mäusen (n=75) etabliert, in welchen diese Schlüsselmoleküle mit Hilfe von sog. Short-hairpin Konstrukten ausgeschaltet werden. Die Tiere stehen unter regelmäßiger Kontrolle und es werden alle notwendigen Maßnahmen gesetzt, um die Belastung der Tiere zu minimieren. Die zu verabreichende Substanz wird den Tieren über das Trinkwasser verabreicht, sodass regelmäßige Injektionen vermieden und dadurch die Belastung der Tiere vermindert werden kann. Die Versuchsdauer beträgt 4 Wochen, in welchen die Effekte der Behandlung auf das Tumorwachstum durch Größenmessung der Tumore bestimmt werden. Am Ende des Versuches werden die Tiere rasch und schmerzlos getötet und die Tumore histologisch und molekularbiologisch untersucht. Die Ergebnisse dieser Studie sollen Aufschluss über eine mögliche Verwendung dieser Ziel-gerichteten Therapie beim Prostatakarzinom liefern.

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

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

Zucht transgener Mäuse

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-Kreislauferkrankungen 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. Eine wichtige Rolle spielt auch die genetische Disposition. Laut einer Studie im Nature 2000 wird z.B. das Körpergewicht von den Eltern auf die Kinder mit einer ähnlichen Wahrscheinlichkeit wie z.B. die Körpergröße vererbt, was eindeutig für eine genetische Komponente spricht. Im Zuge dieses Projekts werden die molekularen Mechanismen und Gen-Defekte, die bei Fettstoffwechselstörungen eine Rolle spielen, untersucht. Ein Schwerpunkt dieser Forschung besteht in der Charakterisierung genetisch veränderter Mausmodelle.

2. Art und Anzahl der Tiere 3780

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

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

Nichttechnische Projektzusammenfassung (gemäß § 31 TVG 2012)

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

Es besteht ein dringender Bedarf nach neuen und effektiven Therapiemöglichkeiten für defekte oder rupturierte Sehnen, um deren Funktionalität wieder weitgehend herstellen zu können. Sehnenverletzungen bedeuten für Patienten meist neben Schmerzen auch eine langfristige Beeinträchtigung der Beweglichkeit und somit der Lebens- und auch Arbeitsqualität. Die Sehnenheilung verläuft zumeist langsam und häufig inkomplett. Besonders Diabetiker leiden häufig unter schlecht heilenden Sehnendefekten, die auch operativ nicht adäquat versorgt werden können. Als Ursache dafür wird der langfristig erhöhte Blutzuckerspiegel angenommen, der zu Veränderungen der Sehnenmatrix führt. Im Rahmen unserer Bemühungen, Zellen in humanen Sehnen zu charakterisieren und für Zelltherapieanwendungen nutzbar zu machen, haben wir nun mittels immunhistochemischer und molekularbiologischer Methoden eine Zellpopulation identifiziert, die große Ähnlichkeiten mit Betazellen aus dem Pankreas aufweist: wir beobachten sowohl die Expression von Glut2, PDX 1, Glucagon und Expression wie auch Sekretion von Insulin6. Wir konnten zeigen, dass die Ausschaltung dieser Zellen durch Streptozotocin binnen 5 Tagen zu einer Reduktion der Maximalkraft der Sehnen um 400% führt. Wir konnten zeigen, dass die Zusammensetzung der Nahrung direkt auf die Sehnenzellen wirkt: Füttert man gesunde Ratten 1 Monat lang mit Fett- bzw. Glukosereicher Nahrung, so ändern sich sowohl die Genexpression als auch die Maximalkraft der Achillessehnen. Glukosereiche Nahrung führt zu vermehrter Expression der mRNA von Insulin und PPAR-gamma, einem Gen, das die Entwicklung von Fettzellen steuert. Besondere klinische Relevanz kommt nun der Frage zu, ob sich die Nahrungszusammensetzung auch auf den Heilungsverlauf von verletzten Sehnen auswirkt. Diese Erkenntnis könnte zu einer Diät Empfehlung führen, die Patienten nach einer Sehnenverletzung bzw. Operation zu einer rascheren Heilung verhilft. Zu diesem Zweck sollen Defekte an Achillessehnen von Ratten erzeugt werden. Die Tiere werden in 3 Gruppen aufgeteilt, von denen eine mit glukosereichem, eine mit fettreichem und eine mit Kontrollfutter ernährt werden soll. Nach 2 bzw. 4 Wochen werden die Tiere getötet und die Achillessehnen biomechanisch, histologisch und molekularbiologisch untersucht.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden weibliche, adulte Ratten vom Stamm "Lewis" (*R. norvegicus*) mit einem Gewicht von ca. 200 g für die verschiedenen Versuchsgruppen verwendet werden, Stamm: Lewis Ratte (LEW/Crl); Geschlecht: weiblich; Alter: 3 Monate; Anzahl der Tiere: Insgesamt werden für den beantragten Versuch 60 Versuchstiere (LEW/Crl) benötigt.

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

Die Sehnenregeneration stellt einen komplexen und multifaktoriellen Prozess dar, dem ein differenziertes Zusammenspiel verschiedenster biologischer und biomechanischer Faktoren zugrunde liegt. Die grundlegenden Mechanismen der Sehnenheilung sind zum aktuellen Zeitpunkt jedoch noch weitgehend unklar. Zahlreiche *in vitro* Vorarbeiten wurden durchgeführt um diese grundlegenden Mechanismen der Sehnen Degeneration und -regeneration zu erforschen. Schlussendlich kann aber der komplexe Prozess der Sehnenheilung nicht im theoretischen Modell oder *in-vitro* in seiner Gesamtheit simuliert werden und kann letztendlich nur im Tierversuch aussagekräftig studiert werden. Dies lässt sich auch damit begründen, dass für den beantragten Versuch das Immunsystem des Versuchstieres, die Blutversorgung und die damit einhergehende Einwanderung von Stammzellen aus der Defektumgebung, sowie die Ernährung großen Einfluss auf den Heilungserfolg haben. Schlussendlich ist die klinische Anwendung ohne erfolgreichen Abschluss von kontrollierten Tierversuchen ethisch nicht vertretbar.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

Ziel des Projekts ist es, die Empfänglichkeit von Karpfen, *Cyprinus carpio*, und Sonnenbarschen, *Lepomis gibbosus*, für ein fischpathogenes Bakterium zu ermitteln. Bakterien dieses Genus sind bei Süßwasser- und Meerwasserfischen als hoch pathogene Erreger, die große wirtschaftliche Schäden anrichten, bekannt. Sie besitzen eine geringe Spezies-Spezifität und können bei verschiedensten Wassertemperaturen Erkrankungen hervorrufen. Als häufigstes Erscheinungsbild tritt eine systemische chronische Erkrankung mit Granulombildung in verschiedenen Organen auf. Die Mortalitätsrate ist abhängig von den Haltungsbedingungen und beträgt bis zu 40 %. Der untersuchte Erreger wurde in Österreich bei Zierfischen als Krankheitsursache nachgewiesen. Eine Verschleppung des Erregers durch das Aussetzen von Fischen, Haltung in Zuchtteichen über die Sommermonate, oder durch Wasser aus Aquarien und Zuchtteichen ist somit eine reale Bedrohung heimischer Fischbestände. Dabei könnten Barsche, die eine besondere Empfänglichkeit für den Erreger zeigen, und die als Neozoen in österreichischen Gewässern anzutreffen sind, eine wichtige Rolle als Überträger oder Reservoir spielen. Aus diesem Grund werden neben Karpfen auch Sonnenbarsche der Familie *Lepomis gibbosus* eingesetzt.

Der erwartete Nutzen besteht im Gewinn von Information über die Empfänglichkeit heimischer Fischarten für einen hochpathogenen Erregers von Fischkrankheiten und eine daraus resultierende mögliche Gefährdung heimischer Fischarten. Der erwartete Schaden betrifft die Versuchsfische, die am Ende des Versuchs getötet werden müssen.

Art der verwendeten Fische: Karpfen, *Cyprinus carpio*
Sonnenbarsche, *Lepomis gibbosus*

Anzahl der verwendeten Fische: 125 Karpfen, *Cyprinus carpio* 125
Sonnenbarsche, *Lepomis gibbosus*

Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Verwendung von Tieren Ein Laborversuch ist notwendig, da nur so die Reaktion des Organismus auf den Erreger beurteilt werden kann. Die Gruppengröße für die unterschiedlichen Infektionsdosen wurde anhand einer Binomialverteilung ermittelt. Dabei ergibt sich als untere Grenze des 95%-igen Vertrauensintervalls für die Wahrscheinlichkeit von $p=0,25$ (Gruppe mit geringster Infektionsdosis) für mindestens einen Erfolg von über 80 % die Fallzahl 16. Auf die gleiche Weise wurden für die Gruppe mit mittlerer Infektionsdosis eine Gruppengröße von 13 Tieren und für die Gruppe mit höchster Infektionsdosis eine Gruppengröße von 12 Tieren ermittelt.

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

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

Das Ovarialkarzinom ist die tödlichste gynäkologische Karzinomart und die vierthäufigste krebsbezogene Todesursache von Frauen in westlichen Industrieländern. In Europa werden jedes Jahr rund 63.000 neue Fälle diagnostiziert. Ovarialkrebs ist somit eine enorme Belastung für die Gesellschaft, nicht nur durch Morbidität und Mortalität, sondern auch durch die hohen Behandlungskosten. Unsere Forschung konzentriert sich auf das Verstehen der Interaktion zwischen Karzinomzellen und dem Immunsystem. Wir sind speziell an den Natürlichen Killerzellen (NK Zellen) interessiert, welche zu den weißen Blutzellen und dem angeborenen Immunsystem gehören. NK Zellen sind dafür bekannt, dass sie eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von Tumorzellen und virusinfizierten Zellen spielen. Um die Rolle von NK Zellen, die den Wirt vor der Ovarialtumorbildung in vivo schützen, zu verstehen, werden wir ein immunkompetentes Ovarialkarzinom Mausmodell verwenden, welches sowohl die frühen als auch die späten Stadien dieser Erkrankung reflektiert. Diese Arbeit wird wertvolle neue Parameter fuer die Erkrankungsprognose und die Beurteilung von therapeutischen Moeglichkeiten liefern.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt 640 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Die unternommenen Schritte, um die Prinzipien Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung zu erfüllen:

- Das Ziel dieser Studie ist es, zu verstehen, wie NK Zellen den Wirt vor der Ovarialkarzinomentstehung schützen und wie die komplexen Interaktionen des Tumorumfeldes und den NK Zellen in vivo funktionieren. Dies ist mit einer in vitro Arbeit nicht möglich, da wir ein Modell, welches die verschiedenen Krebsstadien repräsentiert, benötigen. Wir werden ein Karzinom Mausmodell mit intaktem Immunsystem anwenden. Dieses Karzinom Mausmodell wird es ermöglichen eine immuntherapeutische Strategie für das Ovarialkarzinom im Frühstadium zu finden
- Da das benötigte Ovarialkarzinom Mausmodell bereits zuvor etabliert wurde und wir in einer engen Kooperation mit den Autoren (Entwicklern) stehen, werden wir die geringste Anzahl an Mäusen verwenden. Durch Standardisierung der Tierhaltung und der Versuchsbedingungen werden die Streuung der Versuchsergebnisse und somit die benötigte Tierzahl reduziert. Die Anzahl der Tiere wurde durch eine Fallzahlberechnung auf das notwendige Maß minimiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2016 vorgesehen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

BPV-1 L 1 VLP schützen Pferde vor der Infektion mit BPV-2 und dem damit assoziierten Hauttumoren.

Bovine Papillomaviren (BPV) -1 und -2 sind die Erreger des equinen Sarkoids. Es handelt sich dabei um Hauttumoren die bei allen Equiden mit einer Frequenz von 2-12% je nach Population) auftreten. Es handelt sich dabei um semi-maligne Tumoren, die nicht metastasieren aber lokal invasiv wachsen können. Diese Tumoren charakterisiert auch eine hohe Rezidivneigung die die Behandlung äußerst schwierig gestaltet. Das equine Sarkoid ist ein häufiger Euthanasiegrund beim Pferd.

