

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 Neuroblastom ist eine Krebsart, welche im Nervengewebe von Säuglingen und Kleinkindern vorkommt. Der Therapieerfolg bei Kindern mit einem Hochrisikoneuroblastom ist gering. Kinder mit einem Hochrisikoneuroblastom werden mit mehreren Zyklen intensiver Behandlungen wie einer hochdosierten Radio-Chemotherapie behandelt. Kinder, welche ein Neuroblastom im überlebt haben, zeigen häufig Spätfolgen, die durch Nebenwirkungen von den Standardkrebstherapien verursacht werden und Monate bis Jahre anhalten können. Daher müssen neue Behandlungsschemata die Wirksamkeit der Neuroblastom Therapie verbessern, ihre Toxizität minimieren und die Lebensqualität der Patienten verbessern. Verteporfin ist ein zugelassenes Medikament für die photodynamische Therapie der altersbezogenen Makuladegeneration im Auge. In verschiedenen Mausmodellen wurde bereits gezeigt, dass Verteporfin das Wachstum verschiedener Krebsarten, welche bei Erwachsenen auftreten, verringert und Studien an kultivierten Neuroblastomzellen haben gezeigt, dass Verteporfin das Wachstum von Neuroblastomzellen inhibieren kann. Deshalb ist es unser Ziel die Effekte von Verteporfin im Neuroblastom im Mausmodell zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Das Projekt bringt neue Erkenntnisse für die Neuroblastom Behandlung. Die Ergebnisse könnten zur Entwicklung neuer Therapiestrategien gegen Neuroblastome und andere Krebsarten beitragen. Das Projekt hat daher eine sehr hohe klinische/therapeutische Relevanz.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Nach den bisher veröffentlichten präklinischen Krebsstudien mit Verteporfin bei Mäusen wurden keine schwerwiegenden Nebenwirkungen berichtet. Die subkutane Injektion der Tumorzellen in die Mäuse unter Inhalationsanästhesie und alle Interventionen während der Versuche (Injektion von Verteporfin, Tumor- und Körpergewichtsmessungen) werden als mittlere Belastung eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

234 Mäuse (*Mus musculus*)

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

Zur Erfüllung der 3 R wurden folgende Maßnahmen getroffen: Der Antrag folgt aufbauend auf in vitro Daten in Neuroblastom und in vivo Daten in anderen soliden Tumoren, welche den dargestellten Wirkmechanismus unterstützen und den Einsatz von Verteporfin im Neuroblastom Tiermodell rechtfertigen. Der Beitrag zur Vermeidung zukünftiger Tierversuche ist hoch, da nur die wirksamsten Dosierungen von Verteporfin untersucht werden. Zur Verminderung der eingesetzten Versuchstiere erfolgte eine statistische Optimierung der Anzahl sowie eine Vermeidung von doppelter Versuchsdurchführung. Das gewählte Modell der subkutanen Xenografts vermindert die Belastung der Versuchstiere im Vergleich zu orthotopischen Xenografts und erlaubt eine nichtinvasive Dokumentation der Tumordynamik nach einmaligem Eingriff der Injektion der Tumorzellen. Diese wird zur Belastungsverminderung unter adäquater Anästhesie durchgeführt. Es wird größter Wert darauf gelegt, dass die Tiere sanft behandelt werden und sie minimal in ihrem täglichen Rhythmus gestört werden. Die gewählten Therapeutika sind ausnahmslos sowohl in Mausmodellen, als auch klinisch validiert und zeigen eine sehr gute nebenwirkungsarme Verträglichkeit. Um die Verträglichkeit zu dokumentieren werden zweimal wöchentlich Untersuchungen des Gesundheitszustandes nach einem standardisierten Protokoll durchgeführt. Durch die Definition von strikten Abbruchkriterien, welche sich sowohl auf das Ergebnis der Gesundheitsevaluierung, als auch auf die Tumorgröße beziehen, wird die Belastung für die Versuchstiere minimiert. Die Tötung, wenn nötig, erfolgt schmerzfrei nach Tierversuchs-Verordnung 2012—TVV 2012 § 20: Zulässige Methoden zur Betäubung und Tötung von Tieren.

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

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

Projektziele: Das menschliche Immunsystem schützt uns vor Krankheitserregern und Fremdstoffen. Die Immunantwort muss aber sorgfältig reguliert werden, da Fehlreaktionen des Immunsystems auch die Ursachen vieler immunologischer Erkrankungen, wie z.B. chronische Entzündungen, Allergie oder Autoimmunerkrankungen, sind. Um die Ursachen von immunologischen Fehlreaktionen besser verstehen zu können, werden in diesem Projekt die grundlegenden Prozesse untersucht, die der Regulation der Immunantwort zugrunde liegen.

Zu erwartender Nutzen: Die zellulären und molekularen Prozesse, die zur Entstehung von immunologischen Erkrankungen führen, sind in vielen Fällen nicht ausreichend beschrieben. Ebenfalls sind die Funktionen von schon bekannten Genen und Eiweißmolekülen, die an diesen Prozessen beteiligt sind, nicht vollständig im Detail bekannt. Ein besseres Verständnis ist aber wichtig, um neue therapeutische Ansätze aufzeigen zu können. Durch die im Antrag beschriebenen Experimente erwarten wir uns Aufklärung über die Funktion von den untersuchten Genen und Eiweißmolekülen in den sogenannten T-Zellen, die eine Untergruppe der weißen Blutkörperchen bilden. T-Zellen sind zum Teil die Koordinatoren der Immunantwort. Durch ein besseres Verständnis der Vorgänge, wie T-Zellen mit anderen Zellen des Immunsystems in Wechselwirkung treten sollte es auch möglich sein, neue potentielle Therapieansätze aufzuzeigen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: In dem beantragten Projekt werden die Tiere für schon bewilligte Tierversuche (und zur Organentnahme) gezüchtet. Für die Zucht müssen die Tiere nach international anerkannten Methoden „genotypisiert“ werden. Die Schmerbelastung für diesen Eingriff wird als gering eingeschätzt. Die eingesetzten Mäuse werden täglich kontrolliert und bei einem eventuellen Auftreten von vorab definierten Abbruchkriterien aus dem Versuch entfernt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse (*mus musculus*), 29292 Tiere unterschiedlichen Genotyps

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

Vermeidung: Wir haben uns zum Ziel gesetzt, mit Hilfe transgener Ansätze die Funktionsweise wichtiger immunregulatorischer Moleküle zu identifizieren und dadurch grundlegende Einblicke in die Regulation des Immunsystems zu gewinnen. Diese komplexen Reaktionen können nicht ausschließlich in einem Zellkulturmodell untersucht werden, weil der Immunantwort komplexe

zelluläre Interaktionen zugrunde liegen, die nur in vivo studiert werden können. Deshalb können diese (medizinisch relevanten) Fragestellungen nur unter Einbeziehung eines Tiermodells (d.h. transgener Mäuse) untersucht werden.

Verminderung: Alle Tiere werden unter standardisierten Bedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Hygienekontrolle) und nach FELASA Kriterien gehalten. Ebenfalls werden die Versuche unter kontrollierten und standardisierten Bedingungen durchgeführt, um die Variabilität der Messergebnisse zu reduzieren. Das inkludiert auch die Einbeziehung der richtigen Kontrollgruppen (falls möglich immer „Littermates“ oder Kontrollgruppen gleichen Stammes, Alters und Geschlecht). Unter Berücksichtigung der richtigen statistischen Methoden für die Auswertung der Ergebnisse können, bei gleichzeitiger Einhaltung der notwendigen wissenschaftlichen Sorgfalt, dadurch die Tierzahlen so gering wie möglich gehalten werden.

Verfeinerung: Alle Tierversuche werden so gut wie möglich unter stressfreien Bedingungen durchgeführt. Um das zu ermöglichen, werden die Tiere unter konstanten Bedingungen (Lichtzyklus, Luftfeuchtigkeit, Temperatur) in einem „enriched environment“ gehalten (z.B. Nestbaumaterialien im Käfig um den Mäusen einen Unterschlupf zu ermöglichen). Falls es notwendig ist, wird auch eine Narkose oder Analgesie durchgeführt. Die Tiere werden 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. Die Durchführung der Tierversuche liegt ausschließlich in den Händen erfahrener Wissenschaftler und es werde die neuesten „state of the Art“ Methoden angewandt.

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

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

In den letzten Jahren kam vermehrtes Interesse an der Erforschung von neurologischen Entwicklungsstörungen wie Autismus-Spektrum-Störungen (ASS) und Epilepsie auf. Interessanterweise treten die eben genannten Defekte häufig als gegenseitige Begleiterscheinungen in Patienten auf. Nach wie vor sind die Ursachen dieser Erkrankungen, sowie mögliche Behandlungsstrategien leider unklar. Vergangene Studien unserer Forschungsgruppe konnten aufzeigen, dass ein Ungleichgewicht im Abbau von Proteinen und damit assoziierten Signalwegen einen ausschlaggebenden Einfluss auf die Entwicklung dieser neurologischen Entwicklungsstörungen haben. Durch das Erforschen dieser Signalwege und ihren unterliegenden molekularen Mechanismen könnten sich neue Wege zu potentiellen Behandlungsstrategien eröffnen. Im Fokus dieses Projektes steht daher einer der wichtigsten Protein-Degradationssignalwege, welcher für den Abbau von Proteinen und damit die Wiederverwendungen wichtiger Aminosäuren zuständig ist. Fehlregulierungen dieses Signalweges durch Mutationen in Genen, die eine bedeutende Rolle in diesem Signalweg spielen, konnten mit Autismus, geistiger Behinderung (ID) und Epilepsie assoziiert werden. Ziel des beschriebenen Projektes ist es, einen Zusammenhang zwischen der Misregulation der Protein-Abbau Homeostase im Gehirn und damit verbundenen Defekten der Gehirnentwicklung zu identifizieren. Primär gilt es zu untersuchen, inwieweit ein Ungleichgewicht des Signalweges zu den bekannten Anomalien in Patienten führt. Ein weiteres Ziel des Projektes stellt die Aufklärung von ungeklärten zugrundeliegenden molekularen Verbindungen zwischen einer Deregulierung des Signalweges und Autismus Spektrum-Störungen dar. Mit Hilfe von Knockout-Mäusen, die Mutationen assoziiert mit diesem Protein-Degradationssignalweg aufweisen, welche damit in die regulatorische Maschinerie eingreifen, wollen wir zugrundeliegende molekulare Mechanismen identifizieren und deren Einfluss auf die Gehirnentwicklung erörtern.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt basiert hauptsächlich auf der Verwendung von Mäusen als Modellorganismus, da diese — biologisch betrachtet — bezüglich ihrer Hirnentwicklung dem Menschen sehr ähneln und damit geeignet sind, um menschliche Neuroentwicklungsstörungen (ASS, Mikrozephalie und Epilepsie) abzubilden. Die Verwendung der Maus als Modellorganismus ermöglicht uns, im Gegensatz zu anderen Modellen (z. B.: Zellkultur, *C. elegans*), die Symptome die sich teils in bestimmten Verhaltensmustern manifestieren (gestörte soziale Interaktion, Kommunikationsdefizite und repetitive Verhaltensweisen, Krampfanfälle, Motordefizite) besser

verstehen zu können. Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit der direkten Manipulation des Maus Genoms, um einen menschlichen Zustand möglichst genau abzubilden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um die eben beschriebenen Fragen zu beantworten, werden wir vor allem histologische und molekularbiologische Methoden sowie Verhaltensanalyse von Mäusen und die Primärzellkultur verwenden. Basierend auf der klinischen Präsentation der Patienten, welche Mutationen in den forschungsrelevanten Genen aufweisen, können wir davon ausgehen, dass heterozygote Mäuse keinerlei oder nur sehr milde neurologische Defekte aufweisen werden. Sollten stärkere Ausprägungen des Phenotypes in Mäusen auffallen, wird der zuständige Wissenschaftler umgänglich den Tierarzt vor Ort am Campus kontaktieren, um mögliche Strategien zur Vermeidung zusätzlichen Leidens festzulegen. Die Mehrzahl der Methoden umfasst verschiedene, für die Tiere mit sehr geringen Belastungen einhergehende, Verhaltenstests. Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere während einer gesamten Testreihe ausgesetzt sein können, ist als „mittel“ zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Mäuse. Insgesamt werden über einen Zeitraum von 5 Jahren 4878 Tiere für Analysen verwendet.

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

Vermeidung: Autismus-Spektrum-Störungen und Epilepsie sind komplexe neurologische Entwicklungsstörungen. Während in vitro Techniken (d. h. Zellkulturen) verwendet werden, um spezifische Fragen zu beantworten, erfordert die hohe Komplexität dieser Erkrankungen eine Analyse der Gehirnentwicklung in vivo. Weiters erlauben Tiermodelle die Erforschung des Sozialverhaltens, was eine wichtige Grundlage in der Analyse von Autismus Spektrum-Störungen darstellt. Dies kann nicht dupliziert oder in einfacheren Systemen als bei Tieren mit einem deutlich erkennbaren Sozialverhalten modelliert werden.

Verminderung: Wir nutzen die kleinstmögliche Anzahl an Mäusen, um statistische Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsbedingungen darzustellen. Allerdings sind aufgrund der unabhängigen Variablen und der Variabilität der untersuchten Phänotypen größere Probenmengen für statistisch gültige Proben nötig. Eine gute Versuchsplanung sowie eine ordnungsgemäße Datenerhebung und -analyse werden die Anzahl der benötigten Versuchstiere minimieren. Falls ein spezielles Verfahren wiederholt im Labor eingesetzt werden sollte, wird es eine historische Kontrollaufzeichnung für dieses Verfahren geben. Im Rahmen des Möglichen

werden wir keinen vollständigen Kontrollsatz durchführen, sondern stattdessen nur eine sehr geringe Anzahl von Kontrollen vornehmen und zeigen, dass sie in die historischen Kontrollgrenzen fallen. Um die Anzahl der in Verhaltensexperimenten verwendeten Mäuse zu reduzieren, können Verhaltenstests verwendet werden, bei denen die gleiche Maus-Kohorte für mehrere Tests verwendet wird, einschließlich einer geeigneten Ruhephase dazwischen.

Verfeinerung: Alle Verfahren werden von geschulten, mit den Techniken vertrauten Personen durchgeführt. Injektionen werden mit den kleinstmöglichen Nadeln ausgeführt und die verwendeten Mengen und Dosen entsprechen den Empfehlungen der GV-SOLAS. Einer der zur Anwendung kommenden Verhaltenstests ermöglicht die Haltung mehrerer Mäuse für mehrere Tage im Verhaltensbereich, was wiederum den Stress der Tiere durch eine Gruppenhaltung reduziert. Generell werden Tiere, die zur Verhaltensanalyse verwendet werden, an den Verhaltensbereich gewöhnt (habituiert) bevor das eigentliche Experiment durchgeführt wird. Bei Operationen im Allgemeinen wird größtes Augenmerk auf die Optimierung des Analgetikums und der postoperativen Versorgung gelegt. Für den „Neural Blastocyst Complementation Assay“ werden wir eine Pilotstudie durchführen, um unseren Versuchsaufbau zu optimieren und somit wenige Tiere zu verwenden.

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: Eine Bewertung des Glukose- und Fettsäuremetabolismus auf der Ebene von Organen, Gewebe und Zellen ist wesentlich für das Verständnis der Entwicklung von Stoffwechselerkrankungen. Dies ist vor dem Hintergrund eines weltweiten Anstieges von Übergewicht und Diabetes eine der großen medizinischen Herausforderungen der Gegenwart.

zu erwartender Nutzen: Unser Projekt umfasst die Kombination neuartiger bildgebender Methoden mit dem Potenzial, in Zukunft mehr Informationen aus Untersuchungen an einem Tier zu gewinnen, ohne dass dieses Tier dafür größeren Belastungen wie Schmerz oder Stress ausgesetzt ist.

zu erwartender Schaden für die Tiere: ZDF Ratten können zusätzlich zur Hyperglykämie, ab einem Alter von 14 Wochen, renale Pathologien (z.B. Albuminurie) entwickeln. Die bildgebenden Versuche erfolgen dann unter tiefer Isoflurannarkose und enden mit der Tötung der Tiere, ohne dass diese zuvor wieder das Bewusstsein erlangen. Eine Gruppe von Tieren wird über Nacht gefastet, wobei Trinkwasser zur Verfügung steht. Der höchste zu erwartende Schweregrad ist als „mittel“ einzustufen

2. Art und Anzahl der Tiere

Als Versuchstiere werden Sprague Dawley Ratten sowie Zucker diabetic fatty Ratten (ZDF-Leprfa/Crl) verwendet. Für die ersten Versuche werden 70 Tiere benötigt. Basierend auf die resultierenden Ergebnisse werden optional noch weitere 280 Tiere benötigt.

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

Vermeidung: Letztendlich ist es in allen Teilen des Projekts unumgänglich, die Hypothesen am intakten Organismus zu prüfen, weil der Stoffwechsel im Zusammenspiel unterschiedlichster Organe reguliert wird, was im Reagenzglas unmöglich simuliert werden kann. Grundsätzlich zielt das Projekt aber auf die Etablierung neuer Methoden ab, die in Zukunft ermöglichen sollen, bei gleicher Belastung des Versuchstiers mehr Informationen aus einem Tier zu erhalten. Insofern hat das vorliegende Projekt Potenzial, langfristig zu einer Vermeidung von Tierversuchen beizutragen.



Verminderung: Durch standardisierte Haltung und Versuchsabläufe wird die Streuung der Daten und damit der Tierbedarf soweit möglich reduziert. Die eingesetzten Stämme entsprechen langjährigen Konventionen in der Stoffwechselforschung, sodass bestmögliche Interpretationssicherheit besteht. Die gewählten Gruppengrößen sind für die geplanten Studien angemessen. Die Gestaltung der Protokolle zielt auf Wissensgewinn bei geringstmöglichem Tierbedarf.

Verfeinerung: Es werden gewissenhaft standardisierte Maßnahmen getroffen, die Schmerz und Leid der Tiere soweit möglich reduzieren. Im Rahmen der Haltung vor dem Experiment wird der allgemeine Gesundheitszustand der Tiere engmaschig überwacht. Nur augenscheinlich ganz gesunde Tiere werden für das Experiment herangezogen. Die Versuchsabläufe sind minimal belastend, da alle Manipulationen unter tiefer Narkose stattfinden

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

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

Mit diesem Projekt studieren wir a) den Einfluss des Alterns auf zerebrale Blutgefäße, und b) den Effekt eines therapeutischen Ansatzes mittels eines anti-inflammatorischen Medikamentes, Montelukast, zur Verbesserung des Gehirngefäßnetzwerkes im Alter.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dazu werden 3 verschiedene Experimente durchgeführt. Im Experiment 1 wird die Dosis-Wirkung Beziehung getestet. Dazu werden alte Wildtyp Mäuse mit 0, 1, 3,3 und 10 mg/kg/Tag für 6 Wochen mit Montelukast behandelt. Im zweiten Experiment wird die ermittelte Dosis auf ihren Effekt bzgl. einer Verbesserung der Kognitionsfähigkeit und in Bezug auf altersbedingte Veränderungen des Gefäßstruktur analysiert. Dazu werden junge und alte Mäuse mit der ermittelten Dosis (Experiment 1) für 6 Wochen behandelt. In einem dritten Experiment werden wir die Pharmakodynamik von der ermittelten Montelukast Dosis evaluieren, um herauszufinden, ab wann die Effekte bzgl. Blutgefäße auftreten. Dazu werden alte Wildtyp Mäuse für 1 und 3 Wochen mit Montelukast behandelt.

Zu erwartender Nutzen: Im Alter nehmen sowohl die kognitive Leistung als auch die zerebrale Blutversorgung ab. Ein ursächlicher Zusammenhang wird zwar vermutet, ist bislang jedoch noch nicht wissenschaftlich belegt. Mit dem hier vorgestellten Ansatz besteht begründete Hoffnung sowohl die zerebrale Blutversorgung als auch die kognitive Leistung zu verbessern. Aufgrund der extrem guten Datenlage zur Sicherheit und Verträglichkeit des eingesetzten Medikaments Montelukast sind keine Schäden zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

102 weibliche Wildtyp Mäuse (C57Bl6)

- 30 Mäuse für die Etablierung und Erlernen der Methoden
- 10 junge Mäuse (3-6 Monate)
- 62 alte Mäuse (18-22 Monate)

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

Vermeidung: Die pharmakokinetische Aufnahme von Medikamenten ist ein höchst komplexer Prozess, dem Interaktionen innerhalb eines Organismus zugrunde liegen. Altersabhängige Veränderungen im Gehirn sind extrem vielschichtig und nicht durch in vitro Zellkulturen oder

anderen Methoden modellierbar. Ebenso gibt es keine Verfahren, komplexe Verhalten wie Kognition ausserhalb des Körpers dazustellen. Die Analyse hinsichtlich der Charakterisierung und Modulation von Blutgefäßen im alten und jungen Gehirn ist daher unumgänglich und wichtiger Bestandteil derzeitiger Forschung.

Verminderung: Die Anzahl der verwendeten Tiere wird so gering wie möglich gehalten, jedoch so gewählt, um noch statistische Signifikanz zu gewährleisten.

Verfeinerung: Die Tiere werden sorgfältig beobachtet und sollte ein allgemein negativer Eindruck oder eventuelle Anzeichen von Schmerzen auftreten, werden mit Rücksprache der tierhaltungsinternen Tierärztin sofortige Gegenmaßnahmen eingeleitet. Wir sind unter anderem bemüht Stress und Schmerzen für die Tiere zu vermeiden. Die orale Verabreichung des Medikaments verursacht den Tieren keine Schmerzen und ist daher als sehr gering belastend einzustufen.

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

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

Die chirurgische Kastration männlicher Ferkel darf in Österreich nach geltender Rechtslage bis zum siebten Lebenstag bei Anwendung einer Schmerzbehandlung, die auch postoperativ wirksam ist, ohne Sedation oder Anästhesie durchgeführt werden. Die betäubungslose Ferkelkastration stößt in der Gesellschaft zunehmend auf Ablehnung und ist aus der Sicht des Tierschutzes bedenklich, da sie erhebliche Schmerzen verursacht. Das Ziel der vorliegenden Studie besteht darin, eine Kombination aus Sedation bzw. allgemeiner Anästhesie, Lokalanästhesie und postoperativer Analgesie durch nichtsteroidale Antiphlogistika auf ihre Tauglichkeit zur Schmerzausschaltung bei der Kastration männlicher Ferkel zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Die Kombination aus intranasal verabreichter Anästhesie und Lokalanästhesie stellt eine mögliche Alternative zur chirurgischen Kastration unbetäubter Ferkel dar, da die Nebenwirkungen der alleinigen Anästhesie (keine ausreichende Schmerzausschaltung, Stress der Tiere während der Manipulation im Falle der alleinigen Lokalanästhesie oder langer Nachschlaf mit erhöhter Erdrückungsgefahr der Ferkel durch die Sau und Auskühlen der Ferkel bei Allgemeinanästhesie mittels Injektion) durch die geringere Dosis reduziert und gleichzeitig eine ausreichende Schmerzausschaltung garantiert werden kann.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im vorliegenden Versuch stellen die Kastration und die Betäubung eine Belastung der Tiere dar. Zur Minimierung der durch die Kastration verursachten Schmerzen wird neben der Lokalanästhesie und der zu erprobenden Anästhesie eine postoperativ wirksame Schmerzbehandlung angewendet. Zur Verringerung der negativen Auswirkungen der Betäubung werden die Tiere bis zu ihrem vollständigen Erwachen warm und getrennt von der Sau und den nicht verwendeten Wurfgeschwistern gehalten.

2. Art und Anzahl der Tiere

273 Schweine (*Sus scrofa domestica*)

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

Vermeidung: Für die Erprobung der Wirksamkeit von Anästhesiemethoden für die Ferkelkastration stehen keine alternativen Untersuchungsmethoden zur Verfügung.

Verminderung: Die Anzahl der beantragten Tiere wird durch die Durchführung des Versuches in 2 Phasen reduziert; zunächst wird die Wirksamkeit von acht Wirkstoffen bzw. Wirkstoff-Kombinationen in unterschiedlichen Dosierungen nach intranasaler Applikation an einer geringen Tierzahl getestet. Nur Kombinationen mit guter Wirksamkeit werden in die zweite Phase des Versuches aufgenommen, in der an einer größeren Tierzahl ein Vergleich der intranasalen mit der intramuskulären Applikation durchgeführt wird. In der zweiten Phase wird die Tieranzahl mit zehn Tieren pro Gruppe auf ein statistisch vertretbares Minimum reduziert, welches in bereits publizierten Studien zu statistisch signifikanten Ergebnissen führte.

Verfeinerung: Die Betreuung, sämtliche Maßnahmen an den Tieren und die Überwachung der Tiere während des Versuches erfolgen durch Fachpersonen Die Tiere befinden sich mit ihren Wurfgeschwistern bei der Muttersau. Fütterung und Trinkwasserversorgung gemäß den physiologischen Bedürfnissen sind sichergestellt. Auch für adäquates Beschäftigungsmaterial wird gesorgt.

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

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

Das menschliche Gehirn verarbeitet unterschiedlichste Sinneseindrücke welche wiederum zu komplexen Verhaltensweisen führen. Diese Hauptaufgaben werden durch ganz grundlegende Gehirnfunktionen gesteuert: Das Lernen erlaubt uns Informationen im Großhirn zu speichern und zu einem späteren Zeitpunkt, bewusst oder unbewusst, wieder abzurufen. Die bewusste und unbewusste Wahrnehmung der Umwelt und des eigenen Seins erlaubt die Entstehung der ganzen Bandbreite von Emotionen und die Kontrolle unserer Motorik erfolgt im Kleinhirn. Alle diese Funktionen müssen gleichzeitig und koordiniert ablaufen. Diese Koordinationsaufgabe wird durch das Zusammenwirken der Grundbausteine des Gehirns, der Nervenzellen, ermöglicht. Die Nervenzellen stehen jeweils über zehntausende Zell-Zell-Kontakte, den sogenannten Synapsen, miteinander in Verbindung, kommunizieren so mittels elektrischer Signale miteinander und können damit die Gehirnfunktionen koordinieren. Ein Ungleichgewicht in den Verbindungen oder in der elektrischen Aktivierung von Nervenzellen führt häufig zu Erkrankungen wie Epilepsie, Autismus oder Depressionen und nachhaltige Schädigungen einzelner Nervenzellbereiche ist die Hauptursache für die Entwicklung von Parkinson oder Alzheimer.

In dem vorliegenden Projekt züchten wir nun einen Mausstamm, mit dessen Hilfe die Signalwege defekter Zelleiweiße bei neurologischen Erkrankungen (z.B. Epilepsie, Autismus) aufgeklärt werden können. Der Mäuse dieses Mausstamms weisen eine natürlich vorkommende Mutation (d.h. eine genetische Erkrankung) in den betroffenen Zelleiweißen auf. Um die Funktionen dieser Eiweiße zu untersuchen, müssen diese Mäuse nun gezüchtet werden. Dies geschieht durch die Verpaarung von gesunden Mutationsträgern, bei denen jedes Elternteil sowohl ein gesundes als auch ein mutiertes Gen besitzt. Wenn bei den Nachkommen dieser Paare nun zwei mutierte Gene zusammentreffen, kommt es zum Fehlen des betroffenen Zelleiweißes. Durch die Züchtung dieser Mäuse können die Funktionen dieser Zelleiweiße in anderen Projekten untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns von diesen Untersuchungen neue Erkenntnisse über die Ursache und Entstehung von Gehirnerkrankungen wie Epilepsie, Autismus, und Depressionen und über welchen zellulären Mechanismus die untersuchten Zelleiweiße an der Ausprägung dieser Erkrankungen beteiligt sind. Aus diesen Studien können sich daher zukünftig neue und an nebenwirkungsarme Strategien zur Behandlung von Erkrankungen beim Menschen entwickeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Züchtung der genetisch veränderten Mauslinie entspricht einem geringen Schweregrad.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

In dem gegenständlichen Projekt wird die Zucht einer Mauslinie beantragt, um dieses wertvolle Krankheitsmodell zu erhalten sowie die Krankheitsursachen in anderen Projekten zu untersuchen. Über eine Laufzeit von 5 Jahren werden in diesem Projekt maximal 100 Mäuse mit Krankheitsmerkmalen gezüchtet.

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

**Vermeidung:** Durch die beschriebene Vorgangsweise können alle Experimente an entnommenen Gehirnen oder an gezüchteten Zellen durchgeführt, wodurch Versuche an lebenden Tieren vermieden werden.

**Verminderung:** Die künstliche Züchtung von Zellen erlaubt die Versuchsdurchführung an hunderten bis tausenden Zellen einer einzigen Maus, wodurch im Vergleich zu Versuchen an lebenden Mäusen die Gesamtzahl der benötigten Tiere deutlich vermindert wird.

**Verfeinerung:** Die Mäuse im gegenständlichen Projekt werden für die Verwendung in anderen Projekten und zur Gewebeentnahme gezüchtet. Es werden dadurch keine Tiere mit Krankheitsmerkmalen aufgezüchtet. Die sorgfältige Handhabung und Betreuung der Mäuse durch geschulte Mitarbeiter/innen, tägliche Kontrollen der Mauszuchten, die Gewebeentnahme an toten Tieren und die sachgemäße Verwendung von Tötungsverfahren sorgt zusätzlich für eine Verfeinerung der Abläufe und damit eine Reduktion des Stresses, dem die Mäuse ausgesetzt 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

Es konnte in der Vergangenheit gezeigt werden, dass Herzpatches im Bioreaktormodell die Gefäßbildung induzieren. Diese Eigenschaft der Patches zeigt ein breites Therapiepotential durch die Freisetzung einer großen Menge an verschiedenen überlebenswichtigen und kardioprotektiven Faktoren. Das Ziel dieser Studie ist es, in einem Rattenmodell den Effekt dieser Herzpatches nach Herzinfarkt auf die Herzfunktion zu beschreiben. Dazu werden die Tiere in einer ersten Operation mit Herzinfarkt versehen und anschließend in einer zweiten Operation werden die erwähnten Patches eingebracht.

zu erwartender Nutzen: Mit dieser Studie soll das therapeutische Potential von Herzpatches evaluiert werden und im Rahmen einer Publikationsstrategie in medizinischen Journalen veröffentlicht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Nur in vivo (am lebenden Objekt) lassen sich aussagekräftige und relevante Daten sowie Erkenntnisse zu den oben erklärten Fragestellungen gewinnen. Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt bei einer bzw. zwei Operationen unter Vollnarkose und somit wurden diese Versuche mit dem Schweregrad „mittel“ (20%) bzw. „schwer“ (80%) versehen. Jegliche Belastung wird so gut wie möglich verringert oder gar vermieden.

2. Art und Anzahl der Tiere

180 Ratten

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

Vermeidung: Die Beantwortung dieser Fragestellung kann nur am lebenden Tier untersucht werden, deshalb sind keine alternativen Methoden möglich.

Verminderung: Das Versuchssetup sowie das Protokoll mit sind jahrelang international etabliert und erlauben eine standardisierte Untersuchung der Fragestellung. Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert.



Verfeinerung: Die Tiere werden unter standardisierten Bedingungen gehalten und bekommen freien Zugang zu Futter und Trinkwasser. 14 Tage vor Versuchsbeginn werden die Tiere an die Tierhaltungsbedingungen gewöhnt. Die Betreuung der Tiere erfolgt durch erfahrene Tierpfleger. Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. November 2023 vorgesehen.

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

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

Zu erwartender Nutzen: Der Einsatz gedankengesteuerter, mechatronischer Prothesen zur Versorgung von Amputationen der Arme ist eine anerkannte klinische Behandlungsmethode. Trotz der mittlerweile guten Steuerung dieser Prothesen, stellt der Mangel an Gefühl (sensorischer Wahrnehmung) nach wie vor ein großes Problem dar. Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung einer neuen Methode zur Wiederherstellung der sensorischen Wahrnehmung mittels chirurgischer Umlegung von Nerven (Nerventransfers). Dadurch soll die Grundlage für die Übersetzung in die klinische Anwendung geschaffen werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Narkose und mit Unterdrückung der Schmerzempfindung operiert und weisen danach geringe Bewegungs- sowie Empfindungsverluste einer vorderen Gliedmaße auf.

