

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

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

Mausstämme weisen Unterschiede im genetischen Hintergrund auf, die unterschiedliche Sensitivität bezüglich z. B. der Entwicklung verschiedener Phänotypen bedingen. So gibt es Mausstämme, welche zur Dickleibigkeit neigen, andere wiederum bleiben auch bei Fütterung mit sehr fettreicher Diät schlank. Ähnliche Beobachtungen wurden auch bei Ausbildung von Fettleber (Steatose), bzw. entzündlicher Fettleber (Steatohepatitis) gemacht. Um den Einfluss verschiedener genetischer Faktoren aufzuklären, sind Mausstämme, bei denen gezielt Chromosomen eines Stamms in einen anderen hineingezüchtet werden (Chromosomensubstitutionsstämme, konsomische Mäuse), ein wertvoller Beitrag. Metabolische Lebererkrankungen wie Steatose und in weiterer Folge 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. Dabei spielen Ernährung, genetische und mikrobielle Faktoren in der Pathogenität dieser Erkrankungen eine wichtige Rolle. Daraus ergab sich die Hypothese, dass sich eine Steatose unabhängig von Umwelt- und Lebensstile entwickeln kann. Dies wurde in einer Vorstudie bestätigt, in der konsomischen Mäuse, die mit einer fettreichen Diät gefüttert wurden und gleichen Bedingungen ausgesetzt waren, unterschiedlichen Phänotypen der Steatose entwickelten. Da in den letzten Jahren auch der Einfluss der Darmflora (intestinales Mikrobiom) auf die Entstehung metabolischer Erkrankungen in den Fokus des Interesses gerückt ist, und man seit langem einen Zusammenhang des Mikrobioms mit der genetischen Ausstattung eines Organismus vermutet, lag es nahe, diese beiden Ansätze zu verbinden.

Wir wollen mit konsomischen Mäusen daher die genetischen Einflussfaktoren auf die Steatose, und insbesondere die Interaktion des Genoms mit dem Mikrobiom analysieren und deren Einfluss auf den Metabolismus verstehen. Dabei ist es wichtig herauszufinden, ob es einen Zusammenhang zwischen dem genetischen Makeup dieser konsomischen Mäuse und der Anfälligkeit bzw. Resistenz zu Steatose gibt. Durch Anwendung neuester Methoden (Analysen des Genoms, des Transkriptom, Mikrobioms, sowie des Metaboloms) werden bestimmte Chromosomen dieser konsomischen Mäuse analysiert, die sowohl einen ausgeprägten als auch einen geringen Steatose-Phänotyp zeigen. Da bereits bekannt ist, dass bestimmte Chromosomen für den Phänotyp der Steatose eine Rolle spielen, ist es auch von großem Interesse für uns herauszufinden, welche Gene bzw. deren Wechselwirkungen auf diesen Chromosomen dafür verantwortlich sind.

*zu erwartender Nutzen:* Dieses Mausmodell soll wichtige Hinweise zur Ursache der unterschiedlichen Prädisposition und eventuell zur Prävention und konservativen Behandlung humaner Steatose und in weiterer Folge Steatohepatitis geben. Insbesondere können damit auch wichtige Basisinformationen über das Wechselspiel genomischer Faktoren mit dem intestinalen Mikrobiom und deren Einfluss auf metabolische Erkrankungen gewonnen werden.

*zu erwartender Schaden:* Die Tiere erhalten stark fetthaltiges Futter zur freien Verfügung, was je nach genetischer Disposition zu Fettleibigkeit und Fettleber führen kann. Dadurch kommt es nach unserer Erfahrung nur zu geringen Einschränkungen in der Beweglichkeit aber keinen unmittelbaren Auswirkungen auf die Vitalität. Auch die Ausbildung der Fettleber ist nicht mit Schmerzen oder Beeinträchtigung der Vitalität verbunden.

Der Schweregrad der Experimente wird als gering eingestuft.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Im Experiment werden 120 Mäuse verwendet.

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

*Vermeidung:* Steatohepatitis ist eine metabolische Erkrankung, damit ist es erforderlich, dass die Versuche zur Untersuchung der Entstehung und des Verlaufs chronischer Leberschädigung im Kontext eines intakten Organismus stehen. Steatose und Steatohepatitis sind Erkrankungen die sich über einen langen Zeitraum praktisch symptomlos entwickeln. Da sich diese Erkrankungen in einem

intakten Organ, im Kontext eines Organismus entwickeln, sind Tiermodelle unerlässlich, da die langen Versuchszeiträume und der Organ/Organismus-Kontext mit kultivierten Zellen nicht darstellbar ist. Insbesondere ist die Interaktion des intestinalen Mikrobioms mit anderen Organen, sowie auch die Auswirkung genetischer Modifikationen auf Mikrobiom und Metabolom, in keiner anderen Form darstellbar. Damit ist in der Maus eine optimale Beantwortung der Fragestellung gewährleistet. Ersatzmethoden, z. B. mit Zellen in Kultur, sind aus den bereits oben angeführten Gründen nicht zielführend.

*Verminderung:* Bei der Planung der Experimente ist darauf Bedacht genommen worden, dass für statistische Signifikanz ausreichend große Gruppen vorgesehen werden, was aus unserer Erfahrung ab 10 Tieren gegeben ist. Auch wird Gewebe, welches nicht unmittelbar für Analysen verwendet wird in flüssigem Stickstoff für allfällige weitere Untersuchungen gelagert.

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

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

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

*zu erwartender Nutzen:* Das akute Lungenversagen (ALV), in seiner schwersten Form als "acute respiratory distress syndrome" (ARDS) bezeichnet, geht mit einer schweren Störung des pulmonalen Gasaustausches einher, wobei die Mortalität in diesem Patientenkollektiv bei 30-35% liegt. Neben der primären Lungenschädigung kann die maschinelle Beatmung zu einer zusätzlichen sekundären Schädigung (ventilator-induced lung injury = VILI) führen. Bekannte Mechanismen sind insbesondere Lungenüberblähung (Volutrauma), intrapulmonalen Druckveränderungen (Barotrauma) und zyklischem Rekrutieren von Atelektasen (Atelektotrauma). Derzeit werden jedoch auch nichtmechanisch bedingte Pathomechanismen diskutiert, die ein VILI aggravieren können. Aktuelle Studienergebnisse zeigen erste Evidenz, dass das Renin-Angiotensin-System (RAS) hierbei eine entscheidende Rolle spielt. Im folgenden Projektvorhaben sollen ausgewählte und aufeinander abgestimmte dynamische Messtechniken mit hoher regionaler und zeitlicher Auflösung zum Einsatz kommen, um die Zusammenhänge von RAS und VILI in-vivo zu untersuchen. Insbesondere soll hierbei das Augenmerk auf RAS-Spaltprodukte, Inflammation und Zellschädigung der Lunge gelegt werden. Aus den geplanten Versuchen erwarten wir erste Schlussfolgerungen ziehen zu können, ob das RAS bei der Entwicklung des VILI eine Rolle spielt.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Um jegliches Leid der Tiere zu vermeiden, wird der gesamte Versuch in Vollnarkose durchgeführt. Nach Versuchsende werden die Tiere in tiefer Vollnarkose eingeschläfert.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Wildtypmaus, 390

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

Das Mausmodell ist jahrelang international etabliert und erlaubt eine standardisierte Untersuchung. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf publizierten peerreviewed Arbeiten so gering wie möglich gewählt. Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

*Vermeidung:* Ein Tierversuch ist aufgrund der Komplexität der Krankheitsprozesses und des RAA-Systems unvermeidbar. Die spezifische Antwort auf die Interventionen, wie z.B. hämodynamische Veränderungen und Proteinkonzentrationen im Blut kann nicht in der Zellkultur nachgebildet werden. Alternative ex-vivo oder in-vitro Modelle können die gestellten Fragen, aufgrund des komplexen physiologischen Wechselspiels der Produktion und des Abbaus von RAS Produkten in-vivo, nicht beantworten.

*Verminderung:* Die Anzahl der beantragten Versuchstiere erfolgt nach einer eingehenden biometrischen Planung und stellt das Mindestmaß unter Berücksichtigung der Streuung und der zu erwartenden Messergebnisse dar. Durch eine strikte Standardisierung der Messabfolgen und des Versuchsaufbaus sind somit die Mindestmengen erzielbar.

*Verfeinerung:* Das beantragte Tiermodell ist seit vielen Jahren etabliert und wissenschaftlich anerkannt. Es ist für die Fragestellung unerlässlich und geeignet die Hypothesen zu überprüfen. Da chirurgische Präparation mit Schmerz verbunden wäre, sind die Tiere während des gesamten Versuchsablaufes tief narkotisiert und analgisiert.

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**

In den letzten Jahrzehnten wurde eine rapide wachsende Anzahl von Allergikern in der Bevölkerung, nicht nur in Industrieländern, sondern auch in Entwicklungsländern, verzeichnet. Vielfach werden übertrieben saubere oder "sterile" Lebensbedingungen, vor allem in früher Kindheit, und, die damit ausbleibende Stimulierung des Immunsystems, für eine starke Zunahme von Allergikern verantwortlich gemacht. Der Einsatz von probiotischen Bakterien zur Prävention bzw. Behandlung von Allergien hat in der Vergangenheit bereits gute Ergebnisse erzielt. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass die Anwendung von probiotischen Bakterien während der Schwangerschaft und Stillzeit (perinatal) besonders gut geeignet ist das Auftreten von Allergien in den Nachkommen zu verhindern. Die Mechanismen wie z.B. epigenetische Veränderungen, die in diesem Zusammenhang für eine schützende Wirkung verantwortlich sind, sind weitgehend unerforscht.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* In dieser Studie sollen tragenden und säugenden Mäusen verschieden probiotische Stämme verabreicht werden und der Einfluss der perinatalen Anwendung dieser Bakterien auf das Entstehen von Allergien in den Nachkommen untersucht werden. Im Besonderen soll geklärt werden ob die perinatale Verabreichung der Probiotika epigenetische Veränderungen in den Nachkommen hervorruft und ob diese für die schützende Wirkungen der Bakterien eine Rolle spielen. Durch die Anwendung von bereits gut etablierter und standardisierter Methoden wird der Schaden für die Tiere als gering erachtet.

*zu erwartender Nutzen:* Im Rahmen dieser Studie sollen die molekularen, zellulären und, im Besonderen epigenetische Mechanismen, die für die primäre Prävention von Allergien verantwortlich sind, umfassend charakterisiert werden. Diese Untersuchungen sollen zum besseren Verständnis der Wechselwirkung zwischen Immunsystem und Bakterien beitragen um diese gezielte für die prophylaktische Behandlung von allergischen Erkrankungen einsetzen zu können.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Es sollen 698 Mäuse eingesetzt werden.

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

*Vermeidung:* Die Modulation des Immunsystems durch probiotische Bakterien ist ein hoch komplexes Zusammenspiel zwischen verschiedensten Zelltypen und löslichen Faktoren des Immunsystems. Die Komplexität dieser Vorgänge kann in *in vitro* Versuchen nicht nachgeahmt werden. Nichtsdestotrotz werden erste Vorabuntersuchungen unter zur Hilfenahme von *in vitro* Modellen durchgeführt.

*Verminderung:* Durch die Verwendung von Inzuchtlinien und vereinheitlichten Haltungsbedingungen wird die Streuung und dadurch die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich gehalten. Die Fallzahl wurde so berechnet um die Anzahl der Versuchstiere so niedrig wie möglich zu halten sowie statistische Aussagekraft der Ergebnisse zu gewährleisten.

*Verfeinerung:* Durch möglichst stressfreie und standardisierte Bedingungen wird die Belastung für die Tiere so gering wie möglich gehalten. Soziale Haltung sowie Anreicherung der Umgebung soll die Qualität der Tiere garantieren und somit auch die Anzahl der Versuche verringern. Des Weiteren wurden die, für die Analyse notwendigen Methoden, *in vitro* etabliert und standardisiert.

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

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

Aufgrund der Komplexität des Phänomens Stress sind die bisherigen Methoden zur Quantifizierung und Interpretation von Stressreaktionen beim Vogel nach wie vor unzureichend. Das Ziel des geplanten Projektes ist die Validierung bzw. Etablierung der Messung eines Immunparameters (Leukocyte Coping Capacity) zur Quantifizierung von Stress bei Vögeln sowie die Darstellung dieses Parameters im Vergleich zu bereits etablierten Stressvariablen. Das Hauptziel gliedert sich dabei in mehrere Teilziele: 1.) Zu zeigen, dass es mit dieser Methode möglich ist beim Vogel Stress zu detektieren. 2.) Darzustellen, wie dieser Immunparameter mit den klassischen Stresshormonen Cortisol und Adrenalin korreliert. 3.) Unterschiede in der Stressreaktion im Zusammenhang mit jahreszeitlich (Winter und Frühling) bedingten Veränderungen der Physiologie zu zeigen.

*zu erwartender Schaden:* Um die formulierten Hypothesen zu testen werden Blutproben von Vögeln genommen, um anhand dieser die Variablen zu bestimmen. Die Vögel werden in ihren Volieren mit einem Netz gefangen und für die Blutentnahmen fixiert. Dies führt zu einer Stressreaktion beim Vogel, die sich jedoch nicht von Stressreaktionen unterscheiden, die auch im Rahmen des natürlichen Sozialverhaltens auftreten. Durch die Blutabnahme selbst kann es zu kleinen Hämatomen kommen, die jedoch nach zwei bis drei Tagen wieder völlig absorbiert werden.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die Etablierung und Validierung einer neuen Messmethode, die sich unmittelbar auf die stressbedingten Veränderungen im Immunsystem bezieht, werden im Rahmen dieses Projektes neue Erkenntnisse im Bereich der Stressphysiologie sowie neue Aufschlüsse über das Zusammenspiel von Stresshormonen und Immunsystem gewonnen. Dies spielt im Kontext von Stress und der Entstehung von Krankheiten eine zentrale Rolle. Die in dem Projekt geplante Validierung einer quantitativen Methode zur Messung von Stress ermöglicht es, bestehende Fang- bzw. Handlings-Protokolle unter dem Aspekt ihrer Tierschutzkonformität zu bewerten. Damit können diese Methoden verbessert werden, um Stressreaktionen im Kontext von Managementmaßnahmen und Forschungsarbeiten an Wild- und Heimtieren zu minimieren und damit zur Verbesserung des Tierwohls beizutragen.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

40 Haussperlinge (*Passer domesticus*)

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

*"Replacement":* Da im Rahmen des Projekts Dynamiken eines Immunparameters im Verhältnis zur Dynamik der klassischen Stresshormone Cortisol und Adrenalin getestet werden sollen, ist es nicht möglich, die Verwendung von lebenden Tieren durch nicht-tierische Modelle zu ersetzen.

*"Reduction":* Für das beantragte Projekt wurde anhand der Ergebnisse eines Vorversuches und der anschließenden Anwendung statistischer Poweranalysen die Anzahl von 40 Tieren als unbedingt erforderlich bestimmt, um signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die zu untersuchenden Parameter detektieren zu können.

*"Refinement":* Die Vögel werden in großzügig bemessenen Außenvoliere, die mit kleinen Bäumen und Sträuchern ausgestattet sind, gehalten. Weiters befinden sich mehrere Futter Plateaus in den Volieren um die Nahrungskonkurrenz und den dadurch verursachten Stress zu minimieren. Was die Durchführung des Versuchs selbst betrifft, so werden sowohl die Dauer des Handlings der Vögel als auch das für die Untersuchung benötigte Blutvolumen auf das für die Beantwortung der Fragestellung unbedingt erforderliche Ausmaß reduziert.

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

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

Die Zunahme an metabolischen und kardiovaskulären Erkrankungen während der letzten Jahrzehnte wird hauptsächlich durch erhöhte Nahrungsaufnahme von Fett hervorgerufen. Über 50% der Österreicher sind fettleibig, der Anteil an massiv Übergewichtigen liegt in Österreich bei 10-15% mit rapid steigender Tendenz. Die Fettleibigkeit (Adipositas) mit ihren Folgeerkrankungen wie z. B. Typ 2 Diabetes (nicht-insulinabhängiger Diabetes), Herz-Kreislaufkrankungen, Atherosklerose und Leberverfettung sind ein großes kostspieliges Gesundheitsproblem. Nach Schätzungen der WHO leiden ca. 146 Millionen Menschen weltweit an Typ 2 Diabetes mit stark steigender Tendenz. Hypertriglyzeridämie, charakterisiert durch die Akkumulierung triglyzeridreicher Lipoproteine, spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung von Dyslipidämien und ist ein bekannter Risikofaktor für Atherosklerose. Enterozyten des Dünndarms transportieren mit der Nahrung aufgenommene Lipide in den Organismus und sind in hohem Maße an der Bildung triglyzeridreicher Lipoproteine beteiligt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. In diesem Projekt untersuchen wir die potentiell positiven Auswirkungen der Überexpression des Schrittmacherenzym der Lipolyse (ATGL) im Dünndarm. 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 Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung bestimmter Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

*zu erwartender Schaden für das Tier:* ist bei allen Versuchen mit gering eingestuft. Es sind keine Schmerzen für die Tiere zu erwarten, nur ein etwas erhöhter Stresspegel durch Injektionen, Blutabnahmen und Gavagieren.

*zu erwartender Nutzen:* die Mechanismen der Nahrungsfettabsorption deutlich besser zu verstehen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

317 Mäuse

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die Fragestellung der Relevanz und der Auswirkungen des Fehlens der von uns untersuchten Proteine auf den gesamten Organismus nur *in vivo* zu beantworten ist.

*Verminderung:* Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt (handling), um den Stress bei den Kontrollen und Messungen zu minimieren. Zusätzlich werden die Mäuse routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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

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

**Projektziel:** Die Untersuchung der lokalen Hautentzündung, welche nach Auftragen des Wirkstoffs "Imiquimod" auftritt. Da diese Entzündung starke Ähnlichkeiten mit der Entzündung bei Schuppenflechte (Psoriasis) hat, soll der zeitliche Verlauf der Entzündung durch histologische Untersuchungen und Messung von Entzündungsparametern in der Haut näher untersucht werden. Nachfolgend soll die Wirkung von Medikamenten gegen Schuppenflechte auf diese Entzündung untersucht werden.

**zu erwartender Nutzen:** Wirksame Wirkstoffe können schneller von unwirksamen Wirkstoffen unterschieden werden. Damit verringert sich die hohe Fehlerrate und erhöht sich das Tempo bei der Medikamentenentwicklung.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Eine Hautstelle von ca. 2x 2cm wird sich nach Behandlung rötten (entzünden). An den betreffenden Stellen könnte Juckreiz entstehen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

150 Ratten

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

Im Sinne der 3R Strategie wurde bei der Planung dieses Versuches großer Wert darauf gelegt präzise Fragestellungen auszuarbeiten, die wissenschaftliche Literatur sorgfältig nach bereits durchgeführten Experimenten zu durchsuchen und das am wenigsten belastende Setup für die Versuchstiere auszuwählen.

**Vermeidung:** Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden, weil:

- nur in-vivo im lebenden Organismus die Hautentzündung als Folge einer Immunreaktion entsteht und nachfolgend untersucht werden kann.
- eine Zellkultur die Immunreaktion nicht abbilden kann und die Komplexität der Umgebungsparameter im lebenden Organismus nicht ausreichend beschreibt.
- In-vitro Experimente nicht die Interaktion mit dem lebenden Organismus nachstellen können.

**Verminderung:** Die Versuche erfolgen mit kleinstmöglichen Gruppengrößen. Dabei wurde sorgfältig abgewogen, zwischen einer möglichst kleinen gesamten Versuchstieranzahl und der statistischen Signifikanz, die eine eindeutige Aussage zulässt.

**Verfeinerung:** Das Handling der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt um den Stress, dem die Tiere ausgesetzt sind, gering zu halten. Die Tiere werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht und routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Die Tiere haben, nachdem sie geliefert werden, eine Eingewöhnungszeit von einer Woche, bevor mit dem Versuch begonnen wird. Als Enrichment wird Nestbaumaterial angeboten.

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**

Atherosklerose und deren klinische Komplikationen, wie Myokardinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen Hypercholesterinämie und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. Im Detail sollen hierbei verschiedene Gruppen von genetisch modifizierten Mäusen hinsichtlich des Ausmaßes atherosklerotischer Gefäßveränderungen untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ergebnisse des Projektes sollen bessere Einblicke in die Entstehung der Ursachen für Herzinfarkt und Schlaganfall, welche zu neuen therapeutischen Ansätzen führen, liefern.

*zu erwartender Schaden:* Im Zuge des Tierversuchs wird die notwendige Anzahl an Versuchstieren auf ein Minimum reduziert und einer Belastung ausgesetzt die als gering bis mittelgradig einzustufen ist. Beim geplanten Versuch handelt es sich um einen Tierversuch ohne operative Eingriffe, es werden Zellen des Knochenmarks durch intravenöse Injektionen zwischen den transgenen Mauslinien übertragen. Dies kommt einem Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis gleich. Im Detail sollen hierbei genetisch modifizierte Mäuse hinsichtlich des Ausmaßes atherosklerotischer Gefäßveränderungen unter Ausschaltung bzw. Anschaltung bestimmter Faktoren untersucht werden. Durch die Durchführung dieser gezielt ausgerichteten Versuche soll die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose besser verstanden werden, wodurch in Zukunft neue Vorbeugungs- und Therapieansätze entwickelt werden könnten.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

120 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 eines Gens und Auswirkungen auf die Bildung atherosklerotischer Plaques) ist nur in vivo zu beantworten.

Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen eine angereicherte Haltungsumgebung (te. "enriched environment") helfen den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. 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. Durch Beachtung strenger Abbruchkriterien wird die Belastung der Tiere weiter reduziert. Wo immer möglich ist die Verwendung von Zellkultursystemen geplant, um die in vivo Effekte auf zellulärer Ebene zu validieren.



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*

*zu erwartender Nutzen:* Der Antrag dieses Tierversuchsprojektes wird vor dem klinisch wichtigen Hintergrund gestellt, dass die Anzahl von ein- und beidseitigen Stimmlippenlähmungen mit Stimmproblemen und Atemnot unterschiedlichen Ausmaßes zunimmt. Auf der Suche nach Behandlungsmethoden, die weder einen Luftröhrenschnitt mit lebenslang notwendiger Kanüle oder eine operative Kehlkopfverengung mit bleibender Heiserkeit bedeuten, stellt die Implantation eines sogenannten Kehlkopfschrittmachers eine vielversprechende Alternative dar. Dieser stimuliert den gelähmten, aber elektrisch erregbaren Stimmlippenöffner. Ein solcher Kehlkopfschrittmacher funktioniert jedoch nicht bei allen Patienten. Um die Patienten herauszufinden, bei denen dieser Eingriff geeignet wäre, sind verschiedene elektrophysiologische Untersuchungen notwendig.

Ziel dieser Studie ist die Entwicklung eines medizintechnischen elektrischen Stimulations-Prototypen, mit dem die elektrische Stimulierbarkeit des Stimmlippenöffners untersucht werden kann. Dazu soll ein Silikonaufsatz, der Elektroden führt, so gebaut werden, dass er unter endoskopischer Sicht zu diagnostischen Zwecken an den richtigen Platz im Kehlkopf geführt werden kann. Bevor dieser elektrodenführende Endoskopaufsatz am Menschen eingesetzt werden kann, muss zunächst ein optimierter Prototyp entwickelt und am Tier (Phase 1) getestet werden.

*zu erwartender Schaden:* Diese Testung soll an maximal 10 Schweinen durchgeführt werden, die im Rahmen anderer Studien in Vollnarkose untersucht werden. Schmerzen bzw. zusätzliches Leiden der Tiere ist durch die geplanten Untersuchungen nicht zu erwarten. Wenn ein passender Prototyp gefunden wurde, sollen bis max. 5 Schweine zur Überprüfung der Konstanz der Messungen mehrfach untersucht werden. Diese Tiere sollen in mehreren Kurznarkosen ebenfalls hinsichtlich elektrisch induzierter Stimmlippenöffnungsmöglichkeit untersucht werden. Auch bei diesen Tieren ist davon auszugehen, dass sie nach der Operation keine Schmerzen erleiden. Eine Tötung der Tiere ist im Rahmen dieser Studie nicht vorgesehen.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

15 Schweine

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

*Vermeidung:* Die Tierstudien im Rahmen dieses Studienantrages sind für spätere Zulassungen der elektrischen laryngealen Stimulation mit dem Endoskopaufsatz für die Anwendung am Menschen unverzichtbar. Eine Vermeidung dieses Tierversuches scheint nicht möglich, da in diesem Versuch der Grundstein für die Entwicklung eines neuen Diagnostik-Tools gelegt werden soll. Dieser zu entwickelnde Endoskopaufsatz soll später in humanen Untersuchungen zum Einsatz kommen. Bis zum humanen in-vivo-Einsatz gilt es die Validität der Messungen und die praktische Einsatzfähigkeit des neu konstruierten Aufsatzes zu testen.

*Verminderung:* Von den Antragstellern wird eine minimale Anzahl von Versuchstieren angestrebt und dabei die Möglichkeit der Mitnutzung von Tieren aus anderen Studien geplant. Darüber hinaus wird die Studie vorzeitig beendet, wenn bereits nach einigen Testläufen valide Messergebnisse und sichere Produktentwicklungen gewährleistet werden konnten.

*Verfeinerung:* Die Schweine werden unter kontrollierten, standardisierten Bedingungen (künstlicher Tag-Nacht-Rhythmus 12:12; Raumtemperatur 20°C, Luftfeuchtigkeit 60%) in Gruppen auf Stroheinstreu gehalten. Die Schweine werden mit Schweinefutter nach Bedarf und Wasser ad libitum gefüttert. Die Tiere werden zweimal täglich durch die Tierpfleger kontrolliert. Die Tiere stammen aus der Zucht von heimischen Bauern und werden entsprechend den bestehenden Qualitätskriterien gehalten. Tierärztliche Versorgung, insbesondere im Falle erkennbarer Schmerzen, wird von Seiten von Veterinärmediziner gewährleistet. Die Tiere, die ausschließlich im Zuge dieses Projektes verwendet werden sollen, sollen nach Ende der Studie in private Pflege abgegeben werden.

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

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

Mit dem vorgestellten Projekt sollen Regulationsmechanismen in einem Modell der sogenannten Glomerulonephritis (GN) sowie im Modell der akuten Lungenentzündung (ALI) genauer untersucht werden. In etablierten Mausmodellen, welche den menschlichen Erkrankungen sehr ähnlich sind, wird die Rolle des Rezeptors E Prostaglandin Rezeptor 4 (EP4) studiert. Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) wird in unserem Körper vor allem bei Entzündungsprozessen produziert und hat viele Effekte auf unser Immunsystem. PGE<sub>2</sub> wirkt über vier verschiedene Rezeptoren (EP1-4). Der EP4 Rezeptor kommt auf verschiedenen Immunzellen und in der Niere sowie in der Lunge vor. Die Rolle des EP4 Rezeptors, sowie dessen Immunsystem steuernde Rolle in Erkrankungen wie der GN und dem ALI, ist nach wie vor nicht ausreichend geklärt. Durchgeführte Studien anderer Gruppen haben gezeigt, dass bei der GN sowie bei ALI die Aktivierung des EP4 Rezeptors schützende und die Schwere des Krankheitsverlaufes vermindernde Effekte hat. In dieser Studie soll vor allem der Effekt dieses Rezeptors und seine schützende Funktion auf Nieren- sowie Lungenerkrankungen untersucht werden. Um die Rolle des EP4 Rezeptors genau zu untersuchen und vor allem die Effekte bei nichtvorhanden sein des Rezeptors in der GN sowie im Modell der ALI zu untersuchen, werden die Versuche in EP4 Knockout Mäusen durchgeführt. Dies sind genetisch veränderte Mäuse, die keine EP4 Rezeptoren besitzen. Darüber hinaus planen wir eine genaue Untersuchung ob diese Effekte von Immunzellen oder Nieren bzw. Lungenzellen ausgehen. Hierfür wird das Knochenmark von EP4 Knockout Mäusen in Mäuse die einen EP4 Rezeptor besitzen transplantiert und vice versa. Somit haben entweder die Mäuse welche keinen EP4 Rezeptor in der Niere und in der Lunge haben Immunzellen welche einen EP4 Rezeptor exprimieren, oder Mäuse mit dem EP4 Rezeptor in Zellen der Niere und der Lunge haben Immunzellen ohne EP4 Rezeptor. Dies erlaubt uns Rückschlüsse zu ziehen welche Zellen für den protektiven Effekt in der Erkrankung verantwortlich sind.

Die Verteilung diverser Immunzellen in Nieren, Lunge, Milz und Lymphknoten und somit Ursache etwaiger Unterschiede werden analysiert.

*zu erwartender Nutzen:* Diese Studie dient dazu um herauszufinden, welche Bedeutung PGE<sub>2</sub> über Aktivierung des EP4 Rezeptors, in den genannten Erkrankungen spielt. Dieses Verständnis ist unumgänglich um eine Grundlage für mögliche neue Therapieansätze zu schaffen.

*zu erwartender Schaden für die Tier:* Da es sich sowohl bei dem Mausmodell der GN als auch der ALI um etablierte Modelle handelt, wissen wir aus Erfahrung, dass der zu höchste zu erwartende Schaden für die Tiere als mittel einzustufen ist. Sollte jedoch während der Versuchsreihe eine Maus Zeichen von schwerem Stress zeigen bzw. leiden, wird das Tier dem Tierarzt vorgestellt. Dieser entscheidet ob die Abbruchkriterien zutreffen und leitet wenn erforderlich die fachgerechte Euthanasie, in einem separaten Raum, ein. Wir versuchen durch tiergerechte Haltung und Umgang mit den Tieren den Stress für die Mäuse jedoch so gering wie möglich zu halten.

In den EP4 Knockout Mäuse werden nach erfolgter Immunisierung mit einem vom Kaninchen gewonnen Antiserum injiziert, was zur Ausbildung der Glomerulonephritis führt. Daraufhin werden die Mäuse nach 1 und 2 Wochen getötet und die Ausprägung der Glomerulonephritis, die Verteilung diverser Immunzellen in Nieren, Milz und Lymphknoten und somit Ursache etwaiger Unterschiede analysiert. Beim Modell des akuten Lungenversagen werden die Mäuse betäubt, daraufhin wird den Mäusen Lipopolysaccharid (LPS), eine chemische Substanz welche Zucker- und Lipideinheiten besitzt, in die Nase getropft. Nach 4h und 48h werden die Mäuse mit einer Überdosis eines Schlafmittels getötet. Für eine weitere Untersuchung wie durchlässig die Gefäße in der Lunge sind wird der Maus nach der LPS Gabe ein Blauer Farbstoff in die Schwanzvene gespritzt. Für einen Lungenfunktionstest werden die Mäuse betäubt und mit einer Maschine beatmet.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Im Rahmen dieses Projektes werden 696 Mäuse untersucht.

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

**Vermeidung:** Da es sich bei der Glomerulonephritis sowie der akuten Lungenentzündung um ein äußerst komplexes Krankheitsbild, welches verschiedenste Zellpopulationen der angeborenen und erworbenen Immunität sowie verschiedene Organsysteme (Niere, Lunge, Lymphknoten, Milz, Knochenmark, Thymus) beeinflusst, handelt, ist es nicht möglich gleichwertige Erkenntnisse mit anderen Methoden zu erlangen.

**Verminderung:** Bei unseren Versuchen wird die Anzahl an verwendeten Mäusen durch sorgfältige Planung der Versuche möglichst gering gehalten. Wir wissen jedoch, dass der zeitliche Ablauf der Glomerulonephritis als auch der akuten Lungenentzündung durch das Auftreten verschiedener Mechanismen in verschiedenen Geweben zu verschiedenen Zeitpunkten geprägt ist, wodurch die Untersuchung der unterschiedlichen Zeitpunkte bedingt wird. Zur Erlangung von statistischer und biologischer Signifikanz benötigen wir zudem eine unabhängige Bestätigung von einmal beobachteten Unterschieden.

**Verfeinerung:** Bei der Durchführung unserer Versuche sowie der Knochenmarkstransplantation der Mäuse gehen wir nach international üblichen Standards vor. Die Tiere werden mit ausreichend Nestmaterial zum Nestbau sowie Enrichment versorgt, um eine möglichst artgemäße Haltung zu gewährleisten. Nach ihrer Anlieferung bekommen die Mäuse zumindest eine Eingewöhnungszeit von einer Woche. Durch Handling von ausgebildeten Tierpflegern, die die Tiere versorgen, wird zusätzlicher Stress vermieden. Die Mäuse werden routinemäßig von Tierärzten auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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*

Gestörtes Sozialverhalten stellt ein Symptom vieler psychischer Krankheiten dar. Typische Beispiele sind Schizophrenie und Autismus. Schizophrenie ist eine schwere psychische Erkrankung. Sie ist durch Störungen des Denkens, der Wahrnehmung, des Sozialverhaltens und der Affektivität gekennzeichnet. Die „Negativsymptome“ der Schizophrenie beinhalten z.B. Depressionen und Antriebsmangel. Es werden verschiedene Erscheinungsformen unterschieden. Im stationären Bereich der Psychiatrie ist die Schizophrenie eine der häufigsten Diagnosen. Die Lebenszeitprävalenz, an einer schizophrenen Psychose zu erkranken, beträgt etwa 1 Prozent. Schizophrenie ist also eine verbreitete Krankheit. Die Inzidenzraten (Neuerkrankungen) pro Jahr liegen unter denen der Lebenszeit-Prävalenz bei etwa einer Person von 10.000, wie aus einer WHO-Multicenterstudie hervorgeht. Männer und Frauen erkranken in etwa gleich häufig. Allerdings erkranken im Durchschnitt Frauen später (zwischen dem 25. und 30. Lebensjahr) als Männer (zwischen dem 20. und 25. Lebensjahr). Schizophrenien kommen in allen Kulturen der Welt mit gleicher Häufigkeit vor, aber das jeweilige Erscheinungsbild wechselt mit den soziokulturellen Gegebenheiten. Nach heutiger Lehrmeinung spielen sowohl genetische wie auch Umweltfaktoren eine wichtige Rolle in der Entstehung von Schizophrenie. Wie auch in anderen neurodegenerativen Erkrankungen sind Transmitterkonzentrationen außer Balance. Die meisten heute Anwendung findenden Medikamente zur Behandlung von Schizophrenie beruhen daher auf Transmitterkonzentration-verändernden Substanzen.