Ein neu entdecktes Papillomvirus beim Pferd, EcPV-2, verursacht Penis- und Vulvakrebs beim Pferd. Diese Erkrankungen treten beim Pferd zwar nicht so oft auf wie das equine Sarkoid die Tumoren sind aber bösartig und können vor allem in die regionalen Lymphknoten metastasieren.

Virus Like Particles (VLPs) von Papillomaviren sind leere Virushüllen die weder infektiös sind noch Tumoren verursachen. VLPs sind hoch immunogen und äußerst gut verträglich. VLPs werden beim Menschen als Impfstoff zur Vorbeugung des Gebärmutterhalskrebses verbreitet eingesetzt. Beim Pferd im Tierversuch bewiesen dass VLPs die Infektion mit BPV-1 und das damit assoziierte Tumorwachstum verhindern. In vitro wurde gezeigt, dass Antikörper die gegen BPV-1 VLPs gebildet wurden auch gegen BPV-2 Viren Schutz bieten.

Es wird in diesem TV ein bi-valenter VLP Impfstoff (VLPs von BPV-1 und EcPV-2) getestet. Und zwar soll der Schutz gegen die Infektion mit BPV-2 einerseits und die Verträglichkeit und Immunogenität der EcPV-2 VLPs andererseits untersucht werden. Auch dient der Tierversuch der weiteren Erforschung der Infektion mit Papillomviren beim Pferd und dem Studium der Mechanismen die zur Spontanregression bei den Pseudosarkoiden führt.

Als Infektionsmodell dient die dermale Inokulation mit Kuhwarzenextrakt, die beim Pferd zum Wachstum von Pseudosarkoiden führt die spontan regressieren. Diese Pseudosarkoide erreichen maximale Größen von ca 20mm; die Regression ist in der Regel nach ca 20 Wochen, spätestens aber nach 1 Jahr vollständig abgeschlossen.

Es werden insgesamt 21 Pferde verwendet. 14 Pferde werden am Tag 0 und Tag 28 mit VLP geimpft. Alle Pferde werden am Tag 42 mit BPV-2 Kuhwarzenextrakt inokuliert. Danach werden die Pferde auf die Entwicklung von Tumoren beobachtet. Der Tierversuch ist für alle Pferde die keine Tumoren entwickelt haben am Tag 112 abgeschlossen. Pferde die Tumoren entwickelt haben werden erst nach vollständiger Regression aus dem Tierversuch entlassen. Die beantragte Dauer des Tierversuches beträgt deshalb 1 Jahr.

Die Wirksamkeit von Impfstoffen für das Pferd kann nur am lebenden Pferd getestet werden. Es sind keine Ersatzmethoden beschrieben. Die erforderliche Anzahl der Pferde wurde mittels statistischer Methoden ermittelt um einerseits aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, andererseits die Anzahl der verwendeten Tiere so gering wie möglich zu halten.

Die im Zusammenhang mit dieser Studie entstehende Belastung für die Tiere ist entsprechend des Tierversuchsgesetzes 2012 (BGBl. I Nr. 114/2012) als gering einzustufen.

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

Die Aceruloplasminämie (ACP) ist eine seltene Erbkrankheit des Eisenstoffwechsels, die sich klinisch durch den Trias Diabetes Mellitus, Retinadegeneration und Bewegungsstörung manifestiert. Die als Folge des Gendefekts auftretende Eisenüberladung betrifft die Leber, die Bauchspeicheldrüse und das Gehirn. Die Eisenablagerung im Gehirn führt zu einer schweren neurologischen Symptomatik, an deren Folgen die Patienten im 5ten bis 6ten Lebensjahrzehnt versterben. Eine Therapie der Erkrankung existiert bisher nicht. Zwar ist es möglich, mit Eisenchelatoren die Eisenablagerungen in der Leber und der Bauchspeicheldrüse zu behandeln, die Eisenüberladung im Gehirn bleibt aber bestehen, da diese Medikamente die Blut-Hirnschranke nicht überwinden. In Anbetracht des tödlichen und bisher unbeeinflussbaren Krankheitsverlaufes ist die Erforschung neuer Behandlungsmethoden für die betroffenen Patienten von entscheidender Bedeutung. Die Entwicklung eines viralen Gentransfers zum Ersatz des intakten CP-Gens erscheint dabei als attraktive und vielversprechende Möglichkeit. Mittels viralen Gentransfers könnte die Expression von intaktem Ceruloplasmin und somit eine Wiederherstellung der Proteinfunktion in der Leber und im Gehirn erzielt werden. Zu diesem Zweck werden heterozygote Ceruloplasmin Knockout Mäuse miteinander verpaart um homozygote Versuchstiere zu erhalten. Bei CP-Knockout Mäusen kommt es zwar auch zu einer vermehrten Eisenablagerung in verschiedenen Organen, allerdings zu keinen klinischen Symptomen. Eine schwere Beeinträchtigung der Versuchstiere ist somit nicht zu erwarten. Für die folgenden Versuche an den homozygoten Knockout-Mäusen werden 3 Gruppen von Versuchstieren gebildet: Kontrollgruppe 1 (n = 12; keine Therapie), Kontrollgruppe 2 (n = 12; Behandlung mit AA V8 Viren ohne CP Gen) und Therapiegruppe (n = 12; Behandlung mit AAV8 Viren mit intaktem CP Gen). Den Mäusen der Kontrollgruppe 2 und der Therapiegruppe wird jeweils am 28. Lebenstag ein adenoassoziierter Virus Typ 8 (AAV8) Vektor über die Schwanzvene verabreicht, einmal mit und einmal ohne intaktem CP Gen. Danach werden jeweils 4 Tiere für 3, 6 und 12 Monate Tage beobachtet und unter Anästhesie getötet. Die Gewebe der getöteten Tiere werden anschließend auf Expression von CP und Eisenablagerung untersucht und die Unterschiede zwischen Therapie- und Kontrollgruppe ausgewertet. Um die Zahl der benötigten Versuchstiere so gering wie möglich zu halten, wurden bereits umfangreiche Vorarbeiten im Zellkulturmodell durchgeführt. Die korrekte Funktion der viralen Vektoren wurde dabei nachgewiesen. Mittels Ferroxidase-Assay, Westernblot, Immunhistochemie und Eisenfärbung stehen sehr sensitive Methoden für den Nachweis von Proteinexpression, Proteinfunktion und funktionellen Auswirkungen zur Verfügung. Dies wird ebenfalls dazu beitragen, die Anzahl der benötigten Versuchstiere so klein wie möglich zu halten. Auch wird die geplante genaue Datenaufzeichnung zu einer deutlichen Verbesserung der Planbarkeit ev. weiterer Projekte führen, was auch helfen soll die verwendeten Tierzahlen weiter zu reduzieren. Da die Versuchstiere nach dem bisherigen Wissenstand keine klinischen Symptome der Erkrankung entwickeln werden, sollte deren Beeinträchtigung während des Versuches nur sehr gering ausfallen. Sollten unsere Arbeit die prinzipielle Tauglichkeit dieser Therapie bestätigen, wäre dies der erste Schritt in Richtung einer wirksamen und damit lebensrettenden Therapie dieser beim Menschen bis heute unheilbaren Erkrankung.

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

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

Das Ziel des vorliegenden Projektes ist es folgende Fragestellungen und Hypothesen zu beantworten: I) Die Infektion mit attenuierten Histomonaden bewirkt eine lokale Immunität im Zäkum von Wirtstieren. II) Histomonaden lösen nach der Infektion signifikante Änderungen der T Zell-Populationen aus. III) Histomonose kann als Infektionsmodell für eine Typ 2 Immunreaktion beim Geflügel verwendet werden. Zur Prüfung dieser Hypothesen müssen Tierexperimente durchgeführt werden, um die Vakzination gegen Histomonose und die Infektion mit virulenten Erregern zu reproduzieren. Gleichzeitig soll Probenmaterial generiert werden. Immunologische und molekularbiologische Untersuchungen von Blut und Organproben sollen detaillierte Informationen zum Immunstatus von geimpften bzw. infizierten Hühnern und Puten bringen. Dabei sollen spezifische Immunmechanismen, die einer Impfung gegen die Histomonose zu Grunde liegen, aufgeklärt werden. Zusätzlich soll ein Modell für eine Typ 2 Immunreaktion beim Geflügel, ausgelöst durch die Infektion mit Histomonaden, etabliert werden. Die Infektion von Hühnern und Puten mit virulenten Histomonaden und die dadurch ausgelöste Krankheit Histomonose stellen im vorliegenden Versuch den zu erwartenden Schaden dar. Das Verstehen der Immunmechanismen bei Histomonose ist von wissenschaftlicher Bedeutung und soll als Basis für die Bekämpfung der Krankheit beim Geflügel gesehen werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

105 Hühner; 105 Puten

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

Aktuell gibt es keine in vitro-Alternative um die beschriebenen Untersuchungen durchzuführen, daher kann auf dieses Tierexperiment nicht verzichtet werden. Die Anzahl der Tiere wurde aufgrund statistischer Berechnungen minimal gehalten, um negative Auswirkungen der Histomonose auf wenige Hühner und Puten zu beschränken. Weiters werden an den Organen und Gewebeproben aus diesem Versuch verschiedene Untersuchungsverfahren angewendet, damit die generierten Probenmaterialien vollständig genutzt werden können und keine weitere Tierversuche zur selben Fragestellung durchgeführt werden müssen. Genau definierte Abbruchkriterien sollen ein protrahiertes Tierleid vermeiden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2015 vorgesehen.

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

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

Starke Nebenwirkungen und das Auftreten von Resistenz sind die Hauptgründe für das Scheitern von Krebstherapien besonders bei Patienten in einem weit fortgeschrittenen, disseminierten Stadium der Erkrankung. Um diese Probleme zu überwinden, gibt es verschiedene Strategieansätze: 1) Entwicklung neuer Chemotherapeutika; 2) Chemische Modifikation bereits zugelassener Medikamente; 3) Kombination mehrerer Substanzen mit verschiedenen Wirkmechanismen.

Ziel des vorgelegten Tierversuchs ist es daher, die krebshemmende Wirkung der vielversprechendsten dieser neuen Verbindungen bzw. Substanzkombinationen in humanen und murinen Xenograftmodellen der Maus *in vivo* zu untersuchen. Dazu werden therapieresistente und -sensitive Tumorzellmodelle subkutan unter die Haut von wild-typ BALBc oder immundefizienten SCID Mäusen appliziert und die neuen Verbindungen als Einzelsubstanz bzw. in synergistischer Kombination mit bereits zugelassenen Krebsmitteln verabreicht. Diese Versuche sind zwingend notwendig, um die klinische Entwicklung dieser neuen Krebstherapeutika zu ermöglichen. Die gewonnenen Daten sollen dazu dienen, die Verträglichkeit und Aktivität dieser Substanzen gegen chemotherapie-resistente Krebszellen im lebenden Organismus zu bestimmen, und so klinische Studien mit der/ den besten Therapieansätzen vorzubereiten.

2. Art und Anzahl der Tiere

SCID/BALBc C.B-17/lcrHsd-Prkdcscid Mäuse: 707

BALBc Mäuse: 140

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

Im Laufe der letzten Jahre wurde von der Arbeitsgruppe eine große Anzahl an neuen, innovativen Chemotherapeutika synthetisiert und in diversen ausführlichen Zellkulturexperimenten bzw. *in vitro* Modellen auf ihre Wirksamkeit untersucht. Das Projekt verwendet ein sehr gut etabliertes und international akzeptiertes Mausmodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße (n=847) basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert.

Nichttechnische Projektzusammenfassung (§§ 26 Abs. 2 Z 5 und 31 Abs. 2 TVG 2012)

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 8000 Tieren (6750 Mäuse, 730 Meerschweinchen, 100 Kaninchen, 220 Ratten, 70 Frettchen und 130 Hamster) 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 Komplexheit der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Das Projekt wird keiner rückblickenden Bewertung (gem. §30 TVRÄG) unterzogen.