2. Art und Anzahl der Tiere

136 Ratten

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

Vermeidung: Die Untersuchung der Wiederherstellung sensorischer Wahrnehmung mittels Nerventransfers und eines Hauttransplantats ist auf Grund der hierfür notwendigen Wiederherstellungsvorgänge der Nerven nur im lebenden Tier möglich. Es bedarf mehrerer Untersuchungsgruppen, um die Verbindung zwischen Nerven und Haut auf mehreren Ebenen mit verschiedenen Untersuchungsmethoden zu beurteilen. Die Auswirkungen im Rückenmark können nur mittels spezieller Nervenfärbemethoden genau untersucht werden. Die hierbei verwendeten Farbstoffe werden dabei aktiv entlang der Nerven zum Rückenmark transportiert. Zusätzlich werden noch Messungen der elektrischen Aktivität der Nerven und Untersuchungen bezüglich des Verhaltens der Tiere durchgeführt. Zusammen erlauben diese Methoden wichtige Rückschlüsse auf die stattgefundenen Wiederherstellung. Die Untersuchung ist daher nur im lebenden Tier und nicht auf andere Art möglich.

Verminderung: Aufgrund des verfügbaren Wissens aus Vorarbeiten sowie der Verwendung des Gewebes der Gegenseite im selben Tier kann bei diesem Versuch auf Kontrollgruppen verzichtet werden. Die Versuchsgruppengröße wurde unter Berücksichtigung der statistischen Aussagekraft auf die kleinste erforderliche Tieranzahl reduziert. Einheitliche Tierhaltung sowie

Versuchsbedingungen sollen die Streuung geringhalten. Die operativen Eingriffe werden durch einen erfahrenen Operateur durchgeführt und erfolgen unter Vollnarkose mit Unterdrückung der Schmerzempfindung. Die Tiere werden täglich auf Zeichen von Stress, Schmerz, Wundinfektion, Selbstverstümmelung und Gewichtsverlust kontrolliert, so dass Schmerzen, Krankheitszeichen und Verschlechterungen des Allgemeinzustandes frühzeitig erkannt und behandelt werden können.

Verfeinerung: Die in diesem Projekt beschriebenen Methoden wurden entweder bereits erfolgreich in Vorstudien angewandt (Gewebeaufarbeitung, Teile der Operation) oder im Vorfeld mit anerkannten Experten auf dem Feld der Neurowissenschaften geplant, begutachtet und verfeinert (Operationsschritte, Auswertung der Funktion).

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

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

Aufgrund des starken Aufkommens von Gleichstromanwendungen (Solaranlagen, E-Autos, Ladestationen,...) und des gleichzeitig geringen (und Teils widersprüchlichen) Wissenstands über die Auswirkungen von Gleichstrom (DC) auf den menschlichen Körper wird in diesem Forschungsprojekt die Auswirkung einer Bestromung mit DC auf das Herz untersucht. Dabei steht das strominduzierte Herzkammerflimmern im Vordergrund. Hierbei untersuchen wir mögliche Schwellen und Szenarien unter welchen Herzkammerflimmern ausgelöst werden kann, sowie grundlegende Mechanismen über die Entstehung des Herzkammerflimmerns. Versuche am isolierten Herzen sind für die kardiovaskuläre, hämodynamische sowie die pharmakologische Forschung seit Jahrzehnten etabliert. Weiters soll ein funktionaler Zusammenhang (mathematisches Modell) zwischen exogenen Erregungen und der Wahrscheinlichkeit der Ausbildung von Herzkammerflimmern hergestellt werden.

Ausgehend von grundlegenden Experimenten an isolierten Tierherzen, sollen über physiologisch fundierte Schlussfolgerungen, Aussagen über die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von strominduziertem Herzkammerflimmern erlangt werden.

In tiefer Narkose entnommene Kaninchenherzen werden an eine Isolierte-Herz-Apparatur angeschlossen, um durch einen elektrischen Stimulus induziertes Kammerflimmern standardisiert untersuchen zu können.

zu erwartender Nutzen: Deutlich Verbesserung der Fehlerstromschutztechnik für Gleichstromanwendungen. Verbesserung und Erweiterung der internationalen Normenlage. Vermeidung von Unfällen und Schäden am Menschen aufgrund mangelnder Kenntnis und Verbreitung des nötigen Wissens an Fachpersonal im Bereich des Gleichfehlerstromschutzes. Klärung grundsätzlicher Mechanismen des gleichstrominduzierten Herzkammerflimmerns.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Herzen werden in tiefer Narkose entnommen (keine Wiederherstellung der Lebensfunktion)

2. Art und Anzahl der Tiere

White New Zealand Kaninchen 120

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

Vermeidung: Das Versuchssetup sowie das Protokoll mit Kaninchenherzen sind jahrelang international etabliert und erlauben eine standardisierte Untersuchung der Fragestellung.

Verminderung: Für den Erhalt aussagekräftiger Resultate ist die Versuchsgröße basierend auf einer Fallzahlberechnung so gering wie möglich kalkuliert.

Verfeinerung: Durch Standardisierung aller Haltungs- und Versuchsbedingungen und genaue Versuchsplanung soll eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielt werden.

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

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

In diesem Projekt sollen neu entwickelte abbaubare Hydrogele, die durch Graphenoxid modifiziert wurden, untersucht werden. Die Graphenmodifikation soll vor allem die nicht zufriedenstellenden biomechanischen Eigenschaften der Hydrogele verbessern. Die biologische Verträglichkeit und der Abbau bzw. Umbau der modifizierten Biomaterialien in natürliches Gewebe soll in Kurz- und Langzeitanwendung in Ratten untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Abbaubare Hydrogele könnten für viele Anwendungen im Menschen als Implantatmaterial Verwendung finden. Die Verbesserung der biomechanischen Festigkeit würde eine Verwendung der Implantate im Bereich des Herz-Kreislaufsystems sicherer machen bis es zu einer genügenden neuen Gewebekonstruktion durch den Menschen kommt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Testung der Implantate erfolgt unter der Haut und stört die Tiere nicht. Die Implantation und die Verlaufskontrollen der Implantate mittels Magnetresonanztomographie erfolgen in Vollnarkose. Am Ende des Versuches werden die Tiere mit einer Überdosis Narkosemittel getötet. Durch eine geeignete Schmerztherapie ist die Belastung der Tiere unmittelbar nach der Operation gering- bis mittelgradig. Anschließend erholen sich die Tiere rasch und zeigen keine Einschränkung des Allgemeinbefindens.

2. Art und Anzahl der Tiere

45 Ratten

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

Vermeidung: Die Reaktion des Körpers auf körperfremde Materialien kann nur in in-vivo Versuchen erfasst werden.

Verminderung: Zuvor werden die Materialien in-vitro in der Zellkultur getestet, um die biologische Verträglichkeit der Materialien und den Abbau der Materialien abzuschätzen und eventuelle Materialverbesserungen durchzuführen. Nur das Material, das in diesen Tests keine negativen Reaktionen zeigt, wird in-vivo weiter untersucht.

Verfeinerung: Alle Versuche finden nach standardisierten Protokollen statt.

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

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

Die Aktivierung des Immunsystems bei einer Infektion erfolgt durch Proteine, die als Zytokine bezeichnet werden. Zytokine werden vorwiegend von Zellen sekretiert, die mit dem Infektionserreger in Kontakt kommen. Zytokine der IL-1-Familie sind außerordentlich starke Aktivatoren der Immunantwort. Eine Überproduktion der IL-1-Zytokine kann zur Überstimulation des Immunsystems führen und schwere Gewebe- oder Organschäden verursachen. Eine Unterproduktion der IL-1 Zytokine kann wiederum zu unzureichender Immunabwehr und in weiterer Folge zu Infektionserkrankungen führen. Die wichtigsten IL-1 Zytokine sind IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . Beide Zytokine sind für eine erfolgreiche Abwehr von bakteriellen Infektionen notwendig, wie zahlreiche Studien belegen. Es ist jedoch weitgehend ungeklärt, wie diese zwei Zytokine die Immunabwehr unterstützen. IL-1 $\beta$  dürfte jene Funktionen des Immunsystems aktivieren, die auf das Töten von Infektionserregern abzielen. Über die Funktionsweise von IL-1 $\alpha$  ist kaum etwas bekannt. Es gibt jedoch Studien, die darauf hindeuten, dass IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  die Immunabwehr vollkommen unterschiedlich steuern. Diese Erkenntnis ist überraschend, da beide Zytokine in den Zellen die gleichen Prozesse auslösen. Die logische Folgerung ist, dass IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  unterschiedliche Körperorgane steuern und somit unterschiedliche Abwehrfunktionen aktivieren. Beispielsweise könnte IL-1 $\alpha$  in der Leber die Regeneration des durch die Infektion geschädigten Lebergewebes stimulieren während IL-1 $\beta$  verschiedene Immunzellen anlocken könnte, die den Infektionserreger eliminieren.

Das vorgeschlagene Projekt soll die genaue Funktionsweise von IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  während einer bakteriellen Wundinfektion und einer bakteriellen Lungeninfektion aufklären. Die Projektergebnisse werden helfen, den Einsatz von IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  in der Therapie von bakteriellen Infektionen zu erkunden. Das Projekt hat aber auch eine grundlegende Bedeutung für bereits zugelassene Therapien, die auf Modulation der Wirkung von IL-1-Zytokinen beruhen. Diese Therapien kommen bei chronisch entzündlichen Erkrankungen sowie Autoimmunerkrankungen zum Einsatz und werden teilweise von erhöhter Neigung zu bakteriellen Infektionen begleitet. Diese unerwünschten Nebenwirkungen könnten durch eine Therapie reduziert werden, die gezielt IL-1 $\alpha$  oder IL-1 $\beta$  ansteuert.

zu erwartender Nutzen: Die steigende Resistenz von bakteriellen Pathogenen gegen Antibiotika erfordert Entwicklung von alternativen Therapien. Die Ergebnisse der Studie könnten die

Entwicklung von Wirkstoffen ermöglichen, die die Abwehrreaktionen des Immunsystems gegen Infektionen verbessern. Das Projekt wird somit einen Beitrag zu weltweiten Bestrebungen leisten, die sich mit der Suche nach antibiotika-unabhängigen Therapien für Infektionskrankheiten beschäftigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden hauptsächlich durch die geplanten Infektionen belastet; die Eingriffe werden den Versuchstieren hingegen kaum Schaden zufügen. Bei den Eingriffen handelt es um Injektionen, die unter einer kurzen (10 min) und schonenden (durch Inhalation) Anästhesie durchgeführt werden. Dies gilt für die Verabreichung von Bakterien und Knochenmarktransplantationen. Alle anderen Eingriffe (d.h. Blutabnahme und Organentnahme) werden nicht an lebenden Tieren durchgeführt. Die Infektionen selbst werden in der überwiegenden Zahl der geplanten Experimente einer geringen bis mittleren Belastung der Tiere führen. In einigen wenigen Infektionsexperimenten kann es zu einer schwerwiegenderen Verschlechterung des Allgemeinbefindens der Tiere kommen und der Belastungsgrad wäre dann schwer.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

2940 Labormäuse (*Mus musculus*) auf einen Zeitraum von 4 Jahren. Diese Anzahl ist die maximale Anzahl; die Anzahl der tatsächlich verwendeten Tiere wird mit einer hohen Wahrscheinlichkeit geringer sein, da sich durch die Ergebnisse mancher Experimente andere Experimente erübrigen könnten.

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

Vermeidung: Nicht möglich, da das Immunsystem und dessen Steuerung nur im Kontext des Gesamtorganismus untersucht werden können. Gewebekulturen können daher die geplanten Tierversuche nicht ersetzen.

Verminderung: Die Tierzahlen wurden so gering wie möglich aber so hoch wie nötig gewählt um signifikante Unterschiede erkennen zu können.

Verfeinerung: Durch effizientes Monitoring der Experimente wird das Leiden der Tiere auf ein Minimum reduziert. Es werden klare Abbruchkriterien definiert, um unnötige Schmerzen und ein Leiden der Tiere zu vermeiden. Tiere gleichen Geschlechts werden solange es das Territorialverhalten der Tiere zulässt in Gruppen gehalten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2024 vorgesehen.



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

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

Ein neues Lebewesen entsteht durch die Fusion von Eizelle und Spermium. Diese Fusion setzt eine Kaskade von Prozessen in Gang, die nach der Aktivierung der ersten embryonalen Gene in totipotenten Zellen resultiert. Diese „Alleskönner“-Zellen sind nun in der Lage alle Zellen zu bilden, die für die Entwicklung eines neuen Lebewesens nötig sind. Fehler in diesen Prozessen führen zu einem frühen Entwicklungsstop, meist in der Präimplantationsphase, d.h. noch bevor sich der frühe Embryo in den Uterus einnistet. Die Präimplantationsentwicklung ist beim Menschen sehr ineffizient – nur etwa 30-50% aller befruchteten Eizellen überleben diese ersten 5-6 Tage der Entwicklung. Ziel dieser Studie ist es, die Rolle eines Zellzyklus regulierenden Transkriptionsfaktors, der in diesem Zusammenhang ein auffälliges Expressionsmuster in frühen Embryonen aufweist, näher zu charakterisieren. Um die Versuche durchführen zu können, werden Knockout-Eizellen benötigt, welche diesen Faktor nicht mehr herstellen können.

Zu erwartender Nutzen: Wir erwarten neue Erkenntnisse über die Rolle von Zellzyklusfaktoren in den essentiellen ersten Prozessen nach der Befruchtung einer Eizelle zu gewinnen. Da künstliche Befruchtung auch beim Menschen zunimmt, allerdings die Präimplantationsentwicklung beim Menschen sehr ineffizient ist, hat dieses Projekt auch reproduktionsmedizinische Relevanz.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Wir erwarten nur eine geringe Belastung der Mäuse durch die hormonelle Stimulation der weiblichen Tiere, die für eine effiziente Gewinnung von Eizellen benötigt wird. Eine Belastung der Tiere aufgrund des genetischen Hintergrunds ist nicht gegeben, da nur die Eizellen von dem Knockout betroffen sind und Gegenstand dieses Forschungsvorhabens sind.

2. Art und Anzahl der Tiere

93 Mäuse

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

Vermeidung: Eine Vermeidung des Tierversuchs ist leider nicht möglich, da es noch nicht möglich ist, Eizellen in vitro zu generieren, die für die Beantwortung der Fragestellung essentiell sind.

Derzeit ist die in vitro Erzeugung von Eizellen Gegenstand aktueller Forschung, allerdings noch nicht ausgereift. Unsere Experimente können auch dazu einen Beitrag leisten.

Verminderung: Wir werden die Anzahl der Tiere minimieren indem wir eine belastungsarme hormonelle Stimulation von weiblichen Mäusen vornehmen, um eine möglichst große Anzahl von Eizellen pro Maus zu gewinnen.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter besten standardisierten und hygienisch optimierten Bedingungen gehalten. Es kommt nur zu einer geringen Belastung der Weibchen, die für die Experimente benutzt werden, durch eine hormonelle Stimulation.

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

Zweck des Projekts, in dessen Rahmen diese Versuche beantragt werden, ist es, neue Therapien für Anfallserkrankungen zu entwickeln. Anfallserkrankungen sind eine der häufigsten Erkrankungen des Nervensystems und in vielen Fällen mit den derzeit verfügbaren Therapien nicht ausreichend behandelbar. In einer früheren und mehreren laufenden Studien konnten pharmakologische und ein gentherapeutischer Ansatz zur Behandlung von Anfallserkrankungen entwickelt werden. Mit Hilfe von Gentherapie kann die Behandlung gezielt im Anfallsherd angreifen und somit können Nebenwirkungen vermieden werden. Wichtig ist jetzt geschlechtsspezifische Unterschiede zu untersuchen. Im Rahmen dieses Projekts sind 3 Versuchsreihen geplant. In der 1. Versuchsreihe sollen das notwendige Model in weiblichen Mäusen etabliert werden. Im Rahmen der 2. Versuchsreihe sollen neue Therapieansätze untersucht werden. In der 3. Versuchsreihe soll eine bereits in Entwicklung befindliche Gentherapie optimiert werden.

zu erwartender Nutzen: Der Nutzen liegt in der möglichen Etablierung einer Therapie für bisher nicht behandelbare Epilepsien

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es ist notwendig Elektroden und Transponder sowie Führungskanülen zu implantieren und Krampfanfälle auszulösen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 94 Mäuse in insgesamt 30 Monaten untersucht.

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

Vermeidung: Durch die Verknüpfung mehrerer Experimentreihen und genaue statistische Zwischenevaluationen werden nur soviel Tiere wie absolut notwendig behandelt.

Verminderung: Durch die Narkose wird die Stress- und Schmerzbelastung der Tiere so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Durch die laufende Zwischenevaluierung wird das Model an die weiblichen Tiere angepasst und damit die Belastung reduziert.

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

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

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD; non-alcoholic fatty liver disease) ist die weltweit häufigste Lebererkrankung. Nach neuesten Schätzungen zeigen ungefähr 25% der europäischen Bevölkerung eine Fettleiber und die Tendenz ist steigend. Die Fettlebererkrankung steht in direktem Zusammenhang mit der Adipositas und die Anzahl der Kinder mit Adipositas und einer Fettlebererkrankung sind alarmierend (44% der Kinder in Italien sind adipös mit einem erhöhten Fettgehalt der Leber. Der Fettkatabolismus in Leberzellen spielt eine entscheidende Rolle in der Fetthomöostase. Aktuelle Untersuchungen zeigen eine Rolle von Carboxylesterasen in der Entstehung von NAFLD. Unsere Forschung konnte die enzymatische Aktivität von Kandidatengenen dieser Familie aufklären. Ziel dieses Projektes ist es die Rolle von Carboxylesterasen in transgenen Mausmodellen hinsichtlich der Entstehung von Fettlebererkrankungen zu untersuchen. Diese Studie soll neue Strategie hinsichtlich der Behandlung Fettlebererkrankungen liefern. Dabei werden unter anderen die transgenen Tiere auf Futter mit erhöhtem Fettanteil gehalten, um den Zusammenhang zwischen Ernährung, Adipositas und der Entstehung von Fettlebererkrankungen festzustellen.

zu erwartender Nutzen: Die aus den Experimenten und Versuchsreihen gewonnenen Erkenntnisse liefern Einblicke hinsichtlich der Entstehung und Prävention von Lebererkrankungen sowie möglicherweise die Basis für therapeutische Ansätze zur Behandlung metabolischer Erkrankungen der Leber.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Mäuse sind einer vorübergehenden einer geringen bis höchstens mittleren Belastung ausgesetzt. Da die Fettlebererkrankung typischerweise keine Schmerzen im Menschen verursacht und oft jahrelang verborgen bleibt ist davon auszugehen, dass die transgenen Mauslinien im Falle der Entwicklung einer Fettleber keiner Belastung per se ausgesetzt sind. Die Injektionen können lokale und vorübergehende Hautirritationen verursachen. Im Falle einer Entzündung würden die Tiere mit einer entzündungshemmenden Creme behandelt werden. Im Rahmen der Fütterungsstudien können die Tiere eine moderate Adipositas entwickeln. Durch die Umstellung auf eine Fettreiche-Diät sind die Tiere einer maximal mittleren Belastung ausgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es wird die Verwendung von max. 1020 Mäusen (Mus Musculus) vorgesehen.

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

**Vermeidung:** Grundlage für die geplanten Experimente sind vorangegangene Erkenntnisse aus Experimenten mit Zellkulturen sowie in vitro Versuche. Der Tierversuch soll die Bedeutung vorangegangener Experimente in vivo aufzuklären und dient als Basis für die mögliche therapeutische Intervention. Sollten im Rahmen der Studien aktueller Literatur bestimmte Fragestellungen bereits beantwortet sein, würden dementsprechend Experimente hinfällig bzw. die Versuche wegfallen. Außerdem wird an der Etablierung eines ex vivo Modells zu Untersuchung der Fett-resorption in Darmzellen gearbeitet und könnte dadurch zur Vermeidung von in vivo Studien beitragen.

**Verminderung:** 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. Durch die Umstellung der Genotypisierung werden keine Schwanzspitzen Biopsien durchgeführt und dementsprechend wird die Anzahl der Tierversuche bedeutend verringert.

**Verfeinerung:** Es 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. Außerdem erfolgt die Haltung und Pflege der Tiere nach den FELASA Richtlinien und entspricht einem sehr hohen Qualitätsstandard.

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 der Studie: In diesem Projekt sollen weibliche transgene Tg2576 Mäuse ab einem Alter von 52 Wochen für 4, 12 oder 18 Wochen einmal wöchentlich mit einer von 2 Testsubstanzen oder Vehikel behandelt werden. Über die Behandlungsdauer hinweg wird zu mehreren Zeitpunkten Blut entnommen um pharmakokinetische Parameter zu analysieren. Am Ende der Behandlung werden alle Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und auf krankheitsspezifische Pathologien der Alzheimer Krankheit untersucht. Es wird erwartet dass die Testsubstanzen die neurotoxische Wirkung und weitere Aggregation von A $\beta$ -Protofibrillen verringern und somit eine positive Wirkung auf die Pathologien der Alzheimer Krankheit aufweisen.

Schaden und Nutzenabklärung: Es ist bekannt, dass transgene TG2576 Mäuse eine erhöhte Sterblichkeit in den ersten Lebenswochen aufweisen. Diese wird vor allem bei männlichen Tieren beobachtet. Da die Tiere in dieser Studie weiblich sind und erst mit 45-48 Wochen geliefert werden, wird keine erhöhte Sterblichkeit erwartet. Durch den späten Studienbeginn im Alter von erst 52 Wochen wird den Tieren zudem eine längere Akklimatisierungsphase ermöglicht um den Stress so gut als möglich zu reduzieren. Zusätzlich beeinträchtigen die kognitiven Defizite die Tiere in ihrem Alltag nicht. Der Transport bedeutet für die Tiere geringen Stress und Ängste, aber keine Schmerzen oder Leid. Die wiederholten intraperitonealen Injektionen erzeugt bei den Tieren jeweils kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, jedoch kein Leid. Die Tiere gewöhnen sich aufgrund der Wiederholung an die Prozedur und der Stress kann damit reduziert werden. Die in vivo Blutentnahme führt zu geringem Stress und Schmerz, aber zu keinem Leid. Durch die Wiederholung gewöhnen sich die Tiere an die Methode und der Stress wird reduziert. Negative Effekte durch die Testsubstanzen können nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden, werden im vorliegenden Projekt allerdings nicht erwartet. Durch dieses Projekt wird die Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapeutika für die Alzheimer Krankheit gefördert um sie in Zukunft zur Behandlung dieser derzeit unheilbaren Erkrankung einsetzen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt werden insgesamt 135 weibliche transgene Tg2576 Mäuse im Alter von 52 Wochen beantragt.

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

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

Reduce: In dieser Studie sollen 15 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde durch eine Power Analyse historischer Daten bestimmt und ist somit notwendig um statistisch signifikante Daten zu generieren.

Refine: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt werden dürfen. So wird gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Die Labormaus ist im Moment das am intensivsten genutzte Tiermodell in der biomedizinischen Grundlagenforschung. Gründe dafür sind die gute Übereinstimmung zur Biologie des Menschen, die Verfügbarkeit genetisch stabiler und detailliert charakterisierter Stämme, die Verfügbarkeit von Techniken zur genetischen Modifikation und das Vorhandensein unterstützender Reproduktionstechnologien.

zu erwartender Nutzen: Im Rahmen des Projektes sollen Labormäuse gezüchtet werden, die eine spontan entstandene oder gentechnisch induzierte Mutation in ihrem Erbgut tragen. Diese genetisch veränderten Tiere dienen als Modelle in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Genetisch veränderte Mäuse werden zunächst bezüglich möglicher Belastungen untersucht, die ursächlich mit der spezifischen Mutation, die sie in ihrem Erbgut tragen, im Zusammenhang stehen könnten. Werden im Verlauf dieser Untersuchung keine negativen Einflüsse der genetischen Veränderung auf die Gesundheit der Tiere erkennbar, kann diese Linie analog zu genetisch unveränderten Labormäusen gezüchtet werden. Werden hingegen Veränderungen festgestellt, die bei den Tieren Schmerzen, Leiden oder Ängste hervorrufen könnten, so werden Maßnahmen ergriffen, um diese Effekte auf den Grad einer geringen Belastung zu reduzieren oder, wenn möglich, sogar ganz auszuschließen. Die beobachteten phänotypischen Veränderungen vor und nach den ergriffenen Maßnahmen werden in einem Datenblatt zur Linie dokumentiert.

2. Art und Anzahl der Tiere:

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

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

Vermeidung: Genetisch veränderte Labortiere werden in verschiedenen Bereichen der biomedizinischen Forschung benötigt; zahlreiche Fragestellungen können nur an lebenden Tieren untersucht werden, die eine bestimmte genetische Modifikation aufweisen.

Verminderung: Zuchtziele und Tierzahlen werden so festgelegt, dass möglichst nur die gewünschten Genotypen in entsprechender Menge produziert werden.



Verfeinerung: Phänotypische Veränderungen werden bereits bei der Etablierung der Linie untersucht, um eventuell auftretende Belastungen bei den Tieren frühzeitig durch geeignete Maßnahmen zu begegnen. Methoden zur individuellen Kennzeichnung werden dem Zweck entsprechend und möglichst wenig belastend (Kennzeichnung und Genotypisierung erfolgen durch einen Eingriff) 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

Die Haut ist ein komplexes, immunologisch äußerst interessantes Organ, da sie eine Vielzahl an Immunzellen beherbergt. Deshalb werden Impfstoffe bevorzugt über die Haut appliziert welche, nach Verabreichung, Signale aussendet, die die anschließende Immunantwort aktiviert und moduliert. Impfstoffe werden hauptsächlich durch Nadelinjektion appliziert. Der nachfolgende Impfschutz wird überwiegend durch die Produktion von Antikörpern gewährleistet. Für viele Infektionserkrankungen ist jedoch neben der Antikörperproduktion auch eine zelluläre Immunität z.B. durch zytotoxische T Zellen absolut nötig, um infizierte Zellen und Gewebe zu eliminieren. Eine besondere Form der Impfstoffverabreichung ist die genetische Impfung mittels Gen Gun. Hierbei wird der Impfstoff an Partikeln, wie z.B. Gold, gekoppelt, welche in die Haut appliziert werden. Diese Verabreichungsform induziert nicht nur Antikörper, sondern auch eine sehr gute zelluläre Immunität in den immunisierten Tieren. In manchen Fällen entwickeln die Tiere jedoch auch ungewollte allergische Immunreaktionen gegen den Impfstoff. Bedingt durch die enorme Komplexität von Immunzellen und immun-modulierenden Molekülen in der Haut, sind die spezifischen Mechanismen, die den gewünschten und ungewünschten Immunreaktionen nur unzureichend geklärt. Im geplanten Projekt sollen nun die Mechanismen, die diesen Immunreaktionen zugrunde liegen, im Detail erforscht werden. Dazu möchten wir neben Wildtypmäusen, auch genetisch modifizierte Mauslinien, denen eine oder mehrere Immunzellklassen oder immun-modulierende Moleküle fehlen, mittels Gene Gun über die Haut immunisieren. Für diese Immunisierungen werden wir unterschiedliche genetische Vakzine verwenden, um herauszufinden welche Zellsignale an der gebildeten Immunreaktionen beteiligt sind.

zu erwartender Nutzen: In Hinblick auf die Wirksamkeit von Impfstoffen gegen Viren oder Bakterien, Tumoren oder Allergie ist ein besseres Verständnis über die spezifische Funktion von Immunzellen und deren ausgeschütteten Moleküle in der Haut unumgänglich, da viele Impfstoffe über die Haut verabreicht werden. Dieses Projekt soll uns helfen herauszufinden, welche Mechanismen bei den oben beschriebenen Immunreaktionen eine entscheidende Rolle spielen. Diese Erkenntnisse würden einen großen Einfluss auf die Verbesserung von Impfstoffen haben.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die meisten, für dieses Projekt relevanten Methoden, stellen für die betroffenen Tiere eine geringe Belastung dar. Nur bei einer Methode

(Lungenprovokationstest) könnte in Ausnahmefällen eine mittlere Belastung auftreten. Deshalb werden für diese Experimente die Tiere nach der Lungenprovokation von den Experimentatoren und von geschulten Tierpflegern engmaschig kontrolliert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für das Projekt werden insgesamt 496 Mäuse benötigt, von denen 288 aus gentechnisch veränderten Linien stammen.

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

**Vermeidung:** Zweck des beantragten Projekts ist die Analyse der zellulären sowie molekularen Mechanismen, die bei Gene Gun Immunisierung zur zytotoxischen bzw. allergischen Immunreaktion führt. Immunreaktionen entstehen durch die Wechselwirkung verschiedener Zelltypen, die im Körper in peripheren Organen/Geweben, in den sekundären lymphatischen Organen (Lymphknoten, Milz) sowie in Blut und Lymphe zu finden sind. Eine authentische Repräsentation immunologischer Gesamtprozesse erfordert das Zusammenwirken dieser Zelltypen im Kontext des gesamten Organismus. Wegen der Komplexität und Dynamik all dieser Prozesse können die beabsichtigten Fragestellungen nur am lebenden Tier untersucht werden.

**Verminderung:** Durch statistische Fallzahlplanung wurde die minimal erforderliche Anzahl der Tiere berechnet, mit denen ein statistisch signifikantes Versuchsergebnis erwartet werden darf.

**Verfeinerung:** Alle Eingriffe an lebenden Versuchstieren werden grundsätzlich so geplant, dass sie die geringstmögliche Belastung verursachen. In Relation zur geringen Belastung durch die Eingriffe selbst, stellt das Handling der Tiere, z.B. eine kurzzeitige Fixierung in der Hand einen nennenswerten Stressfaktor dar. Bei den Manipulationen am lebenden Versuchstier wird diesem daher, wo immer vertretbar, die größtmögliche Bewegungsfreiheit eingeräumt, die eine sichere Handhabung noch gewährleistet. Unnötiger Transportstress wird vermieden, indem Eingriffe die keine speziellen Instrumente erfordern in den Tierräumen durchgeführt 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

Internationale Forschungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass Gallensäuren nicht nur der Fettverdauung dienen, sondern wie Hormone wirken und wichtige Stoffwechselreaktionen im Körper physiologischerseits steuern. Bei cholestatischen Lebererkrankungen kommt es zu einer permanenten Erhöhung der Gallensäuren im Blut und in verschiedenen Organen, allen voran der Leber. Generelles Ziel unserer Arbeit ist es zu verstehen wie sich die permanente Erhöhung der Gallensäuren unter pathologischen cholestatischen Bedingungen auf Stoffwechsel- und Immunregulationen auswirkt. Ein wesentlicher Aspekt liegt dabei auf den erst kürzlich bekanntgewordenen Auswirkungen erhöhter Gallensäurekonzentrationen auf Zellen des Immunsystems sowie auf der Beeinflussung anderer, extrahepatischer Organsystem, insbesondere Funktionsstörungen von Niere, Nebenniere und Darm. Diese Veränderungen werden bei Patienten mit cholestatischen Erkrankungen beobachtet, jedoch wird noch nicht im Detail verstanden wie diese Veränderungen zustande kommen und wie/ob diese Veränderungen behandelt werden können und somit die Schwere einer cholestatischen Lebererkrankung mildern können. Um diese komplexen Veränderungen in ihrer zeitlichen Entstehung und gegenseitigen Beeinflussung zu verstehen und gezielte diagnostische und therapeutische Möglichkeiten für den Menschen zu etablieren sind zuerst Untersuchungen im Tierexperiment, welche die humane Erkrankungssituation möglichst in allen Facetten getreu nachbildet, unerlässlich. In den Tierexperimenten werden Mäuse verwendet, die entweder eine genetische Veränderung tragen wie sich auch bei Patienten mit Cholestase gefunden wird, oder es werden cholestatische Erkrankungen durch Fütterung von Gallensäuren, Störung des Gallensäureabflusses oder — transportes imitiert. Hierbei werden vorwiegend chronische Erkrankungsbilder erzeugt, die ein Langzeitüberleben ermöglichen. Schwere Erkrankungsbilder, die zu einer unmittelbaren substanziellen lebensbedrohlichen Erkrankung führen, werden nicht durchgeführt bzw. bei Auftreten entsprechender Anzeichen rechtzeitig terminiert. Alle geplanten Experimente entsprechen international etablierten Modellen zur Erforschung von cholestatischen Lebererkrankungen und werden seit Jahren und unter permanenter Optimierung der Versuchsbedingungen und Reduzierung der Tierzahl- und des Tierschadens, an unserer Versuchsanstalt durchgeführt.