Autismus wird zu den tiefgreifenden Entwicklungsstörungen gerechnet. Es wird von Ärzten, Forschern, Angehörigen und Autisten selbst als eine angeborene, unheilbare Wahrnehmungs- und Informationsverarbeitungsstörung des Gehirns beschrieben, die sich schon im frühen Kindesalter bemerkbar macht. Neue Untersuchungen zeigen, dass Autismus vermutlich ausschließlich genetische Gründe hat. Welche Genveränderungen jedoch grundlegend an der Ausbildung des Autismus beteiligt sind ist noch nicht bekannt. Bislang wurden einige Genmutationen entdeckt, die zu ähnlichen Veränderungen führen wie bei manchen autistischen Patienten, jedoch wurde noch kein Gen gefunden, dass zur Ausbildung des vollen Krankheitsbildes führt. Da Autismus jedoch in vielen verschiedenen Schweregraden und Formen auftreten kann, ist es wahrscheinlich, dass auch verschiedene Gene an der Entstehung der Krankheit beteiligt sein können. Die Symptome und die individuellen Ausprägungen des Autismus sind vielfältig, sie können von leichten Verhaltensproblemen an der Grenze zur Unauffälligkeit (etwa als „Schüchternheit“ verkannt) bis zur schweren geistigen Behinderung reichen. Allen autistischen Behinderungen sind Beeinträchtigungen des Sozialverhaltens gemeinsam: Schwierigkeiten, mit anderen Menschen zu sprechen (etwa wegen eintöniger Prosodie), Gesagtes richtig zu interpretieren, Mimik und Körpersprache einzusetzen und zu verstehen. Kernsymptomatik bei autistischen Behinderungen ist vorrangig die Schwierigkeit, mit anderen Menschen zu kommunizieren. Alternativ werden stereotype oder ritualisierende Verhaltensweisen bei allen autistischen Behinderungen als Kernsymptomatik erforscht. Die Behandlung von Autismus beruht hauptsächlich auf Verhaltenstherapien, Elternttraining, soziales Kompetenztraining, Ergo- und Physiotherapie sowie Logopädie. Die medikamentöse Behandlung der Krankheit ist bis heute aber rein symptomatisch zur Behandlung von Angst, Depression, Aggressivität und Zwängen. Mit der vorliegenden Studie soll ein neues Medikament zur Behandlung von Defiziten im Sozialverhalten auf seine Wirksamkeit im Tiermodell untersucht werden. Bei erfolgreicher Austestung soll die Substanz gegen Symptome der Schizophrenie und/oder Autismus eingesetzt werden.

*zu erwartender Schaden:* In einem ersten Projekt werden männliche BTBR Mäuse mit einer von drei Positivsubstanzen oder Vehikel behandelt und der Effekt in verschiedenen Verhaltenstests untersucht. In einem zweiten Projekt werden BTBR Mäuse akut mit einer von zwei Testsubstanzen oder einer Positivkontrolle oder Vehikel behandelt und in den zuvor etablierten Verhaltenstests untersucht. In einer dritten Studie werden BTBR oder wildtyp Mäuse chronisch mit einer von drei

Testsubstanzen oder einer Positivkontrolle oder Vehikel behandelt und am Ende in den zuvor etablierten Verhaltenstests untersucht. Am Ende aller Studien werden die Tiere euthanasiert und unterschiedliche Gewebe entnommen. BTBR Mäuse sind eine Inzucht Mauslinie, die sich durch verringertes Sozialverhalten von anderen Inzuchtmauslinien wie z.B. den C57BL/6 unterscheidet. Morphologisch konnte gezeigt werden, dass die Tiere kein *Corpus callosum* (Hirnbalken) haben, welches in gesunden Tieren die zwei Hemisphären des Gehirns miteinander verbindet. Außerdem ist die Hippokampuskommissur stark verkleinert.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel dieser Studie ist die erfolgreiche Austestung der Wirkung von drei neuen Testsubstanzen gegen Symptome der Schizophrenie und Autismus.

## **2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden ausschließlich männliche Tiere im Alter von ca. 8 Wochen verwendet. Insgesamt werden 300 BTBR und 75 C57Bl/6 wildtyp Mäuse beantragt.

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

Um Medikamente gegen soziale Verhaltensstörungen zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen stehen für diese Erkrankungen nicht zur Verfügung, da die pathologischen Mechanismen kaum bekannt sind.

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

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

Interneuronen sind bestimmte Gehirnzellen, die wichtig für die Steuerung der Aktivität der für verschiedene Gehirnfunktionen verantwortlichen neuronalen Populationen sind, wie beispielsweise willkürliche Bewegungen, Wahrnehmungen und Kognition. Unter den Interneuronen gibt es axoaxonische Zellen, hochspezialisierte Neuronen, über deren spezifische Aufgabe im Gehirn man bis heute nichts Genaues weiß. Es ist allerdings bekannt, dass axoaxonische Zellen an der Entwicklung zahlreicher Erkrankungen des Gehirns beteiligt sind, u. a. Schizophrenie. Hauptziel dieses Projekts ist daher eine Untersuchung, wie einzelne axoaxonische Zellen die Aktivität der neuronalen Population in einem Gehirnschaltkreis regulieren. Zu diesem Zweck werden wir transgene Mauslinien verwenden, in denen wir axoaxonische Zellen gezielt markieren und identifizieren können.

*zu erwartender Schaden:* Dazu verwenden wir ein Verfahren, das Injektionen des Medikaments Tamoxifen in embryonalen Stadien erfordert. Tamoxifen wird auch beim Menschen zur Behandlung von Krebserkrankungen verwendet. Eine erste Versuchsreihe wird *in vivo* erfolgen und die Abläufe werden sich auf die Genotypisierung von transgenen Mauslinien und die intraperitoneale Injektion von Tamoxifen beschränken. Wir sind uns dessen bewusst, dass jeder experimentelle Eingriff unerwünschte Nebenwirkungen verursachen kann. Daher werden wir den Gesundheitszustand der Tiere nach jedem Eingriff ganz genau beobachten und gegebenenfalls eine entsprechende tierärztliche Behandlung einleiten. Auf diese Weise wird sichergestellt, dass kein Tier unnötig leiden muss. Falls sich der Gesundheitszustand der Tiere bis zum Erreichen eines vorher festgelegten humanen Endpunktes verschlechtert, werden wir den Ablauf unterbrechen und die Tiere werden unverzüglich getötet. Eine zweite Versuchsreihe wird *in vitro* erfolgen (d. h. ohne den Einsatz von lebenden Tieren). Hier werden wir die funktionellen Eigenschaften der axoaxonischen Zellen messen, indem wir gleichzeitig die elektrische Aktivität der markierten axoaxonischen Zellen sowie die Aktivität der mit ihnen verbundenen Neuronen aufzeichnen. Um die Funktion der axoaxonischen Zellen in einem geschützten Gehirnschaltkreis untersuchen zu können, werden wir diese Messungen an Gehirnschnitten von erwachsenen Mäusen durchführen. Es werden von unserer Seite alle notwendigen Maßnahmen getroffen, um Tierversuche zu reduzieren und die Anzahl der benötigten Mäuse auf ein Minimum zu beschränken. Der höchste zu erwartende Schweregrad, dem die Tiere ausgesetzt sein werden, lässt sich als "gering" definieren. 354 dieser Tiere erhalten eine Injektion in die Bauchhöhle. Die übrigen verwendeten Tiere werden in eine tiefe Narkose verbracht und sie sterben durch Blutentzug in der Narkose. Gemeinsam mit der Narkose wird ihnen ein unmittelbar wirksames Schmerzmittel verabreicht, weshalb sie keinen Schmerz verspüren.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ergebnisse dieses Projekts werden uns grundlegende Informationen über die funktionellen Eigenschaften von axoaxonischen Zellen in einem Gehirnschaltkreis unter physiologischen Bedingungen liefern und damit möglicherweise wichtige Erkenntnisse dazu, welche Rolle diese Zellen bei der Entstehung von Krankheiten haben.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden insgesamt 1794 Mäuse verwendet auf eine Dauer von 5 Jahren.

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

Der PL und seine Forschungsgruppe bemühen sich nach Kräften um Vermeidung (Replacement), Verringerung (Reduction) und Verfeinerung (Refinement). In Hinblick auf die Vermeidung nutzt der PL umfangreiche Modellierungen synaptischer Übertragungen bei Netzwerkaktivität. Auch wenn die Modellierung keine Tierversuche ersetzt, so kann sie einen sehr konkreten hypothetischen Rahmen festlegen, der in biologischen Experimenten ausgetestet werden kann. Dies führt wiederum zu einem gesteigerten wissenschaftlichen Output des Projekts, gleichzeitig kann die Zahl der Tierversuche auf ein Minimum beschränkt werden. In Bezug auf die Verringerung bemühen sich der PL und seine Forschungsgruppe nach Kräften, die Anzahl der für die vorgeschlagenen Experimente erforderlichen Tiere zu minimieren. Die große Erfahrung des PL auf dem Gebiet der Elektrophysiologie und der

**Bildgebung spielt eine wichtige Rolle bei der Optimierung der Verfahren, was die Generierung von besonders hochwertigen Daten mit hervorragendem Signal-Rausch-Verhältnis, hoher Stabilität und gutem Zugangswiderstand bei physiologischen Aufnahmen ermöglicht. Dies erhöht wiederum die Stichhaltigkeit der Schlussfolgerungen, die aus diesen Daten gezogen werden können, und minimiert den Einsatz von Versuchstieren. Verfeinerung bedeutet, dass die Eingriffe von geschulten Personen durchgeführt werden, um den Stress für die Tiere und mögliche Nebenwirkungen zu minimieren. Die intraperitonealen Injektionen werden mit den kleinstmöglichen Nadeln durchgeführt. Volumen und Dosen werden entsprechend den GV-SOLAS Empfehlungen berechnet. Zusätzlich werden wir eine Pilotstudie durchführen, um unsere Abläufe zu optimieren und die für jede experimentelle Messung am besten geeignete Mauslinie zu ermitteln.**

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

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

**zu erwartender Nutzen:** Viele entzündliche Erkrankungen der Haut sind Autoimmun-Erkrankungen. In diesen Erkrankungen richtet sich die Immun-Abwehrreaktion fälschlicherweise gegen eigenes Gewebe anstatt wie normalerweise gegen Krankheitserreger (z.B. Bakterien, Viren, Pilze). Die Entzündung wird dabei von speziellen weißen Blutkörperchen (den sogenannten Effektor T Zellen) vermittelt. Die anti-entzündlichen Gegenspieler der Effektor T Zellen sind die sogenannten regulatorischen T Zellen. Wir wollen nun diese regulatorischen T Zellen erforschen, um diese in Zukunft therapeutisch nutzen zu können. In diesem Projekt wollen wir konkret:

- Die Wirksamkeit von regulatorischen T Zellen in einer Autoimmun-Erkrankung der Haut testen (d.h. die körpereigenen Immunzellen zum Bremsen der Entzündung verwenden).
- Die Bedingungen charakterisieren, die notwendig sind, um therapeutisch wirksame regulatorische T Zellen im Körper zu generieren und zu aktivieren.
- Therapeutische Medikamente finden, die die Anzahl und Wirkung von regulatorischen T-Zellen unterstützen können.

Bisher werden Autoimmun-Erkrankungen mit sogenannten immun-suppressiven Medikamenten, welche das Abwehrsystem unterdrücken (z.B. Kortison), behandelt. Diese Medikamente haben zwei wesentliche Nachteile:

1. Sie haben typischerweise bei Langzeit-Anwendung starke Nebenwirkungen und 2. Sie unterdrücken das gesamte Abwehrsystem, was häufig zu Infektionen führt, weil auch die Abwehr von Krankheitserregern beeinträchtigt wird und nicht nur die unerwünschte Reaktion gegen das eigene Gewebe. Regulatorische T Zellen haben den entscheidenden Vorteil, dass sie spezifisch für ein spezielles Eigen-Protein sind und dadurch kann gezielt Eigen-Gewebe geschützt werden, während die Reaktion gegen Erreger ungehindert ablaufen kann. Das bedeutet, dass keine Nebenwirkungen zu erwarten sind.

Zusammenfassend haben unsere Studien das Ziel, die entzündliche und vor allem die (therapeutisch bewirkte) anti-entzündliche Immunantwort während einer Autoimmunerkrankung der Haut zu studieren, um eine Hautentzündung gezielt zu verhindern und damit das eigene schützende Abwehrsystem für mögliche neue Behandlungsmethoden für Autoimmunerkrankungen der Haut zu nutzen.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Belastungsgrad der Tiere: schwer Behandlung der Tiere: intravenöse und intradermale Injektionen, orale Gavage (Verabreichung von Medikamenten über eine Sonde durch den Mund), Blutabnahmen. Das Haut-Autoimmunmodell führt zu starken entzündlichen Reaktionen in der Haut, die mit Schmerzen verbunden sind (Schmerzbehandlung wird durchgeführt).

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

3.720 Mäuse

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

**Vermeidung:** *In vitro* (in der Petrischale) generierte regulatorische T Zellen sind therapeutisch wenig wirksam. Daher ist das Ziel dieses Projektes, die Bedingungen zu erforschen, die notwendig sind um regulatorische T Zellen im Körper zu generieren. Diese *in vivo* (also im Körper) generierten regulatorischen T Zellen sind wesentlich stabiler und wirksamer in Entzündungen. Um dieses Ziel zu erreichen sind isolierte Organe ungeeignet, da bekannt ist, dass bei einer Immunreaktion gegenüber einem Eiweiß in einem Organ wie der Haut eine Vielzahl von verschiedenen Immunzellen involviert sind. Im Zuge einer Immunantwort wandern diese Zellen von Lymphknoten und Blut anschließend in das Zielgewebe (die Haut) ein. Dieser sehr komplexe Vorgang kann nicht im Reagenzglas nachgestellt werden, sondern benötigt einen vollständigen Organismus mit allen Gewebestrukturen. Daher ist die Erforschung von Immunantworten im Tierversuch unumgänglich.



**Verminderung:** Die Experimente innerhalb der Fragestellungen sind großteils sequenziell aufgebaut. Stellen sich also unsere einzelnen Hypothesen in den Anfangsexperimenten als falsch heraus, dann werden die Folgeversuche nicht durchgeführt. Die Anzahl an benötigten Tieren soll auf ein Mindestmaß reduziert werden. Die Tierzahl für das vorliegende Projekt resultiert aus dem Studiendesign, der Gruppengröße und der Anzahl an benötigten Kontrollen (nach wissenschaftlichen Kriterien).

**Verfeinerung:** Die Belastung für die Labortiere soll auf das unablässige Maß vermindert werden. Wir gewährleisten diese Forderung durch artgerechte und tierschutzkonforme Unterbringung der Tiere während der gesamten Dauer der Studie, die Sachkunde der beteiligten Personen, optimale Operations-/Injektionstechniken durch geschulte Experimentatoren und geeignete Schmerzbehandlung bei klinischer Hautentzündung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2021 vorgesehen.

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

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

Die Alzheimer Krankheit und vaskuläre Demenz sind die Hauptursachen von altersbedingter Demenz - einer der Hauptgründe für altersassoziierte Probleme unseres Gesundheits- und Pflegesystems als auch für die Gesellschaft insgesamt. Weltweit sind etwa 35 Millionen Menschen von Demenzerkrankungen betroffen, zwei Drittel davon in Entwicklungsländern. Bis 2050 wird die Zahl auf voraussichtlich 115 Millionen ansteigen.

Das Ziel der hier beantragten Tierversuche ist es, die physiologische und pathophysiologische Rolle von spezifischen Proteinen *in vivo* zu charakterisieren und zu verstehen. Zu diesem Zweck werden grundlegende physiologische und biochemische Untersuchungen an mutanten Mausmodellen durchgeführt, die ein oder mehrere spezifische Proteine überexprimieren (transgene Mäuse) und/oder denen ein spezifisches Protein fehlt (knock-out Mäuse). Im Besonderen wird hier untersucht, ob und wie bestimmte Proteine die Entstehung der Alzheimer Krankheit verhindern/verzögern oder gar deren Entstehung beschleunigen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Es sind kaum bis keine Beeinträchtigungen der Vitalität dieser transgenen Tiere bekannt. Da erhöhte Blutfette beim Menschen einen Risikofaktor für die Alzheimer Krankheit darstellen, sollen auch Diätstudien, i. E. High-fat/High-cholesterol Diet, durchgeführt werden bzw. die Mäuse oral mit cholesterinsenkenden und/oder das ‚gute‘ High-Density Lipoprotein (HDL) erhöhenden Substanzen behandelt werden. Um mögliche Effekte auf die kognitive Leistung der Tiere zu testen, werden selektiv Verhaltensstudien durchgeführt. Plasma, Zerebrospinalflüssigkeit und Gehirne der Mäuse werden post-mortem isoliert und histopathologisch, biochemisch und molekularbiologisch analysiert. Das zu erwartende Leid der Tiere kann als gering eingestuft werden.

*zu erwartender Nutzen:* Es ist zu erwarten, dass die geplanten Tierversuche im Mausmodell einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der molekularen Ursachen, der Entstehung und möglicherweise zur Prävention und Behandlung der Alzheimer Krankheit leisten werden und somit zur Bekämpfung neurodegenerativer Krankheiten beitragen werden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

1.650 Mäuse über einen Zeitraum von 4 Jahren.

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

*Vermeidung:* Die Arbeitsgruppe untersucht die molekularen Mechanismen des Cholesterinstoffwechsels und der APP/A $\beta$  Synthese an der Blut-Hirn Schranke, die bei der Entstehung der Alzheimer Krankheit eine Rolle spielen können. Schwerpunkt dieser Forschung besteht in Experimenten die an einem etablierten *in vitro* Modell der Blut-Hirn Schranke durchgeführt werden. Zwecks der genetischen und stoffwechselphysiologischen Ähnlichkeit mit dem Menschen, sowie aus ethischen Gründen, verwenden wir für den Großteil unserer Experimente Blut-Hirn Schranken-Endothelzellen, die aus Schweinehirnen (aus dem Schlachthof) gewonnen werden (primäre Zellkultur). Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion eines Gens/Proteins im ganzen Organismus stehen bzw. die *in vivo* Situation darstellen, ist eine ergänzende Verwendung von (transgenen und knock-out) Mausmodellen von entscheidender Bedeutung für unsere Forschung.

*Verminderung:* Abgeleitet aus *in vitro* Daten und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Gleichzeitig sollen in allen Versuchen immer mehrere Parameter bestimmt werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal auszunutzen. Dies wird durch genaue Planung des Versuchsablaufs erreicht. Die Zucht der Tiere wird so klein wie möglich gehalten, es wird danach getrachtet, dass so wenige Tiere wie möglich geboren werden, die nicht in Versuche fließen. Die Überschaubarkeit der Zucht ermöglicht auch eine bessere Kontrolle und Versorgung der Tiere.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von geprüften Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich untersucht. Für das erhöhte Wohlbefinden der Tiere werden ihnen Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

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

Nach Herzinfarkten kommt es durch Gewebsuntergang zu massiven Einschränkungen der Pumpfunktion des Herzens. Dies geht einher mit einer drastischen Verschlechterung der Lebensqualität und einer erhöhten Sterblichkeit, da das Herz den Körper nicht mehr ausreichend mit Blut versorgen kann. Momentan stellt das Ersetzen des geschädigten Organs mittels einer Herztransplantation die einzige Möglichkeit dar die Patienten von ihrer Erkrankung zu heilen. Spenderorgane sind jedoch rar, und die medikamentöse Vorbeugung der Abstoßung geht einher mit ernsthaften Nebenwirkungen.

Stoßwellen sind Schalldruckwellen, die seit den 70er-Jahren zur Zertrümmerung von Nierensteinen eingesetzt werden. Seit einigen Jahren hat sich Stoßwelltherapie (SWT) mit niedriger Energieflussdichte als Standardtherapie oder alternative Behandlungsmethode für eine Vielzahl von orthopädischen Pathologien und auch Erkrankungen des Weichteilgewebes etabliert. Am Herzen konnte gezeigt werden, dass SWT die Bildung neuer Blutgefäße anregt, die Größe des Infarktareals reduziert, Symptome reduziert und die Pumpfunktion nach Herzinfarkten verbessert. Trotz der überzeugenden klinischen Effekten ist der genaue Mechanismus der Gefäßneubildung nach SWT weitgehend unverstanden. Das Verständnis des Mechanismus wäre aber essentiell, um eine breite klinische Anwendung zu ermöglichen und damit vielen Patienten, die momentan nicht therapiert werden können, zu helfen.

Mikrovesikel sind sehr kleine Abschnürungen aus der Zellmembran, die durch verschiedene Reize z.B. mechanische Reize -freigesetzt werden können und mit umliegendem Gewebe kommunizieren können. In diesem Projekt soll untersucht werden, ob nach SWT Mikrovesikel frei werden und ob diese für den therapeutischen Effekt der SWT verantwortlich sind. Zu diesem Zweck werden aus menschlichen Zellen nach SWT Mikrovesikel gewonnen und mit einem speziellen Gel Mäusen unter die Haut gespritzt. Dieses Gel wird fest und ist so konzipiert, dass Blutgefäße einsprießen können. Nun soll untersucht werden, ob Mikrovesikel nach SWT zu vermehrter Blutgefäßbildung führen. Bei jeglichem Anzeichen von Leiden werden die Tiere sakrifiziert.

Eine verminderte Pumpfunktion als Folge von Herzinfarkten ist sehr häufig in der westlichen Welt. Nach wie vor existiert außer Organersatz keine heilsame Therapie. Betroffene Patienten haben eine massiv eingeschränkte Lebensqualität als auch Lebenserwartung. Die Stoßwelltherapie stellt eine vielversprechende neue Therapieoption dar, von der betroffene Patienten sehr profitieren könnten. Daher ist dieses Projekt von höchster klinischer Relevanz. Die subkutane Injektion stellt für die Tiere eine Belastung dar, die aber mittels der angegebenen Methoden so weit wie möglich vermindert werden soll.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Insgesamt werden in einem Zeitraum von 3 Jahren bis zu 180 Mäuse verwendet.

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

**Vermeidung:** Für alle Detailfragestellungen, die in Zellkulturexperimenten und Gewebekulturen beantwortbar sind, werden Tierversuche unterlassen. Wir verwenden beispielsweise zur detaillierteren Erkundung der angiogenetischen Vorgänge einen tube formation assay als auch unterschiedliche Proliferationsassays für Blutgefäßzellen.

**Verminderung:** Das Projekt ist stufenweise aufgebaut. Nur bei positiven Ergebnissen, d.h. Bestätigung der zuvor aufgestellten Hypothese wird der darauffolgende Schritt und daher die Verwendung weiterer Tiere durchgeführt. Damit soll vermieden werden, dass mit einem Mal eine hohe Tierzahl verwendet wird.

**Verfeinerung:** Für sämtliche Messungen sind modernste Analyseverfahren bzw. -geräte vorgesehen, sodass Effekte mit einer möglichst geringen Tierzahl detektiert werden können. Für die gesamte Dauer der Narkose werden die Tiere mittels einer Wärmeplatte gewärmt. Die Haltung der Tiere

erfolgt in Gruppenhaltung mit environmental enrichment. Die Tiere werden täglich visitiert und regelmäßig klinisch untersucht.

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

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

Fettleibigkeit/Adipositas stellt in der heutigen Gesellschaft ein enormes gesundheitliches aber auch ökonomisches Problem dar und die Tendenz ist stark steigend. In Österreich ist die Zahl der fettleibigen Jugendlichen stark zunehmend und jene der fettleibigen Erwachsenen stetig zunehmend. Abgesehen von der gesellschaftlichen Stigmatisierung bei der Fettleibigkeit oft mit Schwäche assoziiert wird, birgt die Adipositas ein hohes Risiko an Typ 2 Diabetes zu erkranken. Auch das Risiko von schweren Herz-Kreislaufkrankungen, Leberverfettung sowie einigen Krebserkrankungen steigt durch die Adipositas markant an. Genetische Untersuchungen haben gezeigt, dass Gene bei der Entstehung von Fettleibigkeit und den damit assoziierten Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielen. Bereits 40-70% sollen genetisch bedingt sein. Natürlich spielen auch Ess-, sowie und psychosoziale Komponenten eine bedeutende Rolle. Ein Schwerpunkt dieser Forschung besteht in der Charakterisierung genetisch veränderter Mausmodelle. Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten.

*zu erwartender Nutzen:* Die Gene zwischen Mensch und Maus sind meist sehr konserviert bzw. "homolog" und haben die gleichen oder ähnlichen Funktionen in Mensch und Tier. Die Herstellung und Untersuchung transgener Mausmodelle (Mäuse mit Genmutationen) liefert einen wichtigen Beitrag zur Erforschung der molekularen und biochemischen Veränderungen die ursächlich zur Entstehung vieler humaner Erkrankungen beitragen. Durch die Herstellung von Mäusen mit Verlust oder Überexpression von Genen ist es in der Vergangenheit gelungen Gene zu entschlüsseln, die eine wichtige Rolle im Fettstoffwechsel/Energiestoffwechsel/Fettleibigkeitsentwicklung in der Maus und im Menschen spielen.

*zu erwartender Schaden:* Die Belastung der Tiere durch Tierversuche wie z.B. Glukose- oder Insulintoleranztests, Blutabnahme oder Fasten der Tiere, um nur einige Versuche zu nennen, wird als "gering" oder "mittel" eingestuft.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Wir suchen im vorliegenden Antrag (Laufzeit 4 Jahre) um die Zucht und Genotypisierung von insgesamt 3388 Mäusen an, von denen 1050 Mäuse für weitere Tierversuche heran gezogen werden.

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

Generell wird versucht, Tierversuche durch den Einsatz von Zellkulturmodellen zu reduzieren. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus. Der Tierversuch wird einerseits als „Proof-of-Principle“ Experiment gesehen um die Voraussagen aus den Zellkulturexperimenten zu bestätigen bzw. um zu überprüfen ob der Verlust der Genfunktion oder die gesteigerte Expression eines Gens durch andere Gene oder Stoffwechselwege kompensiert werden kann. Die in diesem Antrag beschriebenen Mausmodelle werden ausschließlich zur Erforschung komplexer metabolischer Erkrankungen wie Diabetes, Fettleibigkeit, Leberverfettung und dgl. verwendet. Da diese Erkrankungen nicht einen Zelltyp bzw. ein Organ betreffen können ein Bereich der Fragestellung nicht durch Zellkulturexperimente beantwortet werden. Durch die gewissenhafte Planung der Experimente wird versucht, mit so wenigen Tieren wie möglich auszukommen. Die Anzahl ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodell und Kontrollmaus eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere hängt daher stark vom Experiment und liegt im Normalfall zwischen 5 und 10 Tieren. Außerdem wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet, so dass die Leiden der eingesetzten Versuchstiere reduziert und gezieltere Informationen aus den Experimenten gewonnen werden.

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*

*zu erwartender Schaden:* In einem ersten Projekt sollen transgene BACHD Ratten im Alter von ca. 12 Monaten in unterschiedlichen Verhaltenstests auf ihr Nestbauverhalten, ihre Ängstlichkeit, Motorik und Kognition untersucht werden. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und Gewebe für biochemische und histologische Untersuchungen entnommen. In einem zweiten Projekt soll der Barnes Maze Test zur Analyse von hippocampalem und striatalem Lernen etabliert werden und die BACHD Ratten im Test auf Lern- und Umlerndefizite untersucht werden. In einem dritten Projekt sollen BACHD Jungtiere auf ihre Vokalisation im Ultraschallbereich untersucht werden und im Anschluss Kanülen implantiert bekommen um wiederholt CSF von diesen Tieren entnehmen zu können, das dann auf krankheitsrelevante Pathologien untersucht werden soll.

Ziel der gesamten Studie ist es, die BACHD Ratten nach erfolgreicher Charakterisierung zur Austestung neuer, potentieller Therapeutika gegen die Huntington Krankheit anbieten zu können.

*zu erwartender Nutzen:* Die Huntington Krankheit (Chorea Huntington, Veitstanz oder engl. Huntington Disease, HD) ist eine autosomal dominant vererbliche, neurodegenerative Erkrankung mit breitem Symptomspektrum und tödlichem Ausgang. Die Krankheitssymptome lassen sich in die verschiedenen Kategorien (1) Motorfunktionsstörungen, (2) psychiatrische Veränderungen, (3) kognitive Funktionseinbußen und (4) metabolische Auffälligkeiten einteilen. HD ist eine Trinukleotidkrankheit. Bei gesunden Menschen wiederholt sich das Basentriplett CAG circa 9–34 Mal im betroffenen Huntingtin Gen. Triplettwiederholungen von mehr als 35 CAGs führen zur Ausprägung der HD. Je mehr Wiederholungen vorliegen, umso früher und schwerwiegender tritt die Krankheit auf. Im Durchschnitt erkranken HD-Patienten mit 40–50 Jahren und erleiden den frühzeitigen Tod 10–20 Jahre nach Einsetzen der klinischen Symptome. Derzeit gibt es keine Therapie, die das Ausbrechen der HD verzögern oder gar verhindern könnte.

Im vorliegenden Projekt soll der Verhaltensphänotyp der BACHD-Ratte weiter charakterisiert werden und dafür teilweise neue Verhaltenstests etabliert werden. Es sollen vor allem weitere Messparameter und Messprotokolle geprüft werden, die zur Beurteilung potentieller Therapeutika in präklinischen Studien eingesetzt werden können. Weiters soll eine wiederholte CSF Entnahme in der Ratte etabliert werden. Durch die longitudinalen CSF Entnahmen werden Untersuchungen des CSF über das Alter der BACHD Ratten erstmals möglich sein. Ferner wird dabei auch Grundlagenforschung betrieben, da die Pathogenese beim Menschen bislang nur unvollständig verstanden ist. Die Versuche sind unerlässlich, da sowohl die Grundlagenforschung als auch die Testung von Medikamenten zunächst im Tiermodell durchgeführt werden muss.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Für diese Studie werden insgesamt 266 Ratten beantragt.

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

Um die Huntington Krankheit erfolgreich zu behandeln, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen. Bereits vorhandene Tiermodelle wie z.B. die R6/2 Maus sind nicht sehr gut für die Testung neuer Medikamente geeignet, da dieses Modell bereits frühzeitig starke Defizite aufweist. Zusätzlich eignen sich Ratten auf Grund ihrer Lernfähigkeit und Sozialverhaltens besser für Verhaltenstests als Mäuse. Nur durch die Charakterisierung von neu entwickelten Huntington Ratten kann es möglich sein, im Anschluss neue und effiziente Medikamente gegen die Huntington Erkrankung zu testen.

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

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

Dieses Projekt beinhaltet Wirksamkeitstests neuer Wirkstoffe zur Behandlung von Schmerzen. Bis dato gibt es keine zufriedenstellende Behandlung von starken und chronischen Schmerzen beim Menschen. Eine verbesserte Schmerztherapie ist von hoher Wichtigkeit, da mehr als 20 Prozent der Bevölkerung von chronischen Schmerzen betroffen sind, welche derzeit noch immer inadäquat therapiert werden. Neben der erwünschten analgetischen Wirkung zeigen die derzeit zur Verfügung stehenden Schmerzmittel eine Reihe von unerwünschten Nebenwirkungen, welche deren Anwendung erschweren. Schwere und chronische Schmerzzustände, stellen nach wie vor ein großes medizinisches, soziales und volkswirtschaftliches Problem dar. In den letzten Jahren sind aber wichtige Fortschritte bei der Erforschung der molekularen Mechanismen, die der Schmerzempfindung zugrunde liegen, erzielt worden. Diese neuen Erkenntnisse haben wir zur Grundlage neuerer Entwicklungen im Bereich der Analgetika gewählt.

*zu erwartender Nutzen:* Die geplante Studie umfasst experimentelle Arbeiten, mit dem Ziel Wirkstoffe mit einem zielgerichteten pharmakologischen Profil, wissenschaftlich erwiesener Wirksamkeit und günstigem Sicherheitsprofil zu identifizieren und zu charakterisieren, um chronische und starke Schmerzen in Zukunft besser behandeln zu können.

Das Vorgehen erfolgt stufenweise. Zellkulturexperimente bilden die Basis des Projekts und sollen durch die Untersuchung im Tier unterstützt und ergänzt werden. Die durch extensive Vorversuche (in vitro Tests in Zellen) gewonnenen Erkenntnisse werden herangezogen, um jene Substanzen zu identifizieren, welchen hohe analgetische Wirksamkeit und geringes Nebenwirkungspotenzial vorausgesagt wird. Es soll geklärt werden, ob nach Administration der effektiven analgetischen Dosen Verhaltensänderungen der Tiere zu beobachten sind und welcher Wirkmechanismus für die Schmerzlinderung verantwortlich ist.

*zu erwartender Schaden:* In dieser Studie wird lediglich das Verhalten der Tiere nach Behandlung mit analgetischen Dosen des Wirkstoffes beobachtet, was nur eine mittlere Belastung für die Tiere darstellt. Die Erkenntnisse aus diesen Versuchen könnten eine wissenschaftliche Grundlage für die zukünftige bessere Behandlung von starken und chronischen Schmerzen liefern. Angesichts des möglichen großen Nutzens für den Menschen, erscheint die zu erwartende kurzzeitig Belastung der Mäusen ethisch vertretbar.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

904 Mäuse für den Zeitraum von drei Jahren.

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

*Vermeidung:* Es gibt derzeit kein in vitro System welches die geplanten Tierstudien ersetzen kann. Es existieren für die geplanten Tierversuche keine alternativen in vitro oder ex vivo Systeme. Für die vorliegenden Untersuchungen zu Verhaltensänderungen bei den Tieren müssen daher Tierversuche durchgeführt werden.

*Verminderung:* Um die Variabilität der Ergebnisse möglichst gering zu halten, werden alle Versuche standardisiert durchgeführt. Diese Vorgangsweise garantiert nicht nur eine internationale wissenschaftliche Vergleichbarkeit, sondern ermöglicht auch eine deutliche Reduktion der Anzahl benötigter Mäuse. Die jeweiligen Experimente beinhalten die minimale Anzahl an notwendigen Tieren, um eine statistische Aussage treffen zu können. Alle Experimente, Tiergruppen und Gruppengrößen sind auf das absolut notwendige Maß beschränkt, jedoch andererseits zum Erreichen des Versuchsziels unerlässlich.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden artgerecht in Gruppen gehalten und von sachkundigem Personal betreut. Die Versuche werden von sachkundigen Personen durchgeführt und zum frühest möglichen Zeitpunkt beendet. Auch wird immer darauf geachtet, das Leiden der Tiere so gering wie möglich zu halten.



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

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

Krebs ist eine genetische Erkrankung deren Verlauf durch verschiedene zelluläre Faktoren beeinflusst wird. Neben bekannten Faktoren wurde eine vermehrte Bildung der Cytoskelett Komponente Filamin A (FlnA) in verschiedenen Typen von Krebs beobachtet. Das Protein FLNA wurde in verschiedenen Studien als Tumorbildung unterstützender, wie auch als inhibierender Faktor identifiziert. Im Rahmen der Bildung des FLNA Proteins wird die entsprechende Ribonukleinsäure (RNA) an einer definierten Stelle "editiert" und dadurch zwei unterschiedliche Proteinvarianten gebildet, je nachdem ob Editierung stattfand. Im Rahmen dieses Tierversuchs werden Mäuse gezüchtet welche jeweils ausschließlich die editierte bzw. die nicht editierte Variante des FLNA Proteins bilden. Diesen Tieren wird einmalig eine Dosis Krebszellen unter die Haut bzw. intravenös injiziert um die Bildung eines primären Tumors bzw. die Streuung eines Tumors zu simulieren. Die Tiere werden keiner weiteren schmerzhaften Behandlung unterzogen und nach einem definierten Zeitraum narkotisiert und schmerzfrei euthanasiert. Anschließend wird in histologischen Untersuchungen die Größe des primären Tumors und die Anzahl der vorhandenen "gestreuten" sekundären Tumore ermittelt.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel dieser Studie ist es erstmalig herauszufinden, ob editierte und nicht editierte FlnA Proteinvarianten die Entstehung und Streuung von Krebs unterschiedlich beeinflussen. In solch einem Fall könnte eine (im Moment noch theoretische) Unterdrückung oder Förderung von FlnA Editing als zukünftige Therapieform in der Behandlung von Krebs dienen.