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

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

Infektionen sind eine der häufigsten Todesursachen weltweit, und dies obwohl Antibiotika verfügbar sind. Die Ursache dieser schwierigen Situation beruht auf der Tatsache, dass die durch Bakterien und Viren ausgelöste Entzündungsreaktion in vielen Fällen zum Organversagen und somit zum Tode führen kann. Dieses Projekt soll einen speziellen Aspekt dieser mitunter schädlichen Entzündungsreaktion genauer untersuchen. Auf Grund unserer bisherigen Ergebnisse wissen wir, dass eine vorangegangene Entzündungsreaktion, die Immunreaktion auf eine darauffolgende Infektion verändert und häufig minimiert, ein Effekt der als Toleranz bezeichnet wird. Wir möchten in diesem Projekt die genauen Mechanismen definieren, da wir glauben, dass dies auf lange Sicht zu neuen Therapien bei Infektionen beitragen kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden hierfür sogenannte C57Bl/6 Mäuse unterschiedlichen Genotyps verwendet, wobei einem Teil der Tiere bestimmte Moleküle, die die Abwehr der Infektion maßgeblich beeinflussen, fehlen. In Summe werden höchstens 832 Tiere für diese Experimente eingeplant. Für die Zucht bestimmter Gen-defizienter Tiere werden hierbei 134 Tiere gezüchtet und 6 Schwanzbiopsien durchgeführt. Diese Tiere sind gesund und auch alle genetisch veränderten Mäuse zeigen keinerlei Krankheitszeichen.

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

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

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

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

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 Hauptziel dieses Projekts ist es zu untersuchen, welche Rolle spezielle Wachstumsfaktoren bei der Entwicklung bzw. der Progression von schwerem Hautkrebs einnehmen. Melanome zählen zu den am meisten verbreiteten und aggressivsten malignen Veränderungen der Haut und obwohl bereits ausgiebig erforscht, ist neben UV-Strahlung, der Einfluss von Host-Faktoren, wie eben zum Beispiel eine Entzündung, die durch diese Faktoren ausgelöst wird, noch unklar. Die Erkenntnisse, die aus diesem Projekt erzielt werden, können helfen geeignete Therapien für Krebspatienten zu entwickeln.

2. Art und Anzahl der Tiere

2616 Mäuse über 3 Jahre

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

Aufgrund der Komplexität des Immunsystems können die Fragestellungen, die in diesem vorliegenden Antrag untersucht werden sollen, nicht an isolierten Zellen oder Organen untersucht werden. Die zu untersuchenden Funktionen hängen direkt von der Interaktion unterschiedlicher Zelltypen ab und können daher nicht mit in vitro Versuchen erfasst werden. Die Anzahl der Mäuse wird auf ein Minimum reduziert. Dies wird erreicht durch

- (i) eine genaue Planung der Versuche und deren Abläufe, sodass in einem Experiment mehrere Parameter untersucht werden können,
- (ii) eine genaue Planung der Versuche abgeleitet aus in vitro Experimenten, damit mit wenigen Tieren eine statistische Signifikanz erreicht werden kann, und
- (iii) durch die genaue Planung der Zucht, sodass so wenige Tiere wie möglich geboren werden, die nicht in Versuche integriert werden.

Durch die detaillierte Charakterisierung des verwendeten Mausmodells und der Wirkweise von LiMess (siehe Punkt f) wird die Anzahl der benötigten Tiere im Hauptexperiment deutlich verringert. Für das Wohl der Tiere wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment, wie Nestbaumaterial und Häuschen bereitgestellt. Die Tiere werden an den Menschen gewöhnt (Handling), um Stress bei der Durchführung der Versuche zu reduzieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2017 vorgesehen.

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

Laut WHO betrifft Hungersnot weltweit jeden achten Menschen. Begleitet von schlechten hygienischen Bedingungen und oftmals ungenügender medizinischer Behandlung finden pathogene Mikroorganismen ein optimales Reservoir vor. Bisher gibt es jedoch wenige Daten über die prophylaktische Gabe von Spurenelementen wie Eisen oder Zink bei unterernährten Personen und die zugrundeliegenden immunologischen Mechanismen im Zusammenhang mit Infektionskrankheiten.

In einer der wenigen klinischen Studie konnte gezeigt werden, dass die prophylaktische Gabe von Eisen und Folsäure bei unterernährten Kindern in Afrika eine erhöhte Sterblichkeit an Malaria und bakteriellen Infektionen zur Folge hatte.

Im Rahmen dieses Projekts soll nun eindeutig beantwortet werden, wie sich zum Einen die Unterernährung auf die Entwicklung von bakteriellen Infektionen auswirkt und zum Anderen, wie die Supplementation des Spurenelements Eisen die Infektion in diesem Setting beeinflusst. Diese Aussagen sollen dazu beitragen, eine optimale Prophylaxe und Behandlung der betroffenen Personen bewerkstelligen zu können.

Das Zusammenspiel von Mangelernährung und Infektionskrankheiten 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 bei einer Infektionen im Gesamtorganismus ablaufen. Somit stellt sich die Notwendigkeit, diese Fragestellung im Rahmen eines in-vivo Projektes zu untersuchen. Mäuse besitzen einen dem Menschen sehr ähnlichen Eisenmetabolismus und das Sepsismodell lässt sich gut mit der menschlichen Immunreaktion vergleichen, wie in zahlreichen Publikationen gezeigt werden konnte.

Um möglichst wenig Mäuse in das Projekt einschließen zu müssen, aber auch gleichzeitig eine verwertbare statistische Aussage tätigen zu können, wurden die benötigten Tierzahlen von Referenzen mit ähnlicher Fragestellung abgeleitet. Außerdem besitzt unsere Arbeitsgruppe auf diesem Gebiet eine langjährige Erfahrung um die Gruppen so klein wie möglich zu halten. Insgesamt sollen in mehreren Versuchsreihen 328 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 vom möglichst vielen Parameter dazu, dass die Versuchsreihen nicht unnötigerweise wiederholt werden müssen. Bis zur Applikation der Bakterien werden die Tiere lediglich mittels Futtermodifikation behandelt und erfahren bis dahin keine Beeinträchtigungen in der Lebensqualität. Lediglich nach der Inokulation werden sie für einen kurzen Zeitraum einer schweren Belastung ausgesetzt. In dieser Zeit wird der Gesundheitszustand der Tiere mehrmals täglich kontrolliert, um gegebenenfalls den Versuch rechtzeitig abubrechen, um 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 und Infektion zu lösen und somit vielen Millionen Menschen helfen zu können.

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

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

Seltene, genetisch bedingte Erkrankungen sind oft wenig untersucht, daher finden die betroffenen Personen häufig weder eine Diagnose noch adäquate Therapien. Wir erforschen die genetische Ursache bestimmter sehr seltener genetisch bedingter Erkrankungen des Menschen und untersuchen die Folgen der dabei gefundenen genomischen Varianten (Mutationen) auf zellulärer Basis in induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS Zellen) von unseren Patienten. iPS Zellen sind „vielfähige“ (pluripotente) Zellen und wir können aus ihnen wieder andere Körperzellen, etwa Nervenzellen herstellen. Hat ein Patient also ein angeborenes Nervenleiden, so kann aus den iPS Zellen des Patienten wieder eine Nervenzelle werden. Unsere Arbeiten helfen, zum grundsätzlichen Verständnis der Krankheitsentstehung dieser schweren lebenslangen Erkrankungen beizutragen – unser Ziel ist aber die auf den Patienten abgestimmte Medikamenten-Entwicklung und eine Verbesserung oder Heilung der Krankheit(en) unserer schwer kranken Patienten.

Aus Sicherheitsgründen müssen alle neuen Zell-Linien von iPS Zellen auf ihre Pluripotenz („Vielfähigkeit“) getestet werden. Dies erfolgt durch Induktion von kleinen Tumoren in immundefizienten Mäusen (SCID-Mäuse).

2. Art und Anzahl der Tiere: 384 Mäuse über einen Zeitraum von 3 Jahren

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

Replace („Vermeiden“): Neue iPS Zell-Linien werden zunächst in-vitro (im Labor) mit zahlreichen Methoden auf Pluripotenz untersucht. Ausschließlich jene Zell-Linien, die hierbei alle Tests bestehen, werden für die Tests an Mäusen eingesetzt.

Reduce („Vermindern“): Jede iPS Zell-Linie (zwei Linien pro Patient) wird an drei Tieren bis maximal zehn Tieren untersucht.

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

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

Die Projektziele und der zu erwartende Nutzen definieren sich primär über eine zukünftige Reduktion der unerwünschten Effekte in der (teilweise präventiven) Therapie von Innenohrschädigungen durch die Erprobung einer neuen Substanz aus der Gruppe der Selektiven Glucocorticoid Rezeptor Agonisten (SEGRAs) -Compound A -als Alternative zum Goldstandard Dexamethason.

Der zu erwartende Schaden inkludiert eine befristete standardisierte Lärmaussetzung der Tiere zur Beeinträchtigung des Hörvermögens und die wiederholte prä- und postexpositionelle systemische Applikation von neuen Medikamenten zur Verbesserung des beeinträchtigten Hörvermögens. Bisher wurde Compound A noch nicht bzgl. der Protektion von Innenohrschädigungen untersucht, jedoch ist die Verwendung einer neuen Substanz für die letztere Indikation ein dringendes klinisches Anliegen.

2. Art und Anzahl der Tiere

100 pigmentierte männliche und weibliche Meerschweinchen

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

Um eine statistische Aussagekraft zu gewährleisten ist die angegebene Anzahl an Tieren nötig, wobei die Invasivität bereits auf ein Minimum reduziert wurde und der Einsatz eines etablierten Modells zur internationalen Vergleichbarkeit beiträgt. Die verwendete Gruppengröße wurde aufgrund einer Fallzahlplanung berechnet. Durch Standardisierung aller Versuchsbedingungen wird die Streuung der Versuchsergebnisse vermindert und somit die Tierzahl zusätzlich auf das notwendige Minimum gesenkt. Sollten die Versuche der präexpositionellen Phase I keine positiven Ergebnisse bzgl. der Wirkung von Compound A zeigen, unterbleiben die Versuche der rein postexpositionellen Verabreichung (Phase II).

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

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 sowie die pharmakologische Forschung seit Jahrzehnten etabliert. Bei diesen Versuchen tritt jedoch meist das Problem der Ödembildung am Herzen auf, welches in weiterer Folge die Herzfunktion negativ beeinflusst und somit vermieden werden soll. Ein Lösungsansatz dahingehend ist die Verwendung von Zusätzen zur Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks um die Diffusion von Flüssigkeit in das Gewebe zu verringern. In diesem Forschungsprojekt sollen Auswirkungen zwei verschiedener solcher Zusätze auf die Herzleistung und die Ödembildung anhand von isolierten Rattenherzen verglichen werden. Das Ziel der Studie ist es, eine ideale Perfusionslösung in Bezug auf Ödembildung und Hämodynamik für Versuche am isolierten Herzen zu finden. Bei diesem Tierversuch handelt es sich um eine Entnahme von Herzen bei Ratten in tiefer Narkose. Die entnommenen Rattenherzen werden an einer Isolierten-Herz-Apparatur angeschlossen, um die ödematöse sowie die hämodynamische Wirkung unterschiedlicher Perfusate wiederholbar und standardisiert untersuchen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Ratten: 105 (OFA)

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

Um die Anzahl der beantragten Tierversuche so gering wie möglich zu halten und somit Tierversuche zu vermeiden, wurden die zu untersuchenden Perfusate mit isolierten Schweineherzen vom Schlachthof entwickelt und optimiert. Ein standardisierter Vergleich ist allerdings aufgrund der Heterogenität dieser Herzen nicht möglich. Das Versuchsssetup sowie das Protokoll mit Rattenherzen sind jahrelang international etabliert und erlauben eine standardisierte Untersuchung der Fragestellung. 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 soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

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

Mehr als die Hälfte aller Menschen in den Industriestaaten sterben an Herz-Kreislaufkrankungen. Neben bekannten Risikofaktoren wie Rauchen, Übergewicht, Bluthochdruck und Diabetes spielen die Blutfette eine eminente und ursächliche Rolle bei der Entstehung von Gefäßverkalkungen (Atherosklerose). Der Einsatz von Cholesterinsynthesehemmern (Statine) führte zu einer drastischen Verbesserung der Situation. Mehr als 30% Prozent der Patienten profitieren jedoch nicht von einer Statintherapie. Neue Konzepte für die Prävention und Behandlung der Gefäßverkalkung werden daher dringend benötigt. Der Fokus neuer Ansätze ist weniger auf die Reduktion des sogenannten schlechten Cholesterins — des LDL-Cholesterins-, sondern auf die Erhöhung und Funktionssteigerung des sogenannten guten Cholesterins — des HDL Cholesterins.