Zu erwartender Nutzen: Diese Ergebnisse können auf die Krankheiten bei Menschen übertragen werden und dienen der Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten. Es ist zu erwarten, dass durch diese Ergebnisse die neuen Therapien auch wenige Nebenwirkungen haben werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere der angeführten cholestatischen Modelle entwickeln Symptome, die die verschiedenen Aspekte des Spektrums cholestatischer Leber- und Systemerkrankungen weitgehend imitieren. Mäusen, denen Gallensäuren zur Erhöhung der Gallensäurekonzentration gefüttert werden, haben generell keine Beeinträchtigung durch die sich entwickelnde cholestatische Erkrankung. Ebenso zeigen Mäuse denen der Gallengang zur Imitation einer obstruktiven Cholestase ligiert wird gutes Langzeitüberleben. Initial können nach dem operativen Eingriff Schmerzen und ein postoperativer Gewichtsverlust entstehen, welches sich jedoch nach wenigen Tagen normalisiert und auch das Gewicht sowie die Ess-/Trinkgewohnheiten normal bleiben. Mäusen, denen die hydrophobe Gallensäure, Lithocholsäure gefüttert wird, entwickeln jedoch nach mehreren Tagen (beginnend mit Tag 4-5) allgemeine Krankheitszeichen mit Gewichtsverlust als Ausdruck einer ausgeprägten Cholestase. Diese Versuche werden daher vor Auftreten von Krankheitszeichen spätestens mit Tag 4 terminiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

776 Mäuse

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

Vermeidung: Die komplexen pathophysiologischen Zusammenhänge, die mehrere sich wechselseitig beeinflussende Organ- und Zellsysteme betreffen, können in der Zellkultur nur unzureichend nachgeahmt werden. Aus diesem Grund ist die Verwendung eines Ganztieransatzes erforderlich.

Verminderung: Die einzelnen Tierexperimente werden zur Beantragung mehrere unabhängiger Fragestellungen herangezogen. Somit wird vermieden, dass für jede einzelne Fragestellung ein einzelner Tierversuch notwendig werden würde. Aus einem einzelnen Tierversuch werden sowohl Veränderungen auf Stoffwechsel und Entzündungsvorgänge als auch die Auswirkungen auf die verschiedenen Organsysteme (Leber, Niere, Darm, Nebennieren, Blut) gewonnen. Durch bereits durchgeführte Vorexperimente lässt sich benötigte Fallzahl an Versuchstieren exakt abschätzen und führt letztlich zu einer Reduktion der Versuchstierzahl. Die Gewinnung der Organe und deren Versorgung erfolgt nach einem standardisierten Protokoll

Verfeinerung: Zur Verminderung bzw. Vermeidung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod erfolgen die Tierversuche möglichst kurz, in der geringstmöglichen Schwere zur Beantwortung aller notwendigen Aspekte und unter adäquater Schmerztherapie. Die Tiere werden von ausgebildeten Tierhaltern gepflegt und in regelmäßigen Abständen von Tierärzten kontrolliert. Um das Wohl der Tiere zu gewährleisten, werden ihnen Nestmaterial und Tunnel zur Verfügung gestellt.

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

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

zu erwartender Nutzen: Etablierung eines Tiermodells zur Beschreibung und Erforschung von Weichgewebe-Defekten im Bereich des Zahnfleisches. Erkenntnis über den Einfluss von Vitamin D Mangel und Kollagen Membranen auf die Wundheilung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Leichte Wundschmerzen für 2-3 Tage im Bereich der Operation.

2. Art und Anzahl der Tiere

75 Sprague-Dawley Ratten;

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

Vermeidung: In vitro Vorversuche mit den beschichteten Membranen mit Gingiva und Parodontal Ligament Zellen, zur Ermittlung der optimalen Dosis und Pharmakokinetik.

Verminderung: Durch den in vivo Vorversuch, anhand dessen der optimale Zeitpunkt verifiziert wird und die Fallzahlberechnung erfolgt.

Verfeinerung: Exaktes Studium der Literatur.

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

2018 gab es weltweit 425 Millionen Menschen, die an der Zuckerkrankheit erkrankt sind - Tendenz stark steigend. Die Zahl der betroffenen Patientinnen in Österreich wird derzeit auf 518.000 bis 748.000 Menschen (8-11,5% der Bevölkerung) geschätzt. In den westlichen Ländern überwiegt der Anteil an der Zuckerkrankheit Typ 2. Weltweit sind außerdem mehr als 1,1 Millionen Kinder und Jugendliche bis 19 Jahren von Zuckerkrankheit Typ 1 betroffen. Im Zuge der Erkrankung kommt es sowohl bei der Zuckerkrankheit Typ 2 als auch bei Typ 1 häufig zu Wundheilungsstörungen, die vor allem die unteren Extremitäten betreffen. Dies führt bei 77% der Patienten zu einer verlängerten Wundheilungsdauer von bis zu einem Jahr. Ziel dieses Projektes ist es, die Wundheilung sowie Gefäßneubildung in gesunden Mäusen und in Mäusen mit der Zuckerkrankheit Typ 1 und Typ 2 nach örtlicher Anwendung von potentiell wundheilungsfördernden Substanzen mit Hilfe einer kontaktlosen Bildgebungsmethode zu untersuchen. Dieses Messverfahren liefert Informationen über den Aufbau und die Struktur der Haut und Wunde sowie über den Blutfluss in den Gefäßen der Haut und Wunde.

zu erwartender Nutzen: Es soll ein kontaktloses, schmerzfreies, nicht-invasives Bildgebungsverfahren für kontrastmittelfreie Darstellung und Beurteilung von Wundfläche, Gefäßen und des Blutflusses in der Haut von gesunden und zuckerkranken Mäusen genutzt werden. Mit dem Ziel, Wundheilungsprozesse unter Einfluss von wundheilungsfördernden Substanzen zu ermitteln, um so in Zukunft chronische Wunden gezielt behandeln zu können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mittlere Belastung durch wiederholte Narkosen und Anbringen der Ohrmarkierung und des Wundverbands. Ein Drittel der Tiere durchlaufen Anwendungen, die zur Entstehung der Zuckerkrankheit führen. Kontrollen, Maßnahmen und Abläufe, betreffend Narkose und Schmerzstillung sowie strenge Abbruchkriterien sichern, dass das tierische Leiden auf ein Minimum reduziert wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, 156 Tiere

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

Vermeidung: Es steht derzeit kein ausreichend komplexes Ersatzmodell für die durchzuführenden Versuche zur Verfügung. Aufgrund der Notwendigkeit von standardisierten Bedingungen sowie der



Gewebe Gewinnung am Ende der Versuchsreihe steht dieses Modell nur im Tierversuch zur Verfügung.

**Verminderung:** Um einen unnötigen Einsatz von Tieren zu vermeiden, wurde eine vorausschauende Analyse durchgeführt, um zu ermitteln wie viele Tiere für den Versuch notwendig sind. Dies ermöglicht den Einsatz der geringstmöglichen Tierzahl bei gleichzeitigem Erhalt von aussagekräftigen Ergebnissen. Entsprechende Planung der Abläufe, sowie standardisierte Haltungsbedingungen dienen ebenfalls der Verminderung (Reduktion).

**Verfeinerung:** Die Mäuse werden für 14 Tage (Eingewöhnungsphase) in Gruppen im Tierraum eingestellt, um die Tiere an die neue Umgebung zu gewöhnen, bevor sie für den Versuch herangezogen werden. Zusätzlich sind Versuchsabläufe und Haltungsbedingungen standardisiert und folgen dem aktuellen Stand der Wissenschaft. Die Bildgebung wurde in vorherigen Studien intensiv geübt und optimiert.

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

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

Die Wolman-Krankheit, auch Wolman-Syndrom oder Morbus Wolman genannt, ist eine lysosomale Speicherkrankheit. Ein Defekt im Enzym lysosomale saure Lipase (LAL) führt bei den betroffenen Patienten zu einer Anreicherung von Cholesterinestern und Triglyzeriden und zum Tod innerhalb des ersten Lebensjahres. Bei der milder verlaufenden, ebenfalls äußerst seltenen, Cholesterinester Speicherkrankheit (CESD) ist noch eine Restaktivität des Enzyms LAL vorhanden. Da durch den Funktionsverlust der LAL keine Lipide aus dem Lysosom in das Zytoplasma gelangen können, ist der Regelkreis für die Regulation der intrazellulären Cholesterin-Konzentration unterbrochen. Die Symptome sind bereits in den ersten Lebensstagen vorhanden (gastrointestinale Beschwerden, geblähter Leib, Anämie, Hepatosplenomegalie). Es gibt derzeit keine spezifische Therapie für die Wolman-Krankheit. Die Behandlung erfolgt symptomatisch, beispielsweise durch die Gabe von Inhibitoren der Cholesterin- oder der Apolipoprotein-B-Synthese. Verschiedene Forschungsansätze haben in den letzten Jahren zur Entwicklung von Enzym-Ersatz-Therapien geführt, die allerdings so kostspielig sind, dass sie in vielen Ländern nicht verabreicht werden (z.B. UK). In diesem Projekt untersuchen wir die Auswirkungen des Fehlens von LAL auf die Entstehung von Atherosklerose und Absorption. Da die Aussagen von Zellkulturexperimenten begrenzt sind und nicht im Zusammenhang mit der Funktion von LAL im ganzen Organismus stehen bzw. die in vivo Situation darstellen, sind genetische Mausmodelle von entscheidender Bedeutung in der Aufklärung von Krankheiten und möglicher Therapieansätze.

zu erwartender Nutzen: die Mechanismen des Fehlens eines fettsplattendes Enzyms deutlich besser zu verstehen, was die Grundlage für Therapieansätze zur Verbesserung von metabolischen Erkrankungen sein könnte

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es sind keine Schmerzen für die Tiere zu erwarten, nur ein etwas erhöhter Stresspegel durch Injektionen, Blutabnahmen und Magensonden

2. Art und Anzahl der Tiere

512 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 daraufgelegt, 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 bzw. bei -80°C 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.

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

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

Funktion von Kalziumkanälen in der Entwicklung von Nerven und Muskel

Teil B - Erzeugung von Mausembryos zur Gewebentnahme

In diesem Forschungsprojekt soll die Rolle von Kalziumkanälen in der Entwicklung von Nerven und Muskeln untersucht werden. Im Erwachsenen Säugetier (so auch beim Menschen) spielen diese Membranproteine eine zentrale Rolle in der Kontraktion von Herz- und Skelettmuskel, bei der Sekretion von Hormonen und Neurotransmittern, und in der Gen-Regulation. Die Funktion dieser Spannungs-aktivierten Ionenkanäle während der Entwicklung ist hingegen noch wenig bekannt. Jüngste Forschungsergebnisse zeigen allerdings, dass sie wesentlich an der Spezialisierung von Muskelfasertypen (schnell oder langsam) beteiligt sind und eine Schlüsselfunktion in der Bildung von Synapsen einnehmen. Die zugrundeliegenden Mechanismen sollen nun in dem vorliegenden Projekt erforscht und entschlüsselt werden.

zu erwartender Nutzen: Es handelt sich hier um ein Grundlagenforschungsprojekt. Somit sind das primäre Ziel und der erwartete Nutzen der wissenschaftliche Wissensgewinn. Da das Projekt wichtige bio-medizinische Fragestellungen verfolgt, ist zu erwarten, dass die neu gewonnenen Erkenntnisse zum besseren Verständnis des menschlichen Körpers führen und damit zur Weiterentwicklung der modernen Medizin beitragen. Letztlich sind Kalziumkanäle wichtige Targets für Pharmaka, welche in der Therapie neurologischer und kardio-vaskulärer Erkrankungen eingesetzt werden. Deshalb ist ein besseres Verständnis ihrer Funktionen während der Embryonalentwicklung auch von klinisch-pharmakologischer Bedeutung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Belastung der Mäuse ist gering bis mittel. Die verwendeten genetisch veränderten Mäuse zeigen im heterozygoten Genotyp keine Beeinträchtigungen und werden stets so gezüchtet, dass keine belasteten Mäuse geboren werden. Homozygote Mäuse würden bei der Geburt an Atmungsversagen sterben. Allerdings werden alle Genotypen heterozygot (also nicht belastet) gezüchtet und homozygote Nachkommen werden noch vor der Geburt (also vor Eintritt der Belastung) getötet und zur Organentnahme für die geplanten Experimente verwendet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Sechs verschiedene genetisch veränderte Mauslinien; pro Linie zwischen 240 und 2.460 Mäusen in fünf Jahren; insgesamt 6.510 Mäuse.

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

Vermeidung: Untersuchungen an Mäusen stellen lediglich einen kleinen Teil der Experimente in unserer Forschung dar. Der überwiegende Teil wird an in vitro Zellmodellen durchgeführt, die speziell zur Vermeidung der Tierversuche entwickelt wurden. Neue in vitro Ersatz-Modelle werden derzeit entwickelt.

Verminderung: Für jeden Stamm ist lediglich die absolut nötige Zahl der Mäuse geplant, welche zur Generierung des jeweiligen Genotyps bzw. für die geplanten Untersuchungen nötig sind. Experimente werden sequentiell durchgeführt, wobei die Resultate eines Experiments über die Notwendigkeit / den Nutzen des nächsten Experimentes entscheidet.

Verfeinerung: Alle Experimente sind so geplant, dass heterozygote Zuchttiere keine Belastung durch die genetische Veränderung erfahren und die potentiell belasteten homozygoten Genotypen vor der Geburt, also vor Eintreten einer Belastung, getötet und für die Untersuchungen verwendet werden.

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

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

Stammzelltransplantationen sind eine wichtige Therapieform der modernen Schulmedizin geworden, zum Beispiel zur Behandlung von Blutkrebs (Leukämie). Für eine erfolgreiche Stammzelltherapie ist es wichtig, dass genügend Stammzellen isoliert werden können, ohne einen Schaden für den Spender zu verursachen. Dazu werden die Bildung von neuen Stammzellen sowie die Wanderung der Stammzellen vom Knochenmark in den Blutkreislauf angeregt. Ein weiterer wichtiger Punkt ist eine erfolgreiche Wiederbesiedelung des Knochenmarks des Empfängers durch die gespendeten Stammzellen. Plasminogen ist ein Blutbestandteil, der die Wiederherstellung der Knochenmarksstruktur beeinflusst. Das Ziel dieses Projekts ist die Erforschung der Einfluss eines Oberflächenmoleküls, das die Aktivität von Plasminogen reguliert, auf die Wiederbesiedelung des Knochenmarks und das Auswandern der Stammzelle in den Blutkreislauf.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten detailliertere Erkenntnisse über das Zusammenspiel von Plasminogen und dem Oberflächenmolekül. Dabei erwarten wir die Aufklärung neuer Mechanismen, die die Wiederherstellung des Knochenmarks nach einer Knochenmarkstransplantation sowie die Mobilisierung der Stammzelle beeinflussen. Das aus diesem Projekt gewonnene Wissen wird dazu beitragen neue Therapieansätze zu entwickeln und die Bestehenden zu optimieren, die im Speziellen das Auswandern von Stammzellen und deren Wiederbesiedelung des Knochenmarks betreffen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Unter Narkose wird den Tieren Blut abgenommen, Substanzen injiziert und Krankheitsmodelle angewendet, welche den humanen Therapien entsprechen. Dabei werden die geringstmöglichen Konzentrationen und Volumina verwendet. Um mögliche Schmerzen vorzubeugen, werden die Tiere mit Schmerzmitteln behandelt. Weiters werden die Tiere engmaschig kontrolliert, um bei etwaigen Verschlechterungen des Gesundheitszustandes raschestmöglich eingreifen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

697 Mäuse über 4 Jahre

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

Vermeidung: Diesem Tierversuchsantrag gehen zahlreiche in vitro Experimente (mit Zellkulturen) voran, die auf die Relevanz der untersuchten Proteine und Zellen für die vorgeschlagenen Tierexperimente (in vivo) hinweisen. Da es ein sehr komplexes Zusammenspiel zwischen den

verschiedenen Zelltypen und Faktoren im Organismus gibt, die in vitro nicht nachgestellt werden können, können diese Fragestellungen nur in vivo untersucht werden. Die Ergebnisse werden in internationalen Fachzeitschriften publiziert und auf Kongressen präsentiert, um eine Wiederholung der Versuche durch andere Arbeitsgruppen zu vermeiden.

Verminderung: Um die Zahl der benötigten Tiere so gering wie möglich zu halten, wurde eine Fallzahlberechnung durchgeführt, womit die niedrigste Zahl an Tieren berechnet wurde, um statistisch signifikante Unterschiede zu beweisen. Ergänzend wird durch eine Standardisierung der Versuchsbedingungen (z.B.: gleiches Alter, Geschlecht und genetischer Hintergrund der Tiere der zu vergleichenden Gruppen) die experimentelle Variabilität so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Die Tiere werden entsprechend den FELASA Richtlinien in einem „enriched environment“ gehalten. Der Stress während einer Behandlung wird reduziert indem die geringstmöglichen Konzentrationen und Volumina angewendet werden. Um mögliche Schmerzen vorzubeugen werden die Tiere mit Schmerzmittel behandelt.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2025 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: Die IgE-vermittelte Allergie wird als die am weitesten verbreitete immunologische Erkrankung angesehen, da sie rund 30% der Menschen betrifft. Weltweit nimmt die Zahl der von Allergien Betroffenen zu, weshalb einerseits die Behandlungsmöglichkeiten verbessert, jedoch auch neue Strategien zur Vorbeugung der Entstehung von Allergien entwickelt werden müssen. Ziel der vorliegenden Studie ist die Untersuchung eines neuartigen Ansatzes zur Verhinderung der allergischen Sensibilisierung, d.h. der ersten Phase in der Entstehung von Allergien. Im eingereichten Projekt wird die Wirksamkeit unseres Ansatzes zur Vorbeugung der Sensibilisierung gegen Birkenpollen erprobt. Birkenpollen sind nicht nur in Österreich, sondern in weiten Teilen der Welt einer der wichtigsten Auslöser von allergischen Symptomen der Atemwege und, über sogenannte Kreuzreaktionen mit verschiedenen Früchten oder Nüssen, auch von Nahrungsmittelallergien. Weiters enthalten Birkenpollen nur wenige verschiedene Allergene, d.h. allergieauslösende Eiweißmoleküle, von denen ein einzelnes dominant ist, wodurch sich diese Allergenquelle für unser Projekt besonders gut eignet.

In den geplanten Versuchen werden zunächst das wichtigste Allergen des Birkenpollens, sowie Teilstücke davon in gereinigter Form hergestellt. In der ersten Phase unserer Studie erhalten drei Wochen alte Mäuse entweder das gesamte Eiweißmolekül, oder eine Mischung der Teilstücke mit dem Ziel, das Immunsystem daran zu gewöhnen und so einer späteren allergischen Sensibilisierung vorzubeugen. Um die spezifische Wirkung dieser prophylaktischen Behandlung zu bestimmen wird eine unbehandelte Kontrollgruppe mitgeführt. Das Alter der Mäuse ist dabei von großer Bedeutung, nachdem die Allergien in den meisten Fällen bereits in den ersten Lebensjahren eines Menschen entstehen und daher die vorbeugende Behandlung bereits sehr früh stattfinden muss. Da die Verabreichung des kompletten Eiweißmoleküls aus dem Birkenpollen in der ersten Phase der Studie, trotz gezielter Verwendung einer bestimmten Präparation, theoretisch auch zur Entstehung einer Allergie führen könnte, werden in einer eigenen Gruppe die o.a. Teilstücke des gesamten Eiweißmoleküls verabreicht, da mit diesen ein geringeres Risiko, eine Allergie auszulösen, verbunden ist.

In der zweiten Phase unserer Studie wird den Mäusen das komplette Allergen mit anderen Hilfsstoffen gespritzt, um den Vorgang der allergischen Sensibilisierung zu simulieren. Der vorbeugende Effekt der Behandlung in der ersten Phase erfolgt danach durch den Nachweis von



allergieauslösenden Antikörpern und Zellen im Blut der behandelten im Vergleich zu den unbehandelten Mäusen.

Die Daten des vorliegenden Projektes können die Grundlage für die Erforschung und Entwicklung einer Strategie zur Prävention der Entstehung von Allergien in Kindern darstellen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Insgesamt ist die Belastung für die Tiere im Rahmen der geplanten Versuche als moderat einzustufen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt maximal 805 Mäuse benötigt.

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

**Vermeidung:** Im Rahmen unserer geplanten Studie werden die Effekte der untersuchten vorbeugenden Behandlung auf das Immunsystem bestimmt. Daher ist es nicht möglich, auf die Verwendung von Versuchstieren zu verzichten und die geplanten Experimente stattdessen in Zellkultursystemen durchzuführen.

**Verminderung:** Durch die Verwendung eines speziellen Mäusestammes und standardisierter Versuchsmethoden ist es möglich, die Zahl der Versuchstiere gering zu halten. Eine weitere Reduktion der Anzahl der Mäuse wurde durch einen schrittweisen Ansatz erzielt, in dem zunächst die optimale Dosis, Präparation, Verabreichungsform und Zahl der Impfungen ermittelt werden. Weiters wurde durch statistische Verfahren die minimale Zahl der Versuchstiere berechnet, um eine gesicherte Aussage zu erhalten. Das für unsere Studie verwendete Allergenmolekül wurde bereits in anderen Studien eingehend untersucht und sogar menschlichen Probanden verabreicht, wodurch bekannt ist, dass dieses gut verträglich ist und, aufgrund der bereits bestehenden Erfahrung, die Zahl der Mäuse weiter reduziert werden konnte.

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

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

Nach einer Rückenmarksverletzung wird während der Heilung der Neokortex neu gestaltet. Teil dieses Prozesses ist ein verändertes Gleichgewicht zwischen exzitatorischen und inhibitorischen Neuronen. Dies kann Spastiken und Schmerzen verursachen. Die Verwendung von repetitive transkranielle Magnetstimulation (rTMS) ändert das Muster von den elektrischen Impulsen im Neokortex um das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung der Neuronen zu verändern und die Genesung zu unterstützen. Leider ist das Ergebnis der Behandlungen heterogen. Mögliche Ursache für dieses Ergebnis kann der Zustand des stimulierten Neokortex sein, der mit rTMS stimuliert wird und sich nach einer Verletzung neu entwickelt. Um die Beziehung zwischen verschiedenen Stimulationsmustern und deren Auswirkungen auf das kortikale „Remodelling“ zu verstehen, wollen wir ein Rattenmodell mit Rückenmarksverletzung untersuchen. An Hirnschnitten dieser Ratten werden wir die Erregbarkeit und Ionenströme von Layer 5 Neuronen im Motorkortex nach einer Rückenmarksverletzung genauesten ex vivo analysieren. Kortikale funktionelle Remodellierung wird durch lokale elektrische Stimulation des Neokortex, ex vivo an diesen Hirnschnitten induziert. Aus den Ergebnissen dieser Studie erwarten wir ein besseres Verständnis darüber, wie das Gehirn auf rTMS reagiert. Darüber hinaus erwarten wir Rückschlüsse auf die Abhängigkeit von der Zeit und der kortikalen Erregbarkeit zu evaluieren die benötigt wird um die, zur Therapie und Genesung von Patienten mit Rückenmarksverletzungen besser zu verstehen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse, die aus diesem Projekt abgeleitet werden können sollen unser Verständnis über die degenerativen Prozesse nach Querschnittslähmung weiter vertiefen. Es wird auf das Tiermodell zurückgegriffen, da man davon ausgehen kann, dass ähnliche, wenn nicht sogar die selben degenerativen Mechanismen wie beim Menschen vorliegen. Ein besseres Verständnis der plastischen Veränderungen nach Querschnittslähmung wird schlussendlich zu einer verbesserten therapeutischen Versorgung dieser Verletzung beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Ratten werden einem operativen Eingriff unterzogen werden, der mit einem für dieses Vorgehen normalem Wundschmerz einhergehen wird. Daher bekommen die Tiere zur post operativen Versorgung eine Medikation, die Schmerzmittel zur Schmerzreduktion, sowie Antibiotika zur Reduktion der Auftretenswahrscheinlichkeit einer Infektion beinhaltet.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

400 Fischer 344 Ratten

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

**Vermeidung:** Es gibt leider keine Möglichkeiten, diese wissenschaftliche Fragestellung in vitro zu beantworten. Daher ist es unvermeidlich, diese Experimente an Tieren durchzuführen, um valide und aussagekräftige Daten generieren zu können.

**Verminderung:** Durch die Anwendung standardisierter Protokolle für die Durchführung der chirurgischen Eingriffe und histologischen Auswertungen kann die inter-individuelle Variabilität minimiert werden. Das führt zu einer Reduzierung der minimal notwendigen Anzahl an Tieren um zuverlässige statistische Analysen durchführen zu können.

**Verfeinerung:** Das bereits etablierte Querschnittslähmungsmodell, welches in der Versuchsreihe Anwendung findet, geht für das Tier mit sehr geringen neurologischen Defiziten einher. Auch das normale Verhalten der Tiere ist nahezu unbeeinträchtigt. Die Ratte weist uneingeschränkte Gehfähigkeiten auf. Auch die Blasen- und Darmfunktionen sind durch dieses Modell nicht beeinträchtigt. Die postoperative Versorgung der Tiere ist auf die optimale Erhaltung des Tierwohls ausgerichtet. Daher werden von uns post-operative Komplikationen sofort entdeckt und behoben werden. Die Tiere werden nach der Operation zu fünft gehalten werden und haben freien und uneingeschränkten Zugang zu Wasser und Nahrung. Falls bei den Tieren Gewichtsverlust festgestellt werden sollte, wird ihnen zusätzlich zum normalen Futter eine hochkalorische Paste gefüttert 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

Durch die Zunahme der Infektionen mit multiresistenten Erregern in vielen Ländern, gestaltet sich die Behandlung von oft lebensbedrohlichen Infektionen schwierig bis unmöglich. Mit Hilfe dieser neuen Antibiotikaklasse und des mehrfach optimierten Abkömmlings OxAB5 könnten vor allem Infektionen verursacht durch multiresistente Gram-positive Erreger behandelt werden ohne Kreuzresistenzen fürchten zu müssen. Andererseits könnte der Einsatz dieser Substanzklasse ebenfalls zur Reduktion bestehender Resistenzen beitragen und auch in Ländern und Gebieten mit beinahe panresistenten Bakterien eine mögliche Therapiealternative darstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In der Testgruppe wird eine Sepsis ausgelöst, wobei die Tiere, auf Grund des schweren Belastungsgrades, laufend untersucht werden und bei Verhaltensänderungen und Zeichen von Schmerzen sofort die Euthanasie erfolgt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt 97 Mäuse

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

Vermeidung: Aufgrund der Komplexität der Interaktion des Immunsystems und des Wissensgewinns bezüglich der Sterblichkeit im lebenden Organismus, kann dieser Versuch nicht in Form eines in vitro Versuchs durchgeführt werden.

Verminderung: Die Anzahl der Versuchstiere wurde aufgrund aktueller wissenschaftlicher Literatur auf die minimale Anzahl begrenzt, welche noch eine signifikante Aussage über die Sterblichkeit zulässt. Weiters wird mit Hilfe sekundärer Zielgrößen wie der Bakterienzahl in Blut und Bauchhöhlenspülung sowie der Untersuchung unterschiedlicher Gewebearten auf potenzielle aktive und inaktive Metaboliten die Aussagekraft des Versuches ebenfalls erhöht.

Verfeinerung: Durch den Kriterienkatalog wurden Parameter ausgewählt, welche den frühest möglichen Endpunkt für Versuchstiere darstellen, der gleichzeitig noch die Hauptzielgröße, der durch Sepsis bedingten Sterblichkeit, bestimmen lässt. Schmerzlindernde Mittel wie z.B. Nicht-steroidale Antiphlogistika oder Opioide können aufgrund ihrer Wirkung auf das Immunsystem, die Histaminfreisetzung und die vor allem in Bauchhöhlen assoziierten Sepsis Modellen wichtige Darmtätigkeit nicht eingesetzt werden, da ansonsten der Hauptversuchsparameter, das Überleben der Versuchstiere in der Sepsis, artifiziell beeinflusst werden könnte. Weiters könnte auf Grund des

Einsatzes potenter Schmerzmittel wie beispielweise durch Opioide, die Aussagekraft der Versuchsdaten eingeschränkt werden weshalb, zur Vermeidung von notwendigen Wiederholungsversuchen, darauf verzichtet werden sollte. Für das Wohl der Tiere wird durch engmaschige Überwachung und erfahrenes Tierpflegepersonal Sorge getragen. Die Haltung in kleinen Gruppen, sowie die Einrichtung von Nistmaterial wie auch Rückzugsmöglichkeiten, tragen ebenfalls zum Wohlbefinden der Tiere bei, das gerade für derartige Experimente essentiell ist um unkontrollierte Stressfaktoren zu reduzieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Oktober 2022 vorgesehen.

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

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

Monozyten sind Schlüsselzellen der angeborenen Immunabwehr. Ihre Funktion ist vor allem bei entzündlichen Prozessen wichtig. Der Tierversuch dient dazu, den Einfluss des Verlusts eines Signalüberträgers (Interleukin 4 Rezeptor) auf die Menge an Monozyten im Blut und einen möglichen Einfluss auf Erkrankungen zu untersuchen. Wir möchten die Produktion und Verweildauer von Monozyten im Blut erforschen. Weiters soll die Beteiligung von Proteinen im Blut auf die Menge an Monozyten erforscht werden. Durch Verabreichung verschiedener Substanzen wollen wir die reduzierte Anzahl an Monozyten in den Mäusen aufheben und eine normale Funktion wieder herstellen. Abschließend wollen wir überprüfen, ob die Ausschaltung dieses Signalweges einen Einfluss auf die Entstehung und Schwere einer Bauchfellentzündung hat.

zu erwartender Nutzen: Durch das Erforschen der Ursachen, die die Menge an Monozyten im Blut regulieren, erhoffen wir uns mögliche neue Ziele für die Therapie mit Medikamenten zu entdecken. Dadurch könnten unsere Ergebnisse bei der Behandlung von menschlichen Erkrankungen wie zum Beispiel Gefäßverkalkung oder Rheuma helfen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um möglichen Schmerzen vorzubeugen, werden die Tiere mit Schmerzmitteln behandelt. Substanzen werden in den Bauchraum injiziert um eine Bauchfellentzündung zu verursachen. Um mögliche Gesundheitsbeeinträchtigungen zu erkennen, werden die Tiere engmaschig kontrolliert, um bei etwaigen Verschlechterungen des Gesundheitszustandes raschest möglich eingreifen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Farbmaus (*Mus musculus f. domesticus*) insgesamt 286 Tiere

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

Vermeidung: Forschungsfragen, welche sich durch den Einsatz von Experimenten ohne Tiere beantworten lassen, werden wir im Labor an Zellen untersuchen. Jedoch sind Studien im Tiermodell die einzige Alternative zu Versuchen an Menschen, um die Funktion des Signalstoffs auf die Menge und Verweildauer von Blutzellen zu erforschen.