*zu erwartender Schaden:* Mäuse welche nur die nicht editierbare Variante von FLNA bilden zeigen keine erkennbaren phänotypischen Unterschiede zu "Wild Typ" Mäusen. Die Injektion der Tumorzellen erfolgt unter Anästhesie und stellt nur eine leichte Belastung dar. Die Mäuse werden nach der Injektion täglich auf ihren Gesundheitszustand untersucht und bei Auftreten von Leid jeglicher Art narkotisiert und euthanasiert. Die Simulation einer Streuung des primären Tumors wird nach 21 Tagen abgebrochen. Während des Tumorwachstums sind die Mäuse je nach Gruppenzugehörigkeit einer leichten bis mittleren Belastung ausgesetzt.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

132 Mäuse

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

*Vermeidung:* Auswirkungen der Editierung des FLNA Proteins kann leider nicht in Kultur von Krebszellen untersucht werden, da alle untersuchten Krebs-Zelllinien keine Editierung von FLNA zeigen. Die Versuchstiere werden unter sterilen und pathogenfreien Bedingungen in Kleingruppen gehalten um einem Auftreten haltungsbedingter Belastungen entgegen zu wirken.

*Verminderung:* Zur Züchtung werden Mäuse herangezogen, welche in der Lage sind, eine gewisse Menge an editiertem FLNA Protein zu bilden. Die Nachkommen dieser Mäuse bilden jeweils die editierbare bzw. die nicht editierte Variante von FLNA. Somit werden beide experimentelle Gruppen im Rahmen der Züchtung gebildet. Werden im Pilot Experiment keine primären bzw. gestreuten Tumoren induziert, so wird der Versuch an dieser Stelle abgebrochen um unnötiges Tierleid zu verhindern.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden während des gesamten Tierversuchs lediglich einer einzigen Injektion von Tumorzellen durch ausgebildetes Personal ausgesetzt. Tägliche tierärztliche Kontrollen stellen sicher, dass die Tiere keinem unnötigen Leid ausgesetzt werden. Alle Untersuchungen der Tiere werden von geschultem Personal unter konstanten Bedingungen durchgeführt um einen Gewöhnungseffekt zu erzielen und die Tiere nicht unnötig zu belasten. Bei Auftreten von Beeinträchtigungen bzw. spätestens 21 Tage nach intravenöser Injektion werden die Tiere unter Narkose schmerzfrei euthanasiert und histologisch untersucht.

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*

Unabhängig von der zu untersuchenden Krankheit, dienen Pharmakokinetikstudien der Ermittlung der Resorptions-, Distributions-, Metabolisierungs und Exkretionsraten eines neuen Medikaments. Es wird also untersucht wie schnell ein Medikament vom Organismus aufgenommen wird, was von der Behandlungsrouten abhängig ist. Weiters wird die Verteilung der Substanz in den verschiedenen Geweben untersucht und letztendlich die Abbauraten, also die Zeit bis die Substanz zu 50% oder komplett aus dem Organismus entfernt ist. Letztlich kann auch untersucht werden auf welchem Wege und wie schnell eine Substanz den Organismus verlässt wenn sie nicht abgebaut wird.

In der vorliegenden Studie soll die Pharmakokinetik zweier neuer Antikörper-Wirkstoff-Konjugate untersucht werden. Antikörper-Wirkstoff-Konjugate werden in der Biochemie zur Immunmarkierung von Biomolekülen oder in der Therapie von Krebs als Chemoimmunkonjugate eingesetzt. Die Kopplung eines Moleküls an die Antikörper erfolgt im Zuge einer Molekülmarkierung. Mit Hilfe des Antikörpers wird eine selektive Bindung an eine bestimmte Zielstruktur einer Zelle oder eines Moleküls erreicht. Dies kann beispielsweise eine Tumorzelle sein, die auf ihrer Oberfläche ein bestimmtes Antigen präsentiert. Das konjugierte funktionale Molekül kann – im Fall einer therapeutischen Anwendung – beispielsweise ein Toxin sein, das an seinem Bestimmungsort eine zytotoxische Wirkung entfalten kann. Durch die selektive Anbindung an die Zielstruktur, wird der Wirkstoff nur am gewünschten Ort freigesetzt. Gesunde Zellen werden dabei weitgehend verschont.

In der vorliegenden Studie sollen die Metabolismusrate von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten gegen HER2 positiven Brustkrebs untersucht werden. Der Antikörper bindet dabei spezifisch an das HER2 Antigen und setzt den Wirkstoff Maytansinoid an der Tumorzelle frei, so dass dieses gezielt an der Tumorzelle aktiviert wird und seine zytotoxische Wirkung entfalten kann. Da in dieser Studie die Substanz i.v. gegeben wird, kann die Resorption nicht untersucht werden. Außerdem wird die Verteilung der Substanz im Körper nicht untersucht, da der Antikörper nur an HER2 positive humane Zellen binden sollte, von denen die Mäuse keine haben. Es wird somit ausschließlich die Metabolismusrate der Substanzen untersucht was zur Bestimmung der zu gebenden Konzentration und Behandlungsrate in zukünftigen Effizienzuntersuchungen unerlässlich ist.

*zu erwartender Nutzen:* In diesem Projekt soll die Pharmakokinetik zweier neuer Antikörper-Wirkstoff-Konjugate in wildtyp Mäusen untersucht werden.

*zu erwartender Schaden:* Dafür werden CD1 Mäuse intravenös mit den Antikörperkonjugaten injiziert und die Tiere nach 6 verschiedenen Zeitpunkten euthanasiert und Blut entnommen. Das Blut wird auf Konzentrationen der Antikörper-Wirkstoff-Konjugate untersucht. Durch diese Studie wird es möglich sein die Stabilität und somit die Metabolisierungsrate der neuen Antikörper-Wirkstoff-Konjugate zu ermitteln. Für weitere *in vivo* Untersuchungen kann so die benötigte Substanzkonzentration und Behandlungsfrequenz ermittelt werden.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Für diese Studie werden insgesamt 125 CD1 Mäuse beantragt.

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

Um Medikamente gegen Tumorerkrankungen zu testen, 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

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

Rezessive dystrophe Epidermolysis Bullosa (RDEB) ist eine erblich bedingte Erkrankung, die zu massiven Blasenbildungen innerhalb der Basalmembranzzone (BMZ) der Haut und der Schleimhäute führt. Neben der massiven Blasenbildung weisen RDEB Patienten ein erhöhtes Krebsrisiko auf und können bereits in jungen Jahren ein aggressives Plattenepithelkarzinom (Squamous cell carcinoma, SCC) entwickeln. Bis dato gibt es keine erfolgreichen Chemo- oder Strahlentherapien und aufgrund des erhöhten Potentials zur Metastasierung müssen die Tumore in chirurgischen Eingriffen großflächig entfernt werden. Deshalb ist es notwendig neue Therapie-Ansätze für diese Patientengruppe zu entwickeln. Unser Ziel ist die Evaluierung eines neuen Krebsimmuntherapie-Ansatzes als Therapiestrategie gegen diese aggressive Form des Plattenepithelkarzinoms. Das Immunsystem wird als unser bestes Arsenal gegen Krankheiten betrachtet. Bei der Krebsimmuntherapie wird das Immunsystem in der Bekämpfung gegen Krebs herangezogen. Die Erfolge der neuesten klinischen Studien auf dem Gebiet der Immuntherapie zeigen, dass dies eine potente Strategie, besonders für Patienten mit fortgeschrittenen und aggressiven Krebsformen ist. Da die Komplexität des Immunsystems nicht adäquat in vitro nachgestellt werden kann, sind Versuche in Tiermodellen zur genauen Beurteilung unsere anti-Krebs-Strategie notwendig.

*zu erwartender Nutzen:* Entwicklung von neuartigen therapeutischen Möglichkeiten für diese aggressive Krankheit.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Alle Eingriffe verursachen nur minimale Beschwerden oder Schmerzen in den Mäusen und es sind keine Komplikationen zu erwarten.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Mus musculus,

Anzahl: Gesamt 120 Tiere

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

*Vermeidung:* Forscher sollten immer Methoden wählen, die auf Tierversuche verzichten, sofern es für die Erlangung des wissenschaftlichen Zieles möglich ist. Tiermodelle sind die beste Möglichkeit Interaktionen des Immunsystems zu studieren, da die Komplexität des Immunsystems eines lebenden Individuums nicht adäquat in vitro nachgestellt werden kann. Außerdem ist im präklinischen Entwicklungsgang von neuen Therapieansätzen das Sammeln von Informationen für die Evaluierung von Wirksamkeit und Sicherheit durch Studien in Tieren essenziell, da dies die Grundvoraussetzung für eine spätere und sichere Studie im menschlichen Körper darstellt. Um die Wirksamkeit der Immuntherapie richtig zu testen, sind daher Experimente mit lebenden Tieren erforderlich. Für den vorliegenden Tierversuch gibt es daher keine in Frage kommenden Ersatzmethoden.

*Verminderung:* Experimente sollten so entworfen sein, dass ein vergleichbarer Level an Information von der geringstmöglichen Anzahl an Tieren erreicht werden kann, oder dass mehr Erkenntnisse von der gleichen Anzahl an Tieren erlangt werden kann. Dadurch wird die Anzahl an benötigten Mäusen bei einem gleichbleibenden Informationsgrad reduziert. Da die geplante Studie eine sogenannte Pilotstudie ist, ist nur wenig vorausgehende Information vorhanden, die für eine Schätzung an benötigten Tieren herangezogen werden kann. Wir haben versucht die Anzahl der benötigten Mäuse mittels folgender Maßnahmen so gering wie möglich zu halten: (1) sorgsame Definition unserer Ziele, (2) effizienter Entwurf des Experiments um die definierten Ziele klar erreichen zu können und um eine Wiederholung der Experimente auf Grund von unklaren Resultaten zu vermeiden, und (3) Verwendung der gleichen Tiere für die Abklärung mehrerer Ziele.

*Verfeinerung:* Die Belastung für das Labortier soll auf das geringste Maß reduziert 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

Eingriffs-/Operationstechniken und 4. optimale post-operative Betreuung, einschließlich exakter Anwendung von möglichst schmerzloser Endpunkte.

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

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

*Fusarium* Mykotoxine, sekundäre Metaboliten von zahlreichen Gattungen der *Fusarium* Schimmelpilze, treten weltweit in Getreide und Tierfutter natürlich auf. Sie können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen und sind von beträchtlichem Interesse in Bezug auf Gesundheit und Produktivität vieler Schweine- und Geflügelproduzenten. Von allen *Fusarium*toxinen ist Deoxynivalenol (DON) das am meisten untersuchte und es führt bei Nutztieren zu reduzierter Futterraufnahme und Wachstumsverlusten, gastrointestinalen Störungen, neuroendokrinen und hepatologischen Veränderungen sowie Beeinträchtigung des Immunsystems. Der zelluläre Effekt von DON wird auf dessen Fähigkeit die Proteinsynthese zu hemmen zurückgeführt. Die Sensitivität gegenüber DON ist bei diversen Spezies unterschiedlich, wobei Schweine besonders sensitiv gegenüber DON sind. Die Gründe für diese Empfindlichkeit der Schweine sind nicht vollständig klar, wobei sicherlich der große Getreideanteil in Schweinerationen diese Spezies höheren DON Konzentrationen und anderen Mykotoxinen aussetzt. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits mehr als 55% des weltweiten Futters und Mischfutters mit DON kontaminiert sind. Die große Niederschlagsmenge letzten Sommers (2014) schuf eine hervorragende Umgebung für *Fusarium* Mykotoxine, was dazu führte, dass 92% aller europäischen Getreideproben positiv auf DON getestet wurden, teilweise wurde sehr hohe Kontaminationen (>10 mg DON/kg) beobachtet. Das Toxin ist hitzestabil und kann folglich nicht während des Futterherstellungs- oder bearbeitungsprozesses eliminiert werden.

*zu erwartender Nutzen:* Aus diesem Grund ist es notwendig die Wirkungsweise des DON im Tier zu blockieren und die Belastung dadurch für das Tier zu reduzieren.

*zu erwartender Schaden:* Es werden vier männliche Absetzferkel pro Gruppe (insgesamt drei Gruppen somit insgesamt 12 Tiere) für den Versuch verwendet. Den Tieren wird während der 3 tägigen Projektphase zweimal Blut abgenommen, sowie Urin und Kot auf Metaboliten untersucht.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

12 Absatzferkel

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

*Replacement:* Da die Abklärung des Metabolismus des Mykotoxins DON und seinen Metaboliten und der Nachweis von Biomarkern nur in einer in vivo Studie erfolgen kann, ist es nicht möglich auf eine Ersatz,- bzw. Ergänzungsmethode (in vitro, etc.) auszuweichen.

*Reduction:* Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (vier Absetzferkel pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

*Refinement:* Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Die Versuchsdauer (3 Tage) wurde so gewählt, dass die Ferkel nur so kurz als möglich unter Stress stehen. Um eine genaue Trennung der Kot- und Urinmengen zu gewährleisten, kommen die Tiere einzeln in Stoffwechsellkäfige (insgesamt 12 Stück, die nebeneinander aufgestellt werden, damit sich die Tiere hören, riechen und sehen können). Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Wasser gehalten und täglich von geschultem Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut. Als Enrichment wird den Tieren „Ferkelspielzeug“ angeboten.

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

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

Lipoprotein hoher Dichte (HDL) -umgangssprachlich auch oft "gutes Cholesterin" genannt, erfüllt im Körper zahlreiche wichtige Aufgaben. HDL spielt eine zentrale Rolle im Cholesterinstoffwechsel und besitzt anti-entzündliche Eigenschaften. Ausreichend hohe HDL-Werte gelten als optimal und sollen vor Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems schützen. Neue Studien zeigen, dass HDL unter physiologischen Bedingungen ein potenter Negativregulator systemisch entzündlicher Prozesse ist und, dass HDL anti-inflammatorische Funktionen auf Immunzellen ausübt. Apolipoproteine sind ein wesentlicher Bestandteil des HDLs und besitzen ebenfalls anti-entzündlich und anti-oxidative Eigenschaften. Bislang konnte gezeigt werden, dass Apolipoproteine eine hemmende Wirkung auf Neutrophile, Monozyten und auch Basophile vermitteln. Außerdem führten Apolipoproteine in ersten *in vivo* Studien zu einer Reduktion von allergischen und chronisch-entzündlichen Prozessen. Allerdings sind die Mechanismen dieser Funktion der Apolipoproteine und Lipoproteine bisher wenig verstanden. Ziel dieses Projekts ist es die Rolle von Apolipoproteinen und HDL in der Pathogenese allergischer und entzündlicher Erkrankungen anhand verschiedener etablierter Mausmodelle, deren pathologische Merkmale der des Menschen sehr ähnlich sind, zu untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Das Hauptziel der Studie ist es die bisher weitgehend unbekannt Rolle von Apolipoproteinen und HDL in der Pathogenese verschiedener Allergie- und Entzündungsmodelle zu untersuchen. Die Experimente mit diesen Tieren stellen einen großen Wissensgewinn in Aussicht, der in weiterer Folge zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze in der Pharmakologie und Humanmedizin genutzt werden kann.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Für diese Untersuchung werden sowohl Wildtyp als auch transgene Tiere herangezogen. Aus früheren Beobachtungen sind kaum bis geringe Beeinträchtigungen der Vitalität dieser transgenen Tiere bekannt. Die während der Lebenszeit der Tiere geplanten Untersuchungen erfolgen mit bereits etablierten Methoden, die in dieser Form in unserer Einrichtung bereits angewandt werden und das Tierleid auf ein absolutes Minimum begrenzen.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Es sollen 606 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren in die Versuche einfließen.

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

*Vermeidung:* An der Entstehung von allergischen und chronisch-entzündlichen Erkrankungen, sind verschiedene pathophysiologische Faktoren und zahlreiche Zelltypen beteiligt. Die verschiedenen Zelltypen interagieren untereinander nur im funktionierenden Organismus. Aus diesem Grund können Fragestellungen nicht oder nur schlecht in einem isolierten Organsystem oder einer Zellkultur adressiert werden und verlangen den Einsatz von murinen Krankheitsmodellen.

*Verminderung:* Abgeleitet aus *in vitro* Daten und Daten aus der Literatur wird versucht, die Anzahl der Mäuse in den Versuchsgruppen auf ein Minimum, welches noch eine statistische Signifikanz erlaubt, zu halten. Gleichzeitig sollen in allen Versuchen immer mehrere Parameter bestimmt werden, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal auszunutzen. Dies wird durch genaue Planung des Versuchsablaufs erreicht.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden von ausgebildeten und geprüften Tierpflegern versorgt und in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Für das Wohlbefinden der Tiere wird ihnen Enrichment in Form von Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

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

Die Fettleibigkeit (Adipositas) mit ihren Folgeerkrankungen wie z. B. Typ 2 Diabetes (nicht-insulinabhängiger Diabetes), Herz-Kreislaufkrankungen, Atherosklerose und Leberverfettung sind ein großes kostspieliges Gesundheitsproblem. Die drastische Zunahme der Adipositas geht Hand in Hand mit einer weltweiten Zunahme an Typ 2 Diabetes und Atherosklerose. Die Ursachen liegen einerseits in einer einseitigen fettreichen Ernährung, andererseits in einem Mangel an Bewegung. Atherosklerose und deren klinische Komplikationen, wie Myokardinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen Hypercholesterinämie und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. Wir untersuchen die molekularen Mechanismen und Gen-Defekte, die bei Fettstoffwechselstörungen eine Rolle spielen. Ein Schwerpunkt dieser Forschung besteht in der Charakterisierung genetisch veränderter Mausmodelle.

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.

*zu erwartender Nutzen:* die Mechanismen des Fehlens von Lipasen und eines wichtigen Autophagiemarkers in den verschiedenen Geweben deutlich besser zu verstehen, was die Grundlage für Therapieansätze sein könnte

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* ein etwas erhöhter Stresspegel durch Injektionen, Blutabnahmen und Gavagen; nach OP werden die Tiere mit Schmerzmitteln behandelt

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

887 Mäuse

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

*Vermeidung:* Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da die Fragestellung der Relevanz und der Auswirkungen des Fehlens der von uns untersuchten Proteine auf den gesamten Organismus nur in vivo zu beantworten ist.

*Verminderung:* Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten. Neben Blut werden sämtliche Gewebe in standardisierter Weise entnommen und nach Vorkühlung in Methylbutan in flüssigem Stickstoff und nach Formalinfixierung in Paraffin gelagert, um eventuell nötige Nachbestimmungen unter Minimierung des Tierbedarfs durchführen zu können.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen werden den Tieren Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt, um den Stress bei den Kontrollen und Messungen zu minimieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2020 vorgesehen.

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

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

Lungenkrebs ist die führende Krebstodesursache weltweit. Rauchen ist ein wichtiger Risikofaktor, jedoch tritt Lungenkrebs auch bei Nichtrauchern auf, bedingt z.B. durch krebsauslösende Stoffe in der Umwelt und Atemluft. Meist wird der Lungenkrebs erst im fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert, und die Prognose ist trotz verbesserter Chemotherapie sehr ungünstig. Seit fast hundert Jahren ist bekannt, dass Tumorzellen einen veränderten Stoffwechsel aufweisen, der ihnen eine rasche Zellteilung und damit rasches Tumorwachstum ermöglicht. Erst seit einigen Jahren beginnt man jedoch zu verstehen, wie genau der Stoffwechsel in Tumorzellen umprogrammiert wird und wie sich diese an die extremen Bedingungen in ihrer Umgebung anpassen. In den vergangenen Jahren konnte unsere Arbeitsgruppe ein Enzym im Stoffwechsel von Lungentumorzellen identifizieren, welches ihnen das Überleben unter Mangelbedingungen ermöglicht. Die Hemmung dieses Enzyms zeigte vielversprechende Ergebnisse in umfangreichen Zellkulturversuchen und in einem *in vitro* 3D-Modell. Da die *in vitro* Möglichkeiten ausgeschöpft sind, kann die Rolle dieses Enzyms für das Tumorwachstum nur im Tiermodell weiter geklärt werden. So kann ermittelt werden, wie Tumorzellen auf eine Hemmung dieses Enzyms direkt im Tumor reagieren, und ob diese Enzymhemmung ein möglicher neuer Therapieansatz sein könnte. Dieses Enzym wird in sehr gut charakterisierten Tumorzellen mittels spezifischer, molekularbiologischer Methoden ausgeschaltet, und die Dynamik des Wachstums dieser Zellen in subkutan (unter der Haut) wachsenden Tumoren wird vermessen. Um eine genaue Information über die Stoffwechselbedingungen in den Tumoren zu erhalten, werden die Tiere unter Narkose zusätzlich einmalig in einem hochmodernen, für Kleintiere konstruierten Magnetresonanzgerät untersucht.

*zu erwartender Nutzen:* Das Verständnis der Mechanismen des Tumorwachstums entscheidend verbessern und einen möglichen neuen Therapieansatz durch die Enzymhemmung in wachsenden Tumoren zu finden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tumore beeinträchtigen die Tiere nicht, da eine Maximalgröße nicht überschritten wird.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

38 athymische, immunsupprimierte Mäuse werden benötigt.

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

*Vermeidung:* Der Antrag erfolgt aufbauend auf signifikante *in vitro* Daten, die eine wichtige Rolle des Enzyms für das Tumorwachstum unterstützen und eine Untersuchung im Tiermodell unumgänglich machen. Diese *in vivo* Versuche sind weltweit die ersten, daher kommt es nicht zu wiederholter/doppelter Versuchsdurchführung.

*Verminderung:* Durch sorgfältige Planung und umfangreiche vorangegangene Zellkulturversuche, ist es möglich, die Anzahl an Tieren auf ein Minimum zu reduzieren. Es werden nur so viele Tiere verwendet, die unbedingt nötig sind, um statistisch signifikante Aussagen treffen zu können.

*Verfeinerung:* Es wird größter Wert auf eine sanfte Behandlung der Tiere durch geschultes Personal, auf ausreichenden Platz und Haltung in Gruppen, sowie auf die Beibehaltung des natürlichen Tag/Nacht-Rhythmus gelegt. Den Tieren wird Enrichment in Form von Nestbaumaterial angeboten. Nach Anlieferung der Tiere bekommen diese zumindest eine Eingewöhnungszeit von einer Woche, bevor der Versuch startet.



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**

*zu erwartender Nutzen:* Studien haben gezeigt, dass die Monokolonisation von tragenden Mäuse mit rekombinanten, probiotischen Lactobacillen, welche das Hauptallergen der Birke, Bet v 1, exprimieren, das Entstehen von experimenteller-induzierter Birkenpollenallergie verhindern konnte. Diese Ergebnisse haben bewiesen, dass die Entwicklung des neonatalen Immunsystems durch die maternale Verabreichung von rekombinanten, probiotischen Bakterien bereits in utero beeinflusst werden kann.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Im Rahmen dieses Versuchs werden rekombinanten, probiotischen Bakterien, die Multiallergen-Chimäre (Hybrid proteine bestehend aus mehreren unterschiedlichen Allergenen) exprimieren, Mäusen während der Trage- und Säugezeit (perinatal) verabreicht. Dabei soll getestet werden ob die perinatale Verabreichung der chimäre-exprimierenden Bakterien Toleranz in den Nachkommen induziert und damit experimentell-induzierte Grass- und Birkenpollenallergie (Polysensibilisierung) verhindert. Des Weiteren soll unter zu Hilfenahme von in vivo imaging Systemen, die Kolonisation und Interaktion von probiotischen Bakterien mit der mukosalen Oberflächen umfassend charakterisiert werden und damit zum besseren Verständnis des Zusammenspiels zwischen Gastrointestinaltrakt und Lunge beitragen. Ziel dieses Tierversuchs ist es zu untersuchen ob multiallergen-chimäre-exprimierende, probiotische Mikroorganismen als prophylaktische Maßnahme zur Verhinderung von Polysensibilisierung eingesetzt werden können. Diese Studie soll weiters dazu beitragen neue und innovative Möglichkeiten zur primären Prävention von Allergien zu eröffnen. Durch die Anwendung von bereits etablierter und standardisierter Methoden wird der Schaden für die Tiere als gering erachtet.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es sollen 1015 Mäuse eingesetzt werden.

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

*Vermeidung:* Die Modulation des Immunsystems durch pro-biotischen Bakterien ist ein vielschichtiges Zusammenspiel zwischen verschiedener Zelltypen, Mikroben und löslichen Faktoren. Solche komplexe Vorgänge könne in in vitro Systemen nicht adäquat nachgeahmt werden. Weiters erfordert der Einsatz, von in dieser Studie genutzten Bildgebungssysteme, die Verwendung von lebenden Versuchstieren.

*Verminderung:* Durch die Verwendung von Inzuchtlinien und vereinheitlichten Haltungsbedingungen wird die Streuung und dadurch die Anzahl der Versuchstiere so gering wie möglich gehalten. Die Fallzahl wurde so berechnet um die Anzahl der Versuchstiere so niedrig wie möglich zu halten sowie statistische Aussagekraft der Ergebnisse zu gewährleisten. Bei den in dieser Studie verwendeten Bildgebungssystemen handelt es sich um non-invasive Techniken bei denen das lebende Tier mehrfach untersucht werden kann und nicht zu Schaden kommt. Durch die Standardisierung dieser Methoden wird die Belastung für das Tier als gering eingestuft.

*Verfeinerung:* Durch möglichst stressfreie und standardisierte Bedingungen wird die Belastung für die Tiere so gering wie möglich gehalten. Soziale Haltung sowie Anreicherung der Umgebung soll die Qualität der Tiere garantieren und somit auch die Anzahl der Versuche verringern. Des Weiteren wurden zahlreiche für die Analyse notwendigen Methoden in vitro etabliert und standardisiert.

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**

**zu erwartender Schaden:** In dieser Studie soll eine Inzucht-Mauslinie für Ängstlichkeit und eine Mauslinie für verringerte Ängstlichkeit charakterisiert werden. Dafür werden die Tiere in vier Verhaltenstests auf ihre allgemeine Gesundheit, Aktivität, Ängstlichkeit und Sozialverhalten untersucht. Parallel dazu werden Tiere jedes Mausmodells mit einer Positivsubstanz behandelt und die Effekte in den unterschiedlichen Tests analysiert. Durch die Charakterisierung der Inzuchtlinien und die Etablierung der Positivsubstanz sollen die Mauslinien zügig für die Austestung neuer Medikamente gegen Angstzustände eingesetzt werden können.

**zu erwartender Nutzen:** Die Hauptkritik an heutigen Therapien von Gemütskrankungen ist, dass vorhandene Behandlungen nur auf die Symptome zielen nicht jedoch die zu Grunde legenden molekularen Mechanismen beachten. Einer der Gründe dafür ist, dass die Mechanismen dieser Krankheiten kaum bekannt sind. Tiermodelle von Gemütskrankungen beruhen meist auf veränderten Stresssituationen, so dass sie nur vereinfachte Modelle der menschlichen Krankheiten darstellen können. Zusätzlich sind psychiatrische Krankheiten oft nur auf Basis von Verhaltenssymptomen und nicht auf pathologischen molekularen Mechanismen diagnostiziert. Die vom Arzt verschriebenen Medikamente binden jedoch an bestimmte molekulare Ziele. Es ist daher deutlich, dass eines der schwersten Probleme der heutigen psychiatrischen Forschung das fehlende Wissen über die molekularen Mechanismen der Krankheiten ist. Die Entwicklung von Medikamenten gegen Angstzustände war dabei noch recht erfolgreich, da frühe angstlösende Substanzen an nur einer limitierten Anzahl an Aminosäuren und Monoaminrezeptoren ansetzte. Viele Jahre der Forschung haben Störungen in der Funktion des Serotoninrezeptors als Auslöser für Angstzustände aufgedeckt. Fortschritte in der Zellbiologie haben jedoch zu einem Wechsel in der Denkweise geführt, so dass heute intrazelluläre Signalwege im Fokus der Angstforschung stehen. In der vorliegenden Studie soll daher ein Mausmodell für Ängstlichkeit auf seine Verhaltenseigenschaften untersucht werden. Das Modell wurde generiert, in dem immer die ängstlichsten Tiere eines Wurfs miteinander verpaart wurden, so dass es im Verlauf von mehreren Generationen zu einer Anreicherung der ängstlichen Eigenschaften der Mauslinie kam. Durch diese Selektion kommt es zusätzlich zu einer erhöhten bzw. verringerten Expression von bestimmten Genen die mit ängstlichem Verhalten assoziiert sind. Erste Studien mit dieser Mauslinie belegen den ängstlichen Phänotyp der Tiere, hier soll nun dieser Phänotyp und der angstlösende Effekt von Buspirone als Positivkontrolle bestätigt werden, so dass die Tiere in Zukunft für die Austestung von neuen Medikamenten gegen Angstzustände eingesetzt werden können.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Für diese Studie werden 240 Mäuse im Alter von 12-15 Wochen beantragt.

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

Um Medikamente gegen Ängstlichkeit zu testen, 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): Grundlagenforschung

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

**Zu erwartender Nutzen:** Mit Hilfe der geplanten Experimente werden wichtige Erkenntnisse über Ökosystemprozesse erwartet, die über ein besseres Verständnis der Rolle von Wirts-Vektor Parasiten Interaktionen in urbanen Ökosystemen entlang eines menschlichen Landnutzungsgradienten (d. h. rural zu urbanen Landschaften) Aufschluss geben werden. Diese Erkenntnisse können sowohl für eine Optimierung von Schutzstrategien für den Erhalt von Ökosystemen und den Schutz von Wildtierpopulationen herangezogen werden, als auch für eine Weiterentwicklung der Konzepte, wie andere verwandte Wirt-Vektor-Parasitensysteme (z. B. humane Malaria, Borreliose, West-Nile-Virus, etc.) durch menschliche Landnutzung beeinflusst werden.

Aufgrund der zu erwartenden Ergebnisse und deren Nutzen, halten wir die geplanten Versuche für ethisch vertretbar und von wesentlicher Bedeutung für die Lösung wissenschaftlicher Fragestellungen. Die Bearbeitung des Projektes wird dem Gemeinwohl dienen, indem rural-urbane Gradienten langfristig auf solche Bedingungen angeglichen werden können, unter welchen u. U. weniger Krankheitserreger übertragen werden können.

**Zu erwartender Schaden für die Tiere:** Schäden durch den Versuch sind nicht zu erwarten Der einzige Effekt ist gering und vorübergehend durch das Einstechen der Kanüle zur Blutabnahme bedingt. Dies ist als Kurzzeitstress von kurz anhaltender Dauer und für die Individuen insgesamt als gering zu bewerten. Jedem Individuum wird einmal Blut abgenommen (individuelle Beringung garantiert, dass weitere Blutabnahme des gleichen Individuums vermieden wird). Die Bearbeitung pro Vogel von Fang bis zum Freilassen dauert i.d.R. nicht länger als 5 Minuten.

Weitere Schmerzen, Leiden oder Schäden der Versuchstiere sind nicht zu erwarten.

Es handelt sich um wildlebende Tiere die weder extra gezüchtet werden, noch irgendwie vorher oder anschließend für andere Versuche genutzt werden.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Kohlmeisen (*Parus major*) entlang eines rural-urbanen Gradienten (4 Klassen im Gradienten): insgesamt 600 Individuen für den Gesamtversuch.

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

**Vermeidung:** Da sich unser Untersuchungssystem mit wildlebenden Individuen in einer Naturlandschaft befasst, würde jeder Versuch, dies durch künstliche System oder in Gefangenschaft gehaltener Individuen zu ersetzen, zumindest verfälschen und den Aspekt „menschliche Landnutzung“ (d. h. Urbansierung) nicht abbilden. Von daher ist es unerlässlich das System im Freiland zu studieren. Sobald das statistische Mindestmaß in Anzahlen pro Klasse erreicht ist (80 erfolgreiche Blutabnahmen pro Klasse und Jahr), wird keinem weiteren Individuum in dieser Konstellation Blut abgenommen.

**Verminderung:** Durch „best practice“ und Schulungen zu sachgerechter Handhabung für alle MitarbeiterInnen werden die potentiellen Beeinträchtigungen auf das absolut mögliche Mindestmaß beschränkt. Zusätzlich wird jedem Individuum nur einmal Blut abgenommen.

**Verfeinerung:** Weitere Tierarten, die ggf. weniger Schmerzen empfinden stehen in dem Wirt-Vektor-Parasiten Interaktionssystem (Haemosporidien, Borreliose, etc.) nicht zur Verfügung, da Invertebraten z. B. nicht durch dieses System betroffen sind.

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*

All-trans Retinsäure (atRA) ist eine körpereigene, von Vitamin A abgeleitete Substanz, die unter anderem die Vermehrung und Ausreifung von Blutzellen reguliert. Aufgrund dieser Eigenschaft wird atRA mit großem Erfolg und geringen Nebenwirkungen in der Behandlung einer bestimmten Form der akuten myeloischen Leukämie (AML), nämlich der akuten Promyelozytenleukämie (APL), eingesetzt. Im Gegensatz dazu waren bisherige klinische Studien von atRA in anderen AML-Formen kaum oder gar nicht erfolgreich. Aufgrund von Erkenntnissen der letzten Jahre wird davon ausgegangen, dass bei der Behandlung von Leukämien nur durch das Abtöten einer bestimmten Subpopulation der Leukämiezellen, nämlich der sog. leukämischen Stammzellen, ein Wiederauftreten der Erkrankung verhindert werden kann. Die Wirkung von atRA auf leukämische Stammzellen ist aber bisher nur unzureichend erforscht, und soll daher im Rahmen des gegenständlichen Projekts untersucht werden. Da Stammzeleigenschaften unter im Labor zur Erhaltung und Vermehrung von Zellen verwendeten Bedingungen nur für sehr kurze Zeit erhalten werden können, sind für valide Aussagen zu dieser Fragestellung Tierversuche unvermeidbar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Versuchsmäuse werden an Leukämie erkranken. Um ihr Leiden zu minimieren, werden sie zu dem Zeitpunkt, wo die Krankheit manifest ist, schmerzfrei euthanasiert.

*zu erwartender Nutzen:* Ein besseres Verständnis der Wirkung von atRA auf leukämische Stammzellen soll es erlauben, klinische Studien mit diesem Agens so zu adaptieren, dass eine therapeutische Wirksamkeit auch in anderen AML-Formen als der APL erzielt werden kann. Die APL hat sich durch die Therapie mit atRA von einer der aggressivsten Formen der AML zu der am besten behandelbaren AML-Untergruppe, mit Langzeitüberlebensraten um 90%, gewandelt. Hingegen verlaufen andere Formen der AML noch immer trotz intensiver und belastender Chemotherapie in der Mehrzahl der Fälle tödlich. Sollten die geplanten Untersuchungen, wie erwartet, zu einem erfolgreichen Einsatz der nebenwirkungsarmen Substanz atRA in mehreren oder allen Untergruppen der AML beitragen, so wäre der medizinische Nutzen für Patientinnen mit dieser lebensbedrohenden Krankheit sehr hoch.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 372 Mäuse verwendet.