Neben klinischen und medikamentösen Behandlungen erlangen natürliche Produkte mit ihrer Wirkung gegen Gefäßverkalkungen immer mehr an Bedeutung. In dieser Studie werden Naturstoffe wie zum Beispiel Matcha-Tee (grüner Tee aus der Pflanze *Camellia sinensis*) verwendet, welcher sich durch seine spezielle Herstellung/ Aufzucht von herkömmlichen Sorten unterscheidet. Diese Form des grünen Tees zeichnet sich durch entzündungshemmende Eigenschaften sowie einem erhöhten Gehalt an anti-oxidativ wirkenden Substanzen aus. In einem Zeitraum von mehreren Jahren werden in aufeinanderfolgenden Versuchsansätzen insgesamt 72 Kaninchen mit cholesterinreicher Nahrung (ähnlich der des Menschen) gefüttert und zusätzlich mit verschiedenen Naturstoffen behandelt um die Entstehung von Gefäßverkalkungen zu verhindern.

Die Kaninchen werden in artgerechten Käfigen gehalten und der Gesundheitszustand der Tiere wird täglich von den Versuchsbeteiligten, den Tierpflegern, sowie von einem Veterinärmediziner kontrolliert. Die vorgesehenen Blutabnahmen werden standardisiert und von geschultem Personal durchgeführt um den Stress der Tiere möglichst gering zu halten.

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

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

Die Funktion der ATGL im Lipidmetabolismus und ihr Einfluss auf die Entstehung von Atherosklerose und Fettleibigkeit 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 Lipidtröpfchen und spielen eine wichtige Rolle in der Atherogenese. In diesem Projekt soll die Rolle der Adipose Triglyceride Lipase (ATGL) in Makrophagen, deren Einfluss auf die Entstehung von Atherosklerose, Fettleibigkeit und Entzündung untersucht und charakterisiert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

346 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 der ATGL in Makrophagen und Auswirkungen auf den gesamten Organismus) ist nur in vivo zu beantworten. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden.

„Charakterisierung von Alzheimer Mäusen als Modell der Alzheimer Krankheit“

Ziel der Studie: In dieser Studie sollen Alzheimer Mäuse im Alter zwischen 7 und 18 Monaten in verschiedenen Verhaltenstests charakterisiert werden. Die Tiere werden im Anschluss daran euthanasiert und Blut, Gehirne und Zerebrospinalflüssigkeit werden auf Veränderungen durch das Transgen untersucht. Ziel dieser Studie ist es diese Alzheimer Mäuse auf ihre kognitiven und motorischen Fähigkeiten sowie ihrer Gehirnpathologie zu charakterisieren und sie als Modell für die Alzheimer Krankheit zu etablieren.

Schaden und Nutzenabklärung: Bei einer zunehmend älterwerdenden Bevölkerung nimmt die Bedeutung von altersassoziierten Demenzen immer mehr zu. Im Hinblick auf die Entwicklung von Therapien ist es deshalb unerlässlich, die zugrunde liegenden pathogenen Mechanismen zu verstehen. In dieser Studie soll ein neues erstmals bei uns charakterisiertes Maus Modell etabliert werden um es in weiteren Schritten zur Austestung neuer neuroprotektiver Substanzen einzusetzen. Da die Tiere in dieser Studie nur in verschiedenen Verhaltenstests charakterisiert werden, die nur eine geringe Belastung für die Tiere darstellen, überwiegt der Nutzen dem Schaden.

Zahl und Art der zu verwendenden Tiere:

Für diese Studie werden 27 Tiere beantragt, davon 12 transgene Alzheimer Tiere und 15 nicht transgene Geschwistertiere.

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

Um die Alzheimer Erkrankung erfolgreich behandeln zu können und um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Die Gruppengröße wurde so gering wie möglich gewählt um noch signifikante Aussagen treffen zu können.

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

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

Jährlich erleiden in Österreich ca. 20000 Menschen einen Schlaganfall. Ca 5% davon sind blutige Schlaganfälle. Besonders beim blutigen Schlaganfall kann es nach dem Erstereignis zu einer Reihe von Komplikationen kommen die zu einer Verschlechterung des klinischen Bildes führen (wie zum Beispiel weitere Schlaganfälle). Zur Vorbeugung dieser Komplikationen gibt es bisher nur ein einziges am Markt zugelassenes Medikament (Nimodipin). Leider ist die Wirkungsweise dieses Medikamentes bisher nicht vollständig geklärt, wodurch die Entwicklung neuer Medikamente erschwert wird. Die vorliegende Studie untersucht die Wirkungsweise von Nimodipin beim blutigen Schlaganfall und hat das Ziel neue besser wirksame Medikamente zur Vorbeugung der schweren Komplikationen zu erproben.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt werden für die vorliegende Studie 190 Wildtyp Mäuse sowie 240 genetisch modifizierte Mäuse über einen Zeitraum von 3 Jahren benötigt.

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

Eine Vermeidung des Tierversuches ist in der gegebenen Fragestellung nicht möglich da die extrem komplexen Pathomechanismen des blutigen Schlaganfalles bisher durch keine Ersatzmethode nachstellbar sind. Darüber hinaus ist die Erforschung der Effektivität von neuen verbesserten Medikamenten zur Vorbeugung der genannten Komplikationen nur im Tierexperiment möglich.

Zur Verminderung der Anzahl der benötigten Tiere wurde das Studien-Design nach genauer statistischer Überlegung und auf Basis unserer bisherigen Erfahrungen entworfen. Während der Studie werden die Ergebnisse wiederholt evaluiert und eine mögliche Reduktion angestrebt.

Die Tiere in der gegenwärtigen Studie werden engmaschig hinsichtlich neurologischer Auffälligkeiten, Stress und Schmerzen überwacht. Alle Eingriffe werden unter Vollnarkose durchgeführt und die Tiere werden mit potenten Schmerzmitteln behandelt falls ein Eingriff mit Schmerzen einhergehen könnte.

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

Tumoren können Zellen des Immunsystems ausnutzen, um das eigenes Wachstum zu fördern. Zu solchen Immunzellen gehören die Tumor assoziierten Makrophagen (TAMs). Sie versorgen den Tumor mit Wachstumsfaktoren, regen die Gefäßbildung im Tumor an, und können durch ihre immunsuppressiven Eigenschaften eine Elimination des Tumors durch das Immunsystem inhibieren. Im Projekt soll untersucht werden, mit welchen vom Tumor freigesetzten Faktoren TAMs angelockt und zur Vermehrung im Tumor angeregt werden, und wie diese Vermehrung von TAMs pharmakologisch inhibiert werden kann.

Zu erwartende Schäden: Belastung der Tiere durch die Tumore, Entzündung an der Haut.

Zu erwartender Nutzen: Identifizierung von Zielmolekülen (targets) für die Krebstherapie durch Charakterisierung der molekularen Mechanismen der Rekrutierung, Proliferation und Differenzierung von TAMs.

2. Art und Anzahl der Tiere: 296 Mäuse

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

Abbruch des Versuchs wenn der Tumor zu groß ist, bei Zeichen von starker Belastung wie struppiges Fell, fehlende oder geringere Futter- oder Wasseraufnahme, Durchfall, Apathie oder Zeichen eines Schmerzes.

Benutzung von in der Literatur beschrieben Dosen von Wirkstoffen mit minimalen toxischen Effekten; Applikation und tägliche Kontrolle der Tiere durch geschultes Personal.

Versuchsspezifische Minimierung der Anzahl der Tiere pro Gruppe auf die für das jeweilige Experiment benötigte Anzahl (10 Tiere bzw. 15 Tiere) um eine statistische relevante Aussage zu erreichen.

Schmerzvermeidung durch Betäubung mit einem wirkungsvollen Narkosemittel vor Injektion in den Tumor.

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

Die positive Auswirkung der physiologischen Druckerhöhung im Koronarvenensystem ist bekannt. Nach den neuesten experimentellen Ermittlungen wird der beschriebene positive Effekt hauptsächlich auf die Reduktion der Infarktgröße und auf die Induktion der Neoangiogenese zurückgeführt. In vorangegangenen Experimenten konnte immunhistochemisch gezeigt werden, dass es durch druckkontrollierte intermittierende Koronarsinusokklusion zu einer vermehrten Bildung von Wachstumsfaktoren kommt, welche für die Induktion der Neoangiogenese in ischämisch geschädigten Herzmuskel bedeutend sind. In der nun geplanten Versuchsreihe soll das Herzmuskelgewebe ebenfalls histologisch aufgearbeitet und mittels der Methode der Immunhistochemie (Paraffin) gezielt nach Zellen gesucht werden, die sich mit Markern für Stamm- bzw. Vorläuferzellen markieren und somit als solche identifizieren lassen. In 26 anästhesierten Schweinen wird sowohl die Auswirkung auf die koronare Hämodynamik, als auch das Potential der Therapie der druckkontrollierten intermittierenden Koronarsinusokklusion zur Reduktion der Infarktgröße sowie der Effekt der Regeneration untersucht. Ziel ist es, einen positiven Einfluss der druckkontrollierten intermittierenden Koronarsinusokklusion auf die Regenerationsfähigkeit des Herzens deutlich zu machen. Die druckkontrollierte intermittierende Koronarsinusokklusion wird nun schon in mehreren Zentren weltweit beim Patienten angewandt. Die Hypothese der Wirkungsweise bezieht sich aber auf molekulare Veränderungen, die nur zum Teil in einer klinischen Studie beantwortet werden können. Wir sind deshalb auf das Myokard und die daraus folgende Analyse der Moleküle und deren Veränderungen durch die Intervention im Endeffekt angewiesen. Die Anzahl der notwendigen Tiere ergibt sich aus der notwendigen Statistik, um eine Wirksamkeit und die Hypothese nachzuweisen.

Zweck des Tierversuchs (gemäß § 5 TVG 2012): Translationale oder angewandte Forschung zur Verhütung, Vorbeugung, Diagnose oder Behandlung von Krankheiten oder anderen Anomalien oder deren Folgen bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

Die Ziele der Untersuchung sind es:

- Durchführung der in vitro Hämodialyse mit verschiedenen Wirkstoffen und Membranen unter Einsatz von Rinderblut
- Modellierung zur Berechnung von verschiedenen Parametern
- Entwicklung von optimalen Dosierungen für verschiedene Wirkstoffe und Membransysteme für Menschen mit chronischen Nierenversagen, die auf Hämodialyse angewiesen sind
- Messung von hämatologischen Parametern bei den Tieren nach der Blutspende zur Überwachung der Blutregeneration
- Vorbereitende Untersuchungen ob das Rinderblut durch anderer Substrate ersetzt werden kann

Zu erwartende Schäden und Nutzen:

- Schaden: keine Schäden zu erwarten, die Tiere tolerieren die Blutentnahme ohne klinische Probleme, die Regeneration des Blutes wird nachverfolgt
- Nutzen: Medikamente lassen sich beim Menschen, die auf Hämodialyse angewiesen sind, akkurat dosieren, Unter- und Überdosierungen werden vermieden

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden potentiell 68 Tiere adulte Rinder in das Projekt einbezogen, damit wird gewährleistet dass zwischen den Blutentnahmen sehr lange zeitliche Zwischenräume möglich sind.

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

Blut ist das Substrat was in der Hämodialyse benötigt wird und kann derzeit nicht ersetzt werden. Die Blutentnahme ist nur geringfügig mit Schmerzen verbunden und stellt für die Tiere kein Risiko dar. Zudem hat das Projekt als eine Zielstellung zu überprüfen, ob das Blut eventuell in Zukunft durch andere Medien ersetzt werden kann.