Verminderung: Um die Zahl der verwendeten Tiere so gering wie möglich zu halten, wurden Fallzahl-Berechnungen durchgeführt. Weiters werden die Experimente so geplant, dass die Variation zwischen einzelnen Versuchen möglichst gering ist. Dafür werden die Mäuse zwischen den Gruppen im gleichen Alter und zu gleichen Teilen zwischen den Geschlechtern aufgeteilt und

die Versuche immer von der selben Person durchgeführt. Um die Wiederholung der Versuche durch andere Institutionen zu vermeiden, werden alle Ergebnisse in internationalen Fachzeitschriften für die Öffentlichkeit zugänglich veröffentlicht.

Verfeinerung: Die Tiere werden in störungsarmer Umgebung gezüchtet und jeglicher Stress versucht so gut wie möglich zu vermeiden. Die Käfige werden mit Beschäftigungsmaterial bestückt und Tiere niemals alleine gehalten. Um den Stress der Tiere während der Versuche auf ein Minimum zu reduzieren, wird anstelle von mehreren Injektionen ein kleines Reservoir unter der Haut plaziert, durch welches eine festgelegte Menge eines Stoffes freigesetzt wird.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2024 vorgesehen.

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

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

Das menschliche Gehirn verarbeitet unterschiedlichste Sinneseindrücke welche wiederum zu komplexen Verhaltensweisen führen. Ein Ungleichgewicht in den Verbindungen oder in der elektrischen Aktivierung von Nervenzellen führt häufig zu Erkrankungen wie Epilepsie, Autismus oder Depressionen. Nachhaltige Schädigungen einzelner Nervenzellbereiche sind die Hauptursache für die Entwicklung von Parkinson oder Alzheimer. Gerade die Erforschung der Ursachen für die unterschiedlichen Varianten von Autismus wird derzeit durch die geringe Anzahl an Mausmodellen mit vergleichbaren Auffälligkeiten erschwert. In dem vorliegenden Projekt charakterisieren wir nun einen existierenden Mausstamm und testen, ob die betroffenen Mäuse Verhaltensauffälligkeiten zeigen, die mit Autismus-Erkrankungen beim Menschen vergleichbar sind. Durch eine gentechnisch erzeugte Mutation wurde im Mausstamm das Fehlen (knockout) eines neuronalen Zelleiweißes bedingt (d.h. es wurde eine genetische Erkrankung erzeugt). Durch Verpaarung von gesunden Mutationsträgern können bei den Nachkommen zwei mutierte Gene zusammentreffen, die das Fehlen des betroffenen Zelleiweißes möglich machen. Um zu testen ob die Krankheitsausprägung der Mäuse nun mit Autismus zu vergleichen ist untersuchen wir die betroffenen Mäuse mit einer Vielzahl an unterschiedlichen Tests um Erkenntnisse über das Sozialverhalten, die Aktivität, histologische Veränderungen im Gehirn, die Anfälligkeit für Epilepsie und die Gehirnstromaktivität zu gewinnen. Die Folgen der beobachteten Veränderungen werden in gezüchteten Nervenzellen getestet und in diesen mittels Gentherapie versucht zu normalisieren. Dies erlaubt die zellulären Krankheitsursachen und mögliche Therapien zu erforschen und damit die Anzahl der Mäuse in den Tierversuchen zu reduzieren.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns von diesen Untersuchungen neue Erkenntnisse über die Ursache und Entstehung von Gehirnerkrankungen wie Epilepsie, Autismus, und Depressionen und über welchen zellulären Mechanismus die untersuchten Zelleiweiße an der Ausprägung dieser Erkrankungen beteiligt sind. Aus diesen Studien können sich daher zukünftig neue und nebenwirkungsarme Strategien zur Behandlung von Erkrankungen beim Menschen entwickeln lassen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der überwiegende Anteil der angewandten Verhaltenstests entspricht einem milden Schweregrad. Die höchste zu beobachtende Beeinträchtigung der Mäuse entspricht einem mittleren Schweregrad.



## 2. Art und Anzahl der Tiere

Über eine Laufzeit von 4 Jahren werden in diesem Projekt maximal 1270 Mäuse untersucht.

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

**Vermeidung:** Durch die beschriebene Vorgangsweise kann eine große Anzahl an Experimenten an entnommenen Gehirnen oder an gezüchteten Zellen durchgeführt werden, wodurch Versuche an lebenden Tieren vermieden werden. Schmerzen und Leiden der Tiere werden durch eine genaue Beobachtung und mit genau definierten Versuchsabbruchskriterien so gering wie möglich gehalten.

**Verminderung:** Die künstliche Züchtung von Zellen erlaubt die Versuchsdurchführung an hunderten bis tausenden Zellen einer einzigen Maus, wodurch im Vergleich zu Versuchen an lebenden Mäusen die Gesamtzahl der benötigten Tiere deutlich vermindert wird.

**Verfeinerung:** Die sorgfältige Handhabung und Betreuung der Mäuse durch geschulte Mitarbeiter/innen, tägliche Kontrollen der Mauszuchten, die Gewebeentnahme an toten Tieren und die sachgemäße Verwendung von Tötungsverfahren sorgt zusätzlich für eine Verfeinerung der Abläufe und damit eine Reduktion des Stresses, dem die Mäuse ausgesetzt 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

Die Messung der Pharmakokinetik (Weg eines Medikamentes ins Zielgewebe) und der Pharmakodynamik (Wirkung des Medikamentes im Gewebe) sind im Prozess der Medikamentenentwicklung notwendig, um die Verteilung und die Wirkung in lebenden Organismen zu untersuchen. Ähnliches gilt auch für die Erforschung von Krankheiten wie Alzheimer-Demenz oder Multipler Sklerose. Für das Verständnis der Prozesse, die sich in einem lebenden Organismus abspielen, ist es notwendig diese zu beobachten. In weiterer Folge können die daraus gewonnen Erkenntnisse in die Entwicklung neuer Therapien einfließen und dadurch helfen Leiden zu lindern oder zu heilen.

zu erwartender Nutzen: Die kontinuierliche Beobachtung eines Vorgangs oder Prozesses innerhalb eines lebenden Organismus über längeren Zeitraum liefert Daten in hoher Qualität und verringert zeitgleich die notwendige Anzahl an Versuchstieren innerhalb einer Gruppe.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Den Tieren wird eine Messsonde in das Gehirn implantiert, die es erlaubt endogen vorhandene oder von außen verabreichte Substanzen zu messen. Alle Eingriffe werden von erfahrener Personal und unter Narkose durchgeführt. Während der Heilungsphase, nach der Implantation der Messsonde, auftretende Schmerzen werden durch die Behandlung mit geeigneten Schmerzmitteln verringert bzw. verhindert und das Wohlbefinden der Tiere wird engmaschig überwacht. Durch die Anwendung der Messmethoden ist ein moderater Schaden zu erwarten. Die Applikation der Wirkstoffe erfolgt in therapeutischen Dosen und verursacht daher, außer den bekannten unerwünschten Wirkungen, keine zusätzlichen Leiden und Schmerzen. Im Falle von unerwartetem Leiden oder Schmerzen während eines Versuchs, wird der Versuch sofort abgebrochen und das Tier unter Narkose getötet. Das Töten der Tiere wird ausschließlich von geschultem Personal durchgeführt. Tötungen werden nicht in Gegenwart anderer wacher Tiere durchgeführt. Nach einem Abbruch wird das Setup (Protokolle, Dosierungen, etc.) überprüft und gegebenenfalls angepasst, sodass bei folgenden Versuchen keine unerwarteten Leiden oder Schmerzen zu erwarten sind.

2. Art und Anzahl der Tiere

900 Ratten und 1200 Mäuse

### 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 die zu untersuchenden Parameter (PK ins Gehirn und PD im Gehirn) nur in vivo getestet werden können, weil:

- eine Zellkultur die Komplexität einer Blut-Hirn-Schranke unzureichend beschreibt,
- In-vitro-Experimente nicht die Interaktion mit lebendem Gewebe nachstellen können,
- nur in vivo der Metabolismus der getesteten Substanzen im Tier beobachtet werden kann.

Verminderung: Es wurde sorgfältig abgewogen zwischen einer möglichst kleinen gesamten Versuchstieranzahl und der statistischen Signifikanz, die eine eindeutige Aussage zulässt. Die im Tierversuch angegebenen Tierzahlen repräsentieren die untere Grenze für statistisch signifikante Ergebnisse.

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.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2026 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

Infektionen durch das humane Adenovirus (AdV) stellen für immungeschwächte Patientinnen und Patienten ein großes Problem dar. Die Infektionen können hier sogar einen tödlichen Ausgang nehmen. Derzeit gibt es keine zugelassenen Medikamente zur Behandlung von Adenoviren. Lediglich Virostatika wie z.B. Cidofovir, die als Therapeutika gegen andere DNA-Viren entwickelt wurden, werden zur Reduktion der Viruslast eingesetzt. Deshalb ist es von großer Wichtigkeit alternative Behandlungswege gegen Adenoviren zu erforschen und zu entwickeln. Eine mögliche Form einer antiviralen Therapie stellen artifizielle microRNAs (amiRNAs) dar, durch die in einer infizierten Zelle gezielt die zur Replikation der Viren notwendigen mRNAs, die zu den miRNAs komplementär sind, abgebaut werden. Ziel dieser Studie ist es, anti-adenovirale amiRNAs, die in vitro bereits Wirksamkeit gezeigt haben, nun auch in vivo im Tiermodell zu testen. Diese amiRNAs sollen mittels adenoviraler Vektoren in den Tieren zur Expression gebracht werden. Als Tiermodell soll der syrische Hamster (*Mesocricetus auratus*) dienen. Dieser ist ein etabliertes und anerkanntes Tiermodell zur Evaluierung therapeutischer Strategien zur Inhibierung humaner Adenovirus-Infektionen, da weder Mäuse noch Ratten mit humanem AdV infizierbar sind bzw. es zu keiner Replikation der Viren kommt.

zu erwartender Nutzen: Durch diese Studie sollen Daten generiert werden, die es erlauben sollen, das Potenzial einer auf der oben beschriebenen Strategie basierenden Therapie von Adenovirusinfektionen zu erforschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Belastung der Tiere ergibt sich durch das Applizieren von Zytostatika und AdV-Vektoren mittels Injektion. Es kann sich ein folgender adenoviraler Krankheitsverlaufs mit Schädigung des Lebergewebes und einhergehendem Gewichtsverlust zeigen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Syrischer Hamster (*Mesocricetus auratus*)

Anzahl: 195

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

Vermeidung: Soweit es möglich war, wurden viele Daten bereits in vitro generiert. Dennoch ist der Einsatz der Tiere unumgänglich, um den Effekt der amiRNAs in immungeschwächten Organismen zu untersuchen.

Verminderung: Durch die vorangegangenen in vitro-Versuche wurde die Anzahl der zu untersuchenden amiRNAs bereits deutlich reduziert. Außerdem wird durch die zeitliche Staffelung der Experimente versucht, die Zahl der Tiere möglichst gering zu halten, da bei bestimmten AdV-Vektor-Genotypen, die nicht die gewünschten Effekte zeigen, auf die restlichen Tiergruppen verzichtet werden kann. Durch die zeitliche Staffelung der einzelnen Versuchsteile und zeitnahe Auswertung der Daten können außerdem die Anzahl der Endpunkte von zwei auf einen Endpunkt reduziert werden, wobei dieser in Abhängigkeit von den Ergebnissen der vorangegangenen Experimenten gewählt werden wird.

Verfeinerung: In diesem Tierversuch wird eine geringere Dosis an Adenoviren als in der Literatur beschrieben eingesetzt, wodurch die klinischen Symptome milder als in diesen Literaturstellen aufgelistet ausfallen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2026 vorgesehen.

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

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

Im vorliegenden Projekt soll die Wirkung der Fütterung mit natürlichen Chitosan-Nanopartikeln (CSNPs) bei Regenbogenforellen hinsichtlich der Immunmodulation und Krankheitsresistenz gegenüber einer Infektion mit *Yersinia ruckeri*, dem Erreger der enterischen Rotmaulseuche, untersucht werden.

Zu erwarteter Nutzen: Die Erkenntnisse aus dieser Studie sollen einen wesentlichen Beitrag zur Erforschung der Wechselwirkung von Nanopartikeln und Bakterien liefern. Ferner stellen sie einen wesentlichen Beitrag dar, Regenbogenforellen vor einer Infektion mit *Y. ruckeri* zu bewahren und mögliche Krankheitssymptome abzuschwächen. Bisher wurde noch keine Studie zum Schutz von Regenbogenforellen vor der enterischen Rotmaulseuche durch Fütterung mit CSNP durchgeführt.

Zu erwarteter Schaden für die Tiere: Eine Belastung der Fische ist während des Infektionsteils zu erwarten. Nachdem die Fische mit *Yersinia ruckeri* (über angereichertes Wasser) infiziert wurden, können subkutane Blutungen, Rötung des Rachens, des Mundes, der Kiemenspitzen und der Flossen sowie eine eventuelle Erosion des Kiefers und des Gaumens zur Folge haben.

Hämorrhagien treten auch in den inneren Organen auf. Die Fische zeigen oft abnormales Verhalten und Anorexie.

2. Art und Anzahl der Tiere

180 Regenbogenforellen (*Oncarhynchus mykiss*)

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

Vermeidung: Dieses Projekt wird durchgeführt, um die durch die Fütterung von Chitosan-Nanopartikeln veränderte Immunantwort von Regenbogenforellen zu untersuchen. Da diese Erkenntnisse nur am lebenden Tier erlangt werden können, ist eine Substitution durch ein In-vitro-Modell nicht möglich.

Verminderung: Es wird nur jene Anzahl an Tieren verwendet, die unbedingt notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen

Verfeinerung: Die Fische werden artgerecht gefüttert. Eine genaue Kontrolle der Tiere erfolgt mindestens 3-mal täglich um sicherzustellen, dass die definierten Abbruchkriterien umgesetzt werden können, um unnötiges Tierleid zu verhindern. Aufgrund des langsamen Fortschreitens der Krankheit kann garantiert werden, dass es während der Nacht zu keinen mit der Krankheit

assozierten Mortalitäten kommt. Um den Fischen ausreichend lange Ruhephasen zu ermöglichen wird ein normaler Tag/Nachtrhythmus mit mindestens 10 Stunden Dunkelheit eingehalten. Um die Wasserqualität zu sichern, werden die Fische in einem Durchflusssystem mit adäquater Sauerstoffversorgung gehalten. Eine ausreichende Menge an Luftausströmern, ein kontinuierlicher Wasserdurchfluss, geringe Besatzdichten sowie eine genaue Überwachung des Sauerstoffgehalts garantieren eine gute Sauerstoffversorgung der Fische. Weitere Wasserparameter, Temperatur, pH-Wert und Ammonium-Konzentration werden täglich kontrolliert. Um den Stress für die Tiere möglichst gering zu halten, wird jegliches Handling auf ein Minimum reduziert.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. Juni 2023 vorgesehen.

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

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

Funktion von Kalziumkanälen in der Entwicklung von Nerven und Muskel Teil A – Zucht

In diesem Forschungsprojekt soll die Rolle von Kalziumkanälen in der Entwicklung von Nerven und Muskeln untersucht werden. Im Erwachsenen Säugetier (so auch beim Menschen) spielen diese Membranproteine eine zentrale Rolle in der Kontraktion von Herz- und Skelettmuskel, bei der Sekretion von Hormonen und Neurotransmittern, und in der Gen-Regulation. Die Funktion dieser Spannungs-aktivierten Ionenkanäle während der Entwicklung ist hingegen noch wenig bekannt. Jüngste Forschungsergebnisse zeigen allerdings, dass sie wesentlich an der Spezialisierung von Muskelfasertypen (schnell oder langsam) beteiligt sind und eine Schlüsselfunktion in der Bildung von Synapsen einnehmen. Die zugrundeliegenden Mechanismen sollen nun in dem vorliegenden Projekt erforscht und entschlüsselt werden.

zu erwartender Nutzen: Es handelt sich hier um ein Grundlagenforschungsprojekt. Somit sind das primäre Ziel und der erwartete Nutzen der wissenschaftliche Wissensgewinn. Da das Projekt wichtige bio-medizinische Fragestellungen verfolgt, ist zu erwarten, dass die neu gewonnenen Erkenntnisse zum besseren Verständnis des menschlichen Körpers führen und damit zur Weiterentwicklung der modernen Medizin beitragen. Letztlich sind Kalziumkanäle wichtige Targets für Pharmaka, welche in der Therapie neurologischer und kardio-vaskulärer Erkrankungen eingesetzt werden. Deshalb ist ein besseres Verständnis ihrer Funktionen während der Embryonalentwicklung auch von klinisch-pharmakologischer Bedeutung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Belastung der Mäuse ist gering bzw. nicht gegeben. Die verwendeten genetisch veränderten Mäuse zeigen im heterozygoten Genotyp keine Beeinträchtigungen. Homozygote Mäuse würden bei der Geburt an Atmungsversagen sterben. Allerdings werden alle Genotypen heterozygot (also nicht belastet) gezüchtet wodurch sichergestellt ist, dass es in der Zucht zu keiner Belastung durch die genetische Veränderung kommt.

2. Art und Anzahl der Tiere

Drei verschiedene genetisch veränderte Mauslinien; jeweils 1.200 Mäuse in fünf Jahren; insgesamt 3.600 Mäuse.

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



Vermeidung: Untersuchungen an Mäusen stellen lediglich einen kleinen Teil der Experimente in unserer Forschung dar. Der überwiegende Teil wird an in vitro Zellmodellen durchgeführt, die speziell zur Vermeidung der Tierversuche entwickelt wurden.

Verminderung: Die Zahl der Zuchtkäfige (je zwei) ist auf das, für einen sicheren Erhalt der wertvollen Mausstämme, nötige Minimum beschränkt.

Verfeinerung: Wie oben erwähnt, werden hier nur Mäuse ohne Phänotyp/Belastung gezüchtet.

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

Von Mikroben synthetisierte Biomoleküle sind eine vielversprechende Quelle für die Entwicklung neuer medizinisch hilfreicher Wirkstoffe. Ziel des Projekts ist, einige bisher unbekannte Moleküle, die von neu entdeckten Pilzarten oder unter Ko-Kultur unterschiedlicher Mikroben bzw. Zellen gebildet werden, in Hinblick auf eine etwaige Wirkung auf den Stoffwechsel zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Die Untersuchungen bieten eine Chance zur Entdeckung neuer Biomoleküle, die Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer Medikamente sein können. Da Stoffwechselstörungen wie Übergewicht, Diabetes oder Fettleber weltweit im Zunehmen sind, ist die Entdeckung und Entwicklung neuer Medikamente zur Behandlung solcher Erkrankungen von besonders aktueller Bedeutung.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der Tiere durchlaufen Protokolle, die als mittelgradig belastend eingestuft sind und Injektionen neuer Substanzen sowie Blutabnahmen aus der Schwanzspitze beinhalten. Alle Protokolle enden mit der Tötung der Tiere unter Narkose, was zum Sammeln von Blut und Gewebeproben notwendig ist. Eine Minimierung der Belastung ist durch engmaschige Kontrollen und durch strenge Abbruchkriterien sichergestellt. Um Schmerz oder Leid durch toxische Effekte der neuen, weitgehend unbekannt Substanzen bestmöglich auszuschließen, werden vorweg Toxizitätstests an Zellkulturen durchgeführt und anfangs sehr geringe Dosierungen getestet.

2. Art und Anzahl der Tiere

388 Mäuse

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

Vermeidung: Die Gestaltung der Protokolle zielt auf Wissensgewinn bei geringstmöglichem Tierbedarf. Es ist jedoch unumgänglich, die Untersuchungen in vivo - also am intakten Organismus – durchzuführen. Um mit Leid oder Schmerz verbundene Zwischenfälle zu vermeiden, werden die Testsubstanzen in vorangehenden Toxizitätstests an Zellkulturen untersucht und bei bedenklichen Eigenschaften ausgeschlossen. Am lebenden Tier werden anfangs sehr geringe Dosierungen eingesetzt. Sollten Hinweise auf nachteilige Wirkung auftreten, wird keine Dosissteigerung vorgenommen.

Verminderung: Im Sinne der Verminderung von Tierversuchen wird maximaler Informationsgewinn bei minimaler Tierzahl angestrebt. Bei den Versuchen an lebenden Mäusen wird ein minimaler Tiereinsatz durch ein Protokoll sichergestellt, in dem schrittweise Substanzen ohne vielversprechende Ergebnisse oder mit beeinträchtigender Wirkung von der nächsten Untersuchungsreihe ausgeschlossen werden. Entsprechende Abläufe, sowie standardisierte Haltungsbedingungen und Versuchsprotokolle stellen bestmögliche Reproduzierbarkeit sicher.

Verfeinerung: Im Sinne der Verfeinerung von Tierversuchen entsprechen die eingesetzten Mausstämme und Krankheitsmodelle langjährigen Konventionen in der Stoffwechselforschung. So ist bei geringem Tierverbrauch bestmögliche Vergleichbarkeit und Interpretationssicherheit in Bezug auf frühere Ergebnisse gegeben. Versuchsabläufe und Haltungsbedingungen sind standardisiert und folgen dem aktuellen Stand der Wissenschaft.

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

Noch immer zählt Herzinfarkt zu den weltweit führenden Todesursachen. Durch optimierte Medizinische Versorgung überleben zwar immer mehr Patienten den eigentlichen Herzinfarkt. Leider führt diese Erkrankung aber sehr oft zur Entwicklung einer Herzschwäche, welche wiederum bei gut 50% der Betroffenen innerhalb weniger Jahre zum Tod führt. Bis heute sind Herztransplantationen die beste Methode zur Behandlung, da die natürliche regenerative Kapazität des Herzgewebes sehr schwach ist. Jedoch stellt eine Transplantation einen schweren operativen Eingriff dar, der mit einem unmittelbaren Risiko für die Patienten behaftet ist. Außerdem übersteigt die Anzahl verfügbarer Spenderorgane bei weitem die Nachfrage und viele Patienten warten vergeblich auf eine erfolgreiche Therapie und sterben während sie auf der Warteliste stehen. Im vorliegenden Projekt soll ein vielversprechender alternativer therapeutischer Ansatz verfolgt werden. Dabei wird durch Injektion eines Hydrogels aus natürlichem Gewebe in den durch einen Infarkt geschädigten Bereich des Herzens der Heilungsprozess verstärkt werden. Das Hydrogel enthält Proteine und Signalstoffe die die Zellwanderung, die Gefäßneubildung, sowie das Überleben von Herzmuskelzellen im geschädigten Bereich des Herzens steigern sollen. Durch eine solche Anwendung könnte die Entwicklung einer Herzschwäche nach einem Herzinfarkt abgeschwächt oder sogar verhindert werden.

Zu erwartender Nutzen: Die so gewonnenen experimentellen Daten lassen wichtige Schlüsse auf (1) die Methode der Hydrogel-basierten Therapie und (2) die Wirkung eines Hydrogels aus vaskulärem Gewebe der Plazenta und der in dem Gel enthaltenen Stoffe in der Entwicklung einer Herzschwäche zu. Plazentagewebe ist humanen Ursprungs und zeichnet sich durch eine gute Verfügbarkeit ohne ethische Konflikte aus. Als besonders interessant gelten Erkenntnisse über eine mögliche immunregulierende Wirkung von Hydrogelen die aus dem Gewebe humaner Plazenta gewonnen wurden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Das Infarktmodell in der Ratte ist ein international anerkanntes Modell zum Studium des Infarkts. Adäquate Schmerzmedikation ist im Protokoll vorgeschrieben. Die Tiere werden durch die einmalige Gabe des Hydrogels geringer belastet als durch tägliche Applikationen. Die Nachuntersuchungen finden in Narkose statt (Bildgebung). Das Tier verstirbt in Narkose. Danach findet die Organentnahme statt.

2. Art und Anzahl der Tiere

126 männliche OFA-1 Ratten mit einem Gewicht von 250-300g

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

Vermeidung: Alle Versuche wurden nach statistischen Vorgaben nur mit den notwendigen Tieren ausgestattet die eine wissenschaftliche Aufarbeitung ermöglichen.

Verminderung: Durch die Verwendung von in vivo und in vitro Methoden am selben Tier, konnten die Tierzahlen auf das Minimum reduziert werden

Verfeinerung: Durch ein Höchstmaß an Standardisierung in Haltung (Futter, Raumklima) sowie durch die Betreuung durch qualifiziertes und geschultes Personal ist ein Höchstmaß an Verfeinerung gewährleistet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2023 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

Die Prävalenz neurodegenerativer Erkrankungen, insbesondere Alzheimer, steigt mit zunehmendem Alter und ist durch unterschiedliche Proteinablagerungen im Gehirn der betroffenen Patienten gekennzeichnet. Gesundes Altern hingegen vermindert die Wahrscheinlichkeit eine altersbedingte Krankheit zu bekommen. Ziel dieses Projekts ist daher die Untersuchung von lebensverlängernden natürlich vorkommenden Polyaminen auf Entstehung, Entwicklung und Verlauf der Alzheimer Erkrankung in einem transgenen Mausmodell. Zusätzlich soll ein positiver Einfluss auf kognitive Fähigkeiten beim physiologischen Altern von Wildtypmäusen überprüft werden. Mittels verschiedener Verhaltens- und Lerntests werden die Auswirkungen einer Polyaminfütterung auf neurologische Funktionen analysiert. Pre- und post mortem magnetresonanztomografische Aufnahmen ermöglichen die Analyse struktureller Veränderungen im Gehirn. Dies wird neuartige Einblicke in die Entwicklung der Alzheimer Erkrankung erlauben sowie unser Verständnis für die kognitive Leistungsfähigkeit beim Altern vertiefen.

Zu erwartender Schaden für das Tier: Beeinflussungen und Schäden durch die polyaminreiche Ernährung werden aufgrund vorangegangener Tierversuche nicht erwartet. Die transgenen Tiere zeigen zwar die für die Krankheit typischen Ablagerungen im Gehirn, sowie eine verminderte Gedächtnisleistung, für den Zeitraum der Bestimmung der Lebensspanne wird jedoch gewährleistet, dass die Tiere kein unnötiges Leiden erfahren bzw. eine mittelschwere Belastung nicht überschreiten. Gegebenenfalls werden betroffene Tiere erlöst, um unnötiges Leiden zu verhindern. Für die Gewebentnahme und andere post-mortem Analysen werden die Tiere zuvor in tiefer Gasnarkose ohne Bewusstsein getötet.

Zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt ermöglicht die Identifizierung neuroprotektiver natürlicher Substanzen, die zur Therapie der Alzheimer Erkrankung eingesetzt werden könnten. Außerdem werden neue Einblicke über pathologische Veränderungen im Gehirn gewonnen und eventuell schon frühe Marker dieser neurodegenerativen Störung gefunden werden. Die so gewonnenen Erkenntnisse werden unser Verständnis über Entstehung, Diagnose und Verlauf der Alzheimer Erkrankung des Menschen verbessern, um daraus gezielte und individualisierte Therapien für den Menschen ableiten zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere:

Insgesamt wird die Studie max. 1560 Mäuse umfassen.

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

**Vermeidung:** Eine Polyaminreiche Ernährung zeigte keine negativen Nebenwirkungen in vorangegangenen Tierversuchen. Alle nötigen Vorversuche mit dem Alzheimermodell wurden bisher in niederen Organismen (Hefe, Fruchtfliege) durchgeführt, wodurch Tierversuche so lange wie möglich vermieden werden konnten. Um die Ergebnisse allerdings auf den Menschen übertragen zu können, müssen die Ergebnisse letztlich in einem Säugetiermodell überprüft werden.

**Verminderung:** Die Anzahl der Tiere wurde bereits im Vorhinein streng limitiert. Es werden Zeitpunkte gewählt, die es mit relativ wenigen Tieren ermöglichen, statistisch signifikante Aussagen zu treffen. Es werden geschlechterspezifische Effekte untersucht, jedoch die Zeitpunkte der Untersuchungen den entsprechenden Lebenserwartungen und Auftreten der Phänotypen von Männchen und Weibchen angepasst, um unnötige Tiere auf Grund eines nicht idealen Untersuchungszeitpunktes zu vermeiden. Die geplante Vorgehensweise der Experimente – die Untersuchung derselben Tiere an aufeinander folgenden Zeitpunkten – reduziert die Mess-Variabilität und ermöglicht so eine Reduktion der benötigten Tieranzahl. Des Weiteren ist durch gewissenhafte Versuchsplanung eine Polyamin-gefütterte Kontrollgruppe zum transgenen Alzheimer-Modell nicht notwendig, wodurch weitere Tiere eingespart werden können.

**Verfeinerung:** Die Verhaltensexperimente werden sorgfältig gewählt und zielen ausschließlich darauf ab, Funktionen des (durch die Alzheimer Erkrankung beeinträchtigten) Hippocampus zu untersuchen. Das Testen vorab überprüfter Polyamin-Konzentrationen und die Wahl geeigneter Untersuchungszeitpunkte basierend auf vorhergehenden publizierten Daten reduziert die benötigte Mausanzahl auf ein Minimum. Bei der Auswahl der Experimente wird außerdem besonderer Wert auf die Auswahl stressreduzierter Verhaltensassays gelegt und somit das Stressniveau der Tiere reduziert.

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

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

In diesem Projekt wird eine neuentwickelte anti-inflammatorische Behandlung nach Rückenmarksverletzung verabreicht, um die akuten entzündlichen Prozesse nach der Verletzung zu verringern. Dies soll den Grad der Sekundärschäden reduzieren und somit eine Regeneration der verletzten Strukturen begünstigen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse, die aus diesem Projekt abgeleitet werden, sollen unser Verständnis über neuroregenerative Prozesse nach Querschnittslähmung weiter vertiefen. Es wird auf dieses Tiermodell zurückgegriffen, da man davon ausgehen kann, dass ähnliche, wenn nicht sogar die gleichen regenerativen Mechanismen wie beim Menschen vorliegen. Ein besseres Verständnis des neuroregenerativen Potentials nach Querschnittslähmung wird schlussendlich zu einer verbesserten therapeutischen Versorgung Betroffener beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Ratten werden einem operativen Eingriff unterzogen, der mit einem für dieses Vorgehen normalen Wundschmerz einhergehen wird. Daher bekommen die Tiere zur postoperativen Versorgung Schmerzmittel zur Schmerzreduktion, sowie Antibiotika, um das Auftreten einer postoperativen Infektion zu verringern. Da eine spontane Wiederherstellung der Blasenfunktion sowie Lokomotion in dem angewandten Querschnittsverletzung-Rattenmodell stattfindet, sind die Tiere in ihren primären Bedürfnissen nur vorübergehend eingeschränkt.

2. Art und Anzahl der Tiere

90 weibliche Fischer 344 Ratten

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

Vermeidung: Die Untersuchung der entzündlichen Prozesse und deren Vermeidung im Rückenmark nach Läsion kann zum heutigen Stand der Forschung nur in vivo untersucht werden.

Verminderung: Durch die Anwendung standardisierter Protokolle für die Durchführung der chirurgischen Eingriffe und histologischen Auswertungen kann die inter-individuelle Variabilität minimiert werden. Das führt zu einer Reduzierung der minimal notwendigen Anzahl an Tieren um zuverlässige statistische Analysen durchführen zu können.

Verfeinerung: Die Versorgung der Ratten ist auf die optimale Erhaltung des Tierwohls ausgerichtet. Auf postoperative Komplikationen kann daher rasch mit entsprechenden Gegenmaßnahmen (zB.



Analgesie, zusätzliche hochkalorische Nahrung) reagiert werden. Während der gesamten Versuchsdauer haben die Tiere uneingeschränkten Zugang zu Wasser und Nahrung.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2025 vorgesehen.