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

Die den geplanten Experimenten zugrunde liegende Hypothese kann nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft nur unter Verwendung von Versuchstieren geprüft werden. Die minimale Anzahl an Tieren, mit der aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können, wird auf Basis von nur wenige Tiere involvierenden explorativen Experimenten mittels einer sorgfältigen statistischen Analyse ermittelt werden. In sämtlichen Experimenten werden Schmerz- und Stresssituationen für die Tiere vermieden: Tiere werden täglich von geschultem Personal kontrolliert und bei Anzeichen einer Leukämieentwicklung (eingeschränktes Ess-, Trink- und Bewegungsverhalten = Abbruchkriterien) schmerzlos euthanasiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2021 vorgesehen.

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

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

Im Rahmen von Tumorerkrankungen kommt es unter anderem zu Veränderungen im Energiestoffwechsel. Die Deregulation insbesondere des Fettstoffwechsels und daraus resultierende Folgeerscheinungen können zu einer schlechteren Prognose bei Tumorpatienten führen. Um ein besseres Verständnis für die regulatorischen Mechanismen zu erhalten, wurden in der Vergangenheit bereits verschiedene Mausmodelle etabliert.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel des Projektes ist es, kritische Proteine des Fettabbaus in der Pathogenese von Lungenkrebs zu untersuchen. Wir wollen daher die Stoffwechsel-Zusammenhänge, mit Schwerpunkt Fettstoffwechsel, im Tumorgeschehen analysieren. In weiterer Folge könnte eine positive Beeinflussung des deregulierten Stoffwechsels zu einer Verbesserung der Lebensqualität bei Tumorpatienten führen. Möglicherweise könnte auch eine Verringerung des Tumorwachstums erzielt werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* In dieser Studie soll ein etabliertes, genetisches Lungenkrebs-Mausmodell verwendet werden. Diese Tiere werden spätestens 13 Wochen nach Aktivierung des Onkogens euthanasiert. Laut Literatur kommt es in dem vorgeschlagenen Mausmodell jedoch erst nach 17 Wochen zu Tumorbedingter Mortalität. Die Tiere werden dennoch regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert, und wenn nötig, das Experiment terminiert. Die Belastung der Tiere kann somit als maximal „mittel“ belastet eingestuft werden.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Insgesamt werden maximal 3780 Mäuse benötigt, wobei die Untersuchungen als "gering" oder "mittel" belastet eingestuft werden (Laufzeit 3 Jahre).

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

*Vermeidung:* Aus ethischen Gründen und Gründen des Tierschutzes werden Tierversuche soweit möglich vermieden und entsprechende Versuche in etablierten Zellkulturmodellen durchgeführt. Weiters sollen gute Versuchsplanung und Recherchen die Tierversuchszahlen auf ein statistisches Minimum beschränken.

*Verminderung:* Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen den Gruppen eindeutig, werden sich die Experimente auf ein statistisches Minimum beschränken. Zusätzlich wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet. So setzen wir, soweit als möglich, nicht-invasive Methoden ein, um Leid und Stress der Tiere so gering als möglich zu halten. In diesen für den medizinischen Fortschritt wichtigen Untersuchungen wird jedoch immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Außerdem wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Mäusen durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden unter Standardbedingungen in Gruppen gehalten und von ausgebildetem Personal gepflegt. Um das Wohlbefinden zu steigern und den Zuchterfolg zu erhöhen wird den Tieren Enrichment in Form von Nistmaterial und Häuschen zur Verfügung gestellt. Außerdem werden die Tiere regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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

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

Das menschliche Gehirn ist das Zentrum des Bewusstseins, ermöglicht das Empfinden von Emotionen, das Wahrnehmen von Sinneseindrücken, das Verstehen von Zusammenhängen, das Lernen von Abläufen und Informationen, die Kommunikationen mit anderen Individuen und den Ausdruck der Persönlichkeit durch das Handeln und Agieren. All diese Vorgänge können nur am lebenden Individuum beobachtet werden und eine wissenschaftliche Untersuchung der Mechanismen benötigt daher Experimente an lebenden Tieren. In diesem Projekt werden Nager als Versuchstiere verwendet, da sie ähnliche Arten von Nervenzellen und Hirnregionen haben, die gleichen Neurotransmitter und Rezeptoren verwenden, und ähnliche kognitive und soziale Merkmale wie Menschen aufweisen. In diesen Versuchen, wird mit neuen Methoden die Aktivität von Nervenzellen bestimmt, während die Tiere neue Informationen lernen und anwenden. Dadurch werden grundlegende Erkenntnisse gewonnen, wie komplexe Prozesse im Gehirn ablaufen.

*zu erwartender Nutzen:* Die geplanten Experimente werden zu neuen Erkenntnissen führen, wie Informationen im Gehirn abgespeichert werden. Im Detail werden neue synaptische Verbindungen entdeckt und charakterisiert werden. Damit werden wichtige Schnittstellen im Gehirn entschlüsselt, an denen neue medikamentöse Behandlungen möglich sind. Diese Erkenntnisse sind von unabdingbarer Bedeutung, um Krankheitsbilder wie Alzheimer's, Demenz oder Lerndefizite zu verstehen und in Zukunft bessere Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Ein allgemeines Wohlbefinden der Versuchstiere ist bei diesen Experimenten unbedingt erforderlich, damit ein erfolgreiches Lernen der Tiere möglich wird. Eine mögliche Beeinträchtigung der Tiere kann durch die operativen Eingriffe erfolgen. Diese werden immer unter Anästhesie, sterilen Bedingungen und Gabe von Analgetika durchgeführt, um Infektionen und Schmerzen an den Wundrändern zu vermeiden. Die Aufwachphase und Erholung von den Eingriffen, wird durch die Verwendung von Isofluran (Gasanästhesie) verkürzt. Die Experimente selbst (das Erfüllen von kognitiven Aufgaben) stellt in der Regel keine Beeinträchtigung der Tiere dar, sondern bietet in der Regel durch Belohnung und sozialen Kontakt mit den Wissenschaftlern eine positive Erfahrung.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

450 Ratten und 450 Mäuse

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

*Vermeidung:* Trotz Ausschöpfung von vorhandenen in vitro Modellen können komplexe Vorgänge im Gehirn meist nur an lebenden Organismen untersucht werden.

*Verminderung:* Durch die spezielle Versuchsanordnung kann die Anzahl der Versuchstiere im Vergleich zu herkömmlichen Methoden reduziert werden kann (Verminderung). Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahl auf das notwendige Minimum reduziert.

*Verfeinerung:* In den vorliegenden Experimenten sollen neuartige Methoden verwendet werden und die Aktivität von Nervenzellen bestimmt werden. Haltungsmethoden und Eingriffe werden nach den neusten Erkenntnissen durchgeführt.

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

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

Der Vorteil der molekularen Bildgebung ist es, dass sie physiologische und pathologische Prozesse in vivo sichtbar machen kann. Bei der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) wird dafür ein Radionuklid an ein Molekül gekoppelt, welches mit der Zielstruktur im Körper reagiert. Der Terminus technicus dafür ist „tracer“. Je nachdem welche bildgebenden Moleküle verwendet werden, können sowohl zelluläre Strukturen als auch biochemische Prozesse visualisiert werden.

Das Problem bei der Darstellung von verschiedenen Tumoreigenschaften (wie z.B. gewissen Rezeptoren) ist die langsame Reaktionszeit des „tracers“ mit der Zielstruktur. Diese steht im Gegensatz zur Halbwertszeit der für PET verwendeten Radionuklide (z. B. für  $^{11}\text{C}$  20,39 Minuten). Das bedeutet, wenn man eine befriedigende Anreicherung der Substanz hat, ist es leider nicht mehr möglich ein Bild zu generieren, da das PET Nuklid bereits zerfallen ist und damit nicht mehr detektierbar ist.

Eine neue Methode dies zu umgehen stellt die Bioorthogonale Chemie dar. Hier wird zuerst ein nicht-radioaktives Molekül verabreicht, das sich an gewünschte molekulare Strukturen bindet, gefolgt von der für die Bildgebung radioaktiv markierten Substanz. Der Marker ist häufig ein spezifischer Antikörper gekoppelt mit trans-Cyclooxkten (TCO), der Tracer ist in diesem Fall N-(methyl- $^{11}\text{C}$ )-1-(6-methyl-1,2,4,5-tetrazin-3-yl)methanamine ( $^{11}\text{C}$ -MAM). Die drauffolgende Reaktion dieser beiden Substanzen im lebenden Organismus ermöglicht das Abbilden und Beobachten des Zielgewebes im Körper mittels PET. Dies erweitert das Anwendungsspektrum erheblich, da die sonst nur mit kurzlebigen Radionukliden durchgeführten Untersuchungen nicht in der Lage sind, langsame biologische Prozesse mit hoher Sensitivität bzw. hohem Kontrast darzustellen. Dieser neue Diagnose-, aber auch Therapieansatz könnte in vielen Krankheiten angewendet werden.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

15 Mäuse.

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

**Vermeidung:** Dieser Versuch ist der nächste und unbedingt nötige Schritt, um diese neuartige Diagnose- und Therapieform weiter entwickeln zu können. Leider lässt sich diese Untersuchung nur am lebenden Tier durchführen.

**Verminderung:** Diese Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist eine Experimentalmethode, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt. Eine weitere Reduktion der Tierzahl ist nicht möglich ohne das angestrebte wissenschaftliche Ziel zu gefährden.

**Verfeinerung:** Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Mäusen, als für die eigentliche Durchführung der Experimente sämtliche nötigen infrastrukturellen Güter vorhanden. Das betrifft insbesondere ausreichend geschultes Fachpersonal mit langjähriger Erfahrung, als auch alle Hilfsmittel, die zur Abwehr von psychischem (z. B. "environmental enrichment") und physischem Leid (z. B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können. Für die Durchführung der Experimente selbst, ist langjährige Expertise vorhanden.

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*

*zu erwartender Nutzen:* Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist eine degenerative Erkrankung des motorischen Nervensystems. Diese Krankheit tritt weltweit auf und von 100.000 Menschen erkranken jährlich ca. 1-3 neu an ALS, dabei sind Männer häufiger betroffen als Frauen (1,5:1). Untersuchungen der letzten 10 Jahre zeigen, dass in den meisten sporadischen ALS Fällen eine Mutation im Gen TDP-43 auftritt. Die TDP-43 induzierte Pathologie kann im ganzen Gehirn beobachtet werden. Hauptsächlich jedoch im Motorkortex und Rückenmark, sowie sekundär in den Basalganglien und Thalamus. Durch die Mutation wird das Protein unlöslich, wodurch es zu Einlagerungen von TDP-43 im Zytoplasma kommt. Desweiteren kommt es auf molekularer Ebene zu Hyperphosphorylierung, Ubiquitinierung und Spaltung des Proteins in mehrere Fragmente. Diese Veränderungen führen zu einer verstärkten Sterblichkeit der betroffenen Zellen. Außerdem wird Astrogliose und Mikroglie in den betroffenen Hirnarealen aktiviert, was auf eine entzündliche Reaktion hindeutet. In den letzten Jahren wurden große Fortschritte in der Erforschung von ALS, sowie ähnlichen Krankheiten, wie der frontotemporalen Lobärdegeneration (FTLD) gemacht, die ähnliche Symptome wie ALS aufweist. Mit der vorliegenden Studie soll daher untersucht werden ob heterozygote TAR6 Mäuse für die ALS und/oder FTLD verwendet werden können.

*zu erwartender Schaden:* In dieser Studie sollen 9 und 12 Monate alte heterozygote TAR6 Mäuse auf Verhaltensunterschiede untersucht werden. Dabei werden die Tiere im Three Chamber Social Test, Elevated plus maze, Irwin Test, Beam Walk Test, Morris water maze und Contextual Fear Conditioning Test untersucht. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und verschiedene Gewebe entnommen. Mit dieser Studie soll untersucht werden ob auch heterozygote TAR6 Mäuse typische Symptome der Amyotrophen Lateralsklerose oder frontotemporalen Lobärdegeneration aufweisen und somit zur Austestung neuer Substanzen gegen diese Krankheiten geeignet sind. Es werden heterozygote TAR6 Mäuse verwendet. Die Tiere sind bei Start der Studie 9 und 12 Monate alt und Tiere beider Geschlechts werden verwendet. Nicht transgene Geschwistertiere dienen der Kontrolle.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden insgesamt 48 heterozygote TAR6 Mäuse und 48 nicht transgene Geschwistertiere verwendet.

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

Um Medikamente gegen die Amyotrophe Lateralsklerose zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen, daher ist es unerlässlich passende Tiermodelle zu etablieren und ihre Pathologien zu untersuchen. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um möglichst vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.



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

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

Der chronisch thromboembolische Lungenhochdruck oder CTEPH ist eine schwere progressive Erkrankung die ohne adäquate Therapie innerhalb von wenigen Jahren zum Tod führt. Der thrombotische Verschluss der kleinen Gefäße in der Lungenstrombahn führt zu einer Abnahme der Gasaustauschfläche und daraus resultieren klinische Symptome wie z.B. Atemnot. Des Weiteren kommt es durch den Verschluss der Lungengefäßen zu einer erhöhten Nachlast des Herzen und dementsprechend zur Rechtsherzbelastung. Dieser führt unbehandelt zum Rechtsherzversagen und zum Tod. Ziel dieses Projektes ist es Schlüsselproteine zu entdecken die einen Einfluss auf die Thrombusauflösung haben und dementsprechend in Zukunft als Therapieziel verwendet werden können.

*zu erwartender Nutzen:* Gewinnung von Informationen über mögliche Schlüsselmechanismen in der Pathogenese der chronisch thromboembolischen pulmonalen Hypertension und der daraus resultierenden Möglichkeit für die Entwicklung neuer Therapien.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Aufgrund des operativen Eingriffes können die Tiere Schmerzen haben, welche aber aufgrund der intraoperativen Schmerztherapie, der initial postoperativen Schmerztherapie und der darauffolgenden Verabreichung von Schmerzmedikamenten ins Trinkwasser minimiert wird.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

342 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die in diesem Antrag behandelten Fragestellungen werden bereits seit längerer Zeit in unserem Labor bearbeitet. Zellkulturversuche mit HUVEC's und *in vitro* Versuche spiegeln leider nicht die Komplexität der Thrombusresolution und die Pathogenese des Lungenhochdruckes wieder. Zur endgültigen Beurteilung des komplexen *in vivo* Geschehens sind diese *in vivo* Versuche unvermeidbar.

*Verringerung:* Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimalisiert werden. Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analysis) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

*Verfeinerung:* Alle unsere Versuche finden unter streng standardisierenden Bedingungen statt um eine möglichst geringe Streuung zu gewährleisten. Auch die Tatsache, dass wir optimal "gematchte" Kontrollen verwenden werden (gleiches Geschlecht, Alter und genetischer Hintergrund), trägt zur Verringerung der Tierzahl bei. Durch die Verwendung von High-Tech-Equipment und enge Zusammenarbeit mit dem Tierpflegepersonal versuchen wir die Belastungen für die Tiere äußerst gering zu halten. Weiters werden angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt.

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

**zu erwartender Nutzen:** Neben Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung (AD) zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - 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. 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer-Krankheit sind. Mittlerweile ist bekannt, dass intraneuronale oligomere und N-terminal-trunkierte Abeta-Arten eine große Rolle für AD spielen. N-terminal-modifiziertes pyroglutamate Abeta (pE3-Abeta) stellt die fehlende Verbindung zwischen Abeta-Konzentration und der Wahrscheinlichkeit AD zu entwickeln dar. pE3-Abeta wird enzymatisch während der posttranslationalen Peptidreifung gebildet. Dies geschieht über die Zyklisierung des N-terminalen Glutamatrests der trunkierten Abeta<sub>3-x</sub>-Arten bei glutaminyl-Cyclase-ähnlicher enzymatischer Aktivität. pE3-Abeta zeigt einen stärkeren Trend Abeta-Arten zu aggregieren. Die hier zu charakterisierenden Mäuse tragen das pE3-Abeta als Transgen und sollen daher hier auf AD-typische Verhaltensdefizite untersucht werden. Die Mäuse sollen im Anschluss für die Austestung neuer Substanzen gegen AD eingesetzt werden.

**zu erwartender Schaden:** In dieser Studie sollen 3 und 5 Monate alte homozygote, heterozygote und nicht-transgene TBA2.1 Mäuse mittels verschiedener Tests auf mögliche Verhaltensdefizite untersucht werden. Der allgemeine Gesundheitszustand, die Aktivität und Ängstlichkeit, die Motorik und auch die kognitiven Fähigkeiten der Tiere soll untersucht werden. Im Anschluss an die Tests sollen die Tiere euthanasiert werden und das Gehirn entnommen werden. Das Gehirn wird auf Abeta-Konzentrationen und oxidativen Stress untersucht. Es werden homozygote, heterozygote und nicht-transgene TBA2.1 Mäuse verwendet. Die Tiere sind bei Start der Studie 3 und 5 Monate alt und Tiere beider Geschlechter werden verwendet.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden insgesamt 48 homozygote, 48 heterozygote TBA2.1 Mäuse und 48 nicht-transgene Geschwister-Tiere verwendet.

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

Um Medikamente gegen die Alzheimer'sche Krankheit zu testen, ist es erforderlich, neue Tiermodelle zu entwickeln. Ersatzmethoden wie z.B. Zellkulturen können zwar Ansätze liefern, für weitere Schritte müssen jedoch Tiermodelle zum Einsatz kommen, um besser vergleichbare Resultate zum Menschen zu erzielen.

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

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

Fusarium Mykotoxine, sekundäre Metaboliten von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, treten weltweit in Getreide und Tierfutter natürlich auf. Sie können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen und sind von beträchtlichem Interesse in Bezug auf Gesundheit und Produktivität vieler Schweine- und Geflügelproduzenten. Innerhalb der Fusarium Toxine sind Fumonisine (FUM) häufige Pilzkontaminationen von Mais und anderen Getreidearten. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits zwischen 55 und 65% des weltweiten Futters und Mischfutters mit FUM kontaminiert sind. Da chemische und physikalische Entgiftungsmethoden von Fumonisin im Futtermittel im Großmaßstab nach wie vor unzureichend sind, legen wir das Hauptaugenmerk auf biologische Entgiftung in Form von Enzymen.

**zu erwartender Nutzen:** Dieses Toleranzprojekt soll zeigen, dass eine 100- fache Überdosierung eines Enzymes keine negativen Auswirkungen auf die Produktionsleistung von Broilern hat. Weiters wird am Ende des Projektes eine molekularbiologische Studie durchgeführt, um einen möglichen Effekt auf die Darmflora zu zeigen. Um größere Veränderungen in Bezug auf Hühnerdarmbakterien zu erfassen, wird eine denaturierende Gradienten- Gelelektrophorese (DGGE) mit Ansatz der PCR-amplifizierten 16S-rRNA-Gen-Fragmente verwendet.

**zu erwartender Schaden:** Es werden 200 gemischtgeschlechtliche Broiler Ross 300 pro Gruppe (insgesamt drei Gruppen somit insgesamt 600 Tiere) für den Versuch verwendet. An 4 definierten Zeitpunkten (Tag 0, Tag 14, Tag 28 und Tag 35) werden die Tiere gewogen und die Futterdaten erfasst. Am Tag 35 werden zufällig 30 Broiler (aus jeder Bucht ein Tier) zur Probennahme ausgewählt. Diese Tiere werden mit CO<sup>2</sup> euthanasiert und anschließend Darminhaltsproben von Jejunum, Ileum und Caecum genommen zur Charakterisierung der Darmflora entnommen.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

600 Hühner

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

**Replacement:** Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der notwendigen Untersuchung der Darmflora nicht in Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Reduction:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren, 200 je Gruppe verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis für die notwendigen Performanceparameter zu erhalten.

**Refinement:** Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Broiler so gering wie möglich gehalten werden. Alle Tiere werden in Buchten mit jeweils 20 Broiler gehalten. Die Tiere haben ständigen Zugang zu Futter und Wasser und werden täglich von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerz zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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**

Intrinsische oder erworbene Resistenz gehört zu den wichtigsten Ursachen für das Scheitern einer Krebstherapie und kann durch vielfältige zelluläre Mechanismen verursacht werden. Eine mögliche Ursache ist die Hochregulation onkogener Überlebenssignalwege. Basierend auf diesem Wirkmechanismus sollte durch Hemmung onkogener Signalwege das Ansprechen auf andere Therapien verbessert werden können. Im Laufe der letzten Jahre wurde mit *in vitro* Modellen synergistische Wirkungen zwischen Standardtherapieformen -darunter auch Bestrahlungstherapie - und Signalwegblockade identifiziert. Ziel des vorgelegten Tierversuchs ist es, diese synergistische Wirkung nun auch in einem Xenograftmodell zu belegen. Dazu werden therapie-resistente Tumorzellmodelle subkutan in SCID Mäusen appliziert und zusätzlich zur Bestrahlung wird auch der onkogene Signalweg gehemmt. Die gewonnenen Daten sollen dazu dienen, geeignete Kombinationstherapien zu entwickeln und klinische Studien mit den besten Therapieansätzen vorzubereiten.

*zu erwartender Nutzen:* Entwicklung neuer Kombinationstherapien gegen Krebs mit verbessertem Ansprechen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Interventionen sind mittel belastend (Bestrahlung, Substanzapplikation, Narkose, subkutanes Tumorstadium) und jedwedes Leiden wird durch genaue Beobachtung vermieden.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

252 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die im Rahmen der hier beantragten Versuche zu untersuchenden Kombinationsbehandlungen wurden im Vorfeld ausführlich in *in vitro* Modellen getestet und optimiert. Nur die vielversprechendste Behandlung soll tatsächlich im Tierversuch zur Anwendung kommen.

*Verminderung:* Die Untersuchungen sollen ausschließlich an Zellmodellen durchgeführt werden, deren Tumorigenität *in vivo* bereits gut charakterisiert ist und die ein ausreichend stabiles und rasches Wachstum aufweisen. Dadurch besteht (1) keine Notwendigkeit für Vorversuche zur Bestimmung der Wachstumskinetik und können (2) die Beobachtungszeiträume möglichst gering gehalten werden. Weiters wird durch Standardisierung aller Komponenten in den Haltungsbedingungen die Streuung der Ergebnisse möglichst gering gehalten, wodurch die Tierzahl auf ein Mindestmaß beschränkt werden kann.

*Verfeinerung:* Die Versuchstiere werden entsprechend der Vorschriften in ausreichend großen Käfigen gehalten: Das Wohlbefinden wird über die gesamte Haltungsperiode kontinuierlich, während dem Versuch sehr engmaschig von geschultem Personal kontrolliert. Abbruchkriterien sind stringent und genau definiert. Nur gut verträgliche Dosen an Strahlung und Inhibitoren werden appliziert. Die verwendeten Krebsmodelle führen in der Versuchszeit zu keiner Metastasierung und systemische Beschwerden sind daher nicht zu erwarten.

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*

Neben Herzkreislauf Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - 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. 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer Krankheit sind. 5xFAD transgene Mäuse spiegeln auf Grund von 5 Mutationen in 3 Alzheimer-relevanten Genen laut Literatur sehr gut das pathologische Bild der Alzheimer'schen Erkrankung wider. Zusätzlich zum Transgen sollen die 5xFAD Mäuse durch die Gabe von fettreichem Futter ernährt werden, was voraussichtlich zu einer Verfettung und insbesondere einer verstärkten Alterung der Blutgefäße führen wird. Die pathologischen Eigenschaften der Tiere sollten daher den Eigenschaften von Patienten mit vaskulärer Demenz entsprechen.

*zu erwartender Schaden:* In dieser Studie werden transgene und nicht transgene 6 Monate alte männliche 5xFAD Mäuse für 12 Wochen mit fettreichem Futter gefüttert. Nach 6 Wochen fettreicher Nahrung wird den Tieren Blut abgenommen und der Glukose Toleranz Test durchgeführt. In den folgenden 6 Wochen erhalten die Tiere zusätzlich zum fettreichen Futter alle 72 Stunden eine subkutane Injektion der Testsubstanz. In Woche 11 werden die Tiere im Irwin Test und Wire Hanging Test und in Woche 12 im Morris Water Maze Test untersucht. Am Ende von Woche 12 wird erneut ein Glukose Toleranz Test durchgeführt und die Tiere im Anschluss euthanasiert.

*zu erwartender Nutzen:* Durch diese Studie soll die Wirksamkeit einer neuen Testsubstanz auf typisch pathologische Merkmale der Alzheimer Krankheit wie Glukose Toleranz, Kognition, APP Plaques und entzündliche Prozesse untersucht werden.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Es werden 150 Mäuse verwendet.

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

Zur Testung neuer Substanzen gegen die Alzheimer'sche ist es unabdingbar Tiermodelle einzusetzen um bestmögliche Vergleichsmöglichkeiten zum Menschen zu haben. Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können. Ausschließlich gesunde Tiere werden in die Studie eingeschlossen. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

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 menschliche Immunsystem hat die wichtige Aufgabe, den Körper vor Krankheitserregern und Fremdstoffen zu schützen. Die Immunantwort muss aber sorgfältig reguliert werden, da Fehlreaktionen des Immunsystems die Ursachen vieler Erkrankungen, wie z.B. chronisch-entzündliche Erkrankungen oder Autoimmunerkrankungen, sein können. Das primäre Interesse unserer Forschungsgruppe gilt der Erforschung der Rolle von metabolischen Mechanismen in der Immunzellfunktion. Vorversuche unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass eine Manipulation des Zellstoffwechsels den Verlauf einer Rhinovirusinfektion (sog. "Schnupfen") verändern kann. Im Rahmen der hier vorliegenden Studie wollen wir erforschen, ob dies eine Möglichkeit zu neuen Therapien darstellt.

*zu erwartender Nutzen:* Ziel dieser Untersuchungen ist es die Wechselwirkungen zwischen Stoffwechselprozessen und der Virusinfektion besser zu verstehen und insbesondere zu erforschen ob man sich diese Prozesse therapeutisch zu Nutze machen kann. Mit den gewonnenen Erkenntnissen hoffen wir den Grundstein für neue Therapiestrategien bei Rhinovirusinfektionen, also "Schnupfen" zu setzen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei den Mäusen wird eine schwere Form der Rhinovirusinfektion hervorgerufen, also das, was man allgemein beim Menschen als schweren "Schnupfen" mit beginnender Bronchitis ansehen könnte. Ähnlich der Infektion beim Menschen verläuft diese Erkrankung bei Mäusen eher milde und selbstlimitierend, d.h. dass sie sich nach einigen Tagen von selbst zurückbilden würde.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

In diesem Projekt werden zur Untersuchung der besagten Fragestellung insgesamt höchstens 448 Mäuse verwendet.

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

*Vermeidung:* Es sind bereits alle Infektionsversuche an isolierten humanen Zellen in vitro durchgeführt, sodass eine Tierbelastung hintangestellt werden konnte.

*Verminderung:* Jedes Experiment wird unter standardisierten und international anerkannten Versuchsbedingungen durchgeführt, und die experimentellen Schwankungen zu reduzieren. Damit wird sichergestellt, dass, bei gleichzeitiger Einhaltung der notwendigen wissenschaftlichen Sorgfalt, die Tierzahl so niedrig wie möglich gehalten werden kann.

*Verfeinerung:* Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (geregelter Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) in einem sogenannten "enriched environment" (Papierrollen im Käfig um den Mäusen einen Unterschlupf zu ermöglichen, etc.) gehalten. Die Tiere werden während der Haltung und während eines Versuches regelmäßig beobachtet und für jeden experimentellen Ansatz werden auch klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden.

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

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

Bandscheibenerkrankungen und Rückenschmerzen, sowie Bandscheibenvorfälle, sind heutzutage eine der weitverbreitetsten Erkrankungen und führen zu ausgedehnten Krankenständen. Bei Mäusen (C57Bl/6 exon 4 knockout) konnten bereits Bandscheibenvorfälle und Rückenschmerzen nach dem 12. Lebensmonat nachgewiesen werden. Bei der zu untersuchenden Maus, wurden solche Untersuchungen noch nicht durchgeführt. In eigenen Voruntersuchungen konnte bei Patienten die wegen eines Bandscheibenvorfalles operativ versorgt wurden, ultrastrukturell ein neuer Zelltyp beschrieben werden. Diese konnte bei den zu untersuchenden Mäusen auch in Bandscheiben nachgewiesen werden, jedoch nicht bei Wildtyp (Kontroll-) Mäusen. Derzeit gibt es keine geeignete humane Kontrollgruppe für elektronenmikroskopische Untersuchungen. Da alle Untersuchungen beim Menschen auf eine genetische Disposition hinweisen, scheint dies ein geeignetes Model zu sein um Vorgänge, die zum Bandscheibenvorfall und zur Osteochondrose (Verschleißerscheinungen des Knochens und des Knorpels) führen, zu untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Vergleichsuntersuchungen mit einer Kontrollgruppe, die derzeit bei humanen Untersuchungen fehlt; histologische und elektronenmikroskopische Vergleichbarkeit mit degenerativer Erkrankung beim Menschen. Schaffung einer reproduzierbaren Grundlage zur Untersuchung eines speziellen Zell-Typs.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Neben einem Auftreten einer Bandscheibendegeneration und eines Bandscheibenvorfalles mit all den daraus resultierenden Symptomen, ist dies als Schaden für das Tier zu bewerten.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

640 Mäuse in einem Zeitraum von 3 Jahren.

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

*Vermeidung:* Wir haben dem angesuchten Tierexperiment ex vivo-Voruntersuchungen vorangehen lassen, die die Hypothese dass die Zell-Morphologie im Bandscheibengewebe dieser Mäuse auftreten und wollen nun die Experimente durch weitere Beobachtung in genauem zeitlichem Ablauf durch Einteilung in Altersgruppen absichern.

*Verminderung:* Für unseren Experimentaufbau wird die kleinste statistische Fallzahl (n=3 Lendenwirbelsäulen a 5 Segmenten) für histologische als auch ultrastrukturelle Untersuchungen bis zum 12. Lebensmonat herangezogen. Dies hilft entscheidend mit, die Anzahl der zu verwendenden Tiere zu begrenzen. Danach wird die Anzahl der Tiere auf n=10 für histologische Untersuchungen erhöht. Dies führt zu einer entscheidenden Verbesserung der experimentellen Ergebnisse und damit zu einer weiteren Verminderung der einzusetzenden Tierzahlen.

*Verfeinerung:* Der jetzige Ansatz wird mit genetisch modifizierten Tieren durchgeführt, bei denen durch Deletion des entsprechenden Gens Zielstrukturen ausgeschaltet sind. Dadurch werden reproduzierbare Ergebnisse gewonnen.

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

**Ziel des Projektes:** Im beantragten Projekt soll die Verabreichung des therapeutischen Modellpeptid Wirkstoffs Octreotid an Schweinen unter dem Aspekt seiner Bioverfügbarkeit nach oraler Gabe in einer neuartigen Formulierung getestet werden. Da dieser Wirkstoff bisher mittels Injektion verabreicht wurde, stellt die orale Darreichung eine wesentliche Verbesserung für die Behandlung künftiger Patienten dar.

**zu erwartender Nutzen:** Durch diese Studie sollen detaillierte Erkenntnisse über Eigenschaften einer oralen Formulierung für Octreotid sowie deren Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit von peroral verabreichtem Octreotid erzielt werden, die für die weitere Entwicklung einer oralen Darreichungsform für Octreotid, aber auch für die Entwicklung künftiger selbstemulgierender Systeme für Peptidinhaltstoffe von Bedeutung sind.

**zu erwartender Schaden:** Durch die experimentelle Vorgehensweise sind keine wesentlichen Schäden für die Tiere zu erwarten. Da es bei Behandlung mit Octreotid zu einer Hyperglykämie kommen kann, wird der Blutzuckerspiegel durch regelmäßige Blutentnahmen über einen Dauervenvenverweilkatheter kontrolliert. Im Bedarfsfall werden die Tiere entsprechend behandelt.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

15 Schweine (Hausschwein; *Sus Scrofa domestica*)

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

**Vermeidung:** Bis dato stehen keine adäquaten tierversuchsfreien Ersatzmethoden zur Verfügung, um die komplexen Einflüsse auf das *in vivo*-Verhalten von Arzneistoffen zu untersuchen. Daher ist eine zuverlässige Beantwortung der Fragestellung nur am lebenden Tier möglich.

**Verminderung:** Durch Laboranalysen wird die Anzahl der verwendeten Tiere auf jenes Minimum beschränkt, das für ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis erforderlich ist. Um die interindividuelle Variabilität zu minimieren, wird den Tieren wiederholt Octreotid verabreicht. Die Gruppengröße wurde mittels einer Poweranalyse, wobei Vergleichsdaten von anderen Tierarten herangezogen wurden, festgelegt.

**Verfeinerung:** Das Handling der Tiere wird durch einen venösen Dauerkatheter auf ein Minimum reduziert. Während des gesamten Tierversuchs wird auf die physiologischen Bedürfnisse des Schweines Rücksicht genommen. Sie werden in Kleingruppen aufgestellt und haben ständig Zugang zu frischem Wasser und Futter. Besteht die Gefahr, dass die Tiere sich die Ohrvenenkatheter gegenseitig herausziehen, werden sie einzeln und mit Sichtkontakt zueinander aufgestellt, um Verletzungen zu vermeiden.



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*

Unser Ziel ist die erstmalige Etablierung eines kombinierten Bildgebungsverfahrens bestehend aus interventioneller Bildgebung und Fluoreszenzangiographie -das es der präoperativen Operationsplanung ermöglicht, eine Feststellung über die Durchblutung des zu entnehmenden Hautlappens zu treffen.

*zu erwartender Nutzen:* Die Kombination dieser beiden Techniken (CT Angiographie und interventionelle ICG Angiographie) ermöglicht es dem Operationsmanagement, eine verbesserte Operationsplanung mit kürzerer Operationszeit, sowie eine Vermeidung von Folgeoperationen aufgrund schlecht durchbluteter Lappen, zu erstellen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Nach der Operation ist für die Tiere mit einem ähnlichen Schmerzausmaß wie beim Menschen zu rechnen. Die Nachversorgung der Tiere entspricht der des Menschen. Die großflächigen OP-Wunden am Rücken der Tiere werden durch Hautverbände und einem Stützkorsett vor Infektionen geschützt. Während der Versuchszeit werden die Tiere kontinuierlich mit schmerzlindernden Medikamenten sowie Antibiotika versorgt. Die Versuchstiere werden regelmäßig von einem Veterinärmediziner begutachtet, sodass sichergestellt wird, dass bei ersten Anzeichen eines Leidens (Gewichtsverlust, Essen-und Trinkverweigerung sowie Veränderungen des Aussehens und Verhaltens) die Tiere von ihrem Leid erlöst werden.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

10 weibliche Hausschweine

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

*Vermeidung:* Die geplanten Versuche müssen *in vivo* (am lebenden Tier/vitalem Gewebe) durchgeführt werden, um festzustellen, ob die erstmalig beschriebene präoperative Kombination aus CT-Angiographie und interventioneller ICG-Angiographie eine Vorhersage von sicher durchbluteten Gewebslappen zulässt.

*Verminderung:* Die Anzahl der Versuchstiere wird im vorliegenden Projekt auf das absolut Nötigste reduziert, jedoch werden so viele Tiere herangezogen, wie für eine adäquate statistische Auswertung notwendig ist.

*Verfeinerung:* Für das Wohl der Tiere wird gesorgt, indem sie neben der Standardtierhaltung ein zusätzliches Angebot, wie Bälle und Gummiringe zur Verfügung gestellt bekommen. Des Weiteren wird versucht den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling von Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Schweine an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezüglich empfundene Stress während der Experimente auf ein Nötigstes reduziert wird.