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

Einfluss einer Eisenüberladung auf die Entstehung und Progression der Nicht-Alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD)

Durch die Zunahme von Übergewicht und Fettsucht haben Krankheiten wie Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörungen und auch die Fettlebererkrankung deutlich an Häufigkeit zugenommen. Diesen Krankheiten gemeinsam ist, dass sie das Risiko für Herz Kreislauf Erkrankungen massiv erhöhen. Herz Kreislauf Erkrankungen wiederum sind die häufigste Todesursache in der westlichen Welt.

Zahlreiche Untersuchungen haben ergeben, dass bei der Entstehung der mit Übergewicht assoziierten Erkrankungen, allen voran der Fettlebererkrankung, Eisen eine wichtige Rolle spielt. Bisher wissen wir nicht, ob der bei diesen Erkrankungen vorherrschende Eisenüberschuss durch unsere Ernährung oder andere noch nicht bekannte Mechanismen verursacht wird. Wissen darüber, wie es bei Übergewicht und assoziierten Erkrankungen wie der Fettleber zu einem Überschuss an Eisen im Körper kommen kann, könnte möglicherweise helfen, neue Therapiestrategien für diese Erkrankungen zu entwickeln.

Ziel dieser Studie ist es nun an gesunden Mäusen und Mäusen mit erblich gestörtem Eisenstoffwechsel zu untersuchen, ob ein vermehrter Eisengehalt in der Nahrung verantwortlich ist für die beschriebenen Veränderungen an den Organen oder die Veränderungen unabhängig von der Eisenzufuhr sind und Folge des Übergewichts sind. Die Anzahl von 60 Versuchstieren ergibt sich aus der Tatsache, dass gesunde Mäuse und Mäuse mit erblich gestörtem Eisenstoffwechsel mit unterschiedlichem Futter gefüttert werden müssen, um diese Fragestellung zu beantworten. Da der Eisenstoffwechsel über viele verschiedene Organe reguliert wird (z.B. Darm, Leber), ist es nicht möglich, diese Fragestellung anderweitig (z.B. Zellkulturversuche) als in Lebewesen zu untersuchen.

Es ist zu erwarten, dass sich das Körpergewicht von den Mäusen in Abhängigkeit vom verwendeten Futter unterscheiden wird, das resultierende Übergewicht ist jedoch mit keinerlei Schmerzen verbunden. Das gleiche gilt auch für eventuell auftretende Eisenablagerungen in den Organen, die ebenso schmerzfrei sind. Die Mäuse werden täglich von bestens geschulten Tierpflegern und Projektmitarbeitern untersucht, sollte es zu irgendwelchen Auffälligkeiten kommen, soll nach Rücksprache mit dem verantwortlichen Tierarzt der Versuch abgebrochen werden.

Der potentielle Nutzen dieses Tierversuchs besteht darin, die Ursachen der schädlichen Eisenablagerungen in verschiedenen Organen bei Übergewicht zu identifizieren, und damit eine Vermeidung oder Therapie dieser schwerwiegenden Erkrankung zu finden.

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

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

Der Weg aus der Drogensucht ist für viele Abhängige sehr schwer, weil sie den Weg zu den Mitmenschen (inklusive ihrer Psychotherapeutin) so schwer finden und weil sie dieser angstvollen sozialen Interaktion meist nach wie vor künstliche Ruhe und Allmacht vorziehen, die ihnen die Droge vermittelt. Wir beabsichtigen den Substanzabhängigen zu helfen, sich von der Droge abzuwenden und wieder ihren Mitmenschen zu öffnen. Wir haben dazu ein Tiermodell entwickelt, in dem kokainerfahrende Individuen die soziale Interaktion dem Kokain vorziehen. Dieses experimentelle Modell ermöglicht es uns, die neurobiologischen Grundlagen für diese therapeutisch hoch erwünschte Neuorientierung zu erforschen, um die Zuwendung zu den Mitmenschen und die Befreiung von der Droge durch eine Hirnzellgruppen-gezielte pharmakologische und/oder transgene Therapie zu unterstützen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für die von uns geplante Projekt werden insgesamt 264 Sprague Dawley Ratten, 27 C57BL/6 Mäuse sowie 27 C57BL/6 p38 KO Mäuse benötigt.

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

Für alle Einzelprojekte werden auf Basis von statistischen Verfahren die geringst mögliche Anzahl von Tieren verwendet. Außerdem werden wir die geplanten Experimente soweit verfeinern, dass Stress und andere Belastungen für die Tiere so gering wie möglich bleiben. Unser Tierversuchsantrag / wurde unter Einhaltung des Konzeptes der 3R (Replacement, Reduction, Refinement) erstellt.

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 15000 Tieren (13300 Mäuse, 620 Meerschweinchen, 80 Kaninchen, 400 Ratten, 200 Frettchen und 4000 Hamster) 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 Komplexheit der Erkrankung und Therapie nicht möglich. Das Projekt wird einer rückblickenden Bewertung (gem. §30 TVRÄG) unterzogen.

Die rückblickende Bewertung wird bis zum 31. Mai 2019 durchgeführt.

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

Versuchsziel ist die Analyse der Funktion eines Proteins im Säugetiermodell der Maus. Unsere Arbeitsgruppe verfügt über Mäuse denen dieses Protein nur in Zellen der Blutgefäße fehlt und die im weiteren Text als Endothel-spezifische konditionelle Knock-Out-Mäuse (cKO) bezeichnet werden. Wir konnten zeigen, daß diese cKO-Mäuse keine auffälligen körperlichen Veränderungen, und eine normale Lebensspanne haben sowie kein auffallendes Verhalten aufweisen. Unsere bisherigen Untersuchungen an Endothelzellen (Zellen der Blutgefäße) denen dieses Protein fehlt, haben eine signifikant erhöhte Durchlässigkeit für einen Farbstoff im Vergleich zu Kontrollzellen gezeigt. Daher wollen wir diesen Befund im lebenden Organismus testen indem wir die Blutgefäßdurchlässigkeit der cKO Tiere mit denen der Kontrolltiere vergleichen. Dieser sogenannte Evansblau-Test ist eine in der Literatur gut etablierte Methode. Dabei wird den Tieren Evansblau Farbstoff in die Schwanzvene injiziert und nach einer Zeitspanne von 20 min die Versuchstiere gemäß einer von der Tierschutzkommission genehmigten Methode getötet. Diese Behandlung stellt einen geringen Belastungsgrad für die Versuchstiere dar.

Eine zu erwartende erhöhte Durchlässigkeit der Blutgefäße von cKO-Mäusen in diesem Krankheitsmodell wäre ein wichtiger Befund, um die Rolle dieses Proteins im vaskulären System aufzuklären. Das könnte entscheidend zur Aufklärung der molekularen Mechanismen möglicher erblich bedingter menschlicher Erkrankungen beitragen. Diese Erkenntnisse könnten in weiterer Folge Fortschritte bei der Behandlung von chronischen Erkrankungen der Blutgefäße des Menschen ermöglichen.

Für die in diesem Projekt geplanten Tierversuche ist die Verwendung von maximal 34 Mäusen vorgesehen, wobei die Anzahl nach Möglichkeit reduziert wird.

Für die in diesem Antrag behandelten Fragestellungen gibt es naturgemäß keine Ersatzexperimente die ohne die Verwendung von Mäusen durchgeführt werden könnten, da die hier untersuchten Blutgefäße zusammen mit umgebenden Muskelzellen ein komplexes Organ aus hochdifferenzierten Zellpopulationen bilden, welches nur in seiner dreidimensionalen Struktur unter physiologischen Bedingungen untersucht werden kann.

Die Anzahl der für die Versuche verwendeten Tiere ist gerade so hoch gewählt, dass eine wissenschaftlich gesicherte statistisch relevante Aussage möglich ist. Nach Erreichen der für die wissenschaftliche Aussagekraft ausreichende Anzahl an Experimenten werden gegebenenfalls an überschüssigen Tieren keine weiteren Experimente durchgeführt.

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

Die Alzheimersche Erkrankung ist eine schwere neurodegenerative Erkrankung des Gehirns, einhergehend mit massivem Verlust der Wahrnehmung, der Erinnerung und des Gedächtnisses. Der größte Risikofaktor ist das Alter (>60 Jahre) und mehr als 95% aller Alzheimererkrankungen sind erworben (sporadisch), sodass die Zahl der Patienten in den nächsten 50 Jahren dramatisch zunehmen wird. Pathologisch ist diese Krankheit charakterisiert durch Beta-Amyloid Ablagerungen im Gehirn (Plaques) neuronale Einschlüssen von Tau, Entzündungen, cerebrovaskulären Schäden und Nervenzelltod. Die Therapie ist derzeit limitiert auf wenige Medikamente. Daher geht man in der Forschung Wege, um körpereigene Blutzellen in das Gehirn einzubringen, die entweder diese Plaques abbauen oder schützende Wirkstoffe in das Gehirn einbringen sollen. In der Zellkultur wurden diese Blutzellen zwar extensiv charakterisiert (Vermeidung, Verminderung, Verfeinerung), jedoch sind, um das therapeutische Ziel zu verfolgen, Tierversuche unumgänglich.

In diesem folgenden Projekt sollen Mäuse verwendet werden, die im Alter von 6-12 Monaten diese Plaques im Gehirn aber auch in den Gefäßen bekommen. Unsere Hypothese ist, dass Blutzellen (speziell Monozyten aber auch Blutplättchen) in der Lage sind, in das Gehirn einzuwandern und diese Plaques aufzufressen, bzw. geschädigte Blutgefäße zu reparieren. Wir wollen in diesem Projekt Monozyten und Blutplättchen aus jungen Mäusen isolieren, und sie dann in adulte Mäuse intravenös wieder applizieren. Dies soll alle 2 Wochen erfolgen. Durch Testung des Gedächtnisses im Labyrinth und Messung von neurobiologischen Parametern wollen wir Erkenntnisse bekommen, ob diese Blutzellen in das Gehirn wandern und dort positive Effekte ausüben. Diese Zellen sollen auch ex vivo mit schützende Molekülen beladen werden, die den therapeutischen Effekt potenzieren. Um das Ziel zu erreichen werden wir inklusive aller Kontrollen 80 Mäuse verwenden. Als Spendermäuse werden 360 Kontrollmäuse verwendet, bei denen jedoch nur Blut gewonnen wird.

Das Ziel dieses Projektes ist es, Erkenntnisse zu gewinnen, ob Blutzellen in das Gehirn von Alzheimermäusen einwandern, dort Plaques auffressen, bzw. schützenden Substanzen in das Gehirn bringen oder geschädigte Gefäße reparieren. Dies soll eine Basis für weitere und bessere therapeutische Applikationen am Menschen sein.

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

Die Therapie des grünen Stars bestand lange Zeit ausschließlich in der Verabreichung von Augentropfen, die den Augeninnendruck senken. In den letzten Jahren konnte wissenschaftlich festgestellt werden, daß manche Augentropfen nicht nur den Augeninnendruck senken, sondern auch eine schützende Wirkung auf gewisse Zellen in der Netzhaut haben. Der Effekt wurde auf Marker von Amakrinzellen ermittelt und nicht auf Ganglienzellen, deren Untergang das Hauptmerkmal beim grünen Star ist. Die Tropfen, die eine schützende Wirkung haben, sind Betaxolol, Timolol, Metipranolol und Flunarizin. Im beabsichtigten Versuchsvorhaben wird jetzt der Einfluß dieser Tropfen auf Ganglienzellmarker und nicht Amakrinzellen in einem Tiermodell ermittelt, nämlich nach Injektion von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) in den Glaskörper. Von dieser Substanz ist bekannt, daß sie eine schädigende Wirkung auf Ganglienzellen hat und durch täglich zweimalige Applikation der Tropfen soll ermittelt werden, ob es durch die Tropftherapie zu einer Abschwächung des Zellschadens kommt, was von immenser Bedeutung für die Therapie des grünen Stars wäre. Aus diesem Grund muß der Tierversuch durchgeführt werden, es gibt keine alternativen Möglichkeiten, um den Effekt der Tropfen zu ermitteln. Es werden insgesamt 112 Sprague-Dawley Ratten verwendet (+ 3 Reserve), denen in ein Auge ein kleines Volumen an NMDA in den Glaskörper injiziert wird. Bei beiden Augen erfolgt eine Tropftherapie, und zwar bei 16 Ratten mit Betaxolol, bei weiteren 16 Ratten mit Timolol bzw. Metipranolol, Flunarizin und Epigallocatechin. Epigallocatechin deshalb, weil es potentiell ein neues Medikament in der Behandlung des grünen Stars darstellt. Die Tiere werden durch Inhalation von Kohlendioxid schonend getötet, die Augen entnommen, die Netzhäute präpariert und pro Tropfgruppe werden die Netzhäute von 8 Ratten zum Nachweis von Veränderungen von spezifischen Ganglienzellmarkern in der Expression und die anderen 8 Ratten zum Nachweis von Ganglienzellmarkern auf dem Proteinniveau verwendet.