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

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

Fettleber zählt zu den häufigsten Lebererkrankungen mit einer geschätzten Prävalenz von 20-30% der Bevölkerung der westlichen Welt und wird voraussichtlich zur primären Ursache von Leberkrebs in den nächsten Jahrzehnten werden. Ursprünglich wurde die Fettleber als gutartige Veränderung gesehen, bei der lediglich eine gesteigerte Lipidspeicherung in der Leber ohne Gewebeschädigung vorkommt. Es hat sich jedoch gezeigt, dass die Fettleber eine der wichtigsten Ursachen für leberassoziierte Morbidität und Mortalität darstellt durch die Progression zur Leberentzündung, welche durch Entzündung, Gewebsschädigung und Fibrose gekennzeichnet ist, wodurch die Entwicklung von Lebertumoren begünstigt wird. Fettleber und Leberentzündung sind eng mit Faktoren des metabolischen Syndroms verbunden, in erster Linie Hyperglykämie und Hyperlipidämie. Die genauen Mechanismen der Progression von Fettleber zu Leberentzündung sind jedoch bislang nur unzureichend geklärt. Daher wollen wir mit Hilfe des hier vorgeschlagenen Tierexperiments die Stoffwechselstörungen in der Entstehung von der Fettleber und deren Evolution zur Leberentzündung untersuchen. Dazu soll ein kürzlich etabliertes Tiermodell, das den Gesamtablauf der Fettleber-induzierten Entstehung von Leberentzündung nachzeichnet, in Wildtyp Tieren durchgeführt werden.

zu erwartender Nutzen: Ein wichtiger Schritt zur Bekämpfung von metabolischen Leberkrankheiten, die eine bedeutende Todesursache darstellen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Milde Diabetes und unter Umständen Ausbildung einer milden Leberentzündung

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden im Maximalfall 254 Mäuse benötigt.

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

Ad Vermeidung: Das hier beschriebenen Tiermodell für Fettleber-induzierte Leberentzündung kann nicht ersetzt werden. Eine effektive Untersuchung vom Fettleber-induzierte Leberentzündung ist nur in lebendigen Tieren möglich.

Ad Verminderung: Das NAFL-NASH Mausmodell ist gut erprobt und nur die minimale Anzahl an Versuchstieren wird für die Experimente eingesetzt. Unsere Erfahrungen aus vorangegangenen Studien mit diesem Mausmodell haben gezeigt, dass 11 Versuchstiere pro Gruppe notwendig und ausreichend sind.

Ad Verbesserung: Alle Eingriffe sowie die Tötung der Versuchstiere werden durch erfahrene Mitarbeiter unter humanen Bedingungen nach dem letzten Wissensstand bezüglich Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens der Tiere durchgeführt. Der Gesundheitsstand der Tiere wird zweimal täglich monitoriert. Diese Vorgangsweise reduziert das Leiden der Tiere auf ein absolutes Minimum beziehungsweise schließt dieses aus.

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

Projektziel: Mit weltweit 3500 jährlichen Operationen ist die Herztransplantation das letzte Mittel für eine zunehmende Anzahl von Patienten, die an Herzinsuffizienz (Heart Failure, HF) im Endstadium leiden. Eine Herztransplantation (HTx) kann die Lebenserwartung von HF-Patienten signifikant erhöhen, aber die körperliche Leistungsfähigkeit und die gesundheitsbezogene Lebensqualität von HTx Empfängern sind aufgrund der erhöhten Häufigkeit von Spätkomplikationen, die häufig auf chronotrope Inkompetenz zurückzuführen sind, leider immer noch begrenzt. Bei der HTx ist eine chirurgische Denervierung der Spender Organ unumgänglich. Daher wird die Modulation der Frequenz und Kontraktilität des Spenderherzens nach der Transplantation signifikant verändert, selbst wenn unterschiedliche chirurgische Techniken verwendet werden. Diesem grundsätzlichen klinischen Problem zu begegnen, wird durch folgende 3 Hauptziele verfolgt:

1. Evaluierung der selektiven Vagus Nerv Stimulation am intakten Vagus Nerv
2. Evaluierung der selektiven Vagus Nerv Stimulation am denervierten Herz
3. Evaluierung der selektiven Vagus Nerv Stimulation am isolierten Herz

Die gezielte Untersuchung der Physiologie des intakten und denervierten Herzens und die Entwicklung/Evaluierung einer neuronalen Schnittstelle zur Vagus-Stimulation sowie von implantierbaren Herzaktivitätssensoren soll untersucht werden. Damit soll die Machbarkeit einer künstlichen Wiederherstellung der Vaguskontrolle in einem, transplantierten Herzen demonstriert werden.

Zu erwartender Nutzen: Die erwartete Forschungsergebnisse dieses Projekts werden mehrere Auswirkungen haben sowohl in der Herztransplantationswissenschaft (Grundlagenforschung) als auch für die Schaffung eines neuen Behandlungsparadigmas für Herzinsuffizienz durch bioelektronische Medizin (Kliniken, Technologie und Gesellschaft).

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Herzentnahme und Exitus

2. Art und Anzahl der Tiere

30 Kaninchen

30 Schweine

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

**Vermeidung:** Nicht vollkommen umsetzbar. Es liegen derzeit wenige Daten aus Experimenten dieser Art vor, da es in Bezug auf Selektivität von einzelnen Vagus-Bahnen um relativ unerforschte Gebiete in der Wissenschaft handelt. Die Elektrostimulation des Nervus Vagus erfolgt am lebenden Tier in Vollnarkose. Die darauffolgenden Untersuchungen werden nach Entnahme des Nervus Vagus und des Herzens am isolierten Organ durchgeführt, wodurch weitere Experimente am lebenden Tier vermieden werden.

**Verminderung:** Um die Gesamtzahl der Tiere für die Versuche zu vermindern, wurde die chirurgische Nervus Vagus- Transplantation bereits in Vorversuchen an Kadavern durchgeführt. Für den Hauptversuch sind die in-vivo Experimente allerdings unumgänglich. Das gewonnene Wissen über die Anatomie und die Elektrophysiologie der Interaktion zwischen N. vagus und Herz kann sowohl speziesübergreifend als auch in unterschiedlichen nachfolgenden wissenschaftlichen und medizinischen Fragestellungen als Grundlage dienen, da die entstandenen mathematische Modelle aus diesen Experimenten entsprechend etabliert werden. Daher kann die Anzahl notwendiger Tierexperimente mit Hilfe dieser Daten und des entwickelten Modells in Zukunft voraussichtlich vermindert oder teilweise gar verhindert werden.

**Verfeinerung:** Durch die Vorexperimente und etablierte Anästhesieprotokolle für die Tiere wurden sowohl die Narkosedauer als auch chirurgische Durchführung der Nervus Vagus Transplantation, die an den Kadavern nach Herzentnahme erfolgt ist, optimiert, wodurch zusätzliche Belastungen der Tiere vermieden werden können.

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

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

Zu erwartender Nutzen: Mit diesem Experiment wird untersucht, welche Funktion Thrombozyten in der Alzheimererkrankung haben.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Hierzu wird transgenen Alzheimer Mäusen ein spezifischer Antikörper gegen den Glycoprotein Ib-IX-V Rezeptor Komplex für 2 bis 4 Wochen verabreicht. Dies ermöglicht die Thrombozyten über einen gewissen Zeitraum zu ablatieren. Die Antikörper-Injektion wird zu einem Zeitpunkt ausgeprägter Amyloid-Plaques Pathologie und Neuroinflammation in 12-14 Monate alte als auch in jungen 4-6 Monate alten transgenen Alzheimer Mäusen durchgeführt und anschließend wird das Verhalten der Tiere und speziell das Gehirn histologisch untersucht. Des Weiteren wird eine detaillierte histologische Analyse der Plaques Pathologie, vaskuläre Pathologie sowie der Neuroinflammation im Gehirn dieser Tiere durchgeführt, um eine mögliche positive oder negative Beteiligung der Thrombozyten im Gehirn festzustellen.

2. Art und Anzahl der Tiere

210 Mäuse

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

Vermeidung: In vivo Analysen der Alzheimer Erkrankung sind derzeit durch keine in vitro Versuche zu ersetzen, da die Plaques Pathologie sowie die Neuroinflammation einen höchst komplexen, interaktiven Prozess darstellen, der unter anderem auch das Blutgefäßsystem involviert. Die Nachstellung solcher komplexer Vorgänge in vitro ist derzeit nicht möglich und die Analyse des erkrankten Gehirns in vivo ist daher unumgänglich und wichtiger Bestandteil derzeitiger Forschung. Die bei der Zucht entstandenen transgen negativen Tiere werden nicht euthanasiert sondern für dieses Projekt als Kontrolltiere verwendet.

Verminderung: Die Anzahl der zu züchtenden Tiere wird so gering wie möglich gehalten, jedoch so gewählt, um noch statistische Signifikanz zu gewährleisten.

Verfeinerung: Die Tiere werden sorgfältig beobachtet und sollte ein allgemein negativer Eindruck oder eventuelle Anzeichen von Schmerzen auftreten, werden mit Rücksprache der tierhaltungsinternen Tierärztin sofortige Gegenmaßnahmen eingeleitet. Wir sind unter anderem bemüht Stress und Schmerzen für die Tiere zu vermeiden. Die Verabreichung des Antikörpers verursacht den Tieren keine Schmerzen, die über einen Nadelstich hinausgehen.

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

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

Atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankungen und deren klinische Komplikationen, wie Herzinfarkt 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 wird versucht die Ursachen und den biochemischen Ablauf zu klären. Neuere klinische Studien konnten die Wichtigkeit der therapeutischen Immunmodulation in der sekundären Prävention von atherosklerotischen Erkrankungen demonstrieren. Innerhalb dieses Projektes soll die Rolle eines bestimmten Regulationsmechanismus in bestimmten Immunzellen in der Atherosklerose in Mäuse mit erhöhter Atheroskleroseeignung untersucht werden. Dies soll in erster Linie mittels histologischer und biochemischer sowie immunologischer Methoden an Post mortem entnommenen Geweben geschehen.

Zu erwartender Nutzen: Derzeit gibt es keine spezifische Therapiestrategie, die sich gezielt gegen die entzündlichen Abläufe bei diesen Erkrankungen richtet. Jedoch kann ein besseres Verständnis dieser Abläufe in der Krankheitsentstehung zu neuen wirksamen und spezifischen Therapiestrategien führen, die diese verheerenden Erkrankungen verhindern. Der hierbei untersuchte Ansatz könnte spezifisch Wege aufweisen, mit denen körpereigener Abwehrmechanismen als therapeutische Maßnahme angeregt werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Da es sich bei dieser Studie um die Untersuchung eines Krankheitsprozesses eines komplexen Organsystems handelt, können diese nur in lebenden Organismen durchgeführt werden. Mausmodelle stellen eine etablierte und erfolgsversprechende Methode in der Atheroskleroseforschung dar, da das Verfüttern einer sehr gut verträglichen fettreichen Diät zur Entstehung von Gefäßveränderungen führt, die vorwiegend nach dem Tod der Tiere untersucht werden können und den menschlichen Veränderungen sehr gleichen. Die vorgenommenen Eingriffe sind allesamt mit einer mittleren Belastung der Versuchstiere verbunden, wobei diese soweit wie möglich vermieden werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

360 Mäuse

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

Vermeidung: 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 ist nur in vivo zu beantworten.

Verminderung: Das Design dieser Studie fand unter genauer Berücksichtigung der „3R“ Regeln statt. 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.

Verfeinerung: Um das Wohl der Tiere zu verbessern wird neben den Standardmaßnahmen eine angereicherte Haltungsumgebung helfen, den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. Die Tiere werden von Beginn der Unterbringung an den Umgang mit Menschen gewöhnt, 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

Multiple Sklerose ist die häufigste neurologische Erkrankung des jungen Erwachsenenalters. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch schubförmiges Auftreten neurologischer Symptome wie z.B. Lähmungen, Gefühls- oder Sehstörungen gefolgt von einer mehr oder weniger zufriedenstellenden Rückbildung. Über den Verlauf von Jahren kann es zu variablen, bleibenden Behinderungen kommen. Während für die schubhafte Phase der Erkrankung mittlerweile eine Reihe von Medikamenten zur Verfügung steht, ist die progrediente Phase bisher nur schwer therapeutisch zu beeinflussen. Unter anderem konnten lange Zeit die kortikalen Läsionen, die typisch für die progrediente MS sind, nicht im Tiermodell nachgestellt werden. In unserem neuen Tiermodell der kortikalen Demyelinisierung können wir aber gerade diese Phase spezifisch untersuchen.

In klinischen Studien konnte eine Wirksamkeit einer Therapie mit dem Sphingosin-1-phosphat Rezeptormodulator Siponimod sowohl in der schubhaften wie auch der frühen progredienten MS gezeigt werden. In unserem Versuch möchten wir die Wirksamkeit dieser Therapie speziell auf die kortikale Pathologie in unserem Tiermodell untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Mit diesem Tiermodell ist es möglich Aussagen zum Therapieeffekt einer Anwendung von Siponimod auf kortikale demyelinisierende Läsionen zu erhalten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Aus Vorversuchen ist bekannt, dass eine demyelinisierende Läsion im Frontallappen der Tiere lediglich zu einer milden, vorübergehenden Veränderung des Verhaltens führt. Bei der Katheterimplantation ist zu erwarten, dass die Tiere für einen Zeitraum von drei Tagen leichte bis mittelstarke Schmerzen erleiden, was durch die Gabe von Schmerzmittel aber so gering wie möglich gehalten wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 90 Ratten für diese Versuche benötigt.

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

Vermeidung: Leider kann eine Fragestellung, in wie fern sich eine Substanz als Therapeutikum für eine Erkrankung des Gehirns eignet, nur im Tierversuch beantwortet werden. Aufgrund des komplexen Zusammenspiels der unterschiedlichen Zellen in den untersuchten kortikalen Läsionen ist ein Ausweichen auf andere experimentelle Techniken wie z.B. Zellkultur leider nicht möglich.

Verminderung: Unser Versuchsansatz wurde durch verschiedene Vorarbeiten so konzipiert, dass mit einer relativ geringen Tieranzahl gute Aussagen zum Therapieeffekt einer Anwendung von Siponimod auf kortikale demyelinisierende Läsionen zu erhalten. Es wird großer Wert darauf gelegt, die Projektversuche nur mit jener minimalen Anzahl an Ratten durchzuführen, die statistisch notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: In diesen für den medizinischen Fortschritt sehr wichtigen Untersuchungen wird immer auf eine möglichst geringe Belastung der Versuchstiere geachtet. Gleichzeitig werden, wann immer möglich, mehrere Parameter (Verhaltensparameter, biochemische und funktionelle Parameter) bestimmt, um zusätzliche Versuche zu vermeiden und das vorhandene biologische Material optimal zu nutzen. Dies wird durch die genaue Planung des Versuchsablaufs und das optimale Ausnutzen aller Ressourcen erreicht. Die Zahl der verwendeten Ratten beläuft sich auf die statistisch notwendige Anzahl pro Versuch und es werden keine Versuche unnötig ausgeführt oder wiederholt. Zusätzlich wird für eine möglichst angenehme und stressfreie Umgebung der Tiere gesorgt. Während des Behandlungszeitraums stehen die Tiere unter engmaschiger Beobachtung durch das erfahrene Tierpflegepersonal und die Forschungsgruppe und werden vom Tierärzteteam regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand kontrolliert.

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

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

Zu erwartender Nutzen: In dieser Studie sollen die molekularen Mechanismen der Wirkungsweise von bei Brustkrebstherapie eingesetzten neuen Medikamenten untersucht werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Dazu sollen bis zu 1008 Mäuse herangezogen werden, bei denen humane Brustkrebszellen implantiert werden. Nachdem die Tumore eine bestimmte Größe erreicht haben, wird mit der Therapie begonnen um dessen Effektivität in Gegenwart bestimmter genetischer Veränderungen in den Tumorzellen zu untersuchen. Der zu erwartende Schaden, der den Tieren durch Einbringen von Tumorzellen entsteht ist gering und beschränkt sich auf Verdrängung des normalen Brustgewebes. Durch engmaschige Überwachung des Tumorwachstums und klar definierter Abbruchkriterien (Tumorgröße) wird den Tieren kein weiterer Schaden zugefügt. Die geplante Therapie wird dazu auch noch die Belastung verringern. Der zu erwartende Nutzen dieser Studie für die Verbesserung der Therapieoptionen für Brustkrebspatienten überwiegt klar.

2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse, bis zu 1008, 50% immunsupprimiert, 50% immunkompetent.

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

Vermeidung: Die Verwendung alternativer Methoden ist gegenwärtig nur beschränkt möglich. Maligne Erkrankungen Brustdrüse 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

Verfeinerung: 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 Versuch 3x wöchentlich.

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

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

Das Phänomen Schmerz ist ein vielschichtiges Geschehen. Neben der Wahrnehmung wo und wie lange etwas weh tut, hat der Schmerz aber auch wichtige emotionale Aspekte. Im Gehirn sind viele Regionen an der Verarbeitung von Schmerzreizen beteiligt. Eine wichtige Schaltstelle befindet sich im Hirnstamm, wo die einkommenden Schmerzsignale aus dem Rückenmark auf weitere Gehirnregionen verteilt werden. Von diesem Hirnstammgebiet ist bekannt, dass es eine wichtige Rolle bei der emotionalen Weiterverarbeitung von Schmerzreizen spielt. Welche Rolle diese Region aber bei der Verarbeitung anderer Reize aus der Umwelt, wie z.B. nicht-schmerzhafter Berührungsreize zukommt, ist dagegen bisher noch nicht untersucht worden. Deshalb sollen Ratten im aktuellen Projekt lernen, die Qualität von Berührungsreizen zu unterscheiden. Sobald sie diese Aufgabe meistern, wird die Aktivität von Hirnzellen in der Hirnstammregion gezielt manipuliert, und der Effekt auf die erlernte Unterscheidungsfähigkeit getestet. Zur Manipulation der Nervenzellen sollen moderne genetische Methoden im Tiermodell eingesetzt werden, welche eine gezielte Hemmung von bestimmten Nervenbahnen durch Lichtblitze erlauben. Dazu sollen mit Hilfe von Viren bestimmte Gene in die Nervenzellen des Hirnstammgebietes eingeschleust werden.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie untersucht die Bedeutung einer für die Schmerzverarbeitung eminent wichtigen Hirnstammregion, nicht nur für die emotionale Verarbeitung von Schmerzen, sondern auch für die sensorische Unterscheidung mechanischer Reizqualitäten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden kurzen chirurgischen Eingriffen in tiefer Narkose und begleitender Analgesie unterzogen. Die Ratten bewältigen Lernaufgaben, die schon sehr lange zum Repertoire in der tierexperimentellen Forschung gehören, und deren Durchführung über die Jahre ständig verfeinert wurden, um die Belastung möglichst gering zu halten. Der Schweregrad der Versuche wird maximal mittel sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 66 Ratten benötigt.

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

Vermeidung: Das Ziel dieser Studie ist die Untersuchung funktioneller Verbindungen auf der Systemebene, und deren Bedeutung für das Verhalten der Ratten. Deshalb ist die Untersuchung im lebenden Tier unvermeidbar.

Verminderung: Die Standardisierung aller Parameter garantiert eine verminderte Variabilität der Daten, und somit eine geringere Anzahl der für die Experimente benötigten Ratten. Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert.

Verfeinerung: Um den Stress zu minimieren, werden die Tiere ständig beobachtet, um mögliches Leiden rechtzeitig zu erkennen, zu reduzieren oder zu beenden. Die chirurgischen Eingriffe werden ausschließlich unter fachgerechter tiefer Narkose und begleitender Analgesie von ausgebildeten Personen 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

Hintergrund: Patienten mit Leberzirrhose (Leberverhärtung/-vernarbung durch chronischen Leberschaden) entwickeln wegen erhöhtem Widerstand in der verhärteten Leber einen Überdruck im Pfortadersystem. Aktuell gibt es kaum Therapiemöglichkeiten bei Pfortaderhochdruck. Infektionen können in diesen Patienten Leberversagen auslösen und dadurch die Prognose deutlich verschlechtern. Zurzeit ist unklar ob etablierte Therapien für Pfortaderhochdruck bei Infektionen bzw. Leberversagen wirksam sind und/oder negative Nebenwirkungen haben.

Projektziel: Testung von Pfortaderdruck-senkenden Therapien bei experimenteller Leberzirrhose und gleichzeitig durch Infektion verursachtem Leberversagen.

zu erwartender Nutzen: Besseres Verständnis über Therapien für Patienten mit Leberzirrhose und damit verbundene eventuelle Verbesserung des Überlebens und der Lebensqualität.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere erwartet entweder ein kurzer chirurgischer Eingriff unter Anästhesie mit anschließender Schmerzmittelgabe, oder mehrere schonend durchgeführte Injektionen. Zudem wird eine orale Therapie durchgeführt. In Summe eine mittelgradige Belastung, welche durch Schmerzmittel weitgehend kompensiert wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

Nach einer Fallzahlberechnung, wurden 196 männliche Sprague Dawley Ratten beantragt.

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

Vermeidung: Die in dieser Studie in vivo gesammelten Daten, liefern Erkenntnisse über den molekularen und strukturellen Mechanismus des Krankheitsbildes der Leberzirrhose mit Pfortaderhochdruck, welche in Zukunft mit Hilfe von in-vitro Versuchen weiter untersucht werden können.

Verminderung: Basierend auf bisherigen Erkenntnissen und einer Fallzahlberechnung die kleinstmögliche Anzahl an Tieren beantragt, um eine wissenschaftlich signifikante Aussage treffen zu können.

Verfeinerung: Zur Verfeinerung der Experimente werden international etablierte Modelle und Methodiken angewendet, die Experimente von sachkundigen und erfahrenen Wissenschaftlern durchgeführt, und die Tiere unter standardisierten Bedingungen gehalten. Die Tiere stehen unter

tierärztlicher Aufsicht und die Belastung wird durch Narkose und Schmerzmittelgabe möglichst gering 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

Brustkrebs ist die häufigste Todesursache bei Frauen mit Krebserkrankungen. Obwohl eine chemotherapeutische Behandlung die derzeit wirksamste Therapie für streuende Tumore darstellt, stößt diese jedoch bereits an ihre Grenzen, was in der Entwicklung von Unempfindlichkeiten gegenüber medikamentöse Therapien begründet liegt. Dabei wird heute die wichtige Rolle arzneimittel-verträglicher Tumorzellen immer besser erkannt. Da bereits eine einzelne "erwachende" Chemotherapie-überlebende Tumorzelle ausreicht, um ein Therapieversagen zu verursachen, besteht ein dringender Bedarf, die Schwachstellen dieses Fluchtmechanismus zu identifizieren und besser verstehen zu lernen. Unser Ziel ist es, kombinierte Therapien zu entwickeln, die einen erneuten Tumorausbruch und Streuung verhindern, bevor der Krebs unempfindlich gegenüber medikamentöser Therapie werden kann.

zu erwartender Nutzen: Dieses fachübergreifende und präzisions-medicinische Forschungsvorhaben ist in hohem Maße geeignet um vorklinische Forschungsergebnisse zu liefern, welche für die gezielte Entwicklung von neuen klinischen Studien zur Behandlung therapieresistenter Krebspatienten genutzt werden können.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mäßige Belastung durch Tumorwachstum und das Anfangsstadium der Tumorstreuung.

2. Art und Anzahl der Tiere

7479 Mäuse unterschiedlichen Genotyps im Zeitraum von 5 Jahren.

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

Vermeidung: Zur Vermeidung von Tierversuchen wurden - soweit möglich - Versuche mit Zellkulturen durchgeführt. Diese Ergebnisse sind die Basis für alle weiterführenden Versuche im Tiermodell.

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt, beispielsweise wird ein hochauflösendes bildgebendes Verfahren verwendet, um das Tumorwachstum und die Streuung des Tumors genau zu verfolgen. Die Anzahl der Tiere beruht auf statistischen Berechnungen und langjähriger, internationaler Erfahrung in der Forschung.



Verfeinerung: Die Tumorstudien werden derart verfeinert und durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1. sämtliche Eingriffe werden unter Betäubung durchgeführt; 2. die Tumorversuche werden derart geplant, dass Krankheitserscheinungen so weit als möglich vermieden werden; dazu trägt das verwendete hochauflösende bildgebende Verfahren zu einem großen Maß bei. 3. es wird zur Verminderung der Tierzahl bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt.

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

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

In diesem Projekt werden verschiedene Stammzellen nach einer Rückenmarksverletzung in das verletzte Gewebe transplantiert und die Differenzierung und Integration der jeweiligen transplantierten Zellpopulation im Rattenmodell untersucht. Diese transplantierten Zellen sollen die Läsionsstelle im Rückenmark überbrücken und damit zu einer funktionellen Verbesserung der Symptome beitragen.

zu erwartender Nutzen: Die Ergebnisse, die aus diesem Projekt abgeleitet werden, sollen unser Verständnis über neuroregenerative Prozesse nach Querschnittslähmung weiter vertiefen. Es wird auf dieses Tiermodell zurückgegriffen, da man davon ausgehen kann, dass ähnliche, wenn nicht sogar die gleichen regenerativen Mechanismen wie beim Menschen vorliegen. Ein besseres Verständnis des neuroregenerativen Potentials nach Querschnittslähmung wird schlussendlich zu einer verbesserten therapeutischen Versorgung Betroffener beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Ratten werden einem operativen Eingriff unterzogen, der mit einem für dieses Vorgehen normalen Wundschmerz einhergehen wird. Daher bekommen die Tiere zur postoperativen Versorgung Schmerzmittel zur Schmerzreduktion, sowie Antibiotika, um das Auftreten einer postoperativen Infektion zu verringern. Da eine spontane Wiederherstellung der Blasenfunktion sowie Lokomotion in dem angewandten Querschnittsverletzung-Rattenmodell stattfindet, sind die Tiere in ihren primären Bedürfnissen nur vorübergehend eingeschränkt.

2. Art und Anzahl der Tiere

220 weibliche Fischer 344 Ratten

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

Vermeidung: Die funktionelle Integration von transplantierten Zellen in das Rückenmark kann zum heutigen Stand der Forschung nur in vivo untersucht werden.

Verminderung: Durch die Anwendung standardisierter Protokolle für die Durchführung der chirurgischen Eingriffe und histologischen Auswertungen kann die inter-individuelle Variabilität minimiert werden. Das führt zu einer Reduzierung der minimal notwendigen Anzahl an Tieren um zuverlässige statistische Analysen durchführen zu können.

Verfeinerung: Die Versorgung der Ratten ist auf die optimale Erhaltung des Tierwohls ausgerichtet. Auf post operative Komplikationen kann daher rasch mit entsprechenden Gegenmaßnahmen (zB. Analgesie, zusätzliche hochkalorische Nahrung) reagiert werden. Während der gesamten Versuchsdauer haben die Tiere uneingeschränkten Zugang zu Wasser und Nahrung. Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2025 vorgesehen.

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

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

Zu erwartender Nutzen: Jedes Jahr sterben tausende Menschen an infektiösen Erkrankungen wie beispielsweise bakterieller Pneumonie. Ist die Krankheit einmal ausgebrochen, verbessern therapeutische Maßnahmen den Zustand der Patienten nur minimal. Auch mangelt es an Impfstoffen und Immunadjuvantien, welche das Potential des Immunsystems, Infektionen zu bekämpfen, gezielt nutzen. Da Zellen des angeborenen Immunsystems eine tragende Rolle in der frühen Immunantwort gegen Bakterien spielen, ist es das Ziel dieser Studie, die immunologische Aktivität dieser Zellen zu verbessern um eine effizientere Bekämpfung der Erreger im Zuge von bakteriellen Infektionen zu ermöglichen.

Der zu erwartende Nutzen dieses Projektes ist eine gezielte Verbesserung der angeborenen Immunabwehr, um den Weg für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze zur Behandlung von Infektionskrankheiten zu ebnen.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Infektionen mit der Möglichkeit des Auftretens von Krankheitszeichen. Maximal mittelgradige Belastung der Versuchstiere.

2. Art und Anzahl der Tiere

Maximal 1200 Mäuse unterschiedlichen Genotyps.

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

Vermeidung: Zur Vermeidung der Tierversuche wurden soweit möglich in vitro Versuche mit Zelllinien und wildtyp-Primärzellen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche, sowie in vivo Daten, welche in vorangegangenen Projekten generiert wurden, sind die Basis für alle weiterführenden Versuche.

Verminderung: Zur Verminderung der Tierzahl wird bei sämtlichen Versuchen auf streng standardisierte Versuchsbedingungen Wert gelegt. Die Gesamtanzahl der Tiere ergibt sich aus statistischen Berechnungen, die Befristung der Tiere ist maximal mittelgradig. Zur Reduktion potentieller Streuungen werden nur Tiere aus derselben Tierzuchteinrichtung verwendet. Die Infektionsstudien werden derart durchgeführt, dass Leiden durch folgende Maßnahmen vermindert wird: 1.) Sämtliche Eingriffe werden unter Narkose durchgeführt. 2.) Die Infektionen werden derart geplant, dass Krankheitssymptome so weit wie möglich vermieden werden (z.B. Wahl des Zeitpunkts für die Endpunkt-Analyse, Wahl der Dosis des Inoculums).

Verfeinerung: Sämtliche Eingriffe an Tieren werden so rasch wie möglich nach vorhergehender Anästhesie durchgeführt. Die Tierhaltung erfolgt unter standardisierten Bedingungen. Zuchttiere erhalten zudem Utensilien zur Nestbildung wie z.B. Plätze zum Verstecken und Papier zur Nestbildung (environmental enrichment). Bei Infektions-Experimenten wird der Zustand der Versuchstiere alle 8-12h auf Anzeichen von Belastungen überprüft. Bei Auftreten von Belastungen wurden klare Abbruchkriterien erstellt.

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: Neue Erkenntnisse im Zusammenspiel des körpereigenen Hormonsystems der Blutdruck, - Salz — und Wassersteuerung in Phasen kritischer Erkrankung und akutem Lungenversagen mit der Absicht, vorbeugend und/oder therapeutisch in dessen Steuerung eingreifen zu können. Es wird ein künstliches akutes Lungenversagen in der Maus erzeugt und die Reaktion des Hormonsystems untersucht.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Experimente sind als Akutexperimente konzipiert, da Blut und Lungengewebe entnommen werden müssen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden Wild-Typ C57BL/6 Mäuse beider Geschlechter zwischen 20-25 Gramm in gleicher Anzahl verwendet. In Summe ergeben sich für alle geplanten Gruppen 215 Tiere.

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

Vermeidung: Aufgrund der Schwere des untersuchten Krankheitsbildes und der Komplexität des untersuchten Hormonsystems („Renin-Angiotensin System“) müssen die Versuche in lebenden Organismen durchgeführt werden. Das Schädigungsmodell inklusive der hormonellen Antwort lässt sich in vitro nicht simulieren.

Verminderung: Die Tiere werden kontinuierlich tief narkotisiert um jedes Leid und sämtliche Schmerzen zu verhindern. Die Erwartung an den Nutzen des Experiments ist hoch, und wird daher als wertvoll angesehen, um den Verlauf und die Behandlung des durch künstliche Beatmung verursachten Lungenschadens beim akuten Lungenversagen noch besser zu verstehen.

Hochempfindliche Messmethoden werden verwendet um aus jedem Experiment möglichst detaillierte Informationen zu erhalten. Durch sorgfältige Planung und Standardisierung der Methoden kann die Fallzahl klein gehalten werden. Die geringste Anzahl an Tieren, die für ein aussagekräftiges Ergebnis notwendig ist wird verwendet werden.

Verfeinerung: Die Experimente finden durch geschultes Personal und unter Supervision von Experten statt.