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

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

Lungentransplantation ist ein etablierter therapeutischer Eingriff für terminale Lungenerkrankungen wie Chronische Obstruktive Lungenerkrankung (COPD), Idiopathische Lungenfibrose (IPF), Zystische Fibrose und Pulmonale Hypertension. Die Langzeitüberlebensdauer nach Lungentransplantation ist allerdings von dem Auftreten von chronischer Transplantatabstoßung, auch Chronic Lung Allograft Dysfunction (CLAD) genannt stark abhängig. CMD ist ein übergreifender Begriff, der alle Formen von chronischen Lungendysfunktionen nach Transplantation erfasst und hat eine Inzidenz von 50% nach 5 Jahre post-transplant. Dieser Begriff umfasst unterschiedliche Arten der Pathophysiologie von chronischer Abstoßung, die durch mehrere autoimmune, alloimmune und inflammatorische Reize charakterisiert sind. Dieses komplexe Netzwerk von beitragenden Faktoren wirkt an der Entwicklung von einem inflammatorischen Milieu und an der Aktivierung von Fibro-proliferativen Prozessen wie Epithelial-zu-Mesenchymal-Transition (EMT) mit, die schlussendlich zu Allograftsremodellierung und Dysfunktion führen. Laut den neueren wissenschaftlichen Erkenntnissen ist es wahrscheinlich, dass solche komplexe Prozesse sich aus der gleichzeitigen Aktivierung mehrerer Signalwege ergeben. Eine sehr wichtige Rolle als Regulatoren solcher Signalwegen spielen sogenannte non-coding RNAs, insbesondere microRNAs, die an der posttranslationelle Modifikation der Genexpression erheblich beteiligt sind. Eine der wichtigsten Fähigkeiten von einzelnen miRNA ist die gleichzeitig Beeinflussung der Expression von verschiedenen Genen und somit deren Einfluss als wesentliche Regulatoren von komplexen pathologischen Netzen, wie z.B. bei Autoimmunerkrankungen oder Krebserkrankungen. Angesichts der aktuellen Erkenntnisse vermuten wir, dass microRNAs, insbesondere miR-21, eine wichtige Rolle in der Pathogenese von CMD spielen können und somit als wertvolles therapeutisches Ziel genutzt werden könnten. Zusammenfassend zielt unsere Studie auf eine Vertiefung unserer aktuellen Kenntnisse der Pathogenese von CLAD und auf die Entdeckung von neuen molekularen therapeutischen Interventionsmöglichkeiten.

*zu erwartender Nutzen:* Diese Studie soll einen tieferen Einblick in die detaillierte Pathogenese von CLAD ermöglichen und die potentielle Rolle von non-coding RNAs aufdecken. Des Weiteren könnten miRNAs als neue therapeutische Targets identifiziert werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Alle chirurgische Eingriffe werden unter entsprechender Anästhesie, Antibiotika-Therapie und Schmerz-Therapie durchgeführt.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Wir planen 240 Ratten in der Folge zu transplantieren.

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

*Vermeidung:* In-vitro Studie sind nicht angemessen, um die komplexe Pathogenese von CLAD zu untersuchen. Wie bereits erwähnt, ist es notwendig die transplantierte Lunge innerhalb ihres Milieu zu analysieren, um die konstante Interaktionen zwischen dem intraalveolären Kompartiment, den kleinen Atemwegen und dem alveolären Epithelium, dem Parenchym und dem Gefäßgewebe zu erfassen.

*Verminderung:* Die Fallzahl wurde angesichts der deskriptiven Art der ersten Phase der Studie, der primären Endpunkten, der Erfolgsrate der relevanten Fachliteratur und der geplanten Lernkurve des chirurgischen Eingriffs berechnet. Für die zweite Phase wurden 4 klinisch-relevante Zeitpunkte geplant. Unsere Kontrollgruppe besteht aus kontralateralen nativen gesunden Lungen.

*Verfeinerung:* Alle angeführten experimentellen Techniken wurden in unserem Labor optimiert und werden von erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt um best mögliches Wohlergehen der Versuchstiere zu gewährleisten.

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

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

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

Atherosklerose und deren klinische Komplikationen, wie Myokardinfarkt und Schlaganfall, sind die häufigsten Todesursachen weltweit. Für die Entstehung der Atherosklerose spielen Hypercholesterinämie und Entzündungen eine bedeutende Rolle. Die genauen Umstände für die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose sind allerdings nach wie vor ungeklärt. Mit Hilfe des immer detaillierteren Verständnisses der biochemischen Vorgänge in und zwischen Zellen und anhand von histologischen Befunden wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. Im Detail sollen hierbei verschiedene Gruppen von genetisch modifizierten Mäusen hinsichtlich des Ausmaßes atherosklerotischer Gefäßveränderungen untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ergebnisse des Projektes sollen bessere Einblicke in die Entstehung der Ursachen für Herzinfarkt und Schlaganfall, welche zu neuen therapeutischen Ansätzen führen, liefern.

*zu erwartender Schaden der Tiere:* Bei den geplanten Versuchen handelt es sich um Tierversuche ohne operative Eingriffe, es werden Zellen des Knochenmarks durch intravenöse Injektionen zwischen den transgenen Mauslinien übertragen. Dies kommt einem Kanüleneinstich gemäß guter tierärztlicher Praxis gleich. Im Detail sollen hierbei genetisch modifizierte Mäuse hinsichtlich des Ausmaßes atherosklerotischer Gefäßveränderungen unter Ausschaltung bestimmter Faktoren untersucht werden. Durch die Durchführung dieser gezielt ausgerichteten Versuche soll die Entstehung und Entwicklung der Atherosklerose besser verstanden werden, wodurch in Zukunft neue Vorbeugungs- und Therapieansätze entwickelt werden könnten.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

120 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

**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 eines Gens und Auswirkungen auf die Bildung atherosklerotischer Plaques) ist nur *in vivo* zu beantworten. Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen eine angereicherte Haltungsumgebung (i.e. „enriched environment“) helfen den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. 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.

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

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

PET ist ein nicht invasives, nuklearmedizinisches und bildgebendes Verfahren, das es erlaubt im lebenden Tier die Dichte oder Funktion von Proteinen (z.B. Rezeptorproteine, Transporterproteine, Enzyme) zu messen. Das PET Verfahren beruht darauf, dass dem narkotisierten Tier intravenös ein radioaktiv markiertes Molekül, ein sogenannter Radiotracer, in einer sehr geringen Dosierung (ca. 10 µg) verabreicht wird, welcher in vivo spezifisch mit dem zu untersuchenden Protein interagiert (z.B. daran bindet). Zur radioaktiven Markierung werden Positronen-emittierende Radionuklide wie Kohlenstoff-11 (<sup>11</sup>C, Halbwertszeit: 20.4 min) verwendet. Die PET Kamera misst quantitativ die dreidimensionale räumliche Verteilung des Radiotracers im gesamten Körper des Tieres über die Zeit (zeitliche Auflösung im Minuten Bereich). Zusätzlich zu der PET Messung wird eine Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) Untersuchung des Tieres durchgeführt. Das MRT ist ebenfalls nicht-invasiv und benötigt im Gegensatz zum PET keine Injektion eines Radiotracers und erlaubt es die Gewebsstruktur basierend auf dem Prinzip der Kernspinresonanz darzustellen. Durch Überlagerung der PET und MRT Scans ist es möglich im PET Bild z.B. einzelne Gehirnareale (z.B. Hippokampus, Striatum, frontaler Kortex) zu definieren. Nach Auswertung der PET Daten erhält man Konzentrations-Zeitkurven des Radiotracers in verschiedenen Gewebsarealen. Durch mathematische Modellierung dieser Konzentrations-Zeitkurven erhält man Parameter, die z.B. die Dichte des zu messenden Proteins wiedergeben (z.B. Bindungspotential). Für die vorliegenden Experimente soll ein aus der Literatur bekannter und validierter Radiotracer zur funktionellen Darstellung des Serotonin-Transporters (SERT) im menschlichen Gehirn verwendet werden.

Untersuchung mittel genetischem Knock-out von SERT: Hier soll die regionale Verteilung von SERT im Maus-Gehirn untersucht werden. Vorgegangene eigene Untersuchungen lassen einerseits Unterschiede in der Verteilung zwischen den Geschlechtern vermuten. Andererseits zeigte sich bei der Verwendung von gentechnisch veränderten Mäusen, dass es Unterschiede in der Verteilung im Mäusegehirn gibt, abhängig davon ob das SERT-Gen heterozygot (d. h. eine Kopie auf einem Strang der codierenden DNA ist vorhanden) oder homozygot (d. h. keine Kopie vorhanden) präsent ist. Als Kontrollgruppe sollen nicht gentechnisch veränderte Mäuse von demselben Stamm dienen.

Untersuchung mittels chemischen Knock-out von SERT: SERT lässt sich auch mittels chemischer Inhibitoren ausschalten. In diesem Versuchsarm sollen nicht gentechnisch veränderte Mäuse verwendet werden. Hier sollen 2 verschiedene Inhibitoren in 5 verschiedenen Dosierungen eingesetzt werden.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

64 Mäuse.

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

**Vermeidung:** Für das in diesem Versuch angestrebte Erkenntnisziel gibt es derzeit keine andere versuchstiersparende Alternative.

**Verminderung:** Diese Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist eine Experimentalmethode, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt. Eine weitere Reduktion der Tierzahl ist nicht möglich ohne das angestrebte wissenschaftliche Ziel zu gefährden.

**Verfeinerung:** Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Mäusen, als auch für die eigentliche Durchführung der Experimente sämtliche nötigen infrastrukturellen Güter vorhanden. Das betrifft insbesondere ausreichend geschultes Fachpersonal mit langjähriger Erfahrung, als auch alle Hilfsmittel, die zur Abwehr von psychischem (z. B. "environmental enrichment") und physischem Leid (z. B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können. Für die Durchführung der Experimente selbst, ist langjährige Expertise vorhanden.

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

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

Thrombosen, also Blutgerinnsel, und ihre Folgen sind ein bedeutendes Gesundheitsproblem, von dem jährlich 1-2 von 1000 Personen betroffen sind. In bis zu 25% Prozent der Fälle kommt es dabei zu einer gestörten Auflösung bzw. zum wiederholten Auftreten dieser Blutgerinnsel, was Krankheiten wie das Postthrombotische Syndrom oder die Chronisch-thromboembolische Pulmonale Hypertonie (CTEPH) zur Folge haben kann. Zellen des Immunsystems spielen eine wichtige Rolle in der Thrombusauflösung. Um diese Rolle besser zu verstehen, untersuchen wir die Thrombusauflösung in einem Mausmodell, das die Eigenschaften von humaner Thrombose widerspiegelt. Damit wollen wir in diesem Projekt die Rolle untersuchen, die Zellen des angeborenen Immunsystems und von ihnen produzierte Antikörper in der Thrombusauflösung spielen.

**zu erwartender Nutzen:** Dieses Projekt soll zu einem besseren Verständnis der Mechanismen beitragen, die hinter einer gestörten Thrombusauflösung stehen.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die Tiere werden unter Vollnarkose operiert, während bzw. nach der Operation kommt es kurzzeitig zu einer mittelschweren Belastung für die Tiere, diese wird allerdings durch Behandlung mit Schmerzmitteln so gering wie möglich gehalten. In weiterer Folge erholen sich die Tiere und weisen keine Beeinträchtigung auf.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

288 Mäuse unterschiedlichen Genotyps

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

**Vermeidung:** Die Fragestellung des Tierversuches kann durch Ersatzmethoden nicht beantwortet werden, da das Zusammenspiel von Organen, Zellen und Molekülen im Gesamtorganismus untersucht werden soll.

**Verminderung:** Der Einsatz von Ultraschall-Untersuchungen soll die *in-vivo* Untersuchung der Thrombusauflösung ermöglichen. Dadurch ist es uns erlaubt, die Thrombusgröße an unterschiedlichen Zeitpunkten im selben Tier zu erfassen, was eine Reduktion der Zahl der benötigten Versuchstiere erlaubt. Durch eine standardisierte Haltung und Methodik wird die statistische Streuung deutlich reduziert und dadurch die benötigte Anzahl der Versuchstiere minimiert. Darüber hinaus wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt, um mit möglichst geringer Gruppengröße aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden den FELASA-Richtlinien entsprechend gehalten und täglich kontrolliert. Alle operativen Eingriffe erfolgen unter Vollnarkose und mit anschließender Schmerztherapie. Klar definierte Abbruchkriterien stellen sicher, dass es zu keinem unnötigen Leid für die Tiere kommt.

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**

Die Mitralklappeninsuffizienz ist die zweithäufigste Herzklappenerkrankung, welche eine operative Therapie erforderlich macht. In den vergangenen 20 Jahren hat die Bedeutung rekonstruktiver Verfahren nachhaltig zugenommen und sich zur bevorzugten Methode etabliert. Die Erfolge der Mitralklappenreparatur bei degenerativen Erkrankungen konnten jedoch bei Patienten mit funktioneller Mitralinsuffizienz (FMR) bis jetzt noch nicht erreicht werden. Bezugnehmend auf den derzeit noch experimentellen Stand der operativen Möglichkeiten, kommt es nach Valve-in-Ring Implantationen immer wieder zu Komplikationen und Passungenauigkeiten zwischen Annuloplastierung und transapikalem Klappenersatz.

*zu erwartender Nutzen:* Es soll evaluiert werden, ob sich die Möglichkeit eines dynamisch anpassbaren Annuloplastierendes auf die Qualität der Passform des Klappenersatzes auswirkt und dieser eventuell durch die Flexibilität des Ringes noch besser fixiert werden kann. Im bestmöglichen Fall könnte eine erneute Operation vermieden werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei den Tieren wird operativ in Vollnarkose zuerst eine Annuloplastie und im Anschluss ein Mitralklappenersatz mit anschließender Analgesie und Intensivpflege durchgeführt.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Schweine: 6

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

*Vermeidung:* Aufgrund einer postoperativen Evaluierung der hämodynamischen Funktionen nach Implantation des Ringes und des Klappenersatzes gibt es derzeit keine Alternative zum Tiermodell.

*Verminderung:* Das durchführende Zentrum ist schon jahrelang geübt im Umgang mit operativen Experimenten am Schwein. Die Projektdurchführenden sind Fachärzte für Herzchirurgie und besitzen langjährige operative Erfahrung auf dem Gebiet der Klappenchirurgie inkl. minimal – invasiver Eingriffe und der biomedizinisch chirurgischen Forschung. Somit erreicht das sehr aufwendige Projekt die maximal mögliche Expertise.

*Verfeinerung:* Die Tiere werden vor Versuchsbeginn in ihrem sozialen Gefüge gehalten und an die neue Umgebung gewöhnt. Der Umgang mit den Tieren geschieht so stressfrei wie möglich und wird von staatlich geprüften Tierpflegern und Tierärzten durchgeführt und kontrolliert. Narkose, Intensivpflege und Schmerzbekämpfung entsprechen human-medizinischen Kriterien und werden tierartgerecht voll ausgeschöpft.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Jänner 2019 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**

**zu erwartender Schaden:** In diesem Projekt soll die Effizienz zweier neuer Abeta Antikörper in Abeta4-42 Mäusen untersucht werden. Dafür werden Abeta4-42 Mäuse oral mit den Antikörpern behandelt. Die Tiere werden nach 12-wöchiger Behandlung im Morris Water Maze Test und Passive Avoidance Test auf ihre kognitiven Fähigkeiten untersucht. Im Anschluss werden die Tiere euthanasiert und CSF, Blut und Gehirn entnommen. Alle Gewebe werden eingefroren oder fixiert und für weitere Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Ziel dieser Studie ist die erfolgreiche Austestung der zwei neuen Antikörper in Mäusen um deren weiteren Austestung in klinischen Studien näher zu kommen.

**zu erwartender Nutzen:** Bei einer zunehmend älter werdenden 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. Schon vor 100 Jahren beschrieb Alois Alzheimer die zwei charakteristischen Proteinablagerungen der Alzheimerschen Erkrankung (AD), von denen wir heute wissen, dass es sich dabei zum einen um die so genannten Neurofibrillenbündel und zum anderen aus  $\beta$ -Amyloid bestehenden Plaques handelt. N-Terminal verkürztes Abeta4-42 ist in den Gehirnen von AD Pateinten in großen Mengen vorhanden und es war das erste Abeta Peptid, das in AD Plaques identifiziert wurde. Die Bedeutung dieses Peptids für die Pathologie der Krankheit wurde bisher jedoch stark vernachlässigt. Bouter und Kollegen konnten bereits zeigen, dass Abeta4-42 transgene Mäuse das Transgen in verschiedensten Hirnregionen exprimieren. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Tiere einen Neuronenverlust im Hippokampus aufweisen und dieser mit dem Alter zunimmt. Verhaltenstests konnten zusätzlich zeigen, dass die Tiere kognitive Defizite haben. Durch unsere eigene Austestung der Tiere konnten wir die beschriebenen kognitiven Defizite bereits bestätigen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Für diese Studie werden insgesamt 128 Mäuse beantragt.

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

Um Medikamente gegen Demenzerkrankungen zu testen, 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 Beurteilung, Erkennung, Regulierung oder Veränderung physiologischer Zustände bei Menschen, Tieren oder Pflanzen

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

**Ziele:** Ziel der Tierversuche ist die Erarbeitung und Validierung neuer nicht-invasiver bildgebender, diagnostischer Verfahren anhand der Elektrischen Impedanz Tomographie.

**zu erwartender Nutzen:** Dieses Projekt stellt einen hohen erwarteten Nutzen für Patienten/innen mit Lungenschädigung in Aussicht. Solch ein nicht-invasives, bettseitiges, kontinuierlich einsetzbares Monitoringverfahren, anhand dessen die maschinelle Beatmung individuell angepasst werden kann, würde für Patienten/innen eine optimale Therapieoption darstellen, um einen beatmungsinduzierten Lungenschaden zu verhindern. Dies könnte in Zukunft zu einer reduzierten Komplikations- und Todesrate beitragen.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Es handelt sich bei diesen Tierversuchen um "Akutversuche" ohne Wiederherstellung der Lebensfunktion. Nach i.m. Sedierung, erfolgt die Einleitung einer Vollnarkose (im sedierten Zustand). Alle weiteren Eingriffe erfolgen in tiefer Narkose.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Schweine, "Landrasse". Gesamtzahl 50 Tiere.

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

**Vermeidung:** Zur Beantwortung dieser Fragestellungen sind Untersuchungen am lebenden Organismus erforderlich. Das Projekt verwendet ein etabliertes und international akzeptiertes Schweinemodell und berücksichtigt alle Anforderungen zur Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung der Untersuchungen. Da diese Untersuchungen zur Verbesserung und Validierung der EIT die Messung gegen den Goldstandard der dynamischen Computertomographie bedingen und demnach mit einer hohen Strahlenbelastung einhergehen, können diese Versuche aus ethischen Gründen nicht am Patienten durchgeführt werden.

**Verminderung:** Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse ermöglicht und somit die Tierzahlen auf das notwendige Minimum reduziert. Da anhand der Ergebnisse eine statistische Modellrechnung durchgeführt wird, kann die Fallzahl gering gehalten werden.

**Verfeinerung:** Das vorliegende Projekt wird interdisziplinär bearbeitet, sodass durch Einbeziehung der speziellen Expertisen der Kooperationspartner ein Maximum an Informationsgewinn aus den Versuchen erwartet werden kann. Alle Versuche sind als „Akutversuche“ konzipiert und werden unter tiefer Narkose durchgeführt. Die Antragsteller versichern alle möglichen Maßnahmen zu ergreifen, um ein Leiden der Tiere zu verhindern.



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

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

Im vorliegenden Projekt untersuchen wir eine bisher unerkannte Rolle von Cav1.4 L-Type Kalziumkanälen. Im Menschen wurden bisher mehr als hundert unterschiedliche Mutationen in Cav1.4 Kanal-kodierenden Genen identifiziert, die zu vererbaren retinalen Erkrankungen führen. Von *in-vitro* Untersuchungen wissen wir allerdings, dass Cav1.4 auch in der Zirbeldrüse exprimiert ist. Die Zirbeldrüse oder auch Epiphyse (engl. Pineal Gland) genannt, steuert die innere Uhr und reguliert den Schlaf. Sie wandelt am Tage im Gehirn gebildetes Serotonin in den Abendstunden in Melatonin um, welches den Schlaf-Wach Rhythmus nachweislich beeinflusst. Ionenkanäle die in den Pinealozyten vorkommen, spielen ebenfalls eine Rolle in der zirkadianen Regulation und haben vermutlich auch Bedeutung für die Melatonin-Sekretion. Die Bedeutung von Cav1.4 Kanälen in diesem Zusammenhang ist allerdings völlig unbekannt.

*zu erwartender Schaden:* Unser Projekt zielt darauf ab, in ausgewählten Tiermodellen den Einfluss von Cav1.4 auf den Schlaf-Wach-Rhythmus zu untersuchen. Um einen direkten Beitrag von Cav1.4 zur Melatoninfreisetzung aus den Pinealozyten zu messen werden wir zusätzlich die Sekretion von Melatonin untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Damit können wir schließlich eine mögliche neue Rolle von Cav1.4 Kanälen erfassen, die auch im Menschen von Bedeutung sein könnte. Im Zusammenhang mit möglichen Therapiestrategien im Bereich der retinalen Erkrankungen, sind diese Erkenntnisse von grundlegender Wichtigkeit für die Abschätzung eventueller Nebenwirkungen, wie sie durch direkte Modulation von Cav1.4 Kanälen auftreten könnten.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden insgesamt 165 Mäuse mit unterschiedlichen Genotypen veranschlagt.

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

Das Projekt wurde unter strenger Berücksichtigung der der ‚3R‘ Regel geplant, wobei besonders viel Augenmerk darauf gelegt wird, die Anzahl der Tiere durch strikte Zuchtplanung und durch den Einsatz modernster experimenteller Techniken so gering wie möglich zu halten. Alle Versuche erfolgen unter standardisierten, etablierten Bedingungen um die Streuung der Ergebnisse auf ein Minimum zu reduzieren, wissenschaftlicher Vergleichbarkeit zu garantieren und die Anzahl der verwendeten Tiere zu minimieren. Die Fallzahlberechnung wurde mit Rücksicht auf statistische Mindestanforderungen durchgeführt.

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*

*zu erwartender Nutzen:* Es gibt eine Reihe von seltenen Erkrankungen, bei denen unterschiedlichste genetische Veränderungen zu ähnlichen Krankheitsbildern führen, z.B. lysosomale Speicherkrankheiten. Dazu zählen ca. 45 Krankheiten, die eine Fehlfunktion der Lysosomen aufweisen und die in ca. 5 Untergruppen aufgeteilt werden können. Die Gaucher und Niemann-Pick Krankheit zählen dabei zu den häufigsten lysosomalen Speicherkrankheiten der Untergruppe der Sphingolipidosen. Neue Untersuchungen der Gaucher Krankheit zeigen, dass es eine Verbindung zu anderen neurodegenerativen Erkrankungen insbesondere zur Parkinson Krankheit gibt. Bei der Gaucher Krankheit kommt es zu Ablagerungen unterschiedlichster Proteine wie alpha Synuclein, Ubiquitin, APP, Abeta und auch Tau. Das erste publizierte induzierbare in vivo Modell der Gaucher Krankheit beruht auf der Injektion von Conduritol-beta-Epoxyde (CBE) welches einen spezifischen Inhibitor der beta-Glucocerebrosidase (GCase) darstellt. Da GCase in Lysosomen das Glycolipid Glucocerebrosid in Glukose und Ceramid aufbricht, führt eine Hemmung der GCase zur Akkumulierung von anderen nicht abgebauten Substraten, insbesondere des alpha-Synuclein Proteins. Daneben werden aber auch andere Proteine wie z.B. Tau, Ubiquitin, APP und Abeta akkumuliert. Zusätzlich führt die Anreicherung von alpha-Synuclein durch eine positive Feed Back Schleife zu einer verringerten GCase Expression. Die Behandlung von wildtyp Mäusen mit CBE führt zu irreversiblen Schädigungen im Gehirn. Phänotypisch weisen die Tiere einen hohen Aktionstremor, Schütteln und eine Schwanzfehlhaltung auf. Im Gehirn der Tiere sind starke Anzeichen von Neurodegeneration insbesondere in der Substantia Nigra zu beobachten. Daneben führt CBE zusätzlich zu Neuroinflammation wie Astro- und Mikrogliose. Da murines alpha-Synuclein in Mäusen anders aggregiert als humanes alpha-Synuclein, soll in diesem Projekt eine transgene Maus mit CBE behandelt werden die humanes alpha-Synuclein exprimiert. Parallel dazu soll die alpha Synuclein transgene Maus mit einer knock out Maus gekreuzt werden die kein murines alpha-Synuclein exprimiert und dann erst mit CBE behandelt werden. Durch diese Verbindung von transgenen und induzierten Parametern kann der Unterschied zwischen murinem und humanem alpha-Synuclein als pathologischer Faktor der Gaucher Krankheit analysiert werden.

*zu erwartender Schaden:* In dieser Studie soll ein Modell der Gaucher Krankheit in alpha-Synuclein transgenen Mäusen etabliert werden. Dafür werden humanes alpha-Synuclein transgene Mäuse und auch humanes alpha-Synuclein transgene Mäuse mit ausgeschaltetem murinem alpha-Synuclein für einige Tage mit Conduritol-beta-Epoxyde behandelt und im Anschluss die motorischen Fähigkeiten und auch die Hirnpathologie der Tiere untersucht. Mit dieser Studie wird es möglich sein die Effekte von murinem und humanem alpha-Synuclein auf den Gaucher-Phänotyp zu unterscheiden. Es werden nur männliche Tiere im Alter von 3 und 6 Monaten verwendet.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Insgesamt werden 165 Mäuse verwendet

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

Um Medikamente gegen die Gaucher Krankheit zu testen, 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

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

Pro Jahr erkrankt ca. 1/25.000 Personen an akuter myeloischer Leukämie (AML). Obwohl die Krankheit in den meisten Fällen zunächst erfolgreich mittels Chemotherapie behandelt werden kann, erleidet die Mehrzahl der betroffenen Patientinnen früher oder später ein Rezidiv. Zu diesem Zeitpunkt ist die Therapiesensitivität der leukämischen Zellen deutlich reduziert, und dauerhafte therapeutische Erfolge werden nur mehr sehr selten erzielt. Um Gene zu identifizieren, die die bei der Chemotherapieresistenz der AML eine Rolle spielen könnten, wurden umfangreiche Genexpressionsanalysen, bioinformatische Analysen und Literaturrecherchen durchgeführt. Eines der dadurch identifizierten Kandidatengene vermittelt ersten Zellkulturdaten zufolge tatsächlich in isolierten leukämischen Zellen Therapieresistenz. Diese Daten sollen zunächst mittels weiterer *in vitro* Versuche erweitert und verfeinert werden. Sollte sich dadurch die Hypothese, dass das Kandidatengen eine Rolle bei der Therapieresistenz spielen könnte, weiter erhärten, so sollen diese Ergebnisse durch Versuche an Mäusen bestätigt werden, da nur Tiermodelle die komplexen biologischen Gegebenheiten in einem vielzelligen Organismus in verlässlicher Weise widerspiegeln können. Dazu werden onkogen-tragende Knochenmarkszellen in Empfängermäuse transplantiert werden, und der Einfluss der Expression des Kandidatengens auf die Entstehung und das Chemotherapie-Ansprechen der so verursachten Leukämien untersucht werden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Versuchsmäuse werden Leukämie entwickeln. Bei einem Teil der Tiere wird durch Verabreichung einer Chemotherapie die Krankheit gelindert und das Leben verlängert. Um das Leiden aller Tiere im Versuch zu minimieren, werden sie bei Eintreten definierter Abbruchkriterien schmerzfrei euthanasiert.

*zu erwartender Nutzen:* Sollten die Versuche die Hypothese, dass das Kandidatengen eine Rolle bei der Chemotherapieresistenz der AML spielt, bestätigen, so ist dies von großem klinischen Interesse. Da das betreffende Gen auch in einer anderen, sehr häufigen Erkrankung eine Rolle spielt, wurden bereits mehrere seine Funktion hemmende Substanzen entwickelt, die in klinischen Studien eine niedrige und nur bei wenigen Patientinnen beobachtbare Toxizität aufwiesen. Diese Substanzen würden daher eine sehr interessante Möglichkeit, die Therapie der AML zu verbessern, darstellen. Ziel der beantragten Tierversuche ist es, eine Grundlage für die prä-klinische und klinische Testung dieser Substanzen in der Behandlung der AML zu schaffen, und dadurch zur Heilung oder zumindest Verlängerung des Lebens von Patientinnen mit dieser aggressiven Erkrankung beizutragen.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

743 Mäuse

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

Die zu untersuchende Hypothese basiert auf eigenen Vordaten und auf publizierter wissenschaftlicher Fachliteratur, und wird vor Beginn der Tierversuche in einer Reihe zusätzlicher Zellkulturexperimente weiter bestätigt werden. Vor einer Translation der erhaltenen Daten in die Anwendung an menschlichen Patienten sind allerdings nach dem derzeitigen Stand des Wissens Tierversuche unvermeidlich, da nur auf diese Weise die komplexen Gegebenheiten in einem vielzelligen Organismus modelliert werden können. Die minimale Anzahl an Tieren, mit der aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können, wurde mittels einer sorgfältigen statistischen Analyse ermittelt. In sämtlichen Experimenten werden Schmerz- und Stresssituationen für die Tiere minimiert: Tiere werden täglich von geschultem Personal kontrolliert, der Krankheitsverlauf genau beobachtet und der Versuch gegebenenfalls vorzeitig beendet, falls die definierten Abbruchkriterien eintreten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2021 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**

Genetisch veränderte Labormäuse stellen ein wichtiges Modell im Bereich der biomedizinischen Forschung dar. Durch den Einsatz von Sequenzierungstechniken wurden in Patientinnen, die an aggressiven und oft noch unheilbaren Lymphomen oder Leukämien leiden, bestimmte Treibermutationen entdeckt. Die Auswirkungen jener Punktmutation, die am häufigsten gefunden wurde, soll im blutbildenden System von genetisch veränderten Mäusen untersucht werden, um die Bedeutung dieser Mutation zu verstehen und daraus folgend Ansatzpunkte für Therapien zu finden.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die Untersuchung der Mutation im Mausmodell und die Etablierung von Zelllinien werden Erkenntnisse über den Krankheitsmechanismus dieser Treibermutation, sowie über die Bedeutung dieses Signalweges in der Entstehung und Wachstum von blutbildenden Zellen, gewonnen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Erste Ergebnisse zeigen, dass Mäuse, die die humane Mutation tragen, ein dem Menschen ähnliches Krankheitsbild entwickeln. Um die Veränderungen im blutbildenden System zu untersuchen, werden Blutabnahmen durchgeführt.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

2900 Labormäuse (*Mus musculus*) für einen Zeitraum von 5 Jahren.

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

*Vermeidung:* Es werden Primärzellen entnommen und Versuche *in vitro* (Zellkultur) durchgeführt. Eine gänzliche Vermeidung von Mausmodellen ist nicht möglich, da bisher kein Modell mit dieser Mutation vorhanden ist.

*Verminderung:* Die Tieranzahl wird einerseits durch eine standardisierte Tierhaltung und andererseits durch eine effiziente Planung aller Analysen vermindert. Die Analysemethoden entsprechen dem State-of-the-Art, was eine geringe technische Variabilität gewährleistet.

*Verfeinerung:* Entsprechend der Ausprägung der linienspezifischen Belastung werden Maßnahmen (Abbruchkriterien) für die jeweilige Linie festgelegt, die mögliche Leiden auf ein unerlässliches Maß reduzieren. Die Tiere werden engmaschig kontrolliert. Sobald eine negative Auswirkung der genetischen Veränderung (z.B. Schmerzen) erkennbar ist, wird das Tier euthanasiert. Weiters werden durch bestimmte Kreuzungen, Zuchtmaßnahmen getroffen, um den Einsatz und Schweregrad des Phänotyps zu verlangsamen und abzuschwächen.

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**

*zu erwartender Nutzen:* Das beantragte Versuchsvorhaben dient der besseren nicht invasiven Diagnostik einer Leberverfettung und deren Übergang zu einer Leberentzündung. Dies ist von Bedeutung, da eine Leberentzündung ein bedeutender Risikofaktor für die Entwicklung einer Leberzirrhose und eines hepatozellulären Karzinoms (Leberzellkrebs) ist. Bislang sind hierfür wiederholte Biopsien der Leber notwendig. Es soll durch die Evaluierung von drei verschiedenen Radiopharmaka untersucht werden, ob nicht invasiv durch eine Bildgebung die Entwicklung einer Leberverfettung und deren Übergang in eine Leberentzündung dargestellt werden kann.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Durch zwei verschiedene Diäten (Methionin-Cholin-defiziente Diät und eine Fett- und Kohlenhydrat-reiche Diät) wird eine Leberverfettung und im Verlauf eine Leberentzündung bei den Versuchstieren hervorgerufen. Die Versuchstiere werden unter Narkose dem jeweiligen bildgebenden Verfahren unterzogen. Am Versuchsende werden die Tiere in Narkose schmerzfrei getötet.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden Mäuse (Black-6) verwendet. Die Anzahl der benötigten Tiere beträgt maximal 234 Mäuse.

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

*Vermeidung:* Für die vorliegenden Untersuchungen zur nicht invasiven Diagnose einer Leberverfettung und einer Leberentzündung mit Hilfe von teils neuartigen Radiopharmaka sind Tierversuche unerlässlich, um zu untersuchen, ob eine spätere Anwendung am Menschen sinnvoll und ungefährlich ist. Die Wechselwirkung dieser Arzneimittel hängt von vielen Prozessen ab (etwa Durchblutung, organspezifische Eigenheiten, regionale Entzündungsprozesse) und müssen mit dem lebenden Gesamtorganismus charakterisiert werden. Derartige Prozesse sind mit alternativen *in-vitro* oder *ex-vivo* Systemen nicht nachzustellen.

*Verminderung:* Durch Verwendung modernster bildgebender Methoden und Technologien werden das Ausmaß der Belastung und die Zahl der benötigten Tiere im Rahmen des Möglichen minimiert. So sind Untersuchungen im Verlauf möglich, was eine Reduzierung der notwendigen Versuchstiere ermöglicht. Die Untersuchungen finden unter standardisierten Bedingungen statt.

*Verfeinerung:* Im Sinne der Verminderung wurde die Reihenfolge der Tests so geplant, dass sich in Abhängigkeit von Zwischenergebnissen nachfolgende Experimente womöglich erübrigen.

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**

Die allergische Rhinitis (AR) ist eine immunreaktive Entzündung der Nasenschleimhaut welche oft mit weiteren Erkrankungen der Atemwege wie Nasennebenhöhlenentzündung und Asthma bronchiale einhergeht. Die topische Behandlung mittels Glukokortikoiden hat im Vergleich zur oralen Behandlung ein reduziertes Nebenwirkungsprofil bei sehr guter Wirksamkeit. Da Glukokortikoide jedoch zu den schwer löslichen Substanzen zählen, liegen sie für die meisten Anwendungen als Suspensionen vor. Austrocknung und Reizung der Nasenschleimhaut, begleitet von Nasenbluten, gehören zu den häufigsten Nebenwirkungen und lassen sich unter anderem auf den Zusatz von Konservierungsmitteln in Suspensionsformulierungen zurückführen.