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

Seit den 90er Jahren ist bekannt, dass Neurogenese im Mensch nicht nur im embryonalen Gehirn, sondern auch im adulten Gehirn möglich ist. In diesem findet sie überwiegend in zwei Regionen statt: im Hippocampus und der Subventrikulären Zone. Durch verschiedene intrinsische und extrinsische Faktoren kann die Neurogenese sowohl negativ als auch positiv beeinflusst werden. So haben Alter, Stress und neurodegenerative Erkrankungen einen negativen Effekt auf die Neurogenese, kognitives Training und Sport hingegen fördern die Neurogenese. Durch die heutzutage starke Zunahme der Lebenserwartung nimmt auch die Anzahl an neurodegenerativen Erkrankungen, wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson drastisch zu. Leider gibt es bis heute wenige Therapieansätze, die ein schnelles Fortschreiten dieser Krankheiten verhindern. Ziel dieses Projekts ist es die Wirkung eines Prenylflavonoids auf die Neurogenese zu untersuchen, und damit einen eventuellen Therapieansatz in Bezug auf die vorher genannten Erkrankungen zu finden. In vielen vorhergehenden *in vitro*-Studien konnte bereits gezeigt werden, dass dieser Stoff die Fähigkeit besitzt, die neuronale Differenzierung zu fördern und Neuronen vor Zellschädigung zu schützen. Durch Verabreichung des Wirkstoffs über mehrere Wochen und Untersuchung des Lernverhaltens und Erkundungsverhalten der Tiere können Rückschlüsse auf die Wirkung des Stoffes geschlossen werden. In der anschließenden histologischen Untersuchung soll die Wirkung auf der Neurogenese untersucht werden. Um die Wirkung sowohl auf das alte als auch auf das junge Gehirn zu untersuchen, werden verschiedene Altersgruppen verwendet. Es wird kein Schaden erwartet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für den Versuch 110 Mäuse beantragt, wobei sowohl alte Mäuse als auch junge Mäuse verwendet werden und die Gruppengröße für die verschiedenen Konditionen 15 Mäuse beträgt. Eine kleinere Anzahl ist wegen der Verhaltens und Lernversuche nicht möglich, da durch die individuellen Fähigkeiten der Tiere sonst keine Signifikanz erreicht werden kann. Für den zweiten Versuchsteil werden 20 Mäuse beantragt, wobei die Gruppengröße für die jeweilige Versuchsgruppe 5 Mäuse beträgt. Die kleine Anzahl an Tieren ist deshalb möglich, da durch das Verfahren des mehrfachen *in vivo*-Imagings die Neurogenese Rate über Wochen in einer Maus beobachtet werden kann, ohne das histologische Untersuchungen nötig sind.

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

Ausführliche *in vitro*-Studien wurden durchgeführt um die Wirkungen des Prenylflavonoids zu untersuchen. Um jedoch den Einfluss auf Lernen und Verhalten untersuchen zu können ist es unumgänglich *in vivo*-Studien durchzuführen. Durch gründliche Versuchsplanung ist ein Leiden der Tiere von Schmerzen, die über einen Nadelstich hinausgehen ausgeschlossen und dadurch auch der Stress, der auf die Tiere wirkt, gering. Durch eine gründliche Literatursuche konnte auch ausgeschlossen werden, dass jemand anderes eine Studie mit diesem Wirkstoff in Bezug auf die Neurogenese publiziert hat.

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

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

Die zunehmende Ausbreitung Antibiotika-resistenter Bakterien erfordert dringend die Evaluierung neuer Behandlungsstrategien in Form neuer Kombinationstherapien.

Ziel der vorliegenden Studie ist die Evaluierung der antibakteriellen Effektivität von verschiedenen antimikrobiellen Kombinationstherapien in einem Infektionsmodell an Mäusen.

2. Art und Anzahl der Tiere

620 Mäuse

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

Im Sinne der 3R-Prinzipien wurden bereits weitreichende in vitro Experimente (Checkerboard-Assays) durchgeführt. Die daraus gewonnen Erkenntnisse fließen in die geplante Studie ein, um so die mittels Fallzahlberechnung erhobene Tierzahl so gering als möglich zu halten.

Um die Belastung der Versuchstiere zu minimieren, werden die Versuchstiere über die Dauer des Versuches engmaschig monitiert. Da die Zusammenhänge zwischen Infektionserregern und Immunsystem in Ihrer Komplexität in vitro nicht ausreichend untersucht werden können, sind Studien am Tier unumgänglich.

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

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

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

2. Art und Anzahl der Tiere

Es ist die Verwendung von immundefizienten NSG (Nod Scid Gamma) Mäusen notwendig. Sie gelten als das beste Xenotransplantationsmodell, da transplantierte Zellen mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit anwachsen. Dadurch kann Zahl der Versuchstiere auf die Mindestzahl beschränkt werden. 364 Tiere.

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

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

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

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

Polyklonale Antikörper sind wertvolle diagnostische Hilfsmittel für immunhistochemische Untersuchungen, um z.B. die Verteilung von Rezeptoren in Neuronentypen und Hirnarealen untersuchen zu können. Die Belastung der Tiere ist gering und entspricht etwa der von Impfungen und Blutspenden beim Menschen.

2. Art und Anzahl der Tiere

50 Kaninchen

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

Die Alternative monoklonaler Antikörper setzt auch Immunisierung von Tieren voraus, auch wenn die Antikörpergewinnung in vitro erfolgen kann. Für bestimmte Fragestellung haben jedoch polyklonale Antikörper Vorteile gegenüber monoklonalen Antikörpern, sodass die Wahl der Methode im Einzelfall zu entscheiden ist.

Die Zahl der verwendeten Tiere kann durch deren lange Nutzungsdauer beschränkt werden. Standardisierte Protokolle und große methodische Erfahrung minimieren die Belastung der Tiere.

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

Abwägung von Schaden und Nutzen

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

Anzahl der Tiere

30 Ratten (*Rattus norvegicus*)

Vermeidung, Verminderung, Verbesserung

- a) Es gibt kein in vitro-System um diese Tierversuche zu ersetzen.
- b) Es erfolgt ein stufenweises Vorgehen bei der Durchführung der Versuche. Weiters werden nur so viele Tiere verwendet, wie für das Erreichen der statistischen Signifikanz notwendig ist. Es werden so wenig Tiere wie möglich aber so viele Tiere wie nötig im Versuch eingesetzt.
- c) Die Tiere werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Tierpflegerinnen sorgfältig betreut. Jede Behandlung der Tiere wird von erfahrenen Personen durchgeführt, bei jedem operativen Eingriff werden die Tiere narkotisiert sowie postoperativ einer suffizienten Analgesie zugeführt und verspüren dadurch keine Schmerzen oder Leiden.

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

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

Zweck der beantragten Versuche ist es, den neurobiochemischen Hintergrund für die zum Teil schweren Nebenwirkungen der Hormonersatztherapie während der Menopause zu untersuchen. Diese Nebenwirkungen sind vor allem im emotionalen Bereich angesiedelt. Die Tiere werden bei diesen Tests in einfachen schmerzfreien Tests untersucht, bei denen das Verhalten der Tiere in einer neuen Umgebung beobachtet wird. Durch diese Untersuchungen hoffen wir die Häufigkeit und Schwere der Nebenwirkungen bei Hormontherapien zu reduzieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 224 Mäuse in Verhaltenstests untersucht. 110 Mäuse werden mit Agonisten für Östrogenrezeptoren vor den Tests behandelt.

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

Durch den Einsatz statistischer Power-Analyse wurde die Anzahl der Versuchstiere minimiert. Für die Verhaltenstestung wurde Tests mit geringerer Stressbelastung ausgewählt.

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

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

Das Projekt zur Erforschung der Rolle von Thrombocyten und Phosphatidylinositol-3 Kinase (PI3K) in entzündlichen Erkrankungen mit Hilfe von Mausmodellen dient in erster Linie dazu, mehr über die Interaktion von Zellen, die an der Immunabwehr beteiligt sind, zu lernen. Dies kann Implikationen auf Therapieansätze haben, die im speziellen die Thrombocyten betreffen.

Auf der anderen und vielleicht wichtigeren Seite werden spezifisch Effekte von PI3K Defizienz und pharmakologische Blockierung dieses wichtigen Signalweges, der in der Tumorentstehung eine wichtige Rolle spielt, untersucht. Es soll geklärt werden, ob diese Antitumorbehandlung negative Auswirkungen auf die thrombocyten-spezifische Immunantwort im Patienten haben könnte.

2. Art und Anzahl der Tiere –

1083 C57BL/6 Mäuse

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

Im Rahme des Projektes werden vermehrt in vitro Ansätze verwendet, die dann auch ergänzend zu den in vivo Experimenten eingesetzt werden können.

Die benötigte Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird.

Des weiteren wird eine Verminderung der Anzahl durch eine Standardisierung gewährleistet.

Analgetische Behandlung der Tiere erfolgt, um die Belastung der Tiere herabzusetzen.

Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem "enriched environment".

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

Zweck des Tierversuchs (gem. § 5 TVG 2012): Herstellung und Qualitätskontrolle von Produkten und Geräten der Human- und Zahnmedizin (2.4 3)

Angaben über Projektziele, einschließlich zu erwartender Schaden und Nutzen

Projektziel ist es einen Impfstoff zur Vorbeugung von Clostridium difficile Durchfallerkrankungen zu entwickeln. Clostridium difficile („C. difficile“) ist ein grampositiver anaerober Stäbchenbakterium und ein Hauptverursacher von nosokomialen Antibiotika induzierten Durchfallerkrankungen (C. difficile-associated diarrhea, „CDAD“). Zur höchsten Risikogruppe zählen vor allem ältere Personen, die unter antibiotischer Behandlung stehen. C. difficile-Infektionen können Symptome von milden Durchfall bis lebensbedrohlichen pseudomembranösen Colitis (Dickdarmentzündung) verursachen.

Der Schaden der Tiere liegt erheblich unter den Nutzen der zu erwartenden Testergebnisse. Die Immunogenitätsstudien und Wirksamkeitsstudien des Impfstoffkandidaten werden in einem gut etablierten Hamstermodell durchgeführt. Bei allen geplanten Experimenten ist die Belastung der Versuchstiere als mittel einzustufen

Art und Anzahl der Tiere:

Maximal 1800 weibliche Syrischer Goldhamster

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

Die CDAD des Menschen wird in einem gut etablierten und international akzeptierten Hamstermodell unter berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung erreicht. Für die Erhaltung von aussagekräftigen Resultaten ist die Versuchstierzahl basieren auf langjährige Erfahrung und einer Statistischer Auswertbarkeit und Vergleichbarkeit so gering wie möglich kalkuliert.