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

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

Es ist bekannt, dass bestimmte Areale des Hirnstamms eine wichtige Rolle bei den Begleitsymptomen einer Allgemeinerkrankung spielen, wie z.B. Schmerzen, reduzierte Aktivität, Lustlosigkeit, sozialer Rückzug und verminderter Appetit. Nervenzellen in diesen Hirnregionen werden durch krankheitsauslösende Substanzen, wie etwa Bakterienbestandteile, aktiviert. Der zugrundeliegende Mechanismus ist bisher unklar. Von anderen Gehirnregionen und vom Rückenmark weiß man, dass dort Entzündungen des Nervengewebes pathologische Schmerzen und depressionsartige Zustände hervorrufen können. In dieser Studie soll nun im Tiermodell untersucht werden, ob das Auslösen einer Allgemeinerkrankung zu einer Entzündung in diesen Hirnstammgebieten führt. Außerdem soll getestet werden, ob die Aktivierung von Entzündungszellen in diesen Hirnarealen gesunder Ratten zu den bekannten Begleitsymptomen einer Allgemeinerkrankung führt.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie untersucht zum ersten Mal den Zusammenhang zwischen Entzündungen bestimmter Gehirnregionen und den Symptomen einer Allgemeinerkrankung. Diese Ergebnisse sollen dazu beitragen, den Zusammenhang zwischen Krankheit, dem krankheitsbedingt veränderten Verhalten und der Funktion von Entzündungszellen, besser zu verstehen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden kurzen chirurgischen Eingriffen in tiefer Narkose und begleitender Analgesie unterzogen. Bei einem Teil der Tiere werden etablierten Modelle zur Auslösung allgemeiner Erkrankungszustände verwendet, die über viele Jahre ständig verfeinert wurden, um die Belastung möglichst gering zu halten. Der Schweregrad der Versuche wird maximal mittel sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 167 Ratten benötigt.

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

Vermeidung: Das Ziel dieser Studie kann durch Experimente in Zellkulturen oder Organpräparaten nicht erreicht werden. Deshalb ist die Untersuchung im lebenden Tier notwendig.

Verminderung: Die Standardisierung aller Parameter garantiert eine verminderte Variabilität der Daten, und somit eine geringere Anzahl der für die Experimente benötigten Ratten. Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert.

Verfeinerung: Um den Stress der Tiere zu minimieren, werden sie ständig beobachtet, um mögliches Leiden rechtzeitig zu erkennen, zu beenden oder zu reduzieren. Die chirurgischen Eingriffe werden unter fachgerechter tiefer Narkose durchgeführt.



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

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

Endometriose ist eine Krankheit, die bis zu 10% der Frauen betrifft und chronische Schmerzen und eine verminderte Fruchtbarkeit verursachen kann. Als Endometriose wird das Vorkommen von endometriumähnlichem Gewebe außerhalb der Gebärmutter bezeichnet. Die Pathogenese der einzelnen Formen der Endometriose ist uneinheitlich und zum derzeitigen Zeitpunkt nicht vollständig klar. Häufig empfiehlt sich eine Kombinationstherapie aus medikamentöser und chirurgischer Behandlung, um Rezidive zu vermeiden.

zu erwartender Nutzen: Übergeordnetes Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, auf Basis neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse neue innovative Behandlungsansätze für Endometriose zu entwickeln, die zu einer Verbesserung der Lebensqualität von Frauen führt.

zu erwartender Schaden für die Tiere: In dieser Studie soll ein gut charakterisiertes, hormonell induziertes Endometriose-Mausmodell (Entfernung der Ovarien/hormonelle Injektionen/Hormonimplantation/intraperitoneale Injektion) verwendet werden. Durch einsetzen von definierten Abbruchkriterien wird der zu erwartende Schaden der Tiere als gering bis maximal mittelgradig eingestuft.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 1.300 Mäuse beantragt.

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

Vermeidung: Um Medikamente gegen Erkrankungen zu testen, ist es erforderlich auf Tiermodelle zurück zu greifen. Durch sorgfältige Literaturrecherche und Experimentalplanung werden nur medizinisch-relevante Versuche durchgeführt. Durch den Einsatz etablierter Techniken wie Zellkultur, in-vitro oder ex vivo Experimenten werden Tierversuche in unserem Labor auf ein Minimum reduziert.

Verminderung: Jedes Experiment wird unter standardisierten und international anerkannten Versuchsbedingungen durchgeführt, um 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. Für die Fallzahlberechnungen steht ein Statistiker beratend zur Verfügung.

Verfeinerung: Tierhaltung und Methodik werden unter standardisierten Bedingungen durchgeführt, so dass die biologische Variabilität der Ergebnisse auf ein Minimum reduziert wird. Die Mäuse werden von ausgebildeten Tierpflegern/Tierpflegerinnen gepflegt und von Tierärzten/Tierärztinnen überwacht. Die Handhabung der Mäuse erfolgt in Übereinstimmung mit der bestehenden Standardlaborpraxis, sodass die Belastung für die Tiere auf ein Minimum reduziert wird.

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

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

Auf Grund der anatomischen Gegebenheiten bieten die Lungen eine enorme Oberfläche, die schon für die Applikation von lokal wirksamen Medikamenten genutzt wird. Aber auch für die systemische Verabreichung könnte dieser Weg interessant sein. Vor allem, weil im Gegensatz zu vielen traditionellen Verabreichungswegen, wie zum Beispiel der oralen Aufnahme, der Weg zum Blutkreislauf durch die Alveolarzellen sehr kurz ist und andererseits die Substanzen in diesen Zellen kaum verändert werden. Die Pharmakokinetik von inhalierten Medikamenten ist komplex und noch unzureichend erforscht. Eine große Rolle in diesem System sollen die Transporter aus der Familie der ABC-Transporter (adenosine triphosphate-binding cassette) spielen; insbesondere gilt dies für MRP1 (multidrug resistance-associated protein 1, ABCC1), P-gp (P-glykoprotein, ABCB1) und BCRP (breast cancer resistance protein, ABCG2). Ziel dieses Projektes ist es die Bedeutung von ABC-Transportern für die komplexe Pharmakokinetik der inhalativen Verabreichung zu untersuchen und möglichst exakt zu beschreiben. Als Methodik zur Bestimmung der Pharmakokinetik sollen Positronenemissions-Tomographie(PET)-Scans dienen. Die erhaltenen Bilder erlauben es einen sogenannten Tracer (eine beliebige Substanz, an die ein radioaktives Nuklid gekoppelt wurde) im Körper über die Zeit zu verfolgen. So kann die Pharmakokinetik von inhalierten Substanzen in der Lunge bestimmt werden

In den ersten beiden Teilen dieses Projektes haben wir einerseits erfolgreich den Einfluss von ABCC1 untersucht, beziehungsweise andererseits stehen die Untersuchungen von ABCB1 auf die Lungenverteilung von radioaktiv markierten Modell-Substraten kurz vor dem Abschluß. Es ist uns gelungen, eine Methode zur inhalativen Verabreichung des Radiotracers als Aerosol mittels eines sogenannten MicroSprayer™ (Penn-Century Inc.) zu etablieren und die erste Publikation des Projektes ist in der Vorbereitung. In vorliegendem Projekt soll ein weiteres Transport Protein, das in der Lunge stark exprimiert wird, untersucht werden, nämlich ABCG2. Es sollen zwei verschiedene Radiotracer getestet werden, die von ABCG2 transportiert werden, nämlich [11C]Tariquidar und [11C]Erlotinib. Es sollen zwei verschiedene Radiotracer untersucht werden, da nicht gesichert ist, ob die Lungenverteilung von jedem ABCG2 Substrat in gleichem Ausmaß von ABCG2 beeinflusst wird. Beide Radiotracer werden zusätzlich auch von ABCB1 als Substrate erkannt. Während der Mensch nur einen ABCB1 Transporter hat, gibt es in Ratten zwei ABCB1 Transporter namens ABCB1A und ABCB1B. Die beiden Transporter haben in der Ratte eine sehr ähnliche Funktion, unterscheiden sich aber in ihrer Gewebslokalisierung. Es ist allerdings bis dato nicht klar, ob in der Rattenlunge beide Transporter oder nur einer der beiden eine Rolle spielt.

Deshalb soll die Lungenverteilung von [11C]Tariquidar und [11C]Erlotinib untersucht werden, wenn ABCG2 fehlt (Abcg2<sup>-/-</sup> Ratten) und mit Ratten verglichen werden, bei denen alle Transporter vorhanden sind (wild-typ Ratten, Kontrolltiere). Um die Rolle des Einflusses von ABCB1

in der Lungenverteilung von ABCG2 untersuchen zu können, wird zuerst angenommen, dass ABCB1A der wichtigere ABCB1 Transporter in der Rattenlunge ist. Deshalb sollen Ratten untersucht werden, die gentechnisch so verändert wurden, dass sie entweder kein ABCB1A (Abcb1a(-/-)) oder kein ABCB1A und kein ABCG2 (Abcb1a(-/-)Abcg2(-/-)) ausbilden. Der Unterschied in der Lungenverteilung von [11C]Tariquidar und [11C]Erlotinib zwischen Abcb1a(-/-) Ratten und Abcb1a(-/-)Abcg2(-/-) Ratten soll die spezifische Rolle von ABCG2 darstellen. Als zweite Strategie sollen Ratten verwendet werden, die gentechnisch so verändert wurden, dass sie weder ABCB1A noch ABCB1B (Abcb1a/b(-/-)) ausbilden. Um in diesen Abcb1a/b(-/-) Ratten den Beitrag von ABCG2 zur Lungenverteilung von [11C]Tariquidar und [11C]Erlotinib zu untersuchen, sollen PET Scans mit und ohne Vorbehandlung mit zwei verschiedenen ABCG2-Hemmstoffen durchgeführt werden. Zwei verschiedene Hemmstoffe deshalb, weil zurzeit nicht bekannt ist, welche der beiden Substanzen besser zu Hemmung von ABCG2 in der Lunge geeignet ist. Um abzuschätzen, ob [11C]Tariquidar und [11C]Erlotinib direkt noch in der Lunge metabolisiert werden, sollen zwei weitere Gruppen von wild-typ Ratten untersucht werden, bei denen aber kein PET-Scan durchgeführt wird.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

160 Ratten

Zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen ist, einen tieferen Einblick darauf zu haben, wie ABCG2 die Pharmakokinetik von Medikamenten die über den Atmungstrakt verabreicht werden beeinflusst und wie ABCG2 eine Verteilung in der Lunge über andere Verabreichungswege steuert. Diese Erkenntnisse könnten zukünftig für die Therapie von diversen Erkrankungen der Lunge großen Einfluss haben.

Zu erwartender Schaden: Der größte zu erwartende Schaden ist einerseits der Tod der Tiere. Andererseits sollen alle Eingriffe schmerzfrei unter Anästhesie durchgeführt werden. Dies betrifft auch die Euthanasie, die in derselben Narkose erfolgt. Bei zwei Versuchsgruppen (40 Tiere) wird zuerst ein sogenannter Inhibitor intravenös verabreicht. Weil hier die Manipulationen für die Versuchstiere annähernd gleich sind, wie die, die für eine Anästhesie nötig sind und weil damit die nötige Narkosezeit signifikant herabgesetzt werden kann, wird diese Verabreichung nicht in Narkose durchgeführt.

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

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

Reduction-Verminderung: Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersagbar. Die Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist aber eine der Experimentalmethoden, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt.

Refinement-Verfeinerung: Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Ratten, 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. "enviromental enrichment") und physischen Leid (z. B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können. Speziell für die Blutabnahme, die Applikationen und die Narkose von Ratten ist langjährige Expertise vorhanden.

Eine rückblickende Bewertung ist nicht vorgesehen.

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

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

Der Vorteil der molekularen Bildgebung ist, 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 sich im Zielgewebe anreichert. Die Bezeichnung dafür ist „tracer“. Je nachdem welche bildgebenden Moleküle detektiert 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 Anreicherung des „tracers“ in 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 (Marker) 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 häufig ein 1,2,4,5-Tetrazin. Die darauffolgende Reaktion dieser beiden Substanzen im lebenden Organismus ermöglicht das Abbilden und Beobachten des Zielgewebes im Körper mittels PET.

In bisherigen Experimentalreihen, welche in enger Zusammenarbeit mit verschiedenen in- und ausländischen Forschungsgruppen durchgeführt wurden, sind verschiedene radioaktiv markierte Tetrazine („Click Bausteine“) untersucht und entwickelt worden, welche anschließend erfolgreich für die bioorthogonale Bildgebung mittels PET verwendet werden konnten. In einer Weiterentwicklung der bisherigen Strategie soll die bioorthogonale Reaktion nicht zur Verknüpfung von Bausteinen verwendet werden, sondern zum gezielten Spalten einer Bindung („Click to Release“). Dabei wird ein speziell modifiziertes TCO eingesetzt („release-TCO“), welches mit einem Wirkstoff („Nutzlast“) chemisch verbunden ist. Durch einen Aktivator (1,2,4,5-Tetrazin), welcher mit dem „release-TCO“ schnell und selektiv reagiert, wird die „Nutzlast“ vom „release-TCO“ abgespalten und kann direkt am Zielort wirken. Für den Erfolg der angestrebten Strategie ist die Bestimmung des Biodistributions-Profiles und der Tumoranreicherung des „release-TCO“-„Nutzlast“-Komplexes und des Aktivators essentiell. In diesem beantragten Tierversuchsprojekts sollen zwei bestimmte Aktivatoren untersucht werden. Diese binden sich spezifisch an das prostata-spezifische Membranantigen (PSMA). PSMA ist ein relativ neu entdeckter Tumormarker, der sich vor allem dann ausbildet, wenn ein Prostata-tumor beginnt zu metastasieren. Die Wahl auf PSMA als Ziel fiel auch deswegen, weil es vor allem in therapieresistenten Prostatakarzinomen zu finden ist.

Konkret sollen zwei Maustumormodelle miteinander verglichen werden. Ein Modell bildet PSMA aus und eines nicht. Beide Aktivatoren sollen über den Komplexbildner DOTA mit dem Radionuklid [68Ga] markiert werden. Dies ermöglicht einerseits das Biodistributionsprofil im Körper der Tiere, als auch die Anreicherung im Tumor mittels PET zu untersuchen. Postmortal sollen dann diverse Proben gewonnen werden, die Aufschluss über die Ausscheidungskinetik als auch über die metabolische Stabilität geben sollen. Sind die Erkenntnis aus diesem Tierversuchsprojekt vielversprechend, dann soll auf ähnliche Art und Weise der „release-TCO“-„Nutzlast“-Komplex und weitergehend der ganze „Click to Release“ untersucht werden.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

80 Mäuse

Zu erwartender Nutzen: Das Ziel dieses Tierversuchsexperiment ist es neuartige Nachweis-, als auch Therapiemöglichkeiten, für aggressive Formen des Prostatakrebs zu finden. Obwohl es sich noch um Grundlagenforschung handelt, sind die Erkenntnisse, die aus diesem Experiment erhalten werden sollen, für die weitere Forschung wichtig.

Zu erwartender Schaden: Eine Grundvoraussetzung für dieses Projekt ist es, zwei verschiedene Tumor-Mausmodelle zu haben. Dies ist ein Standardverfahren, aber es muss unter sorgfältiger Beobachtung und ausreichender Sachkenntnis durchgeführt werden, denn solche Modelle können sehr leicht zu Schmerzen führen. Alle anderen schmerzhaften Manipulationen inklusiver der Euthanasie erfolgen in Narkose.

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

Replacement-Vermeidung: Für das in diesem Versuch angestrebte Erkenntnisziel gibt es derzeit keine andere versuchstiersparende Alternative, weil Tumore als Gesamtheit nur in einem lebenden Organismus untersucht werden können.

Reduction-Verminderung: Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersagbar. Die Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist aber eine der Experimentalmethoden, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt.

Refinement-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 physischen Leid (z. B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere

dienen können. Speziell für die Blutabnahme, die Applikationen und die Narkose von Mäusen ist langjährige Expertise vorhanden.

Eine rückblickende Bewertung ist nicht vorgesehen.



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

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

Nach Verletzungen an den Armen oder Beinen ist oft ein Eingriff zur Wiederherstellung von Muskel- und Nervenfunktion notwendig. Der „Selektive Nerventransfer“ ist eine Technik, die sich aufgrund der raschen Regenerationszeiten der Muskelfunktion der Patientinnen etabliert hat. Das Ziel der Studie ist es, die Effekte dieser Methode zu untersuchen, um dann diese Therapie für zukünftige Anwendungen zu verbessern. Es wurden bereits sehr gute Ergebnisse über positive Effekte auf den Muskel nach einem „selektiven Nerventransfer“ veröffentlicht. In diesem Projekt werden die gleichen Effekte, jedoch nach mehreren „selektiven Nerventransfers“, untersucht.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Narkose operiert und weisen danach geringe Defizite der Bewegung der vorderen Extremität auf.

2. Art und Anzahl der Tiere

135 Ratten

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

Die Untersuchung der motorischen Einheit ist aufgrund ihrer Komplexität nur im lebenden Organismus möglich. Zur Beurteilung der einzelnen Abschnitte der motorischen Einheit müssen Untersuchungen in mehreren Gruppen mit verschiedenen Techniken angewandt werden. Um die spinalen Effekte dieser Nerventransfers exakt untersuchen zu können, sind spezifische Nervenfärbungen erforderlich. Diese können nur im lebenden Organismus durchgeführt werden, da die Farbstoffe durch aktive Stoffwechselprozesse entlang der Nerven zum Rückenmark transportiert werden müssen. Das spezifische Färbemuster im Rückenmark und den Nervenknötchen erlaubt wichtige Rückschlüsse auf den Grad der Regeneration.

Vermeidung: Nachdem die Untersuchung der motorischen Einheit nur im lebenden Organismus möglich ist, kann in diesem Fall der Tierversuch nicht durch in-vitro Methoden ersetzt werden.

Verminderung: Aufgrund der in bisherigen Arbeiten erhobenen Daten, kann bei diesem Versuch auf Kontrollgruppen (Placebo-Operation) verzichtet werden. Die Gruppen wurden auf die minimal erforderliche Tierzahl reduziert, die zu einem aussagekräftigen statistischen Ergebnis führen. Standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen sollen die Streuung minimieren. Die chirurgischen Eingriffe werden durch einen erfahrenen Operateur durchgeführt und erfolgen unter Vollnarkose mit adäquater Analgesie. Die Tiere werden täglich auf Zeichen von Stress, Schmerz und Wundinfektion kontrolliert, um Krankheitszeichen, Schmerzen und jegliche

Verschlechterungen des Allgemeinzustandes der Tiere frühzeitig erkennen und ggf. behandeln zu können.

Verfeinerung: Sämtliche Prozeduren wurden im Vorfeld und mit anerkannten Experten auf dem Feld der Neurowissenschaften evaluiert und verfeinert, einige davon bereits in Vorstudien erfolgreich angewandt.

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

Projektziele: Erwerb bzw. Erhaltung/Verbesserung der beruflichen Fähigkeiten von Landwirten/Landwirtinnen zur Durchführung von Rinderbesamungen des eigenen landwirtschaftlichen Betriebes (Künstliche/Instrumentelle Besamung).

- Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten zur Insemination weiblicher Rinder des eigenen Bestandes durch den Tierhalter/die Tierhalterin.
- Der zu erwartende Schaden für die Tiere kann aus veterinärfachlicher Sicht als äußerst gering bewertet werden, zumal die Technik der Insemination in einem ersten Schritt theoretisch im Rahmen eines Vortrages demonstriert wird, daraufhin eine praktische Einführung und Übung an einem Kunststoff – Rindermodell und schlussendlich an Schlachtpräparaten des weiblichen Harn- und Geschlechtsapparates erfolgt und erst dann das selbstständige Üben am lebenden Tier unter Einhaltung sämtlicher Sicherheits- und Hygienemaßnahmen unter ständiger veterinärmedizinischer Aufsicht erfolgt. Somit kann die Belastung für das Einzeltier minimiert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: 24 je Kurs

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

- Vermeidung: Trotz eingehender Demonstration der Technik zunächst anhand von Bildmaterialien, sowie dem oben beschriebenen Übungsmodell und danach an Schlachtpräparaten, ist eine praxis- und tierschutzkonforme Ausbildung nur an lebenden Rindern erlernbar, eine grundsätzliche Vermeidung des Tierversuches ist daher nicht möglich.
- Verminderung: Generell werden vom Verwender immer mindestens die doppelte Anzahl von Übungstieren als Kursteilnehmer/Kursteilnehmerinnen bereitgestellt (Verhältnis 2:1). Somit müssen zwar mehr Übungstiere zur Verfügung stehen, es wird jedoch immer nur an der Hälfte der Tiere (12 Rinder) geübt. Dadurch wird sichergestellt, dass einer Tiergruppe immer eine Woche zur Regeneration zur Verfügung steht und die Belastung für das Einzeltier durch diese Maßnahme letztendlich auf ein minimales und

akzeptables Maß reduziert werden kann. Auf die Verminderung der Belastung der einzelnen Tiere durch die bereits mehrmals genannten Maßnahmen (Übungsmodell, Schlachtpräparate) sei nochmals explizit hingewiesen.

- Verfeinerung/Verbesserung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller Ausbildungs- und Übungsschritte, die erforderlichenfalls notwendigen medizinischen Behandlungen (z.B. Vaginalspülungen) bzw. Nachsorgemaßnahmen von tierärztlicher Seite her erreicht. Alle diese Maßnahmen werden vom diensthabenden Veterinärmediziner taggleich dokumentiert (Tagesprotokoll), abgelegt und stehen dem leitenden und diensthabenden Tierarzt, dem Verwender sowie der mit der Unterbringung und Pflege befassten Personen zur Verfügung. Sollte sich herausstellen, dass ein Tier aufgrund seines Gesundheitszustandes nicht mehr für weitere Übungen herangezogen werden kann, wird das betroffene Rind geeignet markiert, von der Übungsgruppe entfernt, gesondert aufgestellt und erforderlichenfalls tierärztlich versorgt. Zudem erfolgt eine mündliche Anweisung an das Pflegepersonal sowie eine schriftliche Mitteilung an den Verwender. Ebenfalls verringert die zunehmende Fertigkeit der Teilnehmer/Teilnehmerinnen und die Gewährleistung der tierärztlichen Aufsicht/Anleitung die Belastung der Kühe mit Fortdauer des Kurses, durch eine leistungskonforme Fütterung durch das sachkundige Personal wird zudem eine zufriedenstellende Kondition der Rinder gewährleistet.

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

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

Ziel der Pilotstudie ist die Gewinnung von Eileiterflüssigkeit und den zugehörigen embryonalen Teilungsstadien beim Rind, um aus der Entwicklungsdynamik im Eileiter die Stadien-gerechten Bedürfnisse der Embryonen für die in vitro-Kultur zu ermitteln.

zu erwartender Nutzen: Weltweit werden zum ersten Mal mehr (doppelt so viele) Embryonen über in vitro-Kulturgewonnen wie nach Superovulationsbehandlung beim Rind. Dennoch ist die Entwicklung der Embryonen in vitro nicht mit der Entwicklung jener Embryonen vergleichbar, die sich im Tier entwickeln. Die Studie stellt einen Teilschritt auf dem Weg zur Ermittlung jener embryotrophen Substanzen dar, die essentiell für eine kompetente Embryoentwicklung sind.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei den Tieren wird die Eileiterflüssigkeit mit Hilfe einer minimalinvasiven Methode gespült und die Embryonen mittels einer Routinetechnik aus der Gebärmuttergewonnen. Für dieses Projekt werden die Tiere mittels Hormonen synchronisiert und besamt. Die Injektion kann vereinzelt zu lokalen Schwellungen und erhöhter Wärme führen. Der Eingriff findet unter Epiduralanästhesie statt.

2. Art und Anzahl der Tiere

15 Rinder (*Bos taurus*)

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

Vermeidung: Da das Ziel dieses Projekts in der Erlangung von Erkenntnissen über physiologische Abläufe im Tier, Molekülgruppen und Kulturbedingungen besteht, kann die Verwendung lebender Tiere nicht durch andere Methoden ersetzt werden.

Verminderung: Es handelt sich um eine Machbarkeitsstudie. Die Mindestanzahl an Tieren wurde so gewählt, dass aussagekräftige Ergebnisse erreicht werden können.

Verfeinerung: Zur Vermeidung von unnötigem Stress und unnötigen Schmerzen erfolgen die Eingriffe zur Eileiter und Embryospülung unter Epiduralanästhesie. Alle Maßnahme werden von Fachpersonen durchgeführt. Die Tiere werden zur Vornahme des Eingriffs kurzfristig in den Fixierstand gebracht, davor und danach sind sie in ihrer gewohnten Umgebung und im gewohnten Herdenverband.

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

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

Chronische Schmerzpatienten leiden vor allem unter den emotionalen Aspekten des Schmerzes, und eine angemessene Therapie ist in vielen Fällen noch nicht möglich. Ein Grund dafür ist, dass Tiere, die in präklinischen Studien eingesetzt werden, oft nur geringe emotionale Antworten in klinisch-relevanten Schmerzmodellen zeigen. Die Gründe für diesen Unterschied sind noch unklar. Eine mögliche Erklärung ist, dass Schmerzmodelle in Labortieren nur kurzlebig sind, während Schmerzpatienten psychologische Begleiterkrankungen wie zunehmende Ängstlichkeit oder Depressionen oft erst während längerer Schmerzdauer entwickeln. Um diese emotionalen Aspekte des chronischen Schmerzes besser untersuchen zu können, ist es wichtig, zu dokumentieren, mit welchem Zeitverlauf sich diese Begleiterkrankungen in den Tieren entwickeln. Deshalb werden in dieser Studie Ratten klinisch-relevanten Schmerzmodellen unterzogen und das Verhalten dieser Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten dokumentiert.

zu erwartender Nutzen: Diese Studie untersucht zum ersten Mal, wie sich emotionale Begleiterkrankungen pathologischer Schmerzen im Tiermodell über die Zeit entwickeln. Diese Ergebnisse sollen dazu beitragen, die zugrundeliegenden Wirkungsmechanismen im Tiermodell gezielter untersuchen zu können, um letztlich Behandlungsstrategien für Patienten zu entwickeln, die unter solchen Begleiterkrankungen chronischer Schmerzen leiden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden etablierten Schmerzmodellen unterzogen, die über viele Jahre ständig verfeinert wurden, um die Belastung möglichst gering zu halten. Dazu wird ein Teil der Tiere einem kurzen chirurgischen Eingriff in tiefer Narkose unterzogen. Die restlichen Tiere erhalten Injektionen unter kurz dauernder Anästhesie. Der Schweregrad der Versuche wird maximal mittel sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden 240 Ratten benötigt.

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

Vermeidung: Das Ziel dieser Studie ist nur durch die Beobachtung des sich verhaltenden Tiers möglich.

Verminderung: Die Standardisierung aller Parameter garantiert eine verminderte Variabilität der Daten, und somit eine geringere Anzahl der für die Experimente benötigten Ratten. Die Anzahl der Tiere wurde auf das statistisch absolut erforderliche Mindestmaß reduziert.

Verfeinerung: Um den Stress der Tiere zu minimieren, werden die Tiere der Testumgebung so kurz wie möglich ausgesetzt. Die Tiere werden ständig beobachtet, um mögliches Leiden rechtzeitig zu erkennen, zu beenden oder zu reduzieren. Die chirurgischen Eingriffe werden unter fachgerechter tiefer Narkose 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

Paracetamol ist das meistverwendete Analgetikum. Es hat jedoch relevante Nebenwirkungen, auch sein Wirkmechanismus ist seit langem nicht hinreichend aufgeklärt. Ionenkanäle mit Leitfähigkeit für Kalium, insbesondere der spannungsabhängigen KV7-Familie reagieren auf Metaboliten, die bei Einnahme von Paracetamol entstehen. Die Wirkung von Analgetika ist insbesondere in Entzündungszuständen relevant, daher neben nativen Geweben und entzündete Gewebe untersucht. Zudem wird der Wirkort untersucht indem systemische Applikation mit intrathekaler Applikation verglichen wird.

Der zu erwartende Nutzen ist, dass aufgeklärt wird welchen Anteil KV7-Kanäle zur Analgesie durch Paracetamol beitragen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Induktion eines Entzündungsmodells mit Carrageenan und intrathekale Applikation von KV7-Modulatoren unter Vollnarkose. Testung der mechanischen und thermischen Schmerzschwellen.

2. Art und Anzahl der Tiere

196 Sprague-Dawley (OFA) Ratten.

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

Vermeidung: Zur Verminderung, Vermeidung und Linderung jeglichen Leidens von der Geburt bis zum Tod werden, wie in der Versuchsplanung beschrieben, die moderne experimentelle Methoden eingesetzt sowie angemessene Methoden zur Schmerzlinderung angewendet.

Verminderung: Die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen wurden durch genaue Fallzahlplanung bei gleichzeitig akzeptabler Standard-Abweichung (Power-Analyse) auf die minimal erforderliche Anzahl reduziert.

Verfeinerung: Durch standardisierte Tierhaltung und Versuchsbedingungen soll die biologische Streuung der Ergebnisse minimiert 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

Projektziele: Erwerb bzw. Erhaltung/Verbesserung der beruflichen Fähigkeiten von Landwirten/Landwirtinnen zur Durchführung von Rinderbesamungen des eigenen landwirtschaftlichen Betriebes (Künstliche/Instrumentelle Besamung).

- Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten zur Insemination weiblicher Rinder des eigenen Bestandes durch den Tierhalter/die Tierhalterin.
- Der zu erwartende Schaden für die Tiere kann aus veterinärfachlicher Sicht als äußerst gering bewertet werden, zumal die Technik der Insemination in einem ersten Schritt theoretisch im Rahmen eines Vortrages demonstriert wird, daraufhin eine praktische Einführung und Übung an einem Kunststoff – Rindermodell und schlussendlich an Schlachtpräparaten des weiblichen Harn- und Geschlechtsapparates erfolgt und erst dann das selbstständige Üben am lebenden Tier unter Einhaltung sämtlicher Sicherheits- und Hygienemaßnahmen unter ständiger veterinärmedizinischer Aufsicht erfolgt. Somit kann die Belastung für das Einzeltier minimiert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: 24 je Kurs

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

- Vermeidung: Trotz eingehender Demonstration der Technik zunächst anhand von Bildmaterialien, sowie dem oben beschriebenen Übungsmodell und danach an Schlachtpräparaten, ist eine praxis- und tierschutzkonforme Ausbildung nur an lebenden Rindern erlernbar, eine grundsätzliche Vermeidung des Tierversuches ist daher nicht möglich.
- Verminderung: Generell werden vom Verwender immer mindestens die doppelte Anzahl von Übungstieren als Kursteilnehmer/Kursteilnehmerinnen bereitgestellt (Verhältnis 2:1). Somit müssen zwar mehr Übungstiere zur Verfügung stehen, es wird jedoch immer nur an der Hälfte der Tiere (12 Rinder) geübt. Dadurch wird sichergestellt, dass einer Tiergruppe immer eine Woche zur Regeneration zur Verfügung steht und die Belastung für das Einzeltier durch diese Maßnahme letztendlich auf ein minimales und

akzeptables Maß reduziert werden kann. Auf die Verminderung der Belastung der einzelnen Tiere durch die bereits mehrmals genannten Maßnahmen (Übungsmodell, Schlachtpräparate) sei nochmals explizit hingewiesen.

- Verfeinerung/Verbesserung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller Ausbildungs- und Übungsschritte, die erforderlichenfalls notwendigen medizinischen Behandlungen (z.B. Vaginalspülungen) bzw. Nachsorgemaßnahmen von tierärztlicher Seite her erreicht. Alle diese Maßnahmen werden vom diensthabenden Veterinärmediziner taggleich dokumentiert (Tagesprotokoll), abgelegt und stehen dem leitenden und diensthabenden Tierarzt, dem Verwender sowie der mit der Unterbringung und Pflege befassten Personen zur Verfügung. Sollte sich herausstellen, dass ein Tier aufgrund seines Gesundheitszustandes nicht mehr für weitere Übungen herangezogen werden kann, wird das betroffene Rind geeignet markiert, von der Übungsgruppe entfernt, gesondert aufgestellt und erforderlichenfalls tierärztlich versorgt. Zudem erfolgt eine mündliche Anweisung an das Pflegepersonal sowie eine schriftliche Mitteilung an den Verwender. Ebenfalls verringert die zunehmende Fertigkeit der Teilnehmer/Teilnehmerinnen und die Gewährleistung der tierärztlichen Aufsicht/Anleitung die Belastung der Kühe mit Fortdauer des Kurses, durch eine leistungskonforme Fütterung durch das sachkundige Personal wird zudem eine zufriedenstellende Kondition der Rinder gewährleistet.