*zu erwartender Nutzen:* Die Entwicklung einer Darreichungsform für Glukokortikoide in gelöster Form ohne Zusatz von Konservierungsmitteln sollte die Verträglichkeit erhöhen und gleichzeitig zu einer schnelleren Wirkung führen. Eine lösliche Formulierung bietet technisch zudem die Möglichkeit, ein Glukokortikoid mit einem breit antiviral wirksamen Biopolymer in Form eines sterilen Nasensprays zu kombinieren. Diese Kombination könnte neben der Behandlung der Allergiesymptome auch zur Vorbeugung bzw. Behandlung von viralen Infekten des oberen Respirationstraktes dienen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die zu testenden Medikamente werden den Tieren über die Nase verabreicht. Diese führen zu einer Entzündung des Respirationstraktes.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

790 Mäuse

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

*Vermeidung:* Für die Beantwortung der Fragestellungen stehen keine Alternativmethoden zur Verfügung.

*Verminderung:* Durch biometrische Planung wurde sichergestellt, dass nur jene Anzahl an Tieren verwendet wird, die für die Beantwortung der Fragestellung unbedingt erforderlich ist.

*Verfeinerung:* Durch den Aufbau unserer Experimente wird sichergestellt, dass die Belastungen der Tiere so gering wie möglich gehalten werden. Die Tiere werden in Gruppen von maximal 13 Tieren (bei einem Körpergewicht von < 20 Gramm) bzw. maximal 8 Tieren (bei einem Körpergewicht von >20 Gramm) gehalten. Zur Anreicherung der Käfige werden den Tieren neben ausreichend Einstreu (mindestens 1cm tief und flächendeckend) Nistmaterial zum Nestbau (Holzwolle, Baumwolle, Zellstoff, etc.) und Papprollen als Rückzugs- und Nagemöglichkeit zur Verfügung gestellt.

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

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

Mit einer 5 Jahres-Überlebensrate von weniger als 15 % bildet das Lungenkarzinom die häufigste Krebstodesursache. Durch Expressionsanalysen und Sequenzieren des Genoms wurde neben primären Mutationen (sogenannten Driver-Mutationen) eine Vielzahl an Genen identifiziert, die in Tumorzellen mutiert und/oder unterschiedlich exprimiert werden. Einige dieser Gene stellen prinzipiell ein relativ einfaches, pharmakologisch angreifbares therapeutisches Ziel dar. Die genaue Funktion dieser Gene ist allerdings noch unklar, insbesondere im Lungenkarzinom und im Zusammenhang mit bestimmten Driver-Mutationen. Basierend auf *in vitro* Vorversuchen, die allerdings die Komplexität des Immunsystems und der physiologischen Prozesse, die während der Entstehung und Ausbreitung des Karzinoms ablaufen, nicht ausreichend widerspiegeln können, beantragen wir, auf ein gut etabliertes *in vivo* Modell zurückzugreifen. In diesem Modell können zeitgleich Driver-Mutationen induziert und jene Gene ausgeschaltet werden, die wir genauer untersuchen wollen. Mit diesem Modell wollen wir die Entstehung von Lungentumoren und die Bedeutung verschiedener Gene in der Pathogenese von Lungenkrebs studieren sowie die Auswirkung dieser bestimmten Gene auf die Überlebensrate der Mäuse. Leider kann zu Versuchsende die Lebensfunktion der Versuchstiere nicht mehr hergestellt werden. Im Gegenzug erwarten wir durch diese Versuche jedoch bedeutende Erkenntnisse betreffend der Pathogenese von Lungenkarzinomen zu erzielen, die uns alternative therapeutische Ansätze im Kampf gegen Lungenkrebs ermöglichen sollen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

2.570 Mäuse

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

*In vitro* Modelle mit Lungenkarzinom-Zelllinien sowie öffentlich zugängliche Datenbanken von Lungenkarzinompatienten lieferten uns wichtige Vorkenntnisse, um unsere Versuche möglichst zielgerichtet planen zu können, und unser Versuchsdesign zielt darauf ab, die Gesamtzahl der Versuchsmäuse so gering wie möglich zu halten. Wir werden nur gut geschultes Personal einsetzen, um die Belastung der Tiere so gering wie möglich zu halten, aber auch um höchstmögliche Standardisierung der Versuche zu erzielen, um damit die Streuung der Ergebnisse zu verringern. Die Versuchsmäuse werden artgerecht gehalten, der Krankheitsverlauf genau beobachtet und der Versuch gegebenenfalls vorzeitig beendet, falls die definierten Abbruchkriterien eintreffen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. April 2021 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 Lymphom ist eine systemische Tumorerkrankung bei Mensch und Tier. Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass es nicht ein Lymphom sondern verschiedenste Subtypen gibt, die unterschiedlich behandelt werden. Bei Katzen mit Lymphomen ist bis jetzt sehr wenig über die möglichen Subtypen und ihre Reaktion auf therapeutische Interventionen bekannt. In dieser Studie soll durch die operative Entnahme von Tumorgewebe mit nachfolgender pathologischer Untersuchung eine genaue Diagnostik des Lymphomtyps erfolgen. Danach wird die Überlebenszeit der einzelnen Patienten mit unterschiedlichen Lymphomtypen auf eine standardisierte Therapie evaluiert.

*zu erwartender Nutzen:* Durch diese Studie wird der Lymphomsubtyp der Katzen genau diagnostiziert. Das ermöglicht es, weniger aggressivere Tumore zu erkennen und mit einer mildereren Therapie zu behandeln. Durch wiederholte klinische Untersuchungen und Ultraschallkontrollen kann der Therapieerfolg genauer festgestellt werden und bei Bedarf schneller mit einer Therapieumstellung begonnen werden. Langfristig soll ein individuell zugeschnittener Therapieplan ermöglicht werden (in Anlehnung an die in der Humanmedizin angestrebte personalisierte Therapie), wodurch es zu einer Lebensverlängerung der betroffenen Katzen bei guter Lebensqualität kommen soll.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Sowohl die Operation als auch die nachfolgenden Therapien wie Chemo- und Bestrahlungstherapie stellen bei der Behandlung des alimentären Lymphoms von Katzen Routinemaßnahmen dar.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

100 Katzen aus Privathaltung, die an einem alimentären Lymphom erkrankt sind.

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

*Vermeidung:* Für das Beobachten der Wirksamkeit von verschiedenen Therapeutika auf verschiedenen Tumorsubtypen ist der lebende Patient notwendig. Es handelt sich hierbei um eine prospektive klinische Studie, die nicht durch *in vitro* Versuche ersetzt werden kann.

*Verminderung:* Da die Anzahl und die Häufigkeit des Auftretens der unterschiedlichen Typen des alimentären Lymphoms unbekannt ist, planen wir für dieses Pilotprojekt eine Stichprobengröße von 100.

*Verfeinerung:* Es werden ausschließlich therapeutische Maßnahmen angewandt, die bereits bekannt und etabliert sind.



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:** Ziel dieser Studie ist es, eine Korrelation zwischen Biomarker-Konzentrationen im Speichel und Serum von Rindern nachzuweisen, um in weiterer Folge ein POC-Device zur vor Ort-Speicheldiagnostik zu entwickeln. Dazu werden Speichelproben mit Serumproben verglichen.

**zu erwartender Schaden:** Kanüleneinstich in Drosselvene (*Vena jugularis externa*) oder einer Vene der Schwanzunterseite (*Vena caudalis mediana*). Das Risiko einer gesundheitlichen Beeinträchtigung der Rinder durch die Versuchsreihe wird aufgrund der Art der Manipulation als sehr gering eingeschätzt.

**zu erwartender Nutzen:** Die Analyse von Speichel stellt eine besonders tierschonende Alternative zur Blutuntersuchung dar, welche nicht nur von Personen mit nachgewiesener Sachkunde, sondern auch von Laien direkt am Tier durchführbar ist. Ein POC-Device zur Speicheldiagnostik ermöglicht künftig ein einfaches Monitoring der Tiergesundheit sowie eine frühzeitige Diagnosestellung und Einleitung einer wirkungsvollen Therapie.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

216 adulte Rinder

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

**Vermeidung:** Die erforderlichen Untersuchungen von klinischen angewandten Studien müssen an der Zieltierart erfolgen, ein Ersatz steht nicht zur Verfügung. Es sind dahingehend auch keine Modelle verfügbar.

**Verminderung:** Das Projekt ist eine Pilotstudie. Die Ergebnisse dieses Projektes können später für eine genauere Fallzahlplanung verwendet werden. Durch Standardisierung der Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

**Verfeinerung:** Auf gute Pflege, Versorgung und Behandlung der Tiere durch erfahrenes und zertifiziertes Personal wird geachtet. Ebenso werden die Rinder um ihr Wohlbefinden zu gewährleisten in regelmäßigen Abständen tierärztlich überprüft. Die Probennahmen werden ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt, um so den Stress, dem die Versuchstiere ausgesetzt sind, gering zu halten. Im Falle eines Erfolges dient dieses Projekt der Verfeinerung: ein auf Serum basiertes Verfahren würde durch ein Speichel-basiertes ersetzt, wodurch folglich die Belastung der Tiere durch Blutabnahme entfallen und durch eine nicht invasive Methode ersetzt werden würde.

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

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

Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von Zelltod-kontrollierenden Proteinen, welchen eine bestätigte Rolle in der Pathogenese verschiedener Tumorerkrankungen zugeschrieben wird, bei Leberkrebs und Leberregeneration zu untersuchen.

*zu erwartender Nutzen:* Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene in Tumorentstehung und Regeneration angeht, gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden die Behandlung akuter und chronisch Lebererkrankungen zu verbessern und den Schaden am Tier rechtfertigen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Bei den geplanten Analysen sollen genetisch modifizierte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität der Leber kurz- und langfristig zu untersuchen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

1.225 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Maligne Erkrankungen der Leber stellen eine multifaktorielle Pathologie dar, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden kann. Wo immer möglich, und informativ, wird auf Zellkulturanalyse zurückgegriffen.

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

*Verbesserung:* Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-5 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen & Nistmaterial als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden. Die Kontrolle der Tiere erfolgt im Akutversuch täglich. Bei operativen Eingriffen unter Narkose wird entsprechende Schmerzbehandlung eingesetzt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. Juni 2021 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*

Ziel des Projektes ist es durch die 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 (Operation in Anästhesie), die Selbstreparatur-Mechanismen der Zellen anzukurbeln und damit die Geweberegeneration und den Heilungsprozess nach Lappenoperationen zu beschleunigen und verbessern.

*zu erwartender Nutzen:* Beschleunigte Geweberegeneration, schnellere und verbesserte Wundheilung, vermindertes Absterben von Zellen.. Die Ergebnisse wären in weiterer Folge für Menschen sowie auch für Tiere anwendbar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Stärke der Schmerzen ist mit jenen vergleichbar, die Menschen nach derartigen Eingriffen erleiden. Während der Regenerationszeit bzw. Einheilungszeit werden die Tiere kontinuierlich mit schmerzstillenden Maßnahmen versorgt. Die Versuchstiere werden auch regelmäßig begutachtet, sodass sichergestellt werden kann, dass die Tiere keine Zeichen des Leidens aufweisen (übliche Gewichtskurven, normale Trinkmenge, keine Änderung des allgemeinen Aussehens oder des Verhaltens).

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

60 Ratten vom Typ Sprague Dawley

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

*Vermeidung:* Die geplanten Versuche müssen *in vivo* (am lebenden Tier/Gewebe) abgehandelt werden, da es nötig ist diese an eine lebende Gewebe durchzuführen um zu sehen, wie sich die Wundregeneration unter Einfluss von Spermidin an diesem verhält.

*Verminderung:* Die Anzahl der Versuchstiere wird aber im aktuellen Projekt auf das absolut Nötigste vermindert jedoch werden so viele Tiere herangezogen wie für eine adäquate statistische Auswertung notwendig sind.

*Verfeinerung:* Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben der Standardtierhaltung zusätzlich Enrichment, wie Nestbaumaterial in Form von Nestparks und Zellstoff bereitgestellt. Des Weiteren wird versucht den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling vom Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Mäuse an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezügliche empfundene Stress während der Experimente reduziert ist.

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

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

Ziel dieser Studie ist es in einem Mausmodell, die Rolle von eines bisher vorwiegend im lymphatischen System untersuchten Proteins, im Herz zu charakterisieren. Dieses Protein ist in einer Vielzahl von Geweben vorhanden und hat eine essentielle Bedeutung für die Entwicklung des kardialen Reizleitungssystems. Diese Erkenntnis ist vor allem durch proteinchemische Untersuchungen der Knockout-Mäuse gewonnen worden. Allerdings gibt es derzeit keine funktionellen Daten bezüglich des Effektes der Defizienz dieses Proteins auf die Reizleitung des Herzens. Im Rahmen des geplanten Projektes soll an narkotisierten Mäusen (mit und ohne Defizienz dieses Proteins) die Funktion des kardialen Reizleitungssystems (Vorhof, AV-Knoten, Ventrikel) untersucht werden.

*zu erwartender Nutzen:* Neue Erkenntnisse über die Funktion des Reizleitungssystems des Herzens. Die zu erwartenden Ergebnisse sind geeignet unser Verständnis der Pathogenese von kardialen Rhythmusstörungen zu erweitern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden durch die Genotypisierung und Zucht geringgradig bis mittelgradig belastet. Die Untersuchung der Funktion des kardialen Reizleitungssystems wird an den anästhesierten Tieren durchgeführt und stellt für die Tiere eine geringgradige Belastung dar. Die Versuche werden in Narkose durchgeführt, geringfügige Belastung durch i.p. Injektion des Narkotikums.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

265 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die Untersuchungen erfolgen in Narkose, die Belastung der Tiere entspricht daher der i.p. Injektion des Narkotikums. Die Untersuchung an Tieren ist notwendig, weil derzeit keine Alternativmethode gibt, welche die Untersuchung des kardialen Reizleitungssystems bei intaktem autonomen Nervensystem ermöglichen würde.

*Verminderung:* Die Zahl der Tiere wird so gering wie möglich gehalten um aussagekräftige Daten zu erhalten. Durch die Erkenntnisse können eventuelle Versuche an wachen Tieren besser geplant bzw. deren Anzahl vermindert werden.

*Verfeinerung:* Die beschriebene EKG-Untersuchung ist eine weithin etablierte Methode, die in unserem Labor mit langer Erfahrung und ausgewiesener Expertise nach international anerkannten Protokollen durchgeführt wird. Die Belastung der Tiere wird durch ausreichende Anästhesie sowie regelmäßige Kontrolle der Narkosetiefe gering gehalten.

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

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

Geruchsstoffe spielen eine große Rolle bei der Kommunikation und dem Sozialverhalten von Nagetieren. Bei Hausmäusen (*Mus musculus*) erfolgt die Geruchskommunikation über Urin und Drüsensekrete. Im Gegensatz zu Urin anderer Säugetiere enthält Mausurin große Mengen verschiedener Eiweiße, welche selbst als Geruchsstoffe fungieren können oder solche binden und transportieren können. Untersuchungen an der Hausmaus haben bestätigt, dass diese Eiweiße bei individueller sowie Verwandtenerkennung und bei der Partnerwahl als Informationsquelle genutzt werden. Die Menge und Art der produzierten Eiweiße wird durch Hormone wie Testosteron, durch den sozialen Status (Dominanz, Fortpflanzungstätigkeit), aber auch durch Nahrungsmenge und Infektionen beeinflusst. Die Menge der produzierten Eiweiße eines Männchens könnte daher als verlässliche Gesundheits- und Qualitätsindikator von Weibchen und Rivalen genutzt werden. Zur Untersuchung dieser Fragestellung werden Urinproben von 32 Mäusemännchen vor und während einer experimentellen Infektion gesammelt. 16 weitere Männchen dienen als Kontrollgruppe. Die Männchen werden in unterschiedlichen Nahrungsregimen (tägliche versus zweitägliche Fütterung) gehalten und die Menge und Zusammensetzung der Urinproteine bestimmt.

*zu erwartender Nutzen:* die Auswertung ermöglicht einen detaillierten Einblick in die Geruchskommunikation bei Hausmäusen und bildet die Grundlage für weitere Berechnungen und Studien.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden mit einem Krankheitserreger infiziert, der bei Mäusen unter natürlichen Bedingungen häufig auftritt. Weiters werden die Tiere kurzfristig in Stoffwechselkäfigen untergebracht und zum Teil restriktiv gefüttert.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

*Mus musculus musculus*, 96

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

*Vermeidung:* Eine Erforschung dieser Frage ist ohne den Einsatz lebender Tiere nicht möglich.

*Verminderung:* Die Anzahl der zu verwendeten Tiere wurde mit Hilfe von Vorstudien bestimmt und damit auf das absolute Minimum reduziert.

*Verfeinerung:* Durch die Verwendung von Stoffwechselkäfigen zur Gewinnung des Mausurins kommt die am wenigsten belastende Methode zur Anwendung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2018 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 Projektziel ist es, die Effekte von N-Acetylcystein (N-ACC) auf das Hörvermögen nach Cisplatin-Gabe genauer zu untersuchen und existierende Applikationsprotokolle zu verbessern. Der Hörverlust durch Cisplatin ist eine Langzeitfolge der Chemotherapie, welche die Lebensqualität der Patienten zusätzlich zu den Belastungen durch die Krebsdiagnose und die Chemotherapie deutlich einschränken kann. Da eine systemische Gabe von Antioxidantien wie N-ACC in hoher Dosierung die Effektivität von Cisplatin einschränken könnte, ist es von großer Bedeutung eine lokale Therapieoption zu etablieren und zu optimieren.

*zu erwartender Nutzen:* Der zu erwartende Nutzen liegt in einer besseren Charakterisierung der pharmakologischen Eigenschaften von N-ACC sowie in einer Verbesserung der Therapieoptionen für den Cisplatininduzierten Hörverlust. Dies könnte das Hörvermögen und die Lebensqualität der Patienten nach Chemotherapie deutlich positiv beeinflussen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der zu erwartende Schaden für die Tiere liegt in den bekannten Nebenwirkungen einer Cisplatin-Applikation (z.B. Hörverlust und Gewichtsverlust). Zusätzlich erhalten die Tiere einige kurze Narkosen um Injektionen in das Mittelohr durchführen zu können und um das Hörvermögen der Tiere mittels Hirnstammaudiometrie zu überprüfen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

160 Meerschweinchen

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

*Vermeidung:* Die Messung von Effekten auf das Hören sowie von Innenohrkonzentrationen von Medikamenten ist nur im Tiermodell möglich, weshalb zur Beantwortung der Fragestellungen dieser Studie nicht auf alternative Methoden zurückgegriffen werden kann.

*Verminderung:* Um die Anzahl der Tiere möglichst gering zu halten, wurde der Versuch stufenweise geplant. Die Maximalzahl der Tiere wird daher nur bei positiven Ergebnissen in den Zwischenauswertungen benötigt.

*Verfeinerung:* Sowohl die Hörmessungen als auch die Applikationstechniken werden ständig evaluiert und wo möglich weiter verfeinert um die Narkosedauern und die Effekte auf die Versuchstiere möglichst gering zu halten.

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

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

Mykotoxine, sekundäre Metabolite von Schimmelpilzen, können bei Mensch und Tier toxische Effekte hervorrufen. Wie aus der Literatur bekannt, führen Fumonisine zu Leistungseinbußen und pathologischen Veränderungen im Atmungstrakt (Lungenödeme) und wirken hepato- und nephrotoxisch. Da chemische und physikalische Entgiftungsmethoden von Fumonisin im Futtermittel im Großmaßstab nach wie vor unzureichend sind, wird unser Hauptaugenmerk auf biologische Entgiftung in Form von Enzymen gelegt. Diese Enzyme sollen im Zuge der Nahrungsaufnahme zur Detoxifikation des Mykotoxins im Schwein führen. Die Aktivität des Enzyms wurde in vivo und in vitro bestätigt. Dieser Versuch soll Aufschluss geben, welche Enzymformulierungen am effektivsten bzw. welche Konzentrationen noch ausreichend sind, um eine Entgiftung des Mykotoxins im Verdauungstrakt von Schweinen nach Zugabe zum Futter zu bewirken. Diese Fragestellung soll anhand des Verhältnisses von Sphingarin/Sphingosin im Serum und Kot, welche in der Literatur als verlässlicher Biomarker beschrieben sind, beantwortet werden. Die daraus gewonnenen Resultate leisten einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus im Schwein.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

36 Absatzferkel (*Suis suis*)

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

**Replacement:** Die Durchführung dieses Projektes ist aufgrund der notwendigen Biomarker in Blut und Kot nicht in Form einer in vitro Studie möglich und es kann somit nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Reduction:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (3 weibliche und 3 männliche) je Gruppe verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten.

**Refinement:** Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerzen der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Futter und Wasser gehalten und täglich von geschultem Personal sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerz zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut. Bei der eingesetzten Fumonisin Konzentration von 5ppm sind keine klinischen Krankheitserscheinungen zu erwarten.

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**

In dieser Studie soll die Verträglichkeit und die Verweildauer von Kontaktlinsen am Hundeaugen untersucht werden. Hierbei werden zwei Linsen, eine humanmedizinische Linse und eine spezielle veterinärmedizinische Bandagelinse für Hunde, miteinander verglichen.

*zu erwartender Nutzen:* Kontaktlinsen werden bei Hunden als Schutz des Auges vor äußeren Einflüssen vor und nach Operationen, als Bandage bei tiefen Hornhautdefekten oder als Therapeutikum bei nicht heilenden Hornhautulzera verwendet. Zwischen den in der Praxis verwendeten Kontaktlinsen bestehen jedoch signifikante Unterschiede bezüglich der Zusammensetzung (Wassergehalt, Sauerstoffgehalt), der Form (Dicke, Krümmung und Durchmesser) und der Kosten der Linsen. Diese Vergleichsstudie soll daher Informationen zur Einsetzbarkeit und möglicher unerwünschter Wirkungen dieser beiden Kontaktlinsentypen geben, um zukünftig die für das Tierauge besonders verträglichen Kontaktlinsen zu verwenden.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Es werden keine bis geringe Auswirkungen am Tierauge erwartet, da es sich bei den verwendeten Kontaktlinsen um etablierte Produkte handelt. Ein unangenehmes Gefühl nach Nachlassen der Wirkung des Lokalanästhetikums kann nicht ausgeschlossen werden. Weiters können eventuell auftretenden Reizerscheinungen am Auge für die Tiere unangenehm sein.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

6 Hunde

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

*Vermeidung:* Untersuchungen zur Verträglichkeit von Kontaktlinsen können nur an den Augen lebender Tiere erfolgen; ein Ersatz durch Alternativmethoden ist daher nicht möglich.

*Verminderung:* Durch die Verwendung beider Augen eines jeden Hundes ist es möglich, interindividuelle Unterschiede sowie die Anzahl der verwendeten Tiere zu minimieren. Durch statistische Planung wurde die Tierzahl auf das unbedingt erforderliche Minimum reduziert.

*Verfeinerung:* Manipulationen am Auge werden nur von qualifizierten Veterinärphthalmo­logen durchgeführt, um eine zusätzliche Belastung durch ungeübte Personen zu vermeiden. Zur Vermeidung von Schmerzen erhalten die Hunde ein Lokalanästhetikum.



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

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

Koagulation ist ein wichtiger Prozess, mit dem der Körper auf Schädigungen des Gefäßsystems reagiert. Jedoch spielt pathologische Koagulation die zentrale Rolle in der Pathogenese von den häufigsten Todesursachen in westlichen Ländern wie etwa Herzinfarkt, Schlaganfall oder Lungenembolie. In *in vitro* Versuchen konnten wir einen Einfluss von Antikörpern auf die Aktivierung der Koagulationskaskade in zellfreien Systemen beobachten.

*zu erwartender Nutzen:* Die Ergebnisse des Projektes sollen genauere Einblicke auf den Einfluss von Antikörpern auf pathologische Blutgerinnung geben. Dies kann in Zukunft einen potentiellen prädiktiven oder therapeutischen Nutzen in Erkrankungen wie Herzinfarkt und Schlaganfall bringen.

*zu erwartender Schaden:* Bei den geplanten weiterführenden Versuchen handelt es sich um Tierversuche mit minimiertem Leiden der verwendeten Tiere. Das TAT-Komplexmodell wird komplett in Anästhesie durchgeführt. Im *Vena cava* Ligationsmodell werden die Mäuse nach der Operation mit Schmerzmittel zur Vermeidung von postoperativen Schmerzen versorgt.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

830 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Da die Aussagen von *in vitro* Koagulationsexperimenten begrenzt sind und nicht die *in vivo* Situation darstellen, ist eine Vermeidung des beantragten Tierversuches nicht möglich. Die Fragestellung (Auswirkungen von natürlichen IgM-Antikörpern auf Koagulation und Thrombose ist nur *in vivo* zu beantworten). Bei der Erstellung des Versuchsplanes wurde darauf geachtet, dass die Versuche mit der geringstmöglichen Belastung und kleinstmöglichen (aber statistisch notwendigen) Anzahl an Versuchstieren durchgeführt werden. Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen eine angereicherte Haltungsumgebung (i.e. „enriched environment“) helfen den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. 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.

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**

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind gemäß dem Schweregrad „mittel“ zuzuordnen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Die zu untersuchenden Tiere sind 125 Mäuse und 44 Ratten.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und durch die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und der täglichen tierpflegerischen Betreuung und Konditionierung aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere verhindert werden

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 die Gabe von Secretoneurin unter klinischen Bedingungen die Selbstreparatur-Mechanismen der Zellen anzukurbeln um damit die Geweberegeneration und den Heilungsprozess nach Lappenplastik zu beschleunigen und verbessern.

*zu erwartender Nutzen:* Beschleunigte Geweberegeneration, schnellere und verbesserte Wundheilung, vermindertes Absterben von Zellen. Die Ergebnisse wären in weiterer Folge für Menschen sowie auch für Tiere anwendbar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Stärke der Schmerzen ist mit jenen vergleichbar, die Menschen nach derartigen Verletzungen bzw. Eingriffen erleiden. Während der Regenerationszeit bzw. Einheilungszeit werden die Tiere kontinuierlich mit schmerzstillenden Medikamenten versorgt. Die Versuchstiere werden auch regelmäßig begutachtet, sodass sichergestellt werden kann, dass die Tiere keine Zeichen des Leidens aufweisen (übliche Gewichtskurven, normale Trinkmenge, keine Änderung des allgemeinen Aussehens oder des Verhaltens).

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

60 Ratten

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

*Vermeidung:* Die geplanten Versuche müssen *in vivo* (am lebenden Tier/Gewebe) abgehandelt werden, da es nötig ist diese an einem lebenden Gewebe durchzuführen um zu sehen, wie sich die Wundregeneration unter Einfluss von Secretoneurin an diesem verhält.

*Verminderung:* Die Anzahl der Versuchstiere wird aber im aktuellen Projekt auf das absolut Nötigste vermindert jedoch werden so viele Tiere herangezogen wie für eine adäquate statistische Auswertung notwendig sind.

*Verfeinerung:* Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment, wie-Holzwohle /Nestbaumaterial. Des Weiteren wird versucht den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling vom Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Ratten an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezügliche empfundene Stress während der Experimente reduziert ist.

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

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

Schmerz ist eine multidimensionale Erfahrung, die nicht nur eine sensorisch-diskriminative, sondern auch motorische, emotionale und kognitive Komponenten beinhaltet. Die Verarbeitung dieser verschiedenen Aspekte von Schmerz erfordert komplexe Netzwerke von Nervenzellen im Gehirn, die miteinander interagieren. Eine wichtige Schaltstelle ist das parabrachiale Kerngebiet im Zwischenhirn. Dort werden Schmerz-relevante Informationen, die aus dem Rückenmark kommen in andere Gehirnareale verteilt, die bei der emotionalen Verarbeitung von Schmerz eine zentrale Rolle spielen. Ziel dieser Studie ist es, die funktionellen Eigenschaften der unterschiedlichen Neuronengruppen des parabrachialen Kerngebiets zu untersuchen. Dazu sollen die Projektionsneurone durch eine Farbstoffinjektion in die bevorzugten Zielregionen im Gehirn markiert werden. Anschließend wird das Gehirn entnommen, und die eigentlichen Messungen werden dann am Schnittpräparat durchgeführt.

*zu erwartender Nutzen:* Dieses Projekt würde wichtige Erkenntnisse über die grundlegenden Mechanismen der emotionalen Verarbeitung von Schmerzen bringen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden einem kurzen chirurgischen Eingriff unter tiefer chirurgischer Narkose und begleitender Analgesie unterzogen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden 264 Ratten verwendet.

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

*Vermeidung:* In diesem Projekt sollen Nervenzellen untersucht werden, die mit definierten Gehirnarealen in Verbindung stehen. Dazu muss ein Farbstoff in die Nervenzellen eingeschleust werden. Da für den Transport des Farbstoffs mindestens zwei Tage notwendig sind, muss dies im intakten Tier durchgeführt werden. Allerdings werden die eigentlichen Experimente dann ausschließlich in vitro im Schnittpräparat durchgeführt, wodurch das Leiden der Tiere auf ein Minimum beschränkt wird.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert.

*Verfeinerung:* Der kurze chirurgische Eingriff wird unter fachgerechter tiefer chirurgischer Narkose und begleitender Analgesie durchgeführt.

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 Projekts ist es, die Wirksamkeit einer definierten UV-Behandlung von Abwasser hinsichtlich der Infektiosität von zwei anzeigepflichtigen Krankheitserregern zu überprüfen. Bei den Erregern handelt es sich einerseits um das VHS-Virus, Genotyp 1a (Virale hämorrhagische Septikämie-Virus), andererseits um der Erreger der KHV (Koi Herpes Viroset CyHV-3).

zu erwartender Nutzen: dieser besteht im Gewinn von Information über die Wirksamkeit der eingesetzten UVC-Anlage.

zu erwartender Schaden für die Tiere: besteht in der Infektion der Fische

**2. Art und Anzahl der Tiere**

61 Karpfen, *Cyprinus carpio*

61 Regenbogenforellen, *Oncorhynchus myciss*

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

**Vermeidung:** Das Vorhandensein infektiöser Erreger im Wasser nach UV-Bestrahlung lässt sich nur durch Immersion empfindlicher Fischarten ausschließen.

**Verminderung:** Als Hauptzielparameter wird der Virusnachweis verwendet. Die Positivkontrolle soll in einem Vorversuch zur Feststellung des Prozentsatzes erfolgreicher Infektion dienen, die von Pathogenstamm, fischspezifischen Parametern und Umweltbedingungen abhängt, um den Erfolg der UV-Behandlung im nachfolgenden Experiment nachweisen zu können. Für den Hauptversuch wird erwartet, dass die UV-Behandlung die Proportion von infizierten auf nahezu Null verringert. Der gestaffelte Versuchsaufbau soll die Anzahl der Versuchstiere und deren Belastung möglichst verringern. Das Versuchsdesign wurde so optimiert, dass mit möglichst wenigen Versuchstieren aussagekräftige Resultate zu erwarten sind.

**Verfeinerung:** Die Fische werden bei artgerechten Wasserparametern gehalten und artgerecht gefüttert. Eine Kontrolle der Tiere erfolgt zweimal täglich. Bei ersten Anzeichen einer Infektion werden die Fische fachgerecht euthanasiert.

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**

Infektionen der Lunge sind die häufigsten Infektionen mit tödlichem Ausgang. Die Lunge ist ein Organ, welches einerseits Krankheitserregern in der Atemluft ausgesetzt ist, andererseits aufgrund seiner feinen Beschaffenheit besonders empfindlich auf Entzündungen reagiert. Viele verschiedene Mechanismen spielen in der Abwehr von potentiell gefährlichen Krankheitserregern eine Rolle. Eine in der Lunge besonders häufige vorkommende Art von Immunzellen sind B-Zellen. Diese Zellen können Antikörper produzieren und nehmen deshalb eine Schlüsselrolle im Immunsystem ein. Trotzdem ist die Funktion von B-Zellen in der Lunge im Gesunden wie auch im kranken Zustand noch unzureichend erforscht.

*zu erwartender Nutzen:* Neue Erkenntnisse über die Abwehr von Bakterien durch das Immunsystem werden erwartet. Diese Erkenntnisse können sowohl für diagnostische als auch therapeutische Interventionen von Bedeutung sein.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Einige der Tiere werden mit Bakterien infiziert, was zu einer Lungenentzündung führt, die im fortgeschrittenen Stadium zu Krankheitssymptomen führt und im schlimmsten Fall tödlich sein kann.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

1.138 Mäuse.

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

*Vermeidung:* Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche.

*Verminderung:* Es wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

*Verfeinerung:* Sämtliche Eingriffe werden unter Narkose durchgeführt. Die Infektionen werden derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden. Überlebensexperimente werden nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2021 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**

**Projektziele:** Obwohl ca. 20 % der Bevölkerung in Europa unter chronischen Schmerzen leiden, sind die Optionen zur Therapie dieser chronischen Schmerzen derzeit sehr unbefriedigend und vor allem die Behandlung neuropathischer Schmerzen stellt für Schmerztherapeuten immer noch eine große Herausforderung dar, die häufig ohne Erfolg bleibt. Daher ist es wichtig, neue Strategien für die Behandlung chronisch neuropathischer Schmerzen zu entwickeln.

**zu erwartender Nutzen:** Es wird erwartet, dass sich aus dem Projekt neue Strategien zur Therapie von chronischen neuropathischen Schmerzen ergeben.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Nach Nervenläsion entwickelt sich beim neuropathischen Schmerzmodell eine mechanische Berührungsüberempfindlichkeit, das Nervenregenerations-Modell ist nach Wundheilung nicht schmerzhaft. Sich möglicherweise entwickelnde geringe Spontanschmerzen sind für beide Modelle bisher kaum untersucht.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden 4800 Mäuse für 3 Jahre beantragt

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

**Vermeidung:** Aufgrund der Komplexität des Schmerzentstehung kann letztendlich die Untersuchung der Schmerzpathogenese sowie neuer Schmerztherapien nur *in vivo* erfolgen. Nach erfolgter Validierung *in vivo* unter Minimierung der Versuchstierzahlen, können weitere Arbeiten an Tierversuchersatzmodellen durchgeführt werden.

**Verminderung:** Die Anzahl der Tiere wird dadurch vermindert, dass im Anschluss an die sensomotorische Untersuchung *ex vivo* Modelle sowie Zellkulturmodelle hergestellt und damit weitere Daten gewonnen werden um eine möglichst effiziente Verwendung zu gewährleisten.

**Verfeinerung:** Durch die Verwendung neuer Methoden wie der Aufzeichnung von Vokalisationen sowie der Beobachtung des spontanen Verhaltens zur Erforschung spezifischer Krankheitsassoziierter Verhaltensmuster werden die Verfahren verfeinert und eine zusätzliche Belastung, z.B. durch direkte Interaktion mit dem Untersucher, minimiert.