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

Medikamente, welche das Enzym mTOR blockieren, werden immer öfter in der Therapie gegen spezielle Krebsarten eingesetzt. Künftig werden diese Medikamente noch weiter verbreitet werden, da sie auch bei Brustkrebs eingesetzt werden. Eine Nebenwirkung dieser Medikamente stellt eine bestimmte lebensgefährliche Form der Lungenentzündung dar, wobei die Ursache dieser nicht geklärt ist. Das Projekt zielt darauf ab, die Ursachen dieser Lungenentzündung herauszufinden. Dafür wird bei Mäusen eine Lungenentzündung ausgelöst, gleichzeitig werden zwei verschiedene mTOR-Inhibitoren verabreicht. In einer ersten Runde der Experimente werden Ergebnisse gewonnen um den optimalen Versuchsaufbau für die zweite Runde zu ermitteln, wo Überleben die Zielgröße ist (Verfeinerung und Verminderung). Diese Versuche sind für die Mäuse sehr belastend, man erhofft sich aber dabei einen Weg zu finden, um die lebensgefährlichen Nebenwirkungen besser behandeln bzw. überhaupt unterdrücken zu können (Nutzen des Projekts). Diese Fragestellung kann nur mit Versuchen am lebenden Tier bearbeitet werden (Vermeidung nicht möglich).

Als Versuchstiere werden weibliche und männliche Inzuchtmäuse im Alter zwischen 8 und 10 Wochen verwendet. Für die Durchführung aller Experimente sind maximal 549 Tiere eingeplant.

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

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

Es ist geplant, mittels spezifischer Antikörper die Funktion sowie die klinisch-diagnostische Bedeutung von neuen Kandidatenproteinen in therapieresistenten Patienten mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen zu evaluieren. Ziel des Tierversuches ist die Gewinnung von Milz-Zellpräparationen immunisierter Mäuse zur Herstellung monoklonaler Antikörper gegen zwei von uns identifizierte Tumor-Kandidatenproteine. Gegen diese Antigene gibt es kommerziell nur Antiseren mit ungenügender Spezifikation, d.h. niedriger Affinität bzw. schlechter Spezifität für das native Protein. Um die Expression der Kandidatenproteine in Patientenproben untersuchen zu können, sollen daher entsprechende hochqualitative monoklonale Antikörper gegen diese hergestellt und anschließend für die Diagnostik getestet werden. Als Antigene zur Immunisierung der Versuchstiere werden rekombinant hergestellte und über Immunaффinitätschromatographie gereinigte Proteine (sezerniert, glykosyliert, native 3D Faltung) herangezogen. Je 3 Mäuse werden über den Zeitraum von 6 -8 Wochen dreimal subkutan immunisiert (insgesamt 6 Mäuse). Für die beabsichtigte Herstellung von monoklonalen Antikörpern werden anschließend die Mäuse getötet und Milz-Zellpräparate von immunisierten Mäusen gewonnen.

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

Projektziel ist ein Vergleich verschiedener Möglichkeiten der Brunsterkennung beim Rind. Eine gute Brunsterkennung spielt in der Landwirtschaft eine wichtige Rolle für die Fruchtbarkeit eines Bestandes und damit für den wirtschaftlichen Erfolg eines Betriebes. Es werden etwa 100 Brunstereignisse in dieser Studie einbezogen werden (das entspricht in etwa 50 Kühe die während ihres physiologischen Zyklus vor einer Trächtigkeit beobachtet werden). Die verschiedenen Arten der Brunsterkennung werden im üblichen Betriebsablauf integriert werden und stellen somit für das Wohl der Tiere keine zusätzliche Belastung dar. Die Kontrolle der Richtigkeit eines erkannten Brunstereignisses wird mittels einer Blutprobe kontrolliert. Diese wird unter Anleitung eines erfahrenen Tierarztes durchgeführt sodass dieser die getätigte Maßnahme zum Wohl der Tiere sofort unterbrechen oder abbrechen kann. Alle Maßnahmen werden nach derzeitigem Wissensstand als „good clinical practice“ durchgeführt sodass den Tieren unnötige Schmerzen und Leiden erspart bleiben. Es sind darüber hinaus keinerlei Schäden zu erwarten.

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

Die steigende Inzidenz entzündlicher Erkrankungen ist eine ernst zu nehmende Herausforderung für das Gesundheitswesen weltweit. Die Leitsymptome der Entzündung wie Schmerz, Rötung und Schwellung lassen keinen Zweifel daran, dass eine Aktivierung des Nervensystems eine wichtige Komponente bei der Entstehung entzündlicher Erkrankungen darstellt. Dabei gewinnt die Mediatorenwirkung der kleinen Eiweißhormone (Neuropeptide), die nach diversen Stimuli bei der Entzündungskaskade freigesetzt werden, immer mehr an Bedeutung. Anhand der dualen Funktionen von Neuropeptiden im Nerven- und Immunsystem, besitzen diese großes therapeutisches Potential. Für die Neuropeptide Galanin, Galanin-like peptide (GALP) und Alarin konnten wir bereits zeigen, dass diese eine starke entzündungshemmende Wirkung in der Haut aufweisen und erste experimentelle Hinweise deuten auf multiple, regulatorische Funktionen im Immunsystem hin. Infolge der bisherigen Erkenntnisse erstellen wir die Hypothese, dass Galanin ein wichtiger Mediator der Entzündungsentstehung ist und dass sich diese Funktion nicht nur auf die Haut beschränkt. Das Ziel dieses Versuchsvorhaben ist neue, spezifische Funktionen und Angriffspunkte von Galanin auf den Verlauf von allergischen und lokalen Entzündungsreaktion in der Haut und den Atemwegen zu bestimmen und das therapeutische Potential zu evaluieren. Dabei werden ausschließlich gut beschriebene Tiermodelle der Entzündungs- und Allergie-Induktion angewandt. Die resultierenden Erkenntnisse würden in weiterer Folge die Weiterentwicklung von stabilen Agonisten als mögliche Therapeutika vorantreiben. Die vorraussichtliche Belastung der Versuchstiere während der gesamten Versuche durch Manipulationen, die mit Schmerzen und Leiden einhergehen oder Schäden hervorrufen, sind als sehr gering einzuschätzen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*Mus musculus*), 591 Tiere

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

Soweit als möglich wird im Zuge der vorliegenden Fragestellung auf *in vitro* Versuche an Zelllinien und isolierten Primärzellen zurückgegriffen. Aus diesen *in vitro* Versuchen haben wir bereits Hinweise sammeln können, die auf ein Zusammenspiel diverser Zelltypen und diverser endogener Stoffe während der neurogenen Entzündung hindeuten. Um hier genauere Effekte studieren zu können muss auf ein *in vivo* Modell herangezogen werden. Um eine ausreichende statistische Analyse im Anschluss an die Experimente durchführen zu können, darf eine gewisse Anzahl an Versuchstieren nicht unterschritten werden. Nur dann kann aus den Versuchsergebnissen eine Aussage über die gestellte Fragestellung getroffen werden. Aus diesem Grund planen wir 11-15 Tiere pro Versuchsgruppe. Um die Belastung für die Tiere während der Experimente zu minimieren werden sie zu angemessenen Zeitpunkten narkotisiert (siehe Abschnitt g). Die Belastung weiterer vorgenommener Manipulationen, die ohne Narkose durchgeführt werden (Injektionen intraperitoneal und intravenös), ist als sehr gering einzuschätzen, da diese kurzzeitig nur geringfügige Schmerzen verursachen.

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

Nach der Transplantation von Händen müssen Patienten für den Rest ihres Lebens Medikamente einnehmen, welche ihr eigenes Immunsystem hemmen. Dies ist notwendig, damit der Körper das fremde Gewebe nicht abstößt. Die Einnahme von diesen Medikamenten ist allerdings mit einer Reihe von zum Teil schwerwiegenden Nebenwirkungen verbunden.

Mit diesem Forschungsprojekt sollen Strategien zur Immunosuppression nach Transplantation, welche weniger Nebenwirkungen aufweisen als die zurzeit verwendeten, getestet werden.

Zurzeit existiert international kein geeignetes in vitro Verfahren, zur Erforschung des Einfluss der Immunosuppression auf das Transplantat-Überleben. Des Weiteren existiert auch kein anerkanntes in vitro Verfahren zur Erforschung von Nebenwirkungen einer immunsuppressiven Therapie. Es werden unterschiedliche Therapien nach der Transplantation von Hinterläufen von zwei unterschiedlichen Mausstämmen getestet. Die Anzahl der Mäuse als Spender und Empfänger wird insgesamt 174 betragen.

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

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

Blutentnahme an 30 neonatalen Schafen. Ziel des Projektes ist die Gewinnung von Stammzellen aus dem Blut von neonatalen Schafen. Diese sollen auf ihre Eignung zum Einsatz in der Sehnen­therapie getestet werden (Projektnutzen). Ein Schaden für die betreffenden Tiere ist nicht zu erwarten. Ursprünglich sollte anstelle von neonatalem peripherem Blut Nabelschnurblut verwendet werden. Die Gewinnung von Nabelschnurblut stellte sich aber unter den Bedingungen einer Spontangeburt im Schafstall als unmöglich heraus. In der Literatur wird zur Gewinnung von Schaf-Nabelschnurblut eine Kaiserschnittgeburt empfohlen. Da dies aber sehr invasiv und mit hohen Belastungen für die Muttertiere verbunden ist, wird im Sinne der 3R durch die Blutabnahme an den neugeborenen Lämmern der weniger invasive Weg angestrebt. Das periphere Blut von Neugeborenen entspricht dem Nabelschnurblut.

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

Untersuchungen zur Bedeutung von Lamas und Alpakas hinsichtlich potentieller Übertragung von seuchenhygienisch bedeutenden Viren, Bakterien und Parasiten auf landwirtschaftliche Nutztiere.

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

Obwohl die Neuweltkameliden biologisch nicht den Wiederkäuern (Ruminantia) sondern den Schwielensohlern (Tylopoden) zugehörig sind, sind diese Tiere empfänglich für eine Anzahl an viralen, bakteriellen und parasitären Erreger der Wiederkäuer, und kommen somit als (Überträger und Reservoir in Betracht.

Die generelle Zielstellung der geplanten Untersuchung ist es, einen Überblick über die gegenwärtige Situation hinsichtlich seuchenhygienisch bedeutender viraler und bakterieller Erreger sowie über die auch für landwirtschaftlich genutzte Wiederkäuer (Rinder, Schafe, Ziege) bedeutende Endoparasiten in der österreichischen Neuweltkamelidenpopulation zu erhalten. Untersucht werden (Blutuntersuchung) soll auf das Vorkommen von Schmallenberg Virus (SBV), Bovines Herpesvirus (BHV-1), Bovines Virusdiarrhoe Virus (BVDV), Border Disease Virus (BDV), Blue Tongue Virus (BTV), *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* sowie *Candidatus mycoplasma haemolamae*. Eine Kotprobe soll auf *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* sowie Nematoden, Trematoden, Zestoden und Protozoen untersucht werden.

Damit soll ein mögliches Gefährdungspotential erkannt werden und Empfehlungen hinsichtlich Prävention und Prophylaxe von Infektionserkrankungen abgeleitet werden können. Hinsichtlich Endoparasiten sollen Bekämpfungsprogramme erstellt werden.

Schaden

Es sind keine Schäden zu erwarten; die Tiere tolerieren die Blutentnahme und die digitale Entnahme von Kot problemlos.

Nutzen

Feststellung eines möglichen Gefährdungspotentials hinsichtlich Übertragung viraler, bakterieller Infektionserkrankungen sowie Erstellung von Empfehlungen für Prävention und Prophylaxe von Infektionserkrankungen bzw. Überwachungsstrategien und Erstellung von Parasitenbekämpfungsprogrammen — dadurch Verhinderung und Reduzierung des Gefährdungspotentials hinsichtlich Ansteckungsgefahr anderer Tierarten und Schutz der Neuweltkamelidenpopulation.

2. Art und Anzahl der Tiere

400 Tiere Lamas und Alpakas beider Geschlechts (entspricht ca 10% der Population); um eine regionale Aussage treffen zu können, wird eine über die österreichischen Bundesländer gleichmäßig verteilte, flächendeckende Beprobung der Tiere angestrebt.