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

Projektziele: Erwerb bzw. Erhaltung/Verbesserung der beruflichen Fähigkeiten von Landwirten/Landwirtinnen zur Durchführung von Rinderbesamungen des eigenen landwirtschaftlichen Betriebes (Künstliche/Instrumentelle Besamung).

- Der zu erwartende Nutzen liegt in der praxistauglichen Aneignung der Fertigkeiten zur Insemination weiblicher Rinder des eigenen Bestandes durch den Tierhalter/die Tierhalterin.
- Der zu erwartende Schaden für die Tiere kann aus veterinärfachlicher Sicht als äußerst gering bewertet werden, zumal die Technik der Insemination in einem ersten Schritt theoretisch im Rahmen eines Vortrages demonstriert wird, daraufhin eine praktische Einführung und Übung an einem Kunststoff – Rindermodell und schlussendlich an Schlachtpräparaten des weiblichen Harn- und Geschlechtsapparates erfolgt und erst dann das selbstständige Üben am lebenden Tier unter Einhaltung sämtlicher Sicherheits- und Hygienemaßnahmen unter ständiger veterinärmedizinischer Aufsicht erfolgt. Somit kann die Belastung für das Einzeltier minimiert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Art: Rind, Kühe

Anzahl: 35 je Kurs

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

- Vermeidung: Trotz eingehender Demonstration der Technik zunächst anhand von Bildmaterialien, sowie dem oben beschriebenen Übungsmodell und danach an Schlachtpräparaten, ist eine praxis- und tierschutzkonforme Ausbildung nur an lebenden Rindern erlernbar, eine grundsätzliche Vermeidung des Tierversuches ist daher nicht möglich.
- Verminderung: Generell werden vom Verwender immer mindestens die doppelte Anzahl von Übungstieren als Kursteilnehmer/Kursteilnehmerinnen bereitgestellt (Verhältnis 2:1). Somit müssen zwar mehr Übungstiere zur Verfügung stehen, es wird jedoch immer nur an der Hälfte der Tiere (12 Rinder) geübt. Dadurch wird sichergestellt, dass einer Tiergruppe immer eine Woche zur Regeneration zur Verfügung steht und die Belastung für das Einzeltier durch diese Maßnahme letztendlich auf ein minimales und

akzeptables Maß reduziert werden kann. Auf die Verminderung der Belastung der einzelnen Tiere durch die bereits mehrmals genannten Maßnahmen (Übungsmodell, Schlachtpräparate) sei nochmals explizit hingewiesen.

- Verfeinerung/Verbesserung: Dieses Ziel wird durch die klinische und gynäkologische Eingangsuntersuchung der Übungstiere vor Kursbeginn, die Anleitung und die ständige Aufsicht/Überwachung aller Ausbildungs- und Übungsschritte, die erforderlichenfalls notwendigen medizinischen Behandlungen (z.B. Vaginalspülungen) bzw. Nachsorgemaßnahmen von tierärztlicher Seite her erreicht. Alle diese Maßnahmen werden vom diensthabenden Veterinärmediziner taggleich dokumentiert (Tagesprotokoll), abgelegt und stehen dem leitenden und diensthabenden Tierarzt, dem Verwender sowie der mit der Unterbringung und Pflege befassten Personen zur Verfügung. Sollte sich herausstellen, dass ein Tier aufgrund seines Gesundheitszustandes nicht mehr für weitere Übungen herangezogen werden kann, wird das betroffene Rind geeignet markiert, von der Übungsgruppe entfernt, gesondert aufgestellt und erforderlichenfalls tierärztlich versorgt. Zudem erfolgt eine mündliche Anweisung an das Pflegepersonal sowie eine schriftliche Mitteilung an den Verwender. Ebenfalls verringert die zunehmende Fertigkeit der Teilnehmer/Teilnehmerinnen und die Gewährleistung der tierärztlichen Aufsicht/Anleitung die Belastung der Kühe mit Fortdauer des Kurses, durch eine leistungskonforme Fütterung durch das sachkundige Personal wird zudem eine zufriedenstellende Kondition der Rinder gewährleistet.

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

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

Das vorliegende Projekt dient a) der Etablierung neuer, effizienter Auswertungsmethoden für die Anwendung im Rahmen von Pathogenitäts- bzw. Vakzinationsstudien der Infektiösen Bronchitis des Huhnes sowie b) der Evaluierung der Schutzwirkung von Prototyp Vakzinen basierend auf synthetischen Zellmembranen und folglich der Entwicklung neuer Prophylaxemaßnahmen gegen diese Erkrankung.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Erkenntnisse dienen der Etablierung eines Histologie-Bewertungssystems sowie der Abklärung der Wirkung von Prototyp Vakzinen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Anhand von Erfahrungswerten aus einschlägiger Fachliteratur und vorangegangenen Tierversuchen sind bei den experimentell infizierten Tieren vermindertes Allgemeinbefinden sowie respiratorische Störungen als Schaden zu erwarten. Die Infektion der Tiere erfolgt okulo-nasal. Es folgen regelmäßige Blutentnahmen und anschließend die Tötung der Tiere zwecks weiterführender Untersuchungen an den Organen.

2. Art und Anzahl der Tiere

105 Hühner

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

Vermeidung: Da zur Untersuchung der bearbeiteten Fragestellungen der Gesamtorganismus beobachtet werden muss, ist es nicht möglich, den Versuch durch alternative Methoden zu ersetzen.

Verminderung: Der Versuch wird auf der Grundlage einer statistischen Planung, einschlägiger Fachliteratur und internationaler Vorgaben mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt, die unbedingt notwendig ist, um eine valide und somit statistisch abgesicherte Aussage zu bekommen.

Verfeinerung: Es werden Maßnahmen gesetzt, um die Belastung der Tiere möglichst gering zu halten. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend in Gruppen gehalten, angemessen ernährt und untergebracht. Sie werden regelmäßig beobachtet und täglich wird der klinische Gesundheitszustand bestimmt. Unnötiges Leiden der Tiere wird durch das Definieren und im Bedarfsfall durch die Implementierung von Abbruchkriterien vermieden.

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 der Studie: Dieses Projekt ist in zwei Teilstudien aufgeteilt. Ziel der ersten Teilstudie ist die Ermittlung einer optimalen Dosierung der Testsubstanz in wildtyp Tieren. Dafür wird C57BL/6JRj Mäusen über 4 Stunden die Testsubstanz in vier verschiedenen Dosierungen mittels Minipumpe intraventrikulär appliziert. Anschließend werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und das Gehirn mit pharmakokinetischen Analysen untersucht. Es wird erwartet, dass eine gleichmäßig verteilte Konzentration der Testsubstanz im Gehirn erreicht wird. In der zweiten Teilstudie sollen die zwei Dosierungen mit den vielversprechendsten pharmakokinetischen Daten auf ihre Effizienz in R6/2 Mäusen, einem Mausmodell der Chorea Huntington, untersucht werden. Dafür wird für jedes Tier die Anzahl an CAG-Repeats bestimmt, welche für die Ausprägung und Schwere der Erkrankung verantwortlich sind, und die Tiere anschließend mittels einer Minipumpe für 4 Wochen intraventrikulär mit der Testsubstanz in zwei unterschiedlichen Dosierungen oder Vehikel behandelt. Am Ende der Behandlungsphase werden die Tiere zur Gewebeentnahme euthanasiert und ihr Gehirn auf die Anzahl an CAG-Repeats untersucht. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz zu einer Reduktion der CAG-Repeats im Gehirn führt.

Schaden und Nutzenabklärung: Tiere die vom Züchter geliefert werden, werden aufgrund der Lieferung geringem Stress aber keinem Schmerz oder Leid ausgesetzt. Das R6/2 Transgen löst in den Tieren ab einem Alter von ca. 9-11 Wochen erste motorische Defizite, z.B. im Nest Building, aus. Im vorliegenden Projekt werden die Tiere allerdings bereits im Alter von 10 Wochen zur Gewebeentnahme euthanasiert. Daher wird davon ausgegangen, dass die Tiere durch ihren Phänotyp nur gering bis maximal mittelgradig belastet sind. Bei den C75BL/6JRj Mäusen und den nicht-transgenen Geschwistertieren entfällt diese Belastung. Die Implantation der Minipumpe wird unter Vollnarkose durchgeführt und kann postoperativ zu mittelgradigem Stress, geringen Schmerzen, aber zu keinem Leid führen. Nach der Operation müssen die Tiere einzeln gehalten werden. Das erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber keine Schmerzen oder Leid. Es wird nicht davon ausgegangen, dass die Testsubstanz zu Nebenwirkungen führt. Unerwünschte negative Effekte können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Bei Tieren die Vehikel bekommen entfällt diese Belastung. Sowohl die subkutane Injektion des Analgetikums als auch die intraperitoneale Applikation der finalen Narkose bedeuten für die Tiere kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Aufgrund vielversprechender Ergebnisse in vitro, ist die

Weiterentwicklung dieser Testsubstanz von großem Interesse um eine potenzielle zukünftige Therapie der Chorea Huntington zu verwirklichen und somit Patienten dieser unheilbaren Erkrankung helfen zu können.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 24 C57BL/6JRj Mäuse beider Geschlechter, 60 hemizygot transgene R6/2 Mäuse beider Geschlechter, sowie 40 nicht-transgene Geschwistertiere beider Geschlechter beantragt.

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

**Replace:** Um neue Medikamente gegen Chorea Huntington 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.

**Reduce:** Im ersten Projektteil dieser Studie sollen pro Gruppe 6 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig um statistisch signifikante Ergebnisse zu generieren. Im zweiten Projektteil sollen 20 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Durch die unterschiedliche Länge an CAG-Repeats auch zwischen Wurfgeschwistern steigt die inter-individuelle Varianz. Eine entsprechende Gruppengröße ist notwendig um eine gleichmäßige Aufteilung der CAG-Repeat Längen zwischen den Gruppen gewährleisten zu können. Zusätzlich wurden bei dieser Gruppengröße bereits Ersatztiere mit einberechnet.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Bis zur Operation werden gleichgeschlechtliche Tiere zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom

Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt werden dürfen. So soll gewährleistet werden, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30.09.2024 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

Mykotoxine sind sekundäre Metaboliten von zahlreichen Schimmelpilzen, die unter anderem von der Gattung *Fusarium* produziert werden. Verschiedene Arten von Fusarienpilzen befallen weltweit die Getreidebestände und ihre Mykotoxine belasten die jeweiligen Ernteprodukte. Mykotoxine sind eine Gefahr für die Gesundheit von Menschen und Tieren und werden im Bereich der Ernährung von landwirtschaftlichen Nutztieren intensiv untersucht. Aufgrund der Entwicklung immer genauerer analytischer Methoden und durch die Erwärmung des Klimas wird seit Jahren ein Anstieg an weniger bekannten und zudem nicht regulierten *Fusarium*-Mykotoxinen verzeichnet. Dazugehören u.a. die zyklischen Depsipeptide Enniatin A, A1, B, B1 (ENNs) und Beauvericin (BEA), deren Vorkommen sowie Konzentration mit denen von Deoxynivalenol (DON) korrelieren. DON führt bei Nutztieren, insbesondere Schweinen, zu reduzierter Futteraufnahme und Wachstumsverlusten, gastrointestinalen Störungen, neuroendokrinen und hepatologischen Veränderungen sowie zur Beeinträchtigung des Immunsystems. Daher gibt es für dieses Mykotoxin Grenzwerte, die in der Europäischen Union eingehalten werden müssen. Seit 2014 wurden in einer weltweit durchgeführten Mykotoxin-Studie 1141 Schweinefutterproben auf ihre Mykotoxin-Kontamination untersucht. Dabei wurden Enniatin B und B1 in 82% aller Proben detektiert, gefolgt von Enniatin A1 (77.4%), DON (77.0%) sowie BEA (68.7%). Zahlreiche Zellkulturmodelle deuten darauf hin, dass diese neuartigen Toxine eine potentielle Gefahr für die Gesundheit von Schweinen darstellen. Dieses Projekt zielt erstmals darauf ab, die Effekte der Mykotoxine ENNs und BEA individuell als auch in Zusammenhang mit DON im Schwein durch die orale Aufnahme von kontaminiertem Futter zu untersuchen. Zur Messung von Entzündungsfaktoren bzw. Veränderungen der Leberenzyme werden während der Versuchsdauer von zwei Wochen insgesamt dreimal venöse Blutabnahmen durchgeführt. Zusätzlich werden Biomarker im Urin und Kot untersucht. Am Ende des Projekts werden die Tiere stress- und schmerzlos euthanasiert und Gewebe- und Darminhaltsproben für weitere Analysen gesammelt.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Resultate zu den erwarteten negativen Effekten der Toxine, liefern wertvolle Erkenntnisse für die Schweineproduktion und lassen des Weiteren Schlussfolgerungen für Effekte beim Menschen zu. Die Ergebnisse dienen außerdem den regulatorischen Behörden, um das Risiko dieser Mykotoxine besser einzuschätzen und

dementsprechende Grenzwerte zu definieren. Die Ergebnisse sollen im Rahmen einer wissenschaftlichen Publikation veröffentlicht werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten. Am Ende des Tierversuchs werden die Tiere stress- und schmerzfrei euthanasiert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

38 Absetzferkel (Ferkel ÖHYB, 4 Wochen alt, ca. 7-9 kg)

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

**Vermeidung:** Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich, da sowohl Blut-, Kot-, Urin-, Gewebe- und Darminhaltsproben analysiert werden sollen, um den Einfluss der Mykotoxine auf verschiedene Stoffwechselwege zu untersuchen. Die Beantwortung der Fragestellung ist daher nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

**Verminderung:** Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren (n = 8 bzw. 6) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erzielen.

**Verfeinerung:** Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 22 in Buchten gehalten (2 Tiere/Bucht). An den Tagen 0, 5, 12 und 19 werden alle Tiere gewogen. An den Tagen 5, 12 und 19 werden zusätzlich tierindividuelle Blutproben sowie Kot- und Urinproben pro Bucht über 24 Stunden gesammelt. Am Ende des Versuchs (Tage 20 bis 22) werden die Tiere stress- und schmerzfrei für die tierindividuelle Gewebe- und Darminhaltsprobennahme euthanasiert. Die Tiere können sich in den Buchten (2,25 m<sup>2</sup> pro Bucht) frei bewegen und sie haben ständig freien Zugang zu Wasser. Das gruppenspezifische Futter (entsprechend altersbezogener Energie- und Nährstoffkonzentration) wird in zwei Mahlzeiten pro Tag vorgelegt. Die Tiere werden von geschultem Personal 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 versorgt.

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

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

Das vorliegende Projekt dient der Ermittlung des optimalen Impfzeitpunktes und des Applikationsweges eines Prototypimpfstoffs gegen die Schwarzkopfkrankheit.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Erkenntnisse dienen der Entwicklung einer Impfstrategie gegen die Schwarzkopfkrankheit.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden zu unterschiedlichen Zeitpunkten oral oder kloakal mit verschiedenen Formulierungen eines Prototypimpfstoffes infiziert. Regelmäßige Kloakaltupfer- und Blutprobenentnahmen werden durchgeführt. Der Ausbruch von klinischen Symptomen wird nicht erwartet.

2. Art und Anzahl der Tiere

96 Puten

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

Vermeidung: Da die Untersuchung der Fragestellungen nur im Gesamtorganismus erfolgen kann, ist es nicht möglich, den Versuch durch alternative Methoden zu ersetzen.

Verminderung: Der Versuch wird auf der Grundlage einer statistischen Planung, einschlägiger Fachliteratur und internationaler Vorgaben mit jener Anzahl an Tieren durchgeführt, die unbedingt notwendig ist, um eine valide und somit statistisch abgesicherte Aussage zu bekommen.

Verfeinerung: Es werden Maßnahmen gesetzt, um die Belastung der Tiere möglichst gering zu halten. Die Tiere werden ihrer Art entsprechend in Gruppen gehalten, angemessen ernährt und untergebracht. Sie werden regelmäßig beobachtet; der klinische Gesundheitszustand wird täglich bestimmt.

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

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

Hypertone Kardiomyopathien stellen stetig wachsendes Problem dar, da die Zahlen kontinuierlich aufgrund alternder Populationen und Fehlen heilender Therapien ansteigen. Die Frühphasen verlaufen oft ohne bemerkbare Symptome und entwickeln sich später zu symptomatischen Krankheitsbildern, häufig mit Therapieresistenzen. Verfügbare Therapiekonzepte zielen daher auf Lindern der Symptome im fortgeschrittenen Krankheitsstadien ab. Um frühere Diagnosen und bessere Behandlungsmöglichkeiten zu gewährleisten, ist es nötig die frühen molekularen Veränderungen aufzuklären. Neueste Studien sehen Veränderungen im Ca<sup>2+</sup>-Zyklus als frühe Treiber, wobei ein Mechanismus mit der Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-abhängige-Protein-Kinase II (CaMKII) in einer zentralen Rolle vorgeschlagen wird, welcher durch kleinste Änderungen im Ca<sup>2+</sup>-Strom zu geänderter Genexpression führt. Der zugrundeliegende Mechanismus ist jedoch bislang unerforscht. Spezifische Ziele beinhalten: (i) Die vollständige Charakterisierung der veränderten Transkription auf allen Ebenen und Aufklärung kausaler Zusammenhänge im Frühstadium und Fortschreiten der Krankheit. (ii) Entwicklung von peptidgeladenen (CaMKII-Inhibitoren) Nanopartikeln zur Inhalation um den Krankheitsfortschritt zu verhindern.

zu erwartender Nutzen: Um die kausalen Mechanismen in-vivo aufzuklären, werden molekulare und funktionelle Analysen von Kontrolltieren und erkrankten durchgeführt. Im Zuge dieser könnte das therapeutische Potential von CaMKII-Inhibitoren in Kombination mit neuartigen Peptidgabemethode (Inhalation von Nanopartikeln) für die Rückwandlung der Myopathie-assoziierten frühen Änderungen der elektro-transkriptionellen Kopplung bestimmt werden. Es ist von essentieller Wichtigkeit die molekularen Treiber des Krankheitsfortschritts im hypertonen Tiermodell, welches die tatsächlichen klinischen Gegebenheiten der Patienten widerspiegelt, zu identifizieren. In weiterer Folge legt dies die Basis für die Entwicklung von Pharmaka.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Aufgrund der angeborenen Tendenz der vorgeschlagenen zu Bluthochdruck, ist zu erwarten, dass Tiere auf salzreicher Diät Hypertonie, Hypertrophie und Nierenschäden entwickeln, welche letztendlich zu Herzversagen führen.

2. Art und Anzahl der Tiere

150 Ratten

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

Vermeidung: Es ist nicht möglich völlig auf den Einsatz eines Tiermodells zu verzichten. Um die komplexen, kausalen Mechanismen in vivo aufklären zu können, werden vergleichende molekulare und funktionelle Analysen von Kontrolltieren und erkrankten Tieren durchgeführt werden. Angesichts der hohen Komplexität der Mikroumgebung von Kardiomyozyten, welche insbesondere eine große Rolle für multifaktorielle Pathologien, wie eben auch Hypertonie spielt, sind präklinische Studien an Versuchstieren unerlässlich.

Verminderung: Durch in vitro-Techniken, wann immer deren Einsatz möglich ist um molekulare und zelluläre Prozesse zu untersuchen und um eine Vorauswahl von Untersuchungszielen zu treffen, kann die Versuchstieranzahl für tiefergreifende in-vivo-Untersuchungen reduziert werden. Um die nötige Mindestversuchstieranzahl für statistisch signifikante Daten zu berechnen, wurde auf präzise Powerkalkulationen aus vorangegangenen Ergebnissen im gleichen Modell zurückgegriffen. Bei Bedarf können, gemeinsam mit Statistikern, komplexere Einschätzungen getroffen werden. Nach Abschluss der in vivo-Messungen erfolgt als Endversuch eine Organentnahme. So können weitere in vitro-Untersuchungen an Gewebe und isolierten Kardiomyozyten durchgeführt werden.

Verfeinerung: Alle Experimente werden unter schmerz- und leidreduzierenden Bedingungen und invasive als terminale Eingriffe durchgeführt. Durch den Einsatz von Anästhesie und Analgesie, wann immer nötig, wird unmittelbarer Schaden reduziert. Den rechtlichen und ethischen Bestimmungen wird jederzeit Folge geleistet. Ausschließlich qualifiziertes Personal (FELASA-zertifiziertes Training) wird Tierkontakt haben, wodurch Stress vorgebeugt wird. Die Tiere werden so untergebracht, dass artspezifisches Verhalten möglich ist, sowie Rückzugsorte gegeben sind.

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

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

Ziel der Untersuchung ist zu überprüfen, ob die Anwendung einer Reinsubstanz aus dem Naturprodukt Nelkenöl, die Kälbern in den ersten Lebenstagen unter die Hornknospe injiziert wird, das Hornwachstum wirksam verhindert. Ferner sollen die Ergebnisse hinsichtlich Erfolg und Belastung mit der gegenwärtig praktizierten thermischen Enthornung verglichen werden.

zu erwartender Nutzen: Die bisher in der Praxis durchgeführte thermische Enthornung führt zu Schmerzen und langdauernder Wundheilung bei den Tieren. Es ist daher erforderlich, nach Methoden zu suchen, die eine erfolgreiche Enthornung unter möglichst geringer Schmerzzufügung ermöglicht.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Applikation der Reinsubstanz von Nelkenöl erfolgt am fixierten Kalb durch Injektion unter die Hornknospe. Während der Applikation kann das Kalb individuell einen kurzzeitigen mäßigen Schmerz empfinden. Als mögliche seltene Nebenwirkung kann es an der Applikationsstelle zu einer leichten Schwellung kommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

250 Kälber

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

Vermeidung: Da der Einfluss des Medikamentes auf das Hornwachstum von Kälbern unter Praxisbedingungen untersucht werden soll, kann dieser Versuch nicht ohne lebende Tiere durchgeführt werden.

Verminderung: Es wurde nur jene Anzahl an Tieren eingeplant, die unbedingt notwendig ist, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verbesserung: Den Kälbern wird vor der Injektion ein Schmerzmittel verabreicht. Die Fixierung der Kälber und die Applikation des Medikaments erfolgen durch qualifizierte Personen. Die Tiere bleiben in ihrer gewohnten Umgebung.

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

Zweck des Projektes, in dessen Rahmen diese Versuche beantragt werden, ist es, eine Gentherapie für Anfallserkrankungen zu entwickeln. Sehr viele Anfallserkrankungen sind derzeit nicht ausreichend behandelbar. Die beantragten Experimente dienen zur Validierung bestehender Daten und der Vorbereitung der klinischen Prüfung (kombiniert Phase 1/2). Dazu ist es notwendig Transmitter, Elektroden und Führungskanülen zu implantieren und Krampfanfälle auszulösen. Für weiterführende Analysen des Gehirns wird Gewebe nach Perfusion und Tötung von narkotisierten Tieren gewonnen.

zu erwartender Nutzen: Der Nutzen liegt in der möglichen Etablierung einer Therapie für bisher nicht behandelbare Epilepsien

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es ist notwendig Elektroden und Transponder sowie Führungskanülen zu implantieren und Krampfanfälle auszulösen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden maximal 90 Ratten in insgesamt 30 Monaten untersucht.

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

Vermeidung: Durch die Verknüpfung mehrerer Experimentreihen und genaue statistische Zwischenevaluationen werden nur soviel Tiere wie absolut notwendig behandelt.

Verminderung: Durch die Narkose sowie begleitende und postoperative Analgesie wird die Stress- und Schmerzbelastung der Tiere so gering wie möglich gehalten.

Verfeinerung: Durch den Einsatz verfeinerter Methoden erwarten wir eine massive Reduktion der Mortalität.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2022 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 der Studie: Diese Studie war in zwei Teilprojekte aufgeteilt. Ziel des ersten Teilprojekts war die Untersuchung der Wirkung zweier Testsubstanzen in unterschiedlichen Konzentrationen auf die kognitiven Defizite und pathologischen Veränderungen von transgenen APPxhQC Mäusen. Zusätzlich wurde die ED 50 bestimmt. Für diesen Projektteil wurden die Mäuse im Alter von 9 Monaten für 4 oder 12 Monate über das Futter mit den Testsubstanzen behandelt. Am Ende der Behandlungszeit wurden die Tiere im Morris Water Maze auf ihre kognitiven Leistungen untersucht. Im Anschluss wurden sie zur Gewebeentnahme euthanasiert und auf krankheitspezifische Pathologien der Alzheimer Erkrankung untersucht. Ziel des zweiten Teilprojekts war die Ermittlung pharmakokinetischer Daten einer Testsubstanz nach oraler Applikation. Dafür wurden transgene APPxhQC Mäuse im Alter von 9 Monaten einmalig oral mit der Testsubstanz behandelt und anschließend nach unterschiedlichen Zeitpunkten zur Gewebeentnahme euthanasiert um ein pharmakokinetisches Profil erstellen zu können. Es wurde erwartet dass die Testsubstanzen zu einer Verbesserung der Symptomatik und der Pathologien führen.

Schaden und Nutzenabklärung: Durch die Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung wurden die Tiere geringem Stress und Schmerz, aber keinem Leid ausgesetzt. Die Austestung der Tiere im Morris Water Maze Test führte bei den Tieren zu geringem bis mittelgradigem Stress, aber zu keinem Schmerz oder Leid. Die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose erzeugte geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Durch die einmalige per orale Behandlung der Tiere im zweiten Projektteil wurde geringer Stress, aber weder Schmerz noch Leid ausgelöst. Es wurden keine Nebenwirkungen durch die Testsubstanzen beobachtet. Diese Studie war ein wichtiger Schritt in der Weiterentwicklung dieser neuen potenziellen Therapiemöglichkeiten für die Alzheimer Erkrankung. Da diese fortschreitende neurodegenerative Erkrankung bis dato unheilbar ist und immer größere Teile der Bevölkerung betrifft, ist die Entwicklung neuer Therapien besonders wichtig.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie wurden insgesamt 280 transgene APPxhQC Mäuse und 30 nicht-transgene Geschwistertiere beiden Geschlechts ab einem Alter von 9 Monaten beantragt. Rückblickend konnte die Studie mit 166 transgenen APPxhQC Mäusen durchgeführt werden. Es mussten keine



nicht-transgenen Geschwistertiere verwendet werden, da historische Daten von Kontrollgruppen verwendet werden konnten.

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

**Replace:** Um Medikamente gegen die Alzheimer'sche 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.

**Reduce:** In dieser Studie sollten pro Gruppe 15 bzw. 10 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengrößen waren für diese Studie laut Power Analyse erforderlich da eine Substanzbehandlung zu einer unterschiedlich starken Erhöhung der Varianz in Verhaltenstests und histologischen Analysen führen kann. Durch die Durchführung der Studie in Kohorten konnten die Tierzahlen rückblickend reduziert werden, da statistisch signifikante Ergebnisse bereits mit weniger Tieren generiert werden konnten.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurde. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere wurden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Dadurch verblieben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wurde vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet wurden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war. Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

**Schulungen:** Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt wurden. So sollte gewährleistet werden, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt 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 der Studie: In diesem Projekt soll ein induziertes Mausmodell der „Experimentellen Autoimmunen Encephalomyelitis“ (EAE) mit unterschiedlichen Konzentrationen einer Testsubstanz, einer Positivkontrolle oder Vehikel behandelt werden. Des Weiteren wird ein Teil der Tiere nicht weiter mit einer Testsubstanz, einer Positivkontrolle oder Vehikel behandelt. Anschließend werden die Tiere in unterschiedlichen Verhaltenstests auf motorische Defizite untersucht. Am Ende des Projekts werden verschiedene Gewebe entnommen und auf Demyelinisierung und Entzündung analysiert. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz einen positiven Einfluss auf die motorischen Fähigkeiten und die Gewebepathologien hat. Es wird ebenfalls davon ausgegangen, dass dieser vergleichbar oder stärker ist als jener der Positivkontrolle.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Lieferung durch den Züchter kann bei den Tieren geringen Stress, aber keine Schmerzen oder Leid auslösen. Sowohl die subkutane Injektion als auch die intraperitonealen Injektionen zur Induktion der EAE und die intraperitoneale Injektion zur finalen Narkose verursachen kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Die tägliche orale Behandlung der Tiere ab der 3. Studienwoche erzeugt kurzzeitig geringen Stress bei den Tieren aber weder Schmerz noch Leid. Durch die Wiederholung gewöhnen sich die Tiere an die Prozedur und der Stresspegel kann dadurch sinken. Durch die Induktion der EAE mit MOG und PTX entwickeln die Tiere einen schweren progressiven motorischen Phänotyp. Zusätzlich können Hautläsionen durch die Verabreichung der MOG-Lösung auftreten. Bei den Tieren bei denen keine EAE induziert wird, entfällt diese Belastung. Es werden keine Nebenwirkungen durch die Testsubstanz erwartet. Solche können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Positivsubstanz Fingolimod ist ein bereits zugelassener Wirkstoff zur Behandlung der Multiplen Sklerose. Es wird daher nicht davon ausgegangen, dass dadurch schwere Nebenwirkungen verursacht werden. Der RotaRod Test, der Wire Hanging Test und der Beam Walk Test erzeugen bei den Tieren jeweils geringen Stress, aber keinen Schmerz oder Leid. Für Tiere mit motorischen Defiziten können diese Verhaltenstests eine größere Belastung darstellen als für gesunde Tiere. Dabei können die Tests geringen-mittelgradigen Stress, aber weder Schmerz noch Leid auslösen. Der Pasta Gnawing Test führt zu keiner Belastung der Tiere. Er kann im Gegenteil sogar als Enrichment angesehen werden.

Da das EAE-Mausmodell ein induziertes Krankheitsmodell der Multiplen Sklerose darstellt, wird durch dieses Projekt die Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit dieser unheilbaren Erkrankung gefördert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 112 weibliche C57BL/6JRj Mäuse beantragt.

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

**Replace:** Um wirksame medikamentöse Therapien für die Multiple Sklerose entwickeln zu können, 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.

**Reduce:** In dieser Studie sollen 16 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde gewählt, da eine erhöhte Schwankungsbreite bei der Durchführung der Verhaltenstests und durch die Testsubstanz erwartet wird. Ersatztiere sind dabei bereits ebenfalls mit einberechnet.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Die Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

**Schulungen:** Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt werden dürfen. So wird gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

Die rückblickende Bewertung dieses Projektes ist bis längstens 30. Juli 2024 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 der Studie: Dieses Projekt wurde in zwei Teilstudien aufgeteilt. Ziel des ersten Projekts war es ein induziertes Lipopolysaccharid (LPS) Modell für Neuroinflammation zu etablieren. Dafür sollten ursprünglich zwei unterschiedliche Behandlungsregime getestet werden. Rückblickend wurde nur ein Behandlungsregime verwendet, bei dem die Tiere für 4 Tage 1x täglich i.p. mit LPS behandelt und einen Tag später zur Gewebeentnahme euthanasiert wurden. Ziel des zweiten Projektteils war die Austestung der Effizienz von 3 Testsubstanzen in zwei verschiedenen Konzentrationen. Dafür sollten die Tiere bereits 2 Wochen vor der LPS-Induktion 1x täglich mit den Testsubstanzen behandelt werden, wobei die Behandlung auch in der Induktionsphase weitergeführt worden wäre. Wenige Stunden nach der letzten LPS Behandlung wären die Tiere in Verhaltenstests auf Ängstlichkeit und depressives Verhalten untersucht und einen Tag später zur Gewebeentnahme euthanasiert worden.