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

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

Die Unterbringung der Kaninchen erfolgt sachgerecht im Tierhaltungsstall. Die Kaninchen werden vom Tierhaltungsstall im entsprechenden Tierkäfig nach Einleitung der Narkose in das Labor verbracht und dort den mikrochirurgischen Übungen unterzogen. Der gesamte Kurs wird 2 Wochen dauern, die mikrochirurgische Präparation an den Versuchstieren wird lediglich an 1 Tag durchgeführt werden. Am Abend dieses Kurstages werden die Tiere sakrifiziert werden.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Kaninchen (*Oryctolagus cuniculus*) n=12

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

**Vermeidung:** Nach derzeitigem Kenntnis- und Wissensstand sind mikrochirurgische Übungen am lebenden Tier durch nichts zu ersetzen, weil sie der Situation im Operationsaal und gerade für heikle und schwierige Mikrogefäßoperationen am Gehirn Voraussetzung sind, damit derartige Operationen überhaupt erfolgreich durchgeführt werden können.

**Verminderung:** Selbstverständlich gibt es mittlerweile Simulationsmodelle, welche aus Kunststoff hergestellt sind und in Form einer Plastikratte bzw. eines Silikonmodells als Einstieg in den Kurs dienen, um von dem Tiermodell am maximalsten zu profitieren. Durch diese Modelle kann selbstverständlich die Frequenz der Verwendung von lebenden Tieren drastisch reduziert werden.

**Verfeinerung:** Der Kurs hat in gradueller Weise von Tag1 bis Tag3 den Schwierigkeitsgrad erhöht insofern als am Tag 1 und 2 nur an den oben genannten Simulationsmodellen trainiert wird, um die Kursteilnehmerinnen und Kursteilnehmer auf die Operation an den Tieren mit steigendem Schwierigkeitsgrad vorzubereiten. Dadurch gelingt es, das Tier nach entsprechender Narkose so schonend wie möglich zu operieren. Eine Nachbeobachtung der Tiere war und ist nie vorgesehen, da es sich um einen reinen Tierversuch zu Übungszwecken handelt. Am Ende der Übung, das heißt etwa 6 Stunden nach Beginn der mikrochirurgischen Operationen, werden sämtliche Tiere ohne Aufwachversuch sakrifiziert.



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

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

Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von Zelltod-kontrollierenden Proteinen, welchen eine bestätigte Rolle in der Pathogenese verschiedener Tumor- und Autoimmunerkrankungen zugeschrieben wird, näher zu untersuchen.

*zu erwartender Schaden:* Bei den geplanten Analysen sollen insgesamt 240 genetisch modifizierte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität der Blutbildung kurz- und langfristig zu ermitteln.

*zu erwartender Nutzen:* Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene in der Regeneration des haematopoietischen Systems angeht, gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden um die Behandlung akuter und chronischer Aplasien sowie die von Leukozytosen/Mononukleososen und malignen Erkrankungen zu verbessern, welches den entstehenden Schaden durch diese Untersuchungen rechtfertigen sollte.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

240 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Maligne Erkrankungen der Leber stellen eine multifaktorielle Pathologie dar, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden kann. Wo immer möglich, und informativ, wird auf Zellkulturanalyse zurückgegriffen.

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

*Verbesserung:* Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-5 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen & Nistmaterial als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden. Die Kontrolle der Tiere erfolgt im Akutversuch täglich. Durch den Einsatz von induzierbaren Systemen kann die Zahl der benötigten Tiere deutlich reduziert werden.

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

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

**zu erwartender Nutzen:** 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). Diese Gefäßverkalkungen haben in weiterer Folge ebenfalls Einfluss auf andere Organsysteme. So wurde beispielsweise ein Zusammenhang von Atherosklerose und degenerativen Bandscheibenerkrankungen nachgewiesen. Neue Konzepte für die Prävention und Behandlung der Gefäßverkalkung werden daher dringend benötigt. Aus diesem Grund werden die Entstehung dieser Gefäßverkalkungen und ihre Auswirkungen auf andere Organsysteme an atherosklerotischen Kaninchen untersucht.

**zu erwartender Schaden:** Die Kaninchen entwickeln eine Form der Atherosklerose, die der Atherosklerose des Menschen sehr ähnlich ist. Im Verlauf des Projektes werden die Tiere regelmäßig tierärztlich untersucht, werden der Blutdruck und die Konzentration der Blutfette bestimmt. Des Weiteren erfolgen ein Ultraschall der Halsschlagader und MRT Untersuchungen. Um die Tiere nicht zu verängstigen erfolgen diese Untersuchungen in Vollnarkose.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

In einem Zeitraum von fünf Jahren werden maximal 300 Kaninchen untersucht.

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

Die Kaninchen werden in artgerechten Käfigen mit Versteckmöglichkeit gehalten und der Gesundheitszustand der Tiere wird täglich kontrolliert. Die Durchführung des Projektes erfolgt durch sachkundige und im Umgang mit Kaninchen erfahrene Personen. Durch die Zusammenarbeit verschiedener Arbeitsgruppen kann sowohl die Entstehung der Atherosklerose, als auch die Auswirkungen der atherosklerotischen Veränderungen auf unterschiedliche Organsysteme untersucht werden. Wir hoffen dadurch neue therapeutische Ansätze für die Behandlung der Atherosklerose und ihrer Folgeerkrankungen erschließen zu können.

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

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

Zuchtstuten werden häufig noch gegen Ende der Trächtigkeit transportiert, z.B. um sie kurz vor dem Abfohlen zur besseren Geburtsüberwachung auf ein professionelles Gestüt oder in eine Tierklinik zu bringen. Transporte stellen für Pferde aber auch stets einen Stressor dar und Stressreaktionen können eine vorzeitige Geburt auslösen. In dem Projekt wird der Einfluss eines Transportes auf den Zeitpunkt und Verlauf der Geburt sowie die Ausreifung und weitere Gesundheit des neugeborenen Fohlens untersucht.

*zu erwartender Nutzen:* Objektive Quantifizierung des Einflusses von Transporten auf die Stressreaktion bei Stuten und auf den Zeitpunkt und Verlauf der Geburt, mit dem Ziel durch die begründete Vermeidung von Transporten die Haltung und das Management von Geburtsstuten zu verbessern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* geringgradige, kurzzeitige Belastung durch Blutprobenentnahme sowie geringgradige Belastungen durch den Transport .

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Pferde (n=32)

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

*Vermeidung:* Da die Untersuchung der komplexen physiologischen Vorgänge einer Geburt nur an lebenden Tieren der jeweiligen Spezies möglich ist, kann die Studie nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden.

*Verminderung:* Es werden Pferde einer Rasse verwendet, die genetisch eng verwandt sind, sodass deutliche Gruppenunterschiede zu erwarten sind. Dadurch kann die Anzahl der verwendeten Pferde so gering wie möglich gehalten werden.

*Verfeinerung:* Es kommen erprobte laboranalytische Verfahren zur Anwendung, welche die zu erwartenden Veränderungen mit einer hohen Trennschärfe erfassen. An den Tieren werden nur jene Maßnahmen (Blutproben und Speichelproben sowie ein fachgerechter, unter standardisierten Bedingungen durchgeführter Transport) durchgeführt, die zur Beantwortung der Fragestellung unbedingt notwendig sind. Die Zeitplanung erfolgt so, dass weder in der Versuchsgruppe noch in der Kontrollgruppe mit einer Geburt unreifer Fohlen zu rechnen ist.

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

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

Im Rahmen dieses Projekts planen wir die biologische Rolle von Zellzyklus-kontrollierenden Proteinen welche eine bestätigte Rolle in der Unterdrückung verschiedener Tumorerkrankungen zugeschrieben wird und als therapeutisches Ziel ausgewählt wurden, zu untersuchen.

*zu erwartender Schaden:* Bei den geplanten Analysen sollen insgesamt bis zu 784 genetisch modifizierte Mäuse verwendet werden, um den Einfluss veränderter Proteinniveaus auf die Funktionalität der Hämatopoese kurz- und langfristig zu erheben.

*zu erwartender Nutzen:* Mit diesen Versuchen können eine Reihe neuer Erkenntnisse, besonders was die Rolle dieser Gene in Tumorentstehung und Regeneration angeht, gewonnen werden. Dieses Wissen soll verwendet werden die Behandlung Leukämien zu verbessern. Diese Erkenntnisse stellen sollten den Nutzen dieser Untersuchungen für den "Schaden" am Tier deutlich aufwiegen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

784 Mäuse

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

*Vermeidung:* Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Maligne Erkrankungen des Blutes stellen eine multifaktorielle Pathologie dar, die in Zellkultur nur in äußerst limitiertem Maße abgebildet werden kann. Wo immer möglich, und informativ, wird auf Zellkulturanalysen zurückgegriffen.

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

*Verbesserung:* Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-5 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig ein Häuschen & Nistmaterial als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden. Die Kontrolle der Tiere erfolgt im Akutversuch täglich.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. Juni 2020 vorgesehen.

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

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

Fusarium Mykotoxine, sekundäre Metaboliten von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, treten weltweit in Getreide und Tierfutter natürlich auf. Sie können bei Mensch und Tier toxische Effekte ausüben und sind von beträchtlichem Interesse in Bezug auf Gesundheit und Produktivität vieler Schweine- und Geflügelproduzenten. Zearalenon (ZEN), eines der bedeutendsten Mykotoxine, kann in Schweinen aufgrund seiner östrogenen Wirkung sowohl Reproduktions-, als auch Fertilitätsstörungen verursachen und Schweine sind die am meisten sensitive Spezies für dieses Mykotoxin. ZEN konkurriert dabei mit dem natürlich produzierten Hormon 17- $\beta$ - Östradiol um die Bindungsstellen (Östradiol – Rezeptoren) in verschiedenen Organen im Körper von sowohl männlichen als auch weiblichen Tieren. Durch eine Nachahmung der Östradioleffekte kann ZEN auch östrogene Effekte hervorrufen, obwohl die natürliche Östradiolkonzentration gering sein sollte. Da bei präpubertierenden Jungsauen (Geburt bis Alter von 150 Tagen) noch kein völlig entwickeltes reproduktives endokrines System vorhanden ist, sind diese am meisten sensitiv gegenüber den östrogenen Effekten des ZEN. Außerdem kann ZEN zu Unfruchtbarkeit führen, da die normale Ovarienfunktion, die Follikelentwicklung und die Uterusfunktion beeinflusst und gestört werden. Jüngste Untersuchungen zeigten, dass bereits 36% des weltweiten Futters und Mischfutters mit ZEN kontaminiert sind, in Asien bereits bis zu 60%. Das Toxin ist hitzestabil und kann folglich nicht während des Futterherstellungs- oder bearbeitungsprozesses eliminiert werden. Aus diesem Grund ist es notwendig die Wirkungsweise des ZEN im Tier zu blockieren und die Belastung dadurch für das Tier zu reduzieren.

Das Ziel dieses Projektes ist es die Wirkung bereits in vitro getesteter verschiedener Enzyme und Binder auch in vivo zu bestätigen und zu vergleichen. In vitro Versuche zeigten eine sehr hohe Bindungskapazität von teilweise über 90%. Diese in vitro vorausgehenden Daten müssen nun in vivo im Tier bestätigt werden.

Um eine genaue Trennung der Kot- und Urinmengen zu gewährleisten, kommen die Tiere einzeln in Stoffwechsellkäfige (insgesamt 12 Stück, die nebeneinander aufgestellt werden, damit die Tiere sich gegenseitig hören, riechen und schmecken können). Das Sammeln von Kot und Urin stellt einen nichtinvasiven Eingriff dar. Urin wird während der Projektperiode alle 12 Stunden gesammelt, Kot hingegen nur einmal am Tag als Sammelprobe. Um die Belastung der Tiere möglichst gering zu halten, wird auf Blutprobennahmen verzichtet.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Für dieses Projekt werden insgesamt 12 weibliche Absatzferkel verwendet.

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

**Replacement:** Die unterschiedliche Bindungskapazität dieser Binder wurde bereits in vitro nachgewiesen, es ist aber unerlässlich, diese auch in vivo zu bestätigen.

**Reduction:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (drei bzw. vier Absatzferkel pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten. Um die Tierzahl zu reduzieren, wurde für diesen Versuch ein Messwiederholungsdesign gewählt. Die Verminderung der Fehlervarianz hinsichtlich der tierindividuellen Unterschiede stellt einen weiteren Vorteil dieses Versuchsaufbaues dar.

**Refinement:** Die Tiere erhalten eine Akklimatisierungsphase von drei Tagen, bevor der Versuch gestartet wird. Die Versuchsdauer (22 Tage) wurde so gewählt, dass die Ferkel nur so kurz wie möglich unter Stress stehen. Als Enrichment wird den Tieren „Ferkelspielzeug“ angeboten. Es wird während des Projektes großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich gehalten werden. Alle Ferkel werden mit ständigem Zugang zu Futter und Wasser gehalten und täglich von geschultem Personen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht. Sollten die Tiere Anzeichen von Schmerzen zeigen oder in irgendeiner Weise beeinträchtigt sein, werden sie vom Versuch ausgeschlossen und tierärztlich betreut.

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

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

Das Immunsystem, welches den Körper vor einer großen Anzahl an Infektionen schützen kann, ist in den meisten Fällen nicht in der Lage einen Tumor abzustoßen. Deshalb ist es sehr wichtig die Interaktion von Tumoren mit dem Immunsystem zu untersuchen und das Immunsystem gezielt zu aktivieren um es bei der Tumorerkennung und Abstoßung zu unterstützen. Diese Art der Krebstherapie stellt außerdem eine gezielte und damit weniger toxische Alternative zu Chemotherapie und Radiotherapie dar.

*zu erwartender Nutzen:* Das vorliegende Projekt bringt einen Erkenntnisgewinn in der Krebsimmunotherapie und stellt einen wesentlichen Schritt in Richtung der Entwicklung von wirksamen Therapiemöglichkeiten dar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Auswirkungen des Primärtumorwachstum und Metastasierung des Tumors. Der Zustand der Tiere unterliegt einer täglichen klinischen Kontrolle durch geschultes Personal.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

3000 Mäuse

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

Die geplanten Tierversuche basieren auf Ergebnissen vorangegangener Tierversuche unter Verwendung von etablierten und international akzeptierten Mausmodellen. Das Projekt wurde im Hinblick auf Verwendung geringstmöglicher Tierzahl geprüft. Derzeit gibt es keine anderen Methoden, die wissenschaftlich aussagekräftig sind, um zu diesen Erkenntnissen zu kommen. Durch Bildverarbeitung werden die Versuchstiere minimiert, da hier der Krankheitsverlauf pro Versuchstier über den gesamten Zeitraum beobachtet werden kann. Vor diesem Hintergrund wurden experimentelle Protokolle mit Verwendung von Tieren entwickelt, die sowohl die Anzahl der notwendigen Tiere als auch Schmerz, Unannehmlichkeiten, Stress und Belastungen minimieren. Zusätzlich werden alternative Modelle, basierend auf Krebsgenomsequenzierungsdaten, analysiert und erforscht.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2021 vorgesehen.

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

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

Es handelt sich um ein Grundlagenforschungsprojekt, in dem die Rolle des Proteins Thrombospondin-1 (und dessen Veränderung durch neutrophile Enzyme) in der Entstehung einer tiefen Venenthrombose untersucht wird.

*zu erwartender Nutzen:* Wir erwarten uns die Erweiterung unseres Wissens über die krankhafte Entstehung von Blutgerinnseln in venösen Blutgefäßen. Dieses Wissen könnte es uns erlauben, neue Strategien zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit tiefen Venenthrombosen zu entwickeln.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Von 30 Mäusen werden ausschließlich Blutproben für die Isolierung von Blutzellen genommen. Die restlichen (434) Mäuse werden einem operativen Eingriff unter Vollnarkose unterzogen – mit nachfolgender entsprechender Schmerzlinderung. Hierbei wird eine tiefe Venenthrombose erzeugt, die über einen Zeitraum von ca. 1 Woche entsteht und sich über die nächsten weiteren 2 Wochen wieder auflöst.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

464 Tiere der Art *Mus musculus* (Mäuse) sollen eingesetzt werden.

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

*Vermeidung:* Da bei einigen Versuchen nur Blutzellen der Mäuse benötigt werden, entsteht kaum eine Beeinträchtigung für diese Tiere. Versuche, die eine tiefe Venenthrombose simulieren, können nicht nur durch in vitro Studien ersetzt werden.

*Verminderung:* Die Anzahl der Tiere wurde kritisch überlegt und eine Zahl festgelegt, bei der so wenig Mäuse wie möglich eingesetzt werden, aber gleichzeitig eine aussagekräftige, statistische Auswertung ermöglicht wird.

*Verfeinerung:* Stress und Angst für die Mäuse werden durch den Einsatz eines „enriched environment“ in den Käfigen vermindert. Weiters werden jegliche potenzielle Schmerzen durch Verabreichung von entsprechenden Medikamenten vermieden, und selbstverständlich wird der gesundheitliche Zustand der Tiere täglich evaluiert.

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**

Die Aortenklappenstenose ist die häufigste Herzklappenerkrankung in Europa. Der genaue Mechanismus, der zu dieser Verengung der Klappe führt ist nicht bekannt. Generell ist dieser Prozess fortschreitend und durch keine medikamentöse Therapie aufzuhalten bzw. rückgängig zu machen. Therapie der Wahl ist der operative Aortenklappenersatz. Wir glauben, dass die Blutversorgung der Aortenklappe für deren Funktion wichtig ist und dass ein Verlust diese Blutgefäße die Erkrankung auslöst. Im vorliegenden Projekt wollen wir untersuchen, inwieweit die Blutversorgung oder deren Verlust einen Einfluss auf die Entstehung der Aortenklappenstenose hat. Wir wollen hierfür ein Mausmodell etablieren, das jeden Schritt in der Entwicklung der Aortenklappenstenose sichtbar und untersuchbar macht.

*zu erwartender Nutzen:* Ein adäquates Tiermodell soll dazu beitragen, die Gründe, die zu einer Degeneration der Aortenklappe führen, zu verstehen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in 2 Operationen unter Vollnarkose

**2. Art und Anzahl der Tiere**

760 Mäuse

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

Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimalisiert werden. Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analysis) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

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



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.

*zu erwartender Nutzen:* 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.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der Schaden für die Tiere ist, dass sie süchtig nach Kokain werden. Aber als positiven Effekt können die Tiere dafür soziale Interaktion mit ihren Sozialpartner erleben.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Für das von uns geplante Projekt werden insgesamt 167 Ratten und 166 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. Dafür werden wir die Tiere mit Nistmaterial unterbringen. Das bei der Markierung entnommene Gewebe wird für die Genotypisierung verwendet, wodurch sich die Beschwerden für die Tiere minimieren.

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**

Der Lungenhochdruck oder pulmonale Hypertension (PH) ist eine schwere progressive Erkrankung, die ohne adäquate Therapie innerhalb von wenigen Jahren zum Tod führt. Eine schwere Form dieser Erkrankung ist die chronisch thromboembolische pulmonale Hypertension (CTEPH). Eine Heilung für diese Erkrankung gibt es nicht. Es wird vermutet, dass einerseits Immunzellen und andererseits Botenstoffe direkt aus dem Lungengewebe bei der Entstehung der Erkrankung eine Rolle spielen. Wir konnten nachweisen, dass einer dieser Botenstoffe im Mausmodell zur Entstehung der Erkrankung beiträgt. Um dies zu bestätigen planen wir eine Magnetresonanztomographie der Mausherzen durchzuführen.

*zu erwartender Nutzen:* Eine adäquate Charakterisierung soll in Zukunft helfen die Anzahl der Tiere für die PH-Forschung zu reduzieren.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einer einmaligen Vollnarkose zur Durchführung der Magnetresonanztomographie.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

670 Mäuse

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

Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimalisiert werden. Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analysis) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

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

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

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

Pferde sind saisonal reproduktionsaktiv und ihre Fortpflanzungsfunktionen sind im Winter reduziert. Dies ist genetisch vorgegeben und wird über jahreszeitliche Veränderungen der Tageslichtlänge auf einen 12monatigen Rhythmus synchronisiert. Wieweit Umwelt- und Klima den Einfluss der Tageslichtdauer auf die Fortpflanzung von Pferden modulieren, ist nicht bekannt. In dem Projekt werden Hengste in zwei unterschiedlichen Haltungssystemen gehalten (Gruppe 1: Gruppenlaufstall, Gruppe 2: Auslauf mit Unterstand). Bei den Tieren beider Gruppen werden Fruchtbarkeitsparameter (Samenqualität) sowie Herzfrequenz und Blutparameter (Blutbild) erhoben.

*zu erwartender Nutzen:* Objektive Quantifizierung des Einflusses von Haltungssystemen auf Samenqualität und Stoffwechsel beim Pferd mit dem Ziel über die Haltung zu einer guten Fruchtbarkeit beizutragen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* geringgradige und kurzzeitige Belastung durch Blutprobenentnahme.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Pferde (n=20)

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

*Vermeidung:* Da die Untersuchung der komplexen physiologischen Reaktionen von Pferden auf Umwelteinflüsse nur an lebenden Tieren möglich ist, kann die Studie nicht durch Alternativmethoden ersetzt werden.

*Verminderung:* Durch Verwendung von Pferden einer Rasse mit ausgeprägter Saisonalität sind deutliche Gruppenunterschiede zu erwarten, wodurch die Anzahl der verwendeten Pferde so gering wie möglich gehalten werden kann.

*Verfeinerung:* Es kommen erprobte Untersuchungsmethoden und laboranalytische Verfahren zur Anwendung, welche die zu erwartenden Veränderungen mit einer hohen Trennschärfe erfassen. Es werden lediglich jene Maßnahmen (Blutproben in 2wöchigen Abständen) durchgeführt, die unbedingt erforderlich sind, um die Fragestellung zu beantworten.

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 die 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 (Operation in Anästhesie), die Selbstreparatur-Mechanismen der Zellen anzukurbeln um damit die Geweberegeneration und den Heilungsprozess nach Verbrennungen zu beschleunigen und verbessern.

*zu erwartender Nutzen:* Beschleunigte Geweberegeneration, schnellere und verbesserte Wundheilung, vermindertes Absterben von Zellen. Die Ergebnisse wären in weiterer Folge für Menschen sowie auch für Tiere anwendbar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Stärke der Schmerzen ist mit jenen vergleichbar, die Menschen nach derartigen Verletzungen bzw. Eingriffen erleiden. Während der Regenerationszeit bzw. Einheilungszeit werden die Tiere kontinuierlich mit schmerzstillenden Medikamenten versorgt. Die Versuchstiere werden auch regelmäßig begutachtet, sodass sichergestellt werden kann, dass die Tiere keine Zeichen des Leidens aufweisen (übliche Gewichtskurven, normale Trinkmenge, keine Änderung des allgemeinen Aussehens oder des Verhaltens).

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

72 Ratten vom Typ Sprague Dawley

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

*Vermeidung:* Die geplanten Versuche müssen *in vivo* (am lebenden Tier/Gewebe) abgehandelt werden, da es nötig ist diese an einem lebenden Gewebe durchzuführen um zu sehen, wie sich die Wundregeneration unter Einfluss von Spermidin an diesem verhält.

*Verminderung:* Die Anzahl der Versuchstiere wird aber im aktuellen Projekt auf das absolut Nötigste vermindert jedoch werden so viele Tiere herangezogen wie für eine adäquate statistische Auswertung notwendig sind.

*Verfeinerung:* Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben der Standardtierhaltung zusätzliches Enrichment, wie-Holzwohle/Nestbaumaterial. Des Weiteren wird versucht den Stress der Tiere so weit wie möglich zu reduzieren, indem sie durch entsprechendes Handling vom Tierpflegepersonal an den Menschen gewöhnt werden. So ist sichergestellt, dass die Ratten an Berührungen und sonstiges Handling gewöhnt sind und der diesbezügliche empfundene Stress während der Experimente reduziert ist.

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

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

**zu erwartender Nutzen:** Ziel des Projektes ist es, eine nasale Formulierung für das bisher vor allem parenteral verabreichbare Apomorphin zu entwickeln und in vivo zu evaluieren. Apomorphin ist ein Dopaminagonist und wird in der Therapie der Parkinson Krankheit, welche durch Muskelstarre und Muskelzittern bis hin zur Bewegungslosigkeit gekennzeichnet ist, eingesetzt. Eine derartige nasale Formulierung bietet dem Patienten großen Nutzen, da keine Injektion stattfindet und damit verbundene Angst und Schmerz vermieden werden kann. Die neu entwickelte nasale Darreichungsform soll in Kombination mit mukoadhäsiven Polymeren eine erhöhte Bioverfügbarkeit aufgrund einer besseren Absorption zeigen.

**zu erwartender Schaden:** Um eine mögliche Belastung der Versuchstiere zu reduzieren, wird die Zeit des Experiments auf ein Minimum verkürzt. Es erfolgen keine operativen Eingriffe sondern lediglich Blutabnahmen, um die jeweilige Plasmakonzentration an Apomorphin bestimmen zu können.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Für den Versuch werden 42 männliche Ratten (Sprague Dawley) benötigt, die in 6 Gruppen mit jeweils 7 Ratten eingeteilt werden.

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

**Vermeidung:** Damit die Tierversuche nicht unnötig durchgeführt werden, wurden bereits vorab erfolgreich *in vitro* Experimente durchgeführt. Um jedoch die Bedingungen so real wie möglich zu gestalten, sowie eine sichere und optimale Darreichungsform zu entwickeln, sind die Versuche am Tier unerlässlich.

**Verminderung:** Das Experiment wird mit einer minimalen Anzahl an Tieren durchgeführt.

**Verfeinerung:** Der Versuchsablauf wird so organisiert, dass das Leid der eingesetzten Versuchstiere auf ein Minimum reduziert wird.

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**

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind gemäß § 3 Abs. 1 Z 1 TVG 2012 dem Schweregrad „keine Wiederherstellung der Lebensfunktion“ zuzuordnen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Die zu untersuchenden Tiere sind 150 Sprague Dawley Ratten.

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

Die Versuchsbedingungen werden so gewählt, dass mittels potenter Narkose und Analgesie aller Tiere Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst minimiert werden

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

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

**zu erwartender Nutzen:** Ziel dieser Studie ist es, Immunitätslücken gegen das porcine Circovirus Typ2 (PCV2) bei Zuchtsauen durch serologische Untersuchungen in ausgewählten Betrieben zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Studie sollen zeigen, ob eine PCV2 Vakzination von Zuchtsauen zur Aufrechterhaltung einer stabilen Herdenimmunität erforderlich ist, um so Ferkel von nicht immunen Sauen während der ersten Lebenswochen vor einer Infektion zu schützen.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die Untersuchung umfasst eine einmalige Blutprobenentnahme, wie sie auch in der Routinediagnostik üblich ist.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

489 Schweine (Hausschwein; *Sus Scrofa domestica*)

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

**Vermeidung:** Da es sich bei dem geplanten Projekt um eine Prävalenzstudie handelt, stehen keine Alternativen zur Datenerhebung zur Verfügung.

**Verminderung:** Die Tierzahlen wurden auf das Minimum reduziert, um bei einer erwarteten Herdenprävalenz von >70%, einer Genauigkeit von  $\pm 10\%$  und einem Konfidenzlevel von mindestens 90% eine sichere Aussage über die tatsächliche Prävalenz von Antikörpern gegen PCV2 zu erhalten.

**Verfeinerung:** Die Tiere verbleiben in ihrem gewohnten Umfeld. Die Blutentnahme wird ausschließlich von Fachpersonen durchgeführt, die regelmäßig Blutentnahmen bei Schweinen durchführen und daher über große Erfahrung im Umgang mit Schweinen verfügen. Daher werden die Entnahmezeit und damit der Stress für die Tiere auf ein Minimum reduziert,

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**

*zu erwartender Nutzen:* Zweck der beantragten Versuche ist es, die Grundlage für neue therapeutische Strategien zur Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen nach Hirn-Traumata zu schaffen. Diese Erkrankungen sind ein massives gesundheitspolitisches Problem mit oft lebenslangen Folgen für die Betroffenen. Wir wollen das Potential neuer therapeutischer Substanzen mit geringerer Nebenwirkungswahrscheinlichkeit nach Hirntraumata testen und deren klinische Verwertbarkeit beurteilen.

*zu erwartender Schaden:* Die Belastung der Tiere besteht zum einen durch die EEG Ableitungen zum anderen durch die operativen Eingriffe, die jedoch durch die Behandlung deutlich abgeschwächt werden. Im Allgemeinen zeigen die Tiere weitgehend normales Verhalten und normale Gewichtsentwicklung.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden 425 Mäuse in insgesamt 3 Jahren untersucht.

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

Da es sich bei diesen Veränderungen nach Hirntraumata um sehr komplexe Vorgänge handelt und wir deren Auswirkungen auf das Verhalten beobachten müssen, können diese Experimente nur an lebenden Tieren durchgeführt werden. Durch den Einsatz statistischer Poweranalyse wurde die Anzahl der Versuchstiere auf ein absolutes Minimum reduziert. Durch die Narkose und Schmerzbehandlung wird die Belastung der Tiere so gering wie möglich gehalten. Im Vorfeld zu diesen Untersuchungen laufen Experimente an Zellkulturen um mögliche toxikologische Nebenwirkungen der Therapie auszuschließen.



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

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

Die Tularämie ist eine bakteriell bedingte Erkrankung, welche nicht nur Tiere, sondern auch Menschen betrifft. Bei Menschen kann sie u.a. schwere Lungenentzündungen, welche unerkannt und unbehandelt zum Tod führen, auslösen. Die Erkrankung kann von Hasenartigen auf den Menschen und, nach neuesten Studien aus anderen Ländern (Norwegen und den USA), auch auf Hunde übertragen werden, die in der Folge eine Infektionsquelle für den Halter darstellen. Projektziel ist es, die Seroprävalenz von Tularämie (sog. Hasenpest) bei Hunden in den Tularämie-Gebieten Ost-Österreichs zu eruieren.

*zu erwartender Nutzen:* Durch die Untersuchung werden Erkenntnisse über die Übertragungswege der Tularämie gewonnen; aus dem Verständnis der Infektionsquellen ist ein Beitrag zur Gesundheit von Tier & Mensch zu erwarten.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Tiere werden einer einmaligen Blutentnahme unterzogen, die laboranalytisch ausgewertet wird.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

80 Hunde

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

*Vermeidung:* Für dieses Projekt ist es unabdingbar, Hunde zu untersuchen, die Kontakt mit Hasenarten haben können. Es kann daher nicht auf eine Ersatzmethode zurückgegriffen werden.

*Verminderung:* Es handelt sich bei diesem Projekt um eine Pilotstudie. Es wurde jene Tierzahl gewählt, die unbedingt erforderlich ist, um ein aussagekräftiges Ergebnis zu erzielen.

*Verfeinerung:* Die Hunde werden in ihrer gewohnten Umgebung beprobt, sodass zusätzliche Belastungen, wie z.B. Transport, Wartezeiten, fremde Umgebung, vermieden werden.

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

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

Der Lungenhochdruck oder pulmonale Hypertension (PH) ist eine schwere progressive Erkrankung, die ohne adäquate Therapie innerhalb von wenigen Jahren zum Tod führt. Eine schwere Form dieser Erkrankung ist die chronisch thromboembolische pulmonale Hypertension (CTEPH). Eine Heilung für diese Erkrankung gibt es nicht. Es wird vermutet, dass eine bestimmte Zellart die das Innere der Blutgefäße auskleidet bei dieser Erkrankung eine Rolle spielt. Ziel des vorliegenden Projekts soll es sein diese Zellart und Funktion genauer zu definieren.

*zu erwartender Nutzen:* Die geplanten Versuche kombinieren konventionelle Tierversuche und modernste Labormethoden. Gemeinsam sollen die Erkenntnisse zu einem möglichen Heilungsansatz der Erkrankung führen.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einer einmaligen Vollnarkose zur Durchführung der Untersuchungen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

336 Mäuse

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

Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimalisiert werden. Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analysis) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

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**

**zu erwartender Nutzen:** Das aktuelle Forschungsprojekt beschäftigt sich mit der Analyse einer neuen Behandlung bei Mäusen die eine progressive Gehirnkrankheit, ähnlich der des Menschen entwickeln. Wir wollen die Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten für diese unheilbare menschliche Gehirnkrankheit untersuchen und das wäre nur mit einem Versuch an diesen speziellen Mäusen möglich. Wir hoffen durch unsere Erkenntnisse zukünftig die Therapie von Patienten ermöglichen zu können.

**zu erwartender Schaden:** Um die neuen Behandlungen bei Mäusen zu ermöglichen, wird jede zwei Wochen eine Injektion in den Bauch, insgesamt 7-mal, gegeben.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Im aktuellen Projekt ist die Verwendung von bis zu 100 Mäusen über einen Zeitraum von zwei Jahren geplant.

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

Alle Experimente sind nach dem 3R-Prinzip geplant und durchgeführt. Daher werden die Mäuse in eine angereicherte Umgebung gezüchtet. Um die Schmerzen und Leiden der Mäuse zu vermindern werden die Tiere unter eine strenge ärztliche Beobachtung stehen und werden rechtzeitig mit der Verwendung von Schmerzmittel, falls notwendig, versorgt. Es wird während der gesamten Versuchsdauer großer Wert darauf gelegt, dass Stress und Leiden der Mäuse so gering wie möglich gehalten werden. Alle Mäuse werden in Gruppen gehalten und täglich von geschulten Tierpflegerinnen sorgfältig betreut und tierärztlich überwacht.

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

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

Im Rahmen von Lehrveranstaltungen werden unter Aufsicht von berufserfahrenen Personen systematische Untersuchungsgänge (Einzeltier und Bestand) und praktische Tätigkeiten erlernt, die üblicherweise im Berufsalltag angewendet werden .

*zu erwartender Nutzen:* Die angeleiteten Personen werden auf die fachgerechte und tierschutzkonforme Ausübung beruflicher Tätigkeiten vorbereitet.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Durch die Manipulationen und Eingriffe an den Tieren kann es zu vorübergehenden mäßigen Beeinträchtigungen des Wohlbefindens der Tiere kommen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

400 Schweine

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

*Vermeidung:* Berufspraktische Tätigkeiten, die an lebenden Tieren durchgeführt werden müssen, können nur an lebenden Tieren erlernt werden, sodass eine Vermeidung nicht möglich ist.

*Verminderung:* Es wurde nur die unbedingt notwendige Anzahl an Tieren eingeplant. Eine weitere Reduzierung der Tierzahl würde zu einer höheren Belastung einzelner Tiere führen, was unter dem Aspekt der "Verbesserung" nicht vertretbar ist.

*Verbesserung:* Alle Maßnahmen werden unter Aufsicht von beruflich erfahrener Fachpersonal durchgeführt, so dass den Tieren keine unnötigen Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt werden. Injektionstechniken und Probenentnahmen werden, soweit es möglich ist, im Rahmen von Routinemaßnahmen (wie Impfungen, Eisenapplikation) durchgeführt, sodass zusätzliche Belastungen vermieden werden können.

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

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

Im Rahmen der Ausbildungen werden unter Aufsicht von berufserfahrenen Personen systematische Untersuchungsgänge am Tier und praktische Tätigkeiten, die üblicherweise im Berufsalltag angewendet werden, erlernt.

*zu erwartender Nutzen:* Die angeleiteten Personen werden auf die fachgerechte und tierschutzkonforme Ausübung beruflicher Tätigkeiten vorbereitet.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Der zu erwartende Schaden der Tiere geht nicht über Fixationsmaßnahmen und einen Kanüleneinstich bei Applikationsmethoden hinaus.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

300 Hühner, 100 Puten

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

*Vermeidung:* Berufspraktische Tätigkeiten, die an lebenden Tieren durchgeführt werden müssen, können nur an lebenden Tieren erlernt werden, sodass eine Vermeidung nicht möglich ist.