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

Die erforderlichen Untersuchungen von klinisch angewandten Studien müssen an der Zieltierart erfolgen, ein Ersatz steht nicht zur Verfügung. Durch die Wahl der Stichprobengröße (10 % der geschätzten Gesamtpopulation) ist eine minimal sinnvolle Stichprobengröße gewählt worden, um auch statistisch relevante Zahlen hinsichtlich Prävalenz zu erhalten. Die Manipulation im Rahmen der Blutentnahme ist als gering einzuschätzen. Die klinische Untersuchung des Tieres sowie die digitale Kotprobenentnahme stellen keinerlei Gefahr für das Tier dar.

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

Mit der Nahrung aufgenommene Fettsäuren beeinflussen nachweislich verschiedene physiologische und neurobiologische Aspekte, was sich letztendlich im Verhalten und der Regulation physiologischer Mechanismen widerspiegelt. In diesem Tierversuch sollen die Auswirkungen mit der Nahrung aufgenommener gesättigter und ungesättigter Fettsäuren auf physiologische Prozesse, Verhalten und Entwicklung von soziallebenden Hausmeerschweinchen (*Cavia aperea* f. *porcellus*) untersucht werden. Die potenziellen Einflüsse der erwähnten Nährstoffe auf das komplexe Sozialsystem dieser Tiere werden durch Verhaltensbeobachtungen dokumentiert. Zusätzlich wird die Expression verschiedener hormoneller Marker, zum Beispiel Kortisol als Indikator für Stress oder verschiedene Sexualhormone, analysiert. Da der Fettsäuren- und Lipidmetabolismus von Meerschweinchen erhebliche Ähnlichkeiten zu jenem des Menschen aufweist, können die Erkenntnisse dieser Studie als Basis für zukünftig Fragestellungen bei Menschen dienen.

Insgesamt kommen in diesem Tierversuch 300 Tiere in fünf aufeinanderfolgenden Generationen zum Einsatz. Das Versuchsdesign umfasst grundsätzlich die ersten 6-9 Monate im Leben der Tiere. Pro Generation werden jeweils 30 Männchen und 30 Weibchen gleichermaßen auf drei Behandlungsgruppen (ungesättigte Fettsäuren, gesättigte Fettsäuren, Kontrollgruppe) aufgeteilt, was bereits das Minimum für eine angemessene statistische Auswertung darstellt. Invasive Methoden, in diesem Fall die Entnahme von Blutproben mittels Punktieren marginaler Venen der Ohren, werden nur durchgeführt wenn es keine etablierte nicht-invasive Alternative, wie etwa im Fall der Messung bestimmter Sexualhormone oder der Bestimmung der Fettsäuren im Blutplasma, gibt. Auch die Anzahl der geplanten Entnahmen von Blutproben wird in Hinsicht auf das Wohlergehen der Tiere in der Planung dieses Tierversuchs berücksichtigt und auf ein Minimum reduziert. Die Entnahme von Speichelproben, zur Messung des Stresshormons Kortisol, stellt zum Beispiel eine nicht- bis wenig-invasive Methode dar. Beide Methoden, die in diesem Tierversuch geplanten Probenentnahmen, sind seit langem etabliert und stellen für die Tiere keine wesentliche Beeinträchtigung dar. Bei der Entnahme von Blutproben über die Ohrenvenen werden die Ohren im Vorhinein und Nachhinein mit Eis gekühlt, was auch zu einem schnellen Stopp der Blutung führt.

Alle Tiere sind in eigens für die Haltung von Nagetieren eingerichteten Räumen, samt Belüftungs- und Klimaanlage, untergebracht. Während des gesamten Tierversuchs werden die Tiere in eigens dafür eingerichteten Bereichen, errichtet aus leicht zu reinigenden laminierten Spannplatten, auf einem mit Einstreu bedeckten säurebeständigen Kunststoffboden, in Gruppen zu jeweils 10 Tieren gehalten. Fütterungen finden zweimal täglich statt, Wasser steht ad libitum in mehreren Trinkflaschen zur Verfügung. Alle 10 Tage wird die komplette Einstreu gewechselt, der Boden, die Wände und sämtliche den Tieren zur Verfügung stehende Einrichtungen gereinigt und desinfiziert. Wenn darüber hinaus Reinigungsarbeiten anfallen, werden diese, wann immer notwendig, durchgeführt. Einmal monatlich führen Tierpfleger Krallen- und Zahnstatuschecks durch. Alle 2 Monate werden veterinärmedizinische Kontrollen durchgeführt. Da die Tiere unter täglicher Beobachtung stehen, können auch eventuelle Leiden schnell diagnostiziert und von dem zuständigen Tierarzt behandelt werden.

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

Development of a method for artificial insemination of mice

Projektziele, zu erwartender Schaden und Nutzen

Im Rahmen des Projektes soll eine möglichst praxistaugliche, effiziente und tierschonende Methode zur nichtchirurgischen, künstlichen Besamung bei der Labormaus (*Mus musculus*) etabliert werden. Die künstliche Besamung stellt eine wichtige Alternative zu in-vitro Fertilisation (IVF) und Embryotransfer dar. Diese beiden Techniken werden zur Revitalisierung archivierter Mausstämme und zur Sanierung kontaminierter Tiere sehr häufig eingesetzt. Durch Verwendung der nichtchirurgischen, künstlichen Besamung könnte die Anzahl der geopferten Tiere im Vergleich zur IVF verringert, sowie die Anwendung operativer Eingriffe verhindert werden.

Versuchstiere

insgesamt 50 Mäuse

- 30 zu besamende CD1 Weibchen
- 10 B6D2F1 Männchen zur Samengewinnung
- 10 vasktomierte CD1 Männchen (wurden im Rahmen eines anderen Projektes hergestellt)

Versuchsplan

Zur Detektierung der Mäuse im Proöstrus und Östrus wird eine vaginalzytologische Untersuchung durchgeführt. Samen wird frisch aus Nebenhodenschwänzen von Böcken gewonnen, die mittels cervikaler Dislokation getötet wurden. Die Mäuse werden intrauterin besamt und benötigen dank eines gewebeschonenden Instrumentes weder Anästhesie noch Analgesie. Anschließend werden die besamten Weibchen mit vasktomierten Böcken zur Induktion lutealer Aktivität verpaart. Die Trächtigkeitsdiagnostik erfolgt durch die Ermittlung der Zunahme des Körpergewichtes, wobei nicht trüchtige Mäuse erneut besamt werden.

Es wurden keine Abbruchkriterien festgelegt, da davon ausgegangen wird, dass die Belastung gering ist und es im Rahmen des Versuches zu keiner Schädigung der Tiere kommen wird.

Statistisch untersucht werden Besamungsindex (Anzahl der benötigten Besamungen pro Tier und Trächtigkeit), Trächtigkeitsrate (Prozentsatz der trüchtigen Tiere an allen besamten Tieren) und Wurfgröße (Anzahl der Neonaten pro Wurf), in Abhängigkeit der Spermienkonzentration, sowie die Deckrate (Prozentsatz der gedeckten Mäuse pro Verpaarung).

Anwendung der „3R“

Mittels nichtchirurgischer, künstlicher Besamung können im Gegensatz zur chirurgischen Besamung oder zum Embryotransfer die Anästhesie, der operative Eingriff und die damit verbundenen Belastungen vermieden werden.

Durch Optimierung der Samenausbeute im Zuge einer verbesserten Verarbeitungsmethode der Nebenhodenschwänze kann die Anzahl der geopferten Mausböcke verringert werden.

Die Verwendung eines gewebeschonenden Instrumentes, anstatt einer stumpfen Kanüle, die wesentlich scharfkantiger ist und ein größeres Verletzungsrisiko darstellt, ist ein Refinement der bisher praktizierten, nichtchirurgischen, künstlichen Besamung. Im vorliegenden Fall kommt es zu keiner doppelten Durchführung eines Tierversuches, da in der bisherigen Fachliteratur die künstliche Besamung ausschließlich mit anderen Instrumenten beschrieben wurde.

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

In dieser Studie sollen anhand von natürlich alternden Mäusen verschiedene, der menschlichen Ernährung nachempfundene Diäten auf ihre Auswirkungen auf Langlebigkeit bzw. Lebensspanne, sowie unterschiedliche physiologische Parameter wie Insulinresistenz (typischer Marker für Diabetes), Fettleibigkeit und chronische Entzündungsmarker beim Altern getestet werden. Dafür wird der Anteil verschiedener Nahrungsbestandteile (zum Beispiel bestimmte Kohlehydrate) im Futter der Tiere verändert und die Auswirkungen dieser Ernährung überwacht. Einerseits sollen Diäten getestet werden, bei denen Diabetes-ähnliche Symptome sowie eine möglicherweise verkürzte Lebensdauer erwartet werden. Es wird erwartet, dass diese Ernährungsweisen den Tieren nur in sehr begrenztem Maße (z.B. leichte Beeinträchtigung der Beweglichkeit durch Fettleibigkeit) zusätzliches Leid verursacht und nicht wesentlich über das Maß von natürlichen Altersschwächen hinausgeht bzw. diese höchstens etwas beschleunigt. Andererseits werden gesundheitsfördernde Ernährungsweisen getestet, bei denen eine positive Wirkung auf den Allgemeinzustand wie auch die Lebensspanne erwartet wird. Diese potentiell gesundheitsfördernden Ernährungsweisen umfassen lediglich die Zugabe und damit eine Anreicherung von Substanzen, die bereits ein natürlicher Bestandteil von normalem Mausfutter sind. Diese Substanzen werden in Mengen zugesetzt, die im Prinzip durch Variation einer natürlichen und ausgewogenen Ernährung erreichbar wären. In einer Folgestudie sollen durch Kombination vorgenannter Ernährungsweisen die durch oben genannte Kohlenhydrat-reiche Ernährung auftretenden negativen Effekte vermindert werden und der allgemeine Gesundheitszustand verbessert werden. Da die verabreichten Diäten Ernährungsweisen unserer Gesellschaft nachempfunden sind, kann diese Studie wertvolle Einblicke in die Folgen von sogenannter „ungesunder“ Ernährung bieten und mögliche natürliche Alternativen zu medikamentöser Behandlung von Zivilisationskrankheiten wie Diabetes oder Fettleibigkeit aufzeigen.

Insgesamt wird die Studie maximal 483 Wildtyp-Mäuse umfassen, wobei die Anzahl der Tiere schon im Vorhinein streng limitiert wurde und ein Teil dieser Tiere als Kontrollen dienen, die keinem Tierversuch im eigentlichen Sinne unterzogen werden. Eine weitere Reduktion der Tierzahlen wird erreicht, in dem von den maximal veranschlagten Tierzahlen nur so viele Tiere tatsächlich für einen Versuch (z.B. Glukose- und Insulintoleranztest) verwendet werden, wie nötig sind, um statistisch signifikante Ergebnisse zu erreichen und damit wissenschaftlich fundierte Erkenntnisse zu gewinnen. Weiters werden nur wissenschaftlich erprobte Testverfahren, nach international anerkannten Protokollen, angewendet und die Dauer eines Testes durch Abbruch der Messungen bei Erreichen einer Aussage minimiert. Dabei wird selbstverständlich so gearbeitet, dass Stress und Schmerzen für die Tiere auf ein Minimum reduziert werden. So wird beispielsweise auch auf den Einsatz von transgenen Tieren, die von Geburt an Defizite in ihrem Fett- und Kohlehydratstoffwechsel aufweisen und daher unter physiologischen Beeinträchtigungen leiden, verzichtet. Darüber hinaus werden alle Versuche ausschließlich von sachkundigem und bestens geschultem Personal durchgeführt.

Die oben angesprochenen Diätformen wurden bereits in niederen Modell-Organismen (z.B. Würmern und Fliegen) soweit wie möglich getestet. Auf Grund vielversprechender Ergebnisse in diesen Modellen ist nun der Schritt zum höheren Tiermodell unabdingbar, um eine mögliche positive Wirkung auf den Menschen abzuschätzen. Da die gemessenen Parameter (Diabetesmarker, chronische Entzündungsmarker, etc.) sich aus dem Zusammenspiel verschiedener Organe eines alternden Organismus ergeben, gibt es für sogenannte multisystemische Studien, wie die hier vorgestellte, keine bekannten Alternativmodelle.