*Verminderung:* Es wurde nur jene Anzahl an Tieren eingeplant, die unerlässlich ist, um die praktischen Fertigkeiten am Tier zu erlernen.

*Verfeinerung:* Die Auszubildenden werden durch exakte theoretische Besprechung der einzelnen Tätigkeiten sowie das Üben an Attrappen auf die Durchführung der praktischen Übungen an lebenden Tieren vorbereitet. Dadurch können wiederholte Manipulationen an den Tieren vermieden und Belastungen auf das Mindestmaß reduziert werden. Alle Maßnahmen werden unter Aufsicht von beruflich erfahrener Fachpersonal durchgeführt, so dass den Tieren keine unnötigen Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt werden.

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

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

Im Rahmen von Lehrveranstaltungen und praktischen Ausbildungen werden unter Aufsicht von berufserfahrenen Personen systematische Untersuchungsgänge (Einzeltier und Bestand) und üblicherweise im Berufsalltag angewendete praktische Tätigkeiten erlernt.

*zu erwartender Nutzen:* Die angeleiteten Personen werden auf die fachgerechte und tierschutzkonforme Ausübung beruflicher Tätigkeiten vorbereitet.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Durch die Manipulationen und Eingriffe an den Tieren kann es zu vorübergehenden mäßigen Beeinträchtigungen des Wohlbefindens der Tiere kommen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Hausschwein (*Sus Scrofa domestica*)

426 Schweine für zwei Jahre

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

*Vermeidung:* Da praktische Übungen nur an lebenden Tieren durchgeführt werden können, ist eine Vermeidung nicht möglich.

*Verminderung:* Es wurde nur die unbedingt notwendige Anzahl an Tieren eingeplant. Eine weitere Reduzierung der Tierzahl würde zu einer höheren Belastung einzelner Tiere führen, was unter dem Aspekt der "Verbesserung" nicht vertretbar ist.

*Verbesserung:* Alle Maßnahmen werden unter Aufsicht von beruflich erfahrener Fachpersonal durchgeführt, so dass den Tieren keine unnötige Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt werden.

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

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

Die Verwendung von Stammzellen ist ein neuer Ansatz in der zukünftigen Medizin. Das Fehlen von Daten über die möglichen unerwünschten Wirkungen von Stammzellen bei Menschen bedeutet, dass Parameter wie Wirksamkeit, Bioverteilung, Persistenz, Toxizität, Reste von Zellverunreinigungen und Tumorbildung in vivo getestet werden müssen.

*zu erwartender Nutzen:* Das vorliegende Projekt bringt einen Erkenntnisgewinn in der Stammzelltherapie und stellt einen wesentlichen Schritt in Richtung der Entwicklung von wirksamen Therapiemöglichkeiten dar.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Den Tieren werden Zellen injiziert, welche zur Bildung von soliden Tumoren führen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

900 Mäuse

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

Die geplanten Tierversuche basieren auf Ergebnissen vorangegangener Tierversuche unter Verwendung von etablierten und international akzeptierten Mausmodellen. Das Projekt wurde im Hinblick auf Verwendung geringstmöglicher Tierzahl geprüft. Derzeit gibt es keine anderen Methoden, die wissenschaftlich aussagekräftig sind, um zu diesen Erkenntnissen zu kommen. Durch Bildverarbeitung werden die Versuchstiere minimiert, da hier der Krankheitsverlauf pro Versuchstier über den gesamten Zeitraum beobachtet werden kann.

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

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

**zu erwartender Nutzen:** Der Lungenhochdruck oder pulmonale Hypertension (PH) ist eine schwere progressive Erkrankung, die ohne adäquate Therapie innerhalb von wenigen Jahren zum Tod führt. Eine schwere Form dieser Erkrankung ist die chronisch thromboembolische pulmonale Hypertension (CTEPH). Aufgrund der komplexen Erkrankung und der unspezifischen Symptome wie Müdigkeit ist die Früherkennung der Erkrankung sehr schwierig. Bis heute gibt es auch kein geeignetes Tiermodell, welches helfen kann, die Erkrankung besser beforschbar zu machen und eventuell eine Früherkennung zu ermöglichen. Ziel der vorliegenden Studie soll es sein ein Modell hierfür zu schaffen.

**zu erwartender Nutzen:** Ein adäquates Tiermodell soll in Zukunft helfen die Anzahl der Tiere für die PH -Forschung zu reduzieren.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt in einer Operation unter Vollnarkose, sowie in wiederholten Narkosen über einem Zeitraum von vier Wochen zur Durchführung der Ultraschalluntersuchungen.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

352 Mäuse

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

Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die modernsten experimentellen Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Anästhesie, Analgesie und Schmerzlinderung angewandt. Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimalisiert werden. Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analysis) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

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



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

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

In diesem Praktikum sollen die Studenten in Kleinstgruppen den Umgang mit Mäusen kennenlernen. Dabei werden den Tieren nicht krankheitserregenden Zellen gespritzt, die ein bestimmtes Lichtsignal liefern. Dieses Signal kann von Spezialgeräten gemessen und informatisch bearbeitet werden, sodass mehrere Tage lang beobachtet werden kann, wo im Tier sich die Zellen befinden. Für diese Lehrtätigkeit werden keine Tiere gezüchtet oder gekauft. Die Studenten lernen so den Umgang mit dem Gerät, um später eigene Forschung durchzuführen.

**zu erwartender Nutzen:** Die Studenten erlernen den richtigen Umgang mit der In vivo Imaging Methode

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Die Tiere werden mit Isoflurangas anästhesiert und erhalten dann eine einmalige Injektion in den Bauchraum. Für weitere Analysen werden sie mehrmals mit Isoflurangas narkotisiert.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

60 Mäuse verteilt auf 5 Jahre

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

**Vermeidung:** Je zwei Studenten teilen sich ein Tier

**Verminderung:** Es werden keine Tiere gekauft oder gezüchtet

**Verfeinerung:** Die Tiere verbleiben so kurz wie möglich in der Narkose und werden zum Schluss im Tiefschlaf getötet

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**

*zu erwartender Nutzen:* Neben Herzkreislauf Erkrankungen und Krebs zählen vor allem neurodegenerative Erkrankungen wie die Alzheimer'sche Erkrankung zu den schwerwiegendsten und vor allem kostenintensivsten Krankheiten des 20. und 21. Jahrhunderts. Je älter Menschen werden, umso häufiger erkranken sie an der Alzheimer'schen Erkrankung - 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. 100 000 bis 200 000 Menschen an einer Form von Demenz, wobei die am häufigsten vorkommenden Formen die Multi-Infarkt-Demenz und - mit einem 50 Prozent Anteil - die Alzheimer Krankheit sind. 5xFAD transgene Mäuse spiegeln auf Grund von 5 Mutationen in 3 Alzheimer-relevanten Genen laut Literatur sehr gut das pathologische Bild der Alzheimer Krankheit wider. Daher wird diese Mauslinie zur Austestung der neuen Substanz verwendet. Außerdem sollen in einem Projekt die APPSL Mäuse als Vergleichsmodell verwendet werden. Mit diesen Projekten wird es möglich sein die Wirksamkeit neuer Antikörper gegen die Alzheimer'sche Krankheit zu testen. Durch beide Studien soll die Wirksamkeit verschiedener Antikörper auf pathologische Merkmale der Alzheimerschen Erkrankung wie Kognition und APP Plaques untersucht werden.

*zu erwartender Schaden:* In einem ersten Projekt werden transgene und nicht transgene 16 Wochen alte männliche 5xFAD Mäuse für 16 Wochen intraperitoneal mit sieben verschiedenen Antikörpern in jeweils zwei Konzentrationen gegen die Amyloid Pathologie behandelt. Am Ende der Behandlungsphase werden die Tiere im Contextual Fear Conditioning Test auf kognitive Defizite untersucht. In einem zweiten Projekt werden 40 Wochen alte männliche 5xFAD und APPSL Mäuse einmal intraperitoneal mit 3 Konzentrationen eines anti-Abeta (A $\beta$ ) Antikörper behandelt.

In beiden Projekten werden die Tiere am Projektende euthanasiert und das Gehirngewebe, Blut und CSF entnommen und histologisch und biochemisch auf pathologische Merkmale untersucht.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Es werden 330 Mäuse verwendet.

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

Zur Testung neuer Substanzen gegen die Alzheimer'sche ist es unabdingbar Tiermodelle einzusetzen um bestmögliche Vergleichsmöglichkeiten zum Menschen zu haben. Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können. Ausschließlich gesunde Tiere werden in die Studie eingeschlossen. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

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

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

Das Projekt zur Erforschung der Kooperativität von Signalkaskaden bei Entzündung und Krebs hat zum Ziel den Einfluss von Entzündung auf die Entstehung von Prostatakrebs und das Fortschreiten zu kastrations-resistentem Prostatakrebs besser verstehen zu lernen. Im speziellen soll die entzündliche Komponente beim Prostatakrebs genauer untersucht werden. Daraus könnten neue Therapieansätze entstehen um den noch immer unheilbaren kastrations-resistenten Prostatakrebs besser behandeln zu können.

*zu erwartender Nutzen:* neue Therapieansätze zur Behandlung von kastrations-resistentem Prostatakrebs.

*zu erwartenden Schaden für die Tiere:* Operation unter tiefer Narkose, Kastration

**2. Art und Anzahl der Tiere**

629 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Die benötigte Tierzahl wurde mittels Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert, wobei eine Verminderung durch begleitende statistische Analysen angestrebt wird. Des Weiteren wird eine Verminderung der Anzahl durch eine Standardisierung der Versuche gewährleistet. Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem "enriched environment".

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

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

Ausbildung in Versuchstierkunde. Neben versuchstierkundlichem Wissen (Biologie, Zucht, Haltung) werden auch diverse praktische Grundlagen betreffend Handling, Anästhesie, Analgesie, Applikation von Substanzen, Blutabnahmetechniken etc. vermittelt.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

320 Mäuse, 160 Ratten zur Ausbildung

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

Angehende Forscher (PhD-Studenten) sollen in Kursen für einen artgerechten Umgang mit Versuchstieren geschult und mit den notwendigen Techniken für biomedizinische Studien vertraut werden. Diese Anforderungen im Sinne des Tierschutzes können nicht allein durch eine theoretische Darstellung gelehrt werden. Es werden die dafür minimal erforderlichen Tierzahlen bei geringer Belastung verwendet werden.

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**

**zu erwartender Nutzen:** Dieses Projekt ist eine ergänzende Untersuchung eines bereits bewilligten Projektes, in welchem wir den molekularen Mechanismus von TypII-Diabetes untersuchten. Dieses Projekt war sehr erfolgreich und wir verstehen nun, dass Adipositzellen ein bestimmtes Molekül besitzen, welches die Entstehung von TypII-Diabetes beeinflusst. Dieses Molekül reguliert die Immunantwort in Adipositzellen und Monozyten/Makrophagen, was eine entscheidende Rolle in der Entstehung von TypII-Diabetes spielt. TypII-Diabetes ist eine Pandemie, welche eine der größten Herausforderungen der Medizin in diesem Jahrhundert ist und zum Teil durch eine Adipositas-Epidemie verursacht wird.

**zu erwartender Schaden der Tiere:** Um auf eine auf diesen Erkenntnissen basierende Therapie entwickeln zu können, sind weiterführende Untersuchungen notwendig. Mäuse unterschiedlichen Genotyps werden bis zu 26 Wochen mit fettreicher Diät gefüttert und die Insulin- bzw. Glucose-Toleranz getestet. Eine Knochenmark-Transplantation und eine Monozyten-Transplantation erfolgen subkutan in Narkose. Am Ende werden die Tiere schmerzfrei getötet und die erforderlichen Laboruntersuchungen durchgeführt.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Erhöhung um **188 Mäuse** von 424 Mäusen auf insgesamt **612 Mäuse**.

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

Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese *in vitro* Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche. Unsere Experimente wurden so verfeinert, dass die Tiere so wenig wie möglich leiden: 1. Werden sämtliche Eingriffe unter Narkose durchgeführt; 2. Wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. 3. Alle Prozeduren in diesem Versuch ausführen, sind nicht-invasiv um das geringste Leiden sicherzustellen.

## 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.

*zu erwartender Nutzen:* Chronische, stressbedingte Erkrankungen der Leber sind unter anderem mit Veränderungen des Gleichgewichts der Keratine verbunden. Ein verbessertes Verständnis der Mechanismen dieser Erkrankungen kann unter anderem helfen, die derzeit wenig effiziente Diagnostik und Therapie zu verbessern.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Abwesenheit der jeweiligen Keratine führt bei den Tieren zu chronischem Stress in der Leber, der letztlich zu Steatohepatitis, bzw. hepatozellulärem Karzinom führt. Da die Leber ein schmerzempfindliches Organ ist, stellt dies dennoch nur leichte Belastung dar, auch, weil diese Manifestationen erst im Alter auftreten

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

**Erhöhung um 390 Mäuse auf insgesamt 1.670 Mäuse**

### *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*

Adipositas, eine komplexe Stoffwechselerkrankung, ist aufgrund der steigenden Prävalenz Gegenstand intensiver Forschungsprojekte. Präklinische Studien haben gezeigt, dass die Aktivierung von braunem Fettgewebe durch Wärmeentwicklung (Thermogenese) den Energieumsatz steigern und somit Adipositas entgegenwirken kann. Braunes Fettgewebe ist eine spezielle Form des Fettgewebes, dessen Zellen eine Vielzahl an uncoupling Protein 1 (UCP-1) positiver Mitochondrien besitzen und somit in der Lage ist, durch Entkopplung der Atmungskette von der Adenosintriphosphat (ATP)-Synthese, Wärme zu produzieren (Thermogenese). Obwohl aktives braunes Fett in Erwachsenen nachgewiesen wurde, existieren derzeit noch keine pharmakologischen Strategien um braune Fettgewebsaktivität therapeutisch zu nutzen. Deshalb ist es von essentieller Bedeutung die molekularen Mechanismen, welche zu einer chronischen Aktivierung von braunem Fett führen, aufzuklären. Seit kurzem ist bekannt, dass der Vitamin A Stoffwechsel ein wichtiger Regulator des Energiehaushaltes durch Effekte auf Leber, weißes Fettgewebe und möglicherweise auch braunes Fettgewebe ist. Vitamin A wird hauptsächlich in der Leber gespeichert und kann je nach Bedarf zu den jeweiligen Zielorganen transportiert werden. Die spezifische physiologische Rolle des Vitamin A Stoffwechsels in der Aktivierung von braunem Fettgewebe und der adaptiven Thermogenese ist derzeit jedoch noch nicht bekannt. Folglich ist es unser primäres Ziel die Rolle von Retinoiden in der Regulation von thermogenen Prozessen zu studieren um damit neue therapeutische Targets für eine mögliche Behandlung von Adipositas und den damit assoziierten Erkrankungen zu identifizieren.

Zusätzlich zu den bereits bewilligten Methoden werden im Rahmen dieses Amendments FDG-PET/CT Untersuchungen in Mäusen zur Quantifizierung von braunem Fettgewebe beantragt. Hierfür werden Mäuse mit Isofluran narkotisiert und anschließend das braune Fettgewebe mittels beta-Rezeptor Agonisten durch i.p. Injektion aktiviert. Nach FDG Applikation werden die narkotisierten Tiere (auf Wärmeverrichtungen um das Auskühlen zu vermeiden) im PET-CT untersucht. Nach der Untersuchung wird die Isofluranzufuhr beendet und die Tiere wachen auf. Die zu erwartende Belastung für die Tiere wird als mittelgradig eingestuft.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

996 Mäuse (bisher waren 756 Mäuse bewilligt, für die Durchführung der hier vorgeschlagenen Experimente werden weitere 240 Mäuse beantragt).

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

In Verlauf des gesamten Projektes werden sehr gut etablierte und international akzeptierte Mausmodelle verwendet und es werden alle Anforderungen zu Vermeidung, Verminderung und Verbesserung der Untersuchungen berücksichtigt.

**Vermeidung:** Wenn möglich, werden *in vitro* Versuche durchgeführt. Daher konnte zur Beantwortung einiger Fragestellungen unseres Projektes eine relative Replacement Strategie mit isolierten Hepatozyten, Kupffer'schen Sternzellen sowie braunen Adipozyten für mechanistische Studien gewählt werden.

**Verminderung:** Durch ein adäquates Studiendesign wurde die minimale Anzahl an Versuchstieren zur Testung der jeweiligen Hypothesen mit statistisch signifikanter Aussagekraft, mit Hilfe des basierten Sample Size Calculator berechnet. Des Weiteren wird großer Wert auf standardisierte Haltungs- und Versuchsbedingungen gelegt um eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Verbesserung:** Durch die Verwendung von geeigneten Anästhetika und Analgetika werden Schmerzen und Leid der Versuchstiere vermindert. Nach Operationen werden die Tiere eine Stunde kontinuierlich überwacht. Danach wird das Wohl der Tiere zweimal täglich für 48 Stunden überprüft und dann auf einmal täglich für fünf Tage reduziert. Als Abbruchkriterium für Experimente gelten bestimmte, im Tierversuchsantrag genau definierte, Veränderungen des Körpergewichtes, der

**Körpertemperatur, des physisches Erscheinungsbild und des Verhaltens, welche zu einem Ausschluss von Tieren bzw. bei persistierendem Leiden zur Euthanasie der Tiere veranlassen.**



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

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

Projektziel liegt in der Aufklärung molekularer Mechanismen, die den programmierten Zelltod kontrollieren. Dieser biologische Prozess ist essentiell für die normale Entwicklung und zur Aufrechterhaltung des zellulären Gleichgewichts in Geweben und Organen. Dabei trägt der programmierte Zelltod zur Verhinderung unterschiedlicher Pathologien wie eben Tumorentstehung oder Autoimmunität in Mensch und Tier bei. Die Untersuchung dieses Phänomens geschieht in der Regel in verschiedenen Experimenten in Zellkultur, wobei primäre Zellen aus Mausstämmen mit erhöhter Tumorneigung und Zelltod-Defekten isoliert werden. Diese Tumor-Mausmodelle dienen in weitere Folge auch zur Etablierung von Zuchten die kombinierte modifizierte Allele beinhalten. Wenn angebracht werden diese Tiere auch bis zur Etablierung von Tumoren beobachtet um primäres Tumormaterial zu erhalten.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

**2.850 Mäuse**

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

**Vermeidung:** Der Großteil der geplanten Untersuchungen nutzt Zellmaterial aus den erwähnten Mauslinien. Tierstämme, die prognostiziert länger als ein Jahr nicht für Experimente herangezogen werden, werden in der Regel kryokonserviert und die Zucht eingestellt.

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

**Verbesserung:** Die Tiere werden in Gruppen zu je 4-7 Tieren gehalten (soziale Tiere) und haben in jedem Käfig Einstreu, Stroh als auch ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Männchen werden nach Bedarf auch einzeln gehalten, um Verletzungen durch Revierkämpfe zu vermeiden.

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

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

Infektionen der Lunge sind die häufigsten Infektionen mit tödlichem Ausgang. Die Lunge ist ein Organ, welches einerseits Krankheitserregern in der Atemluft ausgesetzt ist, andererseits aufgrund seiner feinen Beschaffenheit besonders empfindlich auf Entzündungen reagiert. Viele verschiedene Mechanismen spielen in der Abwehr von potentiell gefährlichen Krankheitserregern eine Rolle. Eine in der Lunge besonders häufige vorkommende Art von Immunzellen sind B-Zellen. Diese Zellen können Antikörper produzieren und nehmen deshalb eine Schlüsselrolle im Immunsystem ein. Trotzdem ist die Funktion von B-Zellen in der Lunge im Gesunden wie auch im kranken Zustand noch unzureichend erforscht.

*zu erwartender Nutzen:* Neue Erkenntnisse über die Abwehr von Bakterien durch das Immunsystem werden erwartet. Diese Erkenntnisse können sowohl für diagnostische als auch therapeutische Interventionen von Bedeutung sein.

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Einige der Tiere werden mit Bakterien infiziert, was zu einer Lungenentzündung führt, die im fortgeschrittenen Stadium zu Krankheitssymptomen führt und im schlimmsten Fall tödlich sein kann.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Erhöhung um zusätzlich **1.358 auf 3.022 Mäuse**

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

*Vermeidung:* Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich Versuche mit Zellkulturen durchgeführt, diese ‚in vitro‘ Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche.

*Verminderung:* Es wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

*Verfeinerung:* Sämtliche Eingriffe werden unter Narkose durchgeführt. Die Infektionen werden derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit als möglich vermieden werden. Überlebensexperimente werden nur durchgeführt, wenn die vorherige Analyse der ohne maßgebliche Schmerzen oder Leiden verursachenden Versuche mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zu einem Überlebensunterschied führen. Wenn dies nicht gegeben ist, werden keine Überlebensversuche durchgeführt

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2018 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 Ziel dieses Projektes ist die Aufrechterhaltung einer transgenen Tierkolonie, die durch eine konstitutive Überexpression von humanem TNF, eines proinflammatorischen Zytokins, eine spontane Gelenkentzündung entwickeln. Diese Kolonie wird international für die Untersuchung von neuen Therapiestrategien sowie zur Erforschung neuer molekularer Pathomechanismen eingesetzt. Für die Zucht wird eine Anzahl von 174 human Tumornekrosefaktor transgenen Zuchttieren (C57Bl/6 Hintergrund) und 3830 Jungtiere (Mus musculus, C57Bl/6 Hintergrund) benötigt. Weiters soll die Rolle von C-Typ-lectin Rezeptoren, mikroRNAs, proinflammatorischer Zytokine sowie antigenpräsentierender Zellen in der Pathogenese der Gelenkentzündung untersucht werden. Für die Zucht werden 338 humane Tumornekrosefaktor transgene Mäuse sowie 8500 Jungtiere benötigt. Die gestellten Projektziele können nicht durch Ersatzmethoden wie in vitro Versuche ersetzt werden und dienen unmittelbar neuer klinischer Erkenntnisse.

*zu erwartender Nutzen:* Neue Erkenntnisse über die Pathogenese der häufigsten entzündlichen Gelenkserkrankung des Menschen

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Schmerzen und Bewegungseinschränkungen durch die Erkrankung

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Für die Zucht sollen daher insgesamt 11842 Mäuse verwendet werden (Erhöhung um 6200 Mäuse).

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

Unter Berücksichtigung der "3R" werden alle transgenen Zuchttiere mit einem Zytokinblocker behandelt, um den Ausbruch einer Gelenkentzündung zu verhindern. Außerdem wird bei ausreichender Wurfgröße die Anzahl der Zuchttiere verringert werden. Im Rahmen dieses Projektes wird die Zahl der Tiere entsprechend der Fallzahlberechnung so gering wie möglich gehalten. Außerdem tragen die standardisierten Versuchsbedingungen zur Verringerung der Tieranzahl bei. An der Verbesserung der Durchführung wird stetig weitergearbeitet.

## 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 anti-inflammatorischen Signalwegen und deren Modulation von chronischen Entzündungen, Tumorentstehung und Antitumorimmunität" 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 haben auf Therapieansätze, die im speziellen die Antitumorimmunität betreffen. Auf der anderen und vielleicht wichtigeren Seite werden spezifisch Effekte von PI3K und mTOR Defizienz und die 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 Immunantwort im Patienten haben könnte.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Nach Abänderung weitere **1848 Mäuse (zu den 1298 Mäusen, insgesamt 3146 Mäuse)**

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

Im Rahmen 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 2019 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**

**Ziel:** Untersuchung der Schutzfunktion rekombinanter Fiberproteine aviärer Adenoviren

**zu erwartender Nutzen:** Im vorliegenden Versuch werden Kenntnisse über die Schutzwirkung rekombinanter Kapsidproteine ermittelt. Die Einschlusskörperchenhepatitis der Hühner ist eine verlustreiche Erkrankung, die insbesondere bei Jungtieren zu hohen Verlusten führen kann. Gleichzeitig gibt es Schäden durch subklinische Infektionen, die mit einer Immunsuppression in Verbindung gebracht werden. Die Entwicklung einer Bekämpfungsstrategie hätte erhebliche Auswirkungen, um Impfstoffe für eine Krankheit zu entwickeln, die bis dato nicht prophylaktisch bekämpft werden kann.

**zu erwartender Schaden für die Tiere:** Bei nicht geschützten Tieren und Kontrolltieren kann es zu einer Leberschädigung kommen, in deren Verlauf die Tiere sterben können.

**2. Art und Anzahl der Tiere**

Erhöhung um 151 Hühner von 151 Hühnern auf insgesamt 302 Hühner.

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

**Vermeidung:** Ein Tierversuch ist in diesem Fall unerlässlich, da die Auswirkung und die Effektivität einer spezifischen körpereigenen Immunität zu untersuchen gilt und daher durch Alternativmethoden nicht ersetzt werden kann.

**Verminderung:** Es wird jene minimale Anzahl von Tieren verwendet, die zugleich die statistische Berechenbarkeit der Ergebnisse sicherstellt.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Regelmäßige Beobachtungen, klinische Untersuchungen, Überprüfen des Gesundheitsstatus der Tiere sowie die Festsetzung von Abbruchkriterien sollen protrahiertes Tierleid verhindern bzw. verringern. Treten schwerwiegende klinische Erscheinungen oder die Verweigerung der Futter- und Wasseraufnahme über mehr als 12 Stunden auf, wird das betroffene Tier tierschutzgerecht euthanasiert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. Juni 2017 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**

Maligne oder bösartige Krebserkrankungen sind trotz verbesserter medizinischer Vorsorge und Behandlungsmethoden für über 20 % der Todesfälle in den Ländern der westlichen Welt verantwortlich. Etablierte Behandlungsmethoden, wie chirurgische Entfernung des Primärtumors mit anschließender Radio- und Chemotherapie, stoßen insbesondere bei therapieresistenten oder bei inoperablen bzw. bereits metastasierten Tumoren an ihre Grenzen.

In der medizinischen Forschung wird daher fieberhaft nach neuen, wirksameren Behandlungsmethoden gesucht. Die Gentherapie stellt dabei eine versprechende Option dar: Zum Beispiel kann die Expression eines therapeutisch hoch wirksamen Proteins oder die selektive Translationsunterdrückung von für die Tumorzelle essentiellen Proteinen vor Ort bereits ausreichen, um Tumore nachhaltig zu schädigen.

Die Wirkung wird gezielt im Tumorgewebe entfaltet, das gesunde Gewebe hingegen kaum oder gar nicht geschädigt. In den vorliegenden Studien sollen nun der sichere und zielgerichtete Transport von therapeutischen Genen mittels neuartiger Gentransfersysteme in das bösartig entartete Gewebe, deren Verteilung sowie Wirksamkeit im Körper in Kombination mit Chemo- oder Immuntherapien evaluiert werden. Das Hauptaugenmerk liegt dabei auf der Entwicklung von neuen Therapien für bereits metastasierte und bis dato nicht behandelbare Tumore.

*zu erwartender Nutzen:* Erweisen sich die neuartigen Therapieansätze im Tierversuch als therapeutisch erfolgreich und gut verträglich sind deutliche Fortschritte in der Krebstherapie für Mensch und Tier (Veterinärmedizin) zu erwarten.

*zu erwartender Schaden:* Eine Beeinträchtigung des Wohlbefindens der Tiere ist ggf. durch die Applikation der Tumorzellen bzw. der zu testenden Verbindungen zu erwarten. Ein weiterer Belastungsfaktor kann die Inhalationsnarkose zur Immobilisierung der Tiere während der diagnostischen Bildgebung darstellen. Da die Applikation von Tumorzellen und Verbindungen minimal invasiv und ggf. unter Narkose erfolgen ist die Belastung allerdings als gering einzustufen. Gleiches gilt für die Narkose per se, die durch schnelle Einleitung und kurze Dauer schonend durchgeführt wird. Die Testverbindungen sind nicht toxisch und gut verträglich. Da die Tiere vor Erreichen einer kritischen Tumorload schmerzlos getötet werden ist auch durch die Tumorzellen zu Lebzeiten keine Beeinträchtigung zu erwarten.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

Die Gesamtzahl der Mäuse erhöht sich um 375 auf 4.100.

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

Eine Reduzierung der Versuche sowie auch damit der Tierzahlen wird durch die nicht-invasive molekulare Bildgebung (s.o.) erreicht. Dadurch können von einem Tier mehr Informationen, über einen längeren Zeitraum gewonnen werden. Auch die Vorevaluation der Modelle trägt dazu bei, dass die eigentlichen Therapie- und Verteilungsstudien an einer geringeren Tier Zahl durchgeführt werden müssen. Der Vorgang der schmerzfreien *in vivo* Bildgebung verfeinert diese Versuche signifikant, da keine belastenden Eingriffe zur Informationsgenerierung nötig sind. Eine moderne, angepasste Anästhesie zur Immobilisierung und eine umsichtige Betreuung der Tiere durch Tierärzte tragen ebenfalls zur Verbesserung der Bedingungen für die Labormäuse bei. Jegliche Studien, für welche nicht zwingend Versuche an Lebewesen notwendig sind, werden stets durch Zellkulturen ersetzt, wie z.B. Studien zur zellulären Toxizität und jegliche Vorversuche um potentiell wirksame Verbindungen zu identifizieren. Selbstverständlich werden alle Tiere in sozialen Kleingruppen gehalten und artgerechtes Nistmaterial, Höhlen sowie Spielzeug wird als Käfigausgestaltung ebenfalls zur Verfügung gestellt.

Eine rückblickende Bewertung ist jährlich, erstmals am 01. Juni 2015 vorgesehen.

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

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

Chronische metabolische Lebererkrankungen (Fettleber, entzündliche Fettleber, Zirrhose, Leberkarzinom) stellen eine erhebliche Gesundheitsbelastung dar. Ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung dieser Erkrankungen sind Veränderungen des Energiestoffwechsels der Leber, insbesondere hervorgerufen durch Veränderungen in der Funktion der Mitochondrien, der Regulation des Fettstoffwechsels und der Stressantwort. Es ist bekannt, dass Curcumin, ein Bestandteil vieler asiatischer Gewürze, gute Wirkung gegen eine Vielzahl entzündlicher Erkrankungen, Krebs und auch metabolischer Erkrankungen, wie die entzündliche Fettleber, darstellt. Ein wesentlicher Vorteil von Curcumin ist dabei, dass es auch in sehr hoher Dosis (mehr als 5000 mg/kg/Tag bei Ratten) nicht toxisch wirkt. Bei der Untersuchung der Wirkung ist jedoch zu berücksichtigen, dass nur ein sehr geringer Teil resorbiert, und unverändert in das jeweilige Zielorgan transportiert wird. Der Umstand, dass für Curcumin auch selektive antibakterielle Wirkungen gezeigt wurden, lässt vermuten, dass ein wichtiger Teil des Wirkmechanismus im Einfluss auf die Darmflora besteht. Deren (pathologische) Veränderungen werden mittlerweile mit einer Vielzahl von Erkrankungen (Fettleibigkeit, chronische Entzündungen, metabolische (Leber-) Erkrankungen, und auch Krebs) in Verbindung gebracht. Curcumin könnte damit direkt, als Stoffwechselprodukt oder über Normalisierung der Darmflora positiven Einfluss auf entzündliche Fettleber haben. Wir werden in unserem Mausmodell für diese Erkrankung daher untersuchen, ob sich mittels Curcumin die Leberschädigung unterdrücken, bzw. rückgängig machen lässt.

*zu erwartender Nutzen:* Wir erwarten uns durch diese Experimente Aufschluss über den Mechanismus der positiven Wirkungen von Curcumin auf die entzündliche Fettlebererkrankung

*zu erwartender Schaden für die Tiere:* Die Verabreichung des Experimentalfutters führt zu (entzündlicher) Fettlebererkrankung, die aufgrund der Schmerzunempfindlichkeit aber zu keiner Beeinträchtigung führt. Am Ende der Versuchsdauer werden die Tiere auf die schmerzloseste und schnellste Art getötet.

### *2. Art und Anzahl der Tiere*

Erhöhung der Anzahl der Tiere um zusätzlich 60 Mäuse auf insgesamt 220 Mäuse.

### *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 entzündlichen Fettleber 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. Die Tiere werden in adäquater Umgebung in Gruppen gehalten, wobei durchgehender Zugang zu Trinkwasser und Futter gewährleistet ist.

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

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

Labmagengeschwüre treten bei Kälbern, aber auch bei erwachsenen Rindern auf und sind schon seit langer Zeit bekannt. Die diagnostischen Mittel zur Detektion von Labmagenzulzera sind begrenzt, da bildgebende und labordiagnostische Verfahren keine eindeutigen Ergebnisse liefern. Das Ziel der Studie ist es, zu untersuchen, ob Sucrose in Blut und Harn bei Kälbern mit Labmagenzulzera auftritt und nachgewiesen werden kann. Der Nachweis von Sucrose in Blut und Harn würde den ersten Schritt zur Entwicklung einer genaueren Diagnostik darstellen und damit auch eine frühzeitige Behandlung von Labmagengeschwüren beim Rind ermöglichen.

*zu erwartender Schaden:* Die versuchsbedingten Maßnahmen an den Tieren umfassen die orale Verabreichung einer Zuckerlösung, die Gewinnung von Spontanharn sowie Blutentnahmen und sind mit geringem Stress für die Tiere verbunden. Aussage und Zuverlässigkeit des Sucrose-Tests werden durch eine *post mortem*-Untersuchung (Verifizierung eines Labmagengeschwürs im Rahmen einer Sektion) überprüft. Es werden ausschließlich Mastkälber kurz vor der Schlachtung sowie kranke Rinder mit infauster Prognose, die aus medizinischen Gründen euthanasiert werden, untersucht.

*zu erwartender Nutzen:* Labmagengeschwüre können erhebliche Schmerzen verursachen und beeinträchtigen das Wohlbefinden und den allgemeinen Gesundheitszustand der Tiere; in Einzelfällen können sie auch zum Tod führen. Da die diagnostischen Möglichkeiten beschränkt sind, muss davon ausgegangen werden, dass Labmagenzulzera bei einem nicht unbedeutenden Anteil an Tieren unentdeckt bleiben und folglich auch nicht behandelt werden können. Eine frühzeitige Diagnose ermöglicht eine rechtzeitige Behandlung und trägt somit dazu bei, krankheitsbedingte Schmerzen der Tiere zu verringern bzw. zu verhindern.

### **2. Art und Anzahl der Tiere**

**Erhöhung auf insgesamt 200 Kälber**

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

*Vermeidung:* Da das Vorkommen von Labmagengeschwüren nur am lebenden Tier untersucht werden kann, ist der Einsatz von Alternativmethoden nicht möglich.

*Verminderung:* Bei der Studie handelt es sich um eine Pilotstudie, sodass eine statistische Planung aufgrund fehlender Informationen nicht möglich ist. Ergebnisse aus vorhergegangenen Studien bei anderen Tierarten und beim Menschen können nicht herangezogen werden da die Unterschiede im Verdauungstrakt im Vergleich zum Wiederkäuer zu groß sind und sich der Aufbau der geplanten Studie von den früheren Untersuchungen deutlich unterscheidet.

*Verfeinerung:* Die Verwendung von Haushaltszucker hat den Vorteil, dass Zucker nicht toxisch ist und den Tieren problemlos oral als Lösung verabreicht werden kann.