Der zweite Projektteil wurde nicht durchgeführt.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Behandlung der Tiere mit LPS führte bei den Tieren zu geringem-mittelgradigem Stress und Schmerz aufgrund der systemischen Entzündungsreaktion, aber zu keinem Leid. Tiere der Vehikelgruppe wurden dieser Belastung nicht ausgesetzt. Die intraperitoneale Injektion selbst erzeugte kurzzeitig geringgradigen Stress und Schmerz aber kein Leid. Durch die Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung wurde bei den Tieren ebenfalls kurzzeitig geringer Stress und Schmerz ausgelöst, aber kein Leid. Durch dieses Projekt konnte ein induziertes Mausmodell für Neuroinflammation etabliert werden. Dieses Modell kann somit in Zukunft für die Austestung neuer Therapien neuronaler Entzündungsprozesse verwendet werden. Durch die Entwicklung und Etablierung von induzierten Tiermodellen kann die Zucht von genetisch veränderten Tieren verringert werden, wodurch die Tiere nicht von Geburt an belastet sind und somit eine Belastung der Tiere auf ein zeitliches Mindestmaß beschränkt werden kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie wurden ursprünglich insgesamt 195 männliche C57BL/6 Mäuse im Alter von ca. 3 Monaten beantragt. Aufgrund der Kürzung des Projekts konnte die Studie rückblickend mit 16 Tieren abgeschlossen werden.

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

Replace: Um neuronale Entzündungsprozesse erfolgreich zu behandeln, und somit evtl. Alzheimer oder Parkinson Erkrankungen zu vermeiden, ist es erforderlich Tiermodelle für die Austestung neuer Testsubstanzen einzusetzen. 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.

Reduce: In dieser Studie sollten pro Gruppe 15 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße war ursprünglich für diese Studie erforderlich um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, da die Variabilität der Verhaltenstests insbesondere in induzierten Modellen erhöht ist. Reservetiere waren bei dieser Anzahl von Tieren bereits inkludiert. Durch die Kürzung des Projekts konnten auch die Tierzahlen reduziert und die Studie schließlich mit 8 Tieren pro Gruppe durchgeführt werden.

Refine: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurde. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere wurden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Dadurch verblieben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wurde vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war. Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Score Sheet vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt wurden. So wurde gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

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

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

„Variant Surface antigen 2-Chondroitin sulfate acid“ (VAR2CSA) ist ein Protein, das eine wichtige Rolle bei der Übertragung von Malaria auf noch ungeborene Kinder spielt. Wird Malaria normalerweise über den Stich von Moskitos übertragen, gibt es auch den seltenen Fall, dass diese Krankheit von der Mutter über die Plazenta an das Kind übertragen wird. Entscheidend ist, dass der Parasit durch das Protein nicht vom Immunsystem aufgespürt werden kann und somit auch nicht bekämpft werden kann. Bei dieser Auftragsstudie soll ein Effekt untersucht werden, den der Auftraggeber selbst entdeckt hat. Viele Tumorarten produzieren dieses Protein auch und es gibt Hinweise darauf, dass es eine wichtige Rolle bei der Ausbildung von Metastasen spielt. Es ist gelungen VAR2CSA synthetisch herzustellen, mit dem Ziel, es zukünftig für Diagnose und eventuell auch für die Therapie von Krebserkrankungen weiter zu entwickeln. Die Bindungsfähigkeit des Proteins konnte bereits an diversen Tumorkulturen in-vitro nachgewiesen werden. In dieser Studie soll, als nächster Schritt in der Entwicklung, untersucht werden, ob sich die synthetisierte Substanz in Tumoren bei Mäusen anreichert. Einerseits soll zu diesem Zweck eine Kombination von Scans erzeugt von einem Positronen-Emissions-Tomographen (PET) und einem Magnetresonanz-Tomographen (MRT) zum Einsatz kommen. Mittels PET kann die Verteilung von radioaktiv markierten Substanzen (sogenannte Tracer) in allen Organen des Körpers bestimmt werden. Mit dem Tracer basierend auf [124J] und der neu synthetisierten Substanz sollte es möglich sein, Tumore in den Mäusen zu markieren. Das MRT dient dazu, die genaue Lage des Tumors, anatomisch darzustellen. Kombiniert zu einem Bild lässt sich die Markierung des PET-Scans genau einer anatomischen Struktur zuordnen. Andererseits soll auch die Pharmakokinetik im Tumor selbst, als auch in anderen Organen untersucht werden. Diese Untersuchung erfolgen teilweise auch in kombinierten PET/MRT-Studien, aber auch konventionell indem zu bestimmten Zeitpunkten der Gehalt des Tracers in verschiedenen Organen nach dem Tod der Versuchstiere untersucht wird.

2. Art und Anzahl der Tiere

232 Mäuse

Zu erwartender Nutzen: Die Metastasierung von bösartigen Tumoren ist zumeist der medizinische „Knackpunkt“ bei der Behandlung. Viele Ansätze wurden und werden untersucht, mit mehr oder weniger Erfolg, was mit Sicherheit auch die Vielfältigkeit der Tumore widerspiegelt. Insofern kann es für Therapie und Diagnostik nur gut sein, wenn verschiedenste und unterschiedlichste Ansätze

verfolgt werden. Es bleibt zu hoffen, dass die Erkenntnisse, die in diesem Tierversuchsprojekt erhalten werden sollen, zu einer verbesserten Therapie, in Folge zu einer Lebensverlängerung und vielleicht auch zu einer Heilung führen.

Zu erwartender Schaden: Eine Grundvoraussetzung für dieses Projekt ist es, ein Tumor-Mausmodell zu haben. Dies ist ein Standardverfahren, aber es muss unter sorgfältiger Beobachtung und ausreichender Sachkenntnis durchgeführt werden. Sonst ist der größte zu erwartende Schaden, die Applikation des Tracers in die Schwanzvene, einhergehend mit einer kurzen Fixierung und einem Nadelstich. Alle anderen Manipulationen inklusive der Euthanasie erfolgen in Narkose.

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

Replacement-Vermeidung: Für das in diesem Versuch angestrebte Erkenntnisziel gibt es derzeit keine andere versuchstiersparende Alternative, weil Tumore als Gesamtheit nur in einem lebenden Organismus untersucht werden können. Dies ist der nächste nötige Schritt nach der Charakterisierung durch in-vitro-Studien.

Reduction-Verminderung: Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersagbar. Die Art der bildgebenden Untersuchungsmethode ist aber eine der Experimentalmethoden, die mit einer möglichst kleinen Tierzahl auskommt. Der Versuch ist technisch sehr komplex, weshalb die genaue Organisation essentiell ist. Wir hoffen durch sehr penible Planung, am Ende des Tierversuches deutlich unter der veranschlagten Tierzahl liegen zu können.

Refinement-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 physischen Leid (z. B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können. Speziell für die Blutabnahme, die Applikationen und die Narkose von Mäusen ist langjährige Expertise vorhanden.

Eine rückblickende Bewertung ist nicht 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 der Studie: In dieser Studie werden zwei Ziele verfolgt. Das erste Ziel ist die interne Validierung des hemizygoten transgenen CMT-Rattenmodells. Als zweites Studienziel sollen bereits ermittelte klinische Endpunkte validiert werden. Dafür werden die Tiere ab einem Alter von 4 Wochen wiederholt in Verhaltenstests auf ihre motorischen Defizite und auf Nervenleitungsstörungen untersucht. Ab einem Alter von 6 Wochen wird ein Teil der Tiere für 13 Wochen einmal täglich mit der Testsubstanz behandelt. Es wird erwartet, dass die Eignung des CMT-Rattenmodells auch intern bestätigt werden kann und die Testsubstanz zu einer Verbesserung der klinischen Symptome führt. Dieses Projekt stellt eine Pilotstudie dar, wobei die potenzielle Durchführung einer Folgestudie vom Erreichen der Studienziele abhängig ist.

Schaden und Nutzenabklärung: Hemizygote CMT-Ratten weisen laut Literatur ab einem Alter von 8 Wochen erste motorische Defizite auf die sich im Weiteren aber kaum verändert und nicht in einer Paralyse endet. Im vorliegenden Projekt werden die Tiere im Alter von 18 Wochen euthanasiert. Daher wird ein geringer bis höchstens mittelgradiger Phänotyp erwartet, der die Tiere in ihrem alltäglichen Leben nicht merklich einschränkt. Bei den wildtyp Geschwistertieren entfällt diese Belastung. Der Grip Strength Test erzeugt bei den Tieren geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Der Bar Test kann bei motorisch nicht-defizienten Tieren zu geringem Stress führen, aber weder zu Schmerz noch Leid. Bei motorisch defizienten Tieren kann der Stresspegel steigen. Schmerz oder Leid werden allerdings weiterhin nicht ausgelöst. Beim Hot Plate Test erfahren die Tiere geringen bis mittelgradigen Stress und Schmerz, allerdings kein Leid. Die 1x tägliche per orale Behandlung erzeugt bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Durch die Wiederholung gewöhnen sich die Tiere zudem an die Prozedur und der Stresslevel kann gesenkt werden. Es werden keine Nebenwirkungen durch die Testsubstanz erwartet. Negative Effekte können allerdings nie mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Durch dieses Projekt wird die Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit der Charcot-Marie-Tooth Erkrankung Typ 1A gefördert, damit sie in Zukunft bei Patienten mit dieser unheilbaren Erkrankung eingesetzt werden kann.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 32 männliche transgene hemizygote CMT-Ratten und 16 männliche wildtyp Geschwistertiere beantragt.

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

**Replace:** Um neue Medikamente gegen die Charcot-Marie-Tooth Erkrankung Typ 1A 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. Durch eine parallele Durchführung von Tierversuchen neben klinischen Studien, kann die Sicherheit dieser für die Patienten erhöht werden und die Probandenzahlen und Belastungen für die Betroffenen verringert werden.

**Reduce:** In dieser Studie sollen pro Gruppe 16 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße ist notwendig um eine ausreichende interne Validierung des Modells zu ermöglichen. Dabei wurden bereits Ersatztiere mit einberechnet. Die angegebene Gruppengröße von 16 Tieren pro Gruppe stellt somit eine Maximalgröße dar.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen bzw. mit den jeweiligen Versuchsapparaten vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Die Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

**Schulungen:** Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt werden dürfen. So soll gewährleistet werden, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

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

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

Mykotoxine sind sekundäre Metaboliten von zahlreichen Schimmelpilzen, die unter anderem von der Gattung *Fusarium* produziert werden. Verschiedene Arten von Fusarienpilzen befallen weltweit die Getreidebestände und ihre Mykotoxine belasten die jeweiligen Ernteprodukte. Mykotoxine können bei Menschen und Tieren eine toxische Wirkung zeigen. Aufgrund der bekannten negativen Effekte auf die Produktivität von Nutztieren (z.B. beeinträchtigte Futteraufnahme, Wachstumsrate, Fleischqualität und Fertilität), sind Mykotoxine auch wirtschaftlich relevant. Deshalb werden Mykotoxine im Bereich der Ernährung von landwirtschaftlichen Nutztieren intensiv untersucht. Innerhalb der *Fusarium* Toxine sind Fumonisine (FUM) häufige Pilzkontaminationen von Mais und anderen Getreidearten, und deren häufigster Vertreter ist Fumonisin B1 (FB1). Frühere 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, ist eine weitere Alternative die biologische Entgiftung in Form von Enzymen, die im Zuge der Nahrungsaufnahme zur Entgiftung von Fumonisin im Verdauungstrakt der Tiere führen. Dieses Projekt zielt darauf ab, die Wirksamkeit zweier Formulierungen und Konzentrationen eines Enzyms zur Entgiftung von Fumonisin beim Schwein zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Resultate zur Entgiftung von Fumonisin liefern wertvolle Erkenntnisse für die Schweineproduktion und dienen der Verbesserung des Wohlergehens der Schweine.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome bei diesem Tierversuch zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

24 Absetzferkel (Ferkel ÖHYB, 5 Wochen alt, ca. 7-9 kg)

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur im intakten Organismus möglich, da sowohl Blut- als auch Kotproben analysiert werden sollen, um den Einfluss der

Testsubstanzen auf verschiedene Stoffwechselwege zu untersuchen. Die Beantwortung der Fragestellung ist daher nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich und es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren ( $n = 4$  für Parameter von tierindividuellen Blutproben und  $n = 2$  für Parameter von Kotproben pro Bucht) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erzielen.

Verfeinerung: Die Tiere werden von Tag 0 bis Tag 22 in Buchten gehalten (2 Tiere/Bucht). An den Tagen 0 und 22 werden alle Tiere gewogen. An den Tagen 1, 15 und 22 werden tierindividuelle Blutproben von allen Tieren gesammelt. Zusätzlich werden Kotproben pro Bucht an den Tagen 1, 8, 15 und 22 gesammelt. Die Tiere können sich in den Buchten ( $2,25 \text{ m}^2$  pro Bucht) frei bewegen und haben ständig freien Zugang zu Wasser. Das gruppenspezifische Futter (entsprechend altersbezogener Energie- und Nährstoffkonzentration) wird in zwei Mahlzeiten pro Tag frisch vorgelegt. Die Tiere werden von geschultem Personal 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 versorgt.

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 der Studie: Ziel dieser Studie ist die Austestung der konzentrationsabhängigen Wirkung einer Testsubstanz zur Behandlung der Niemann-Pick Typ C Krankheit. Dafür werden homozygote NPC1-/- Tiere sowie wildtyp Geschwistertiere ab einem Alter von 4 Wochen für 4 Wochen mit einer von 2 Konzentrationen der Testsubstanz, Vehikel oder einer Referenzsubstanz als Positivkontrolle behandelt. Anschließend werden die Tiere in Verhaltenstests zur Bestimmung ihres Aktivitätsniveaus und möglicher motorischer Defizite untersucht, sowie am Ende des Projekts Gewebe auf die krankheitstypischen Pathologien analysiert. Es wird erwartet, dass die Testsubstanz zu einer Verbesserung der klinisch nachweisbaren Beeinträchtigungen und zu einer Reduktion der pathologischen Veränderungen führt. Des Weiteren wird erwartet, dass der positive Effekt der Testsubstanz auf das Krankheitsbild größer ist, als der der Positivsubstanz.

Schaden und Nutzenabklärung: NPC1-/- Mäuse entwickeln ab einem Alter von ca. 8-9 Wochen einen progressiv schlechter werdenden Phänotyp, der vor allem durch Gewichtsverlust und Tremor gekennzeichnet ist. Da die Tiere in dieser Studie bereits mit einem Alter von 8 Wochen für die Gewebeentnahme euthanasiert werden, wird nur eine geringe bis maximal mittelgradige Belastung durch den Genotyp erwartet. Bei den wildtyp Geschwistertieren entfällt diese Belastung. Die per orale Behandlung kann bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress und Schmerz auslösen, jedoch kein Leid. Durch die tägliche Wiederholung gewöhnen sich die Tiere an die Prozedur und der Stresspegel kann gesenkt werden. Auch die subkutane Behandlung erzeugt kurzzeitig geringen Stress und Schmerz, aber kein Leid. Ein Auftreten erheblicher Nebenwirkungen durch die Substanz wird nicht erwartet. Diese können allerdings nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Positivsubstanz und das Vehikel führen zu keinen Nebenwirkungen. Die Durchführung des Nesting Behavior Tests und des Rota Rod Tests stellt für die Tiere geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid dar. Bei motorisch defizienten Tieren kann der Stresspegel beim RotaRod Tests leicht ansteigen. Es kommt aber auch bei diesen Tieren weder zu Schmerz noch zu Leid. Da erwartet wird, dass der positiven Effekt der Testsubstanz auf die Ausprägung des pathologischen Phänotyps größer ist, als jener der Positivkontrolle, stellt sie einen attraktiven potenziellen Therapieansatz dar. Das vorliegende Projekt ist ein wichtiger Schritt in der Weiterentwicklung dieser potenziellen zukünftigen Behandlungsmöglichkeit für Patienten der Niemann Pick Typ C Erkrankung.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie werden insgesamt 80 homozygote NPC1-/- Mäuse beider Geschlechter und 40 Wildtyp-Geschwister beider Geschlechter im Alter von 4 Wochen beantragt.

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

**Replace:** Um die Niemann-Pick Typ C Erkrankung 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 Ergebnisse zum Menschen zu erzielen.

**Reduce:** In dieser Studie sollen 20 Tiere pro Gruppe verwendet werden. Diese Gruppengröße wurde durch eine Power-Analyse historischer RotaRod-Test-Daten ermittelt. Sie ist somit notwendig, um statistisch signifikante Unterschiede in diesem Verhaltenstest zu erkennen.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wird. Die Tiere werden bereits vor Beginn der Studie durch sogenanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere werden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubt. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wird vermieden.

**Gesundheitszustand:** Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet werden, deren Gesundheitszustand einwandfrei ist. Alle Tiere stehen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere werden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entscheidet der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

**Schulungen:** Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt werden dürfen. So wird gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt 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

Projektziele: In dieser Studie sollen zwei strahleninaktivierte Impfstoffe hergestellt aus einem hochpathogenen (HP) Porzines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom-Virus (PRRSV) getestet werden. Montanide wird als Verstärker der Immunantwort eingesetzt. Um die Wirksamkeit zu überprüfen, werden die Schweine der Versuchsgruppen nach Impfung mit dem gleichen Virusstamm infiziert.

Zu erwartender Nutzen: Durch die Erfassung der Immunantwort auf die durch verschiedene Weise inaktivierten Impfstoffe und des Schutzes auf eine nachfolgende Infektion wird deren Eignung zur Bekämpfung dieser wirtschaftlich relevanten Schweineinfektionskrankheit ermittelt.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Bei den Schweinen der nicht geimpften Gruppe werden nach der Infektion leichte bis mittlere Symptome einer Atemwegserkrankung erwartet. Die wiederholten Blutentnahmen stellen eine mittlere Belastung für die Schweine dar. Am Ende des Versuches werden die Schweine schmerzfrei getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

Die für die Studie verwendeten Ferkel stammen aus einem konventionellen, PRRSV-freien Betrieb und werden vor der Einstellung gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* (M. hyo) sowie Porcines-Circovirus 2 (PCV-2) geimpft. Der Versuch wird in zwei Durchgängen zu je 25 Ferkel (5 Gruppen á 5 Schweine) verlaufen, um eine repräsentative Aussage treffen zu können. Die Schweine der Gruppen 1-4 werden in einem Kontumazstall gemischt in zwei Buchten von je 8 m<sup>2</sup> aufgestellt. Gruppe 5 wird in einem getrennten Stallgebäude unter analogen Bedingungen aufgestellt. In der dreitägigen Eingewöhnungsphase werden die Schweine an den Menschen gewöhnt, um die täglichen Reinigungsarbeiten im Stall stressfrei zu dulden. Den Schweinen wird Futter und Wasser zur freien Verfügung sowie Spielzeug zur Beschäftigung angeboten. Die Abteilungen besitzen eigene Lüftungs- und Abwassersysteme, damit keine Kontamination bzw. Erregerübertragung stattfinden kann. Des Weiteren finden eine Personalzutrittskontrolle und ein Kleidungswechsel in einer Schleuse statt.

Die Ferkel haben bei der Einstellung ein Körpergewicht von ca. 6 kg und sind 21 Tage alt. Nach der Eingewöhnungsphase erfolgen zwei Blutentnahmen sowie in den Gruppen 1-3 die erste Impfung mit dem jeweiligen Impfstoff. Eine Wiederholungsimpfung erfolgt 14 Tage nach der ersten

Impfung. Am Tag 21 nach der zweiten Impfung erfolgt in den Versuchsgruppen 1-4 eine Infektion mit dem HP PRRSV-2 Stamm Vietnam. Die Gesundheit der Schweine wird täglich überprüft. Das Auftreten von klinischen Symptomen wird genauestens im Formular „Klinische Symptome“ dokumentiert und bewertet. Blutentnahmen erfolgen in festgelegten Abständen. 28 Tage nach der Infektion erfolgt eine schmerzfreie Tötung und pathologische Untersuchung.

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

**Vermeidung:** Das verfolgte Ziel des Tierversuches, kann nicht durch in vitro Verfahren erzielt werden, da eine komplexe Immunantwort auf die strahleninaktivierten Impfstoffe untersucht wird. Zellkultursysteme können den vielseitigen Ablauf bei einer Immunantwort auf diese Impfstoffe nicht widerspiegeln.

**Verminderung:** Die Anzahl von zweimal 25 Schweinen (bzw. 5 Schweinen pro Gruppe) basiert auf unseren derzeitigen Erfahrungen auf diesem Gebiet. Wir werden von einem Biostatistiker bei der Durchführung der Untersuchungen beraten, um sicherzustellen, dass die minimale Anzahl von Tieren verwendet wird, um das gewünschte Ergebnis zu erzielen. Diese Aussage kann auch bei Ausfall eines Tieres erhoben werden. Somit wird eine Wiederholung des Tierversuches vermieden.

**Verfeinerung:** Da eine Immunantwort auf einen Schweinevirusimpfstoff getestet wird, werden Schweine als Versuchstiere herangezogen. Die Tiere werden während des Versuches in Gruppen gehalten, wie es der Tierart entspricht, um soziale Kontakte zu ermöglichen. Den Schweinen wird Spielzeug zur Beschäftigung angeboten, um das arttypische Verhalten zu fördern und Stress zu reduzieren. Die Manipulationen am Tier werden auf das Notwendigste reduziert. Dabei handelt es sich um zwei Impfstoffverabreichungen in den Muskel in den Versuchsgruppen 1-3, eine Virusverabreichung in das Nasenloch bei den Gruppen 1-4 sowie mehrere Blutabnahmen. Sollte ein Tier leiden oder schwer an einer Infektion erkranken, wird es vorzeitig schmerzfrei getötet.



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

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

Dauerhafter Alkoholkonsum kann ein wichtiges Organ des menschlichen Körpers, die Leber, stark schädigen. Bis heute gibt es keine effektiven Therapieansätze um dieser Schädigung der Leber entgegenwirken zu können. Eine rezent entwickelte Substanz, die sich von einem körpereigenen Molekül ableitet, konnte sowohl bei Nagern als auch bei Menschen bereits erfolgreich zur Therapie anderer Lebererkrankungen eingesetzt werden. Deshalb glauben wir, dass diese Substanz auch in der Therapie der alkoholischen Lebererkrankung effektiv ist. Diese Hypothese möchten wir mit Hilfe eines Mausmodells überprüfen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen könnten in Zukunft sehr vielen Menschen zugutekommen, da einerseits schädlicher Alkoholkonsum weitverbreitet ist, sowie andererseits gute pharmakologische Ansätze bisher fehlen.

zu erwartender Nutzen: Evaluierung einer neuartigen Therapieform für die alkoholische Lebererkrankung, da aktuell effektive Therapeutika fehlen. Daher könnten unsere Ergebnisse einen wichtigen Beitrag zu Verbesserung des Therapieergebnisses leisten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Alle Mäuse werden mit einer Flüssigdiät gefüttert. Diesem Futter wird teilweise einerseits Alkohol beigemischt, um eine alkoholische Lebererkrankung auszulösen, sowie andererseits die oben genannte Substanz, um zu untersuchen, ob selbige in der Therapie der Erkrankung wirksam ist. Am Ende des Versuches erhalten alle Tiere ein Schmerzmittel so wie ein Narkotikum. Anschließend werden die Organe entnommen.

2. Art und Anzahl der Tiere

Weibliche Wildtyp-Mäuse. Es werden max. 180 Tiere verwendet.

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

Vermeidung: Das von uns geplante Experiment ist bisher in dieser Form noch nie durchgeführt worden. Da die alkoholische Lebererkrankung weltweit sehr häufig vorkommt und aktuell keine effektiven Therapeutika zur Verfügung stehen, ist eine weitere wissenschaftliche Untersuchung sehr wichtig. Bevor ein Arzneimittel an Menschen mit alkoholischer Lebererkrankung getestet werden kann, muss eine Abklärung der Effektivität in einem Modell untersucht werden, das hohe Ähnlichkeit zum Menschen aufweist. Da zudem die Zusammenhänge zwischen Leber, Darm und verschiedenen Signalstoffen im Körper sehr komplex sind, kann aktuell auf Tierversuche nicht verzichtet werden. Nager (insbesondere Mäuse) haben sich in dieser Hinsicht besonders bewährt.

Verminderung: Es werden so wenig wie möglich, jedoch so viel Tiere wie nötig verwendet, um aussagekräftige Ergebnisse erzielen zu können. Dies reduziert ein unnötiges Leiden der Tiere und schützt zugleich vor unnötiger Wiederholung des Versuches aufgrund von unzureichender Planung.

Verfeinerung: Es werden jeweils 2 Tiere pro Käfig gehalten und täglich von Mitarbeiterinnen unserer Arbeitsgruppe bzw. geschulten Tierpflegerinnen betreut und beobachtet. Neben einem Häuschen als Rückzugsort erhalten die Tiere Nagehölzer. Das Gewicht wird alle zwei Tage kontrolliert, die Trinkmenge wird dokumentiert und das Futter wird täglich gewechselt. Sollten die Tiere auffälliges Verhalten oder einen reduzierten Allgemeinzustand aufweisen, so wird der Versuch vorzeitig abgebrochen. Wir erwarten, dass die Verabreichung der von uns untersuchten Substanz den Allgemeinzustand der Tiere verbessert, so dass die Therapie keine zusätzliche Belastung der Tiere darstellt.

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 der Studie: Transgenen Line 61 Mäusen und C57Bl/6 Kontrolltieren wurde eine von sechs Testsubstanzen oder eine Kontrollsubstanz in den lateralen Ventrikel injiziert. Nach 2 Wochen wurden die Tiere euthanasiert, unterschiedliche Gewebe entnommen und biochemisch und histologisch auf Parkinson-typische Pathologien untersucht. Ziel dieser Studie war die Testung neuer Testsubstanzen auf ihre Wirkung gegen Symptome der Parkinson Krankheit.

Schaden und Nutzenabklärung: Die stereotaktische intracerebroventrikuläre Injektion unter Vollnarkose führte bei den Tieren zu geringem bis mittelgradigem Stress und geringen Schmerzen, aber zu keinem Leid. Die Entnahme einer Schwanzspitzenbiopsie zur Genotypisierung erzeugte geringen Stress und Schmerz bei den Tieren, allerdings kein Leid. Sowohl die subkutane Applikation des Analgetikums als auch die intraperitoneale Applikation der Anästhetika und der finalen Narkose löste geringen Stress und Schmerz, jedoch kein Leid aus. Von den Testsubstanzen wurden keine Nebenwirkungen beobachtet. Trotz Kenntnis der Symptomatik und Funktionsstörungen von Parkinson existieren noch keine vollständig zufriedenstellenden Behandlungsmöglichkeiten dieser Erkrankung. Durch das vorliegende Projekt war es möglich, die Wirksamkeit dieser neuen Testsubstanzen auf die Pathologien der Parkinson Erkrankung auszutesten. Diese Studie stellte somit einen wichtigen Schritt in der Entwicklung dieser potenziellen zukünftigen Therapiemöglichkeit von Morbus Parkinson dar.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie wurden 130 männliche 2 Monate alte Line 61 transgene Mäuse und 80 C57BL/6JRccHsd Mäuse beantragt. Rückblickend konnte die Studie mit 126 männlichen Line 61 Mäusen und 80 C57BL/6JRccHsd Mäusen durchgeführt werden.

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

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

Reduce: In dieser Studie sollten pro Gruppe 10 Tiere verwendet werden. Diese Gruppengröße war für diese Studie erforderlich um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen, da mit Ausfällen

durch die Narkose gerechnet werden musste. Reservetiere waren bei dieser Anzahl von Tieren inkludiert. Da nur weniger Reservetiere benötigt wurden konnten die Tierzahlen verringert werden.

Refine: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurde. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Bis zur Operation wurden gleichgeschlechtliche Tiere zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Dadurch verblieben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelnung, wurde vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet wurden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war. Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt wurden. So sollte gewährleistet werden, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt werden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt sind.

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

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

Phytogene Futtermittelzusatzstoffe bestehen aus pflanzlichen Substanzen, wie Kräutern, Gewürzen, ätherischen Ölen und Extrakten. Aufgrund antimikrobieller, antiviraler und entzündungshemmender Eigenschaften werden phytogene Futtermittelzusatzstoffe in der Tiernahrung eingesetzt, um die Produktivität zu erhöhen und die Futter- und Lebensmittelqualität zu verbessern. Mykotoxine, sekundäre Stoffwechselprodukte von zahlreichen Gattungen der Fusarium Schimmelpilze, treten weltweit in Getreide und Tierfutter natürlich auf. Da sie toxische Wirkung können, stellen Mykotoxine eine Gefahr für die Gesundheit von Menschen und Tieren dar. Ziel dieses Projektes ist die Wirksamkeit einer pflanzlichen Substanz auf die Leistungsparameter und Darmgesundheit des Ferkels zu untersuchen. Insbesondere soll die Wechselwirkung der pflanzlichen Substanz und eines Mykotoxins untersucht werden. Neben der Analyse von zotechnischen Leistungsparametern (Gewichtszunahme, Futterverbrauch, Futterverwertung), werden daher Biomarker in Blut- und Kotproben analysiert.

zu erwartender Nutzen: Es soll herausgefunden werden, ob die Fütterung der pflanzlichen Substanz in je zwei verschiedenen Dosierungen im Kontrollfutter und Mykotoxin-haltigem Futter die Leistungsparameter und Darmgesundheit im Vergleich zu den Kontrollgruppen (mit bzw. ohne Mykotoxin) verbessert. Die daraus gewonnenen Resultate liefern wertvolles Wissen über die Wirkungsweise von phytogenen Futtermittelzusatzstoffen, dienen der Ferkelproduktion und leisten darüber hinaus einen Beitrag zur Verbesserung des Gesundheitsstatus beim Ferkel.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf Literaturdaten sind keine klinischen Symptome durch die Testsubstanzen zu erwarten. Die tierindividuelle Blut- und Kotproben an vier definierten Zeitpunkten (Tag 6, 20, 34 und 48) stellen allerdings eine geringe Belastung der Tiere dar.

2. Art und Anzahl der Tiere

72 ÖHYB Absatzferkel (gemischtgeschlechtlich)

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

Vermeidung: Die Beantwortung der Fragestellung in diesem Projekt ist nur am intakten Organismus möglich. Da neben den Leistungsparametern, insbesondere Biomarker in Blutproben

als auch Kotproben analysiert werden sollen, um die Wirkung der Testsubstanzen im intakten Organismus zu untersuchen, ist dies nicht basierend auf einer in vitro Studie möglich. Es kann nicht auf eine Ersatz- bzw. Ergänzungsstudie ausgewichen werden.

Verminderung: Es wird die geringstmögliche Anzahl an Tieren ( $n = 12$  pro Gruppe) verwendet, um ein aussagekräftiges und statistisch auswertbares Ergebnis zu erhalten. Die tierindividuelle Beobachtung der Leistungsparameter sowie die tierindividuelle Beprobung erlaubt einen geringeren Einsatz von Tieren verglichen mit der Generierung von Poolproben aus einer Gruppe mit Wiederholungen.

Verfeinerung: Die Tiere werden während der Versuchsdauer (48 Tage) in Buchten zu je 12 Tieren gehalten. Die Tiere haben ständig freien Zugang zu Wasser und dem gruppenspezifischen Futter, das altersgemäß und zur ad libitum Aufnahme angeboten wird. Sie werden von geschulten 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 versorgt. Während des Projektes wird großer Wert daraufgelegt, Stress und Schmerz der Ferkel so gering wie möglich zu halten.

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

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

Diese Studie dient dazu, in einem in vivo Modell Auswirkungen der Farbpigmente der für Medical Tattooing verwendeten Farben zu untersuchen um a) mehr über die Auswirkungen zu erfahren, die derzeit unzureichend erforscht sind, und b) relevanten, bereits verwendeten Farben Evidenz zu verleihen bzw. gegebenenfalls zu optimieren oder bei toxischen Auswirkungen zu eliminieren. Somit wird es möglich gemacht, langfristig, potentielle neue Farbzusammensetzungen mit geringerer Toxizität zu entwickeln. Da Schweinehaut und die darin stattfindenden Prozesse der menschlichen Haut am ähnlichsten sind, können die aus diesem Versuch entstandenen Erkenntnisse gut auf den Menschen übertragen werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der zu erwartende Schaden für die Tiere ist moderat. Den Tieren werden unter Betäubung mehrere Areale mit verschiedenen Farben tätowiert. In der ersten Phase der Versuche könnten Schmerzen durch den Stechvorgang entstehen, daher erhalten die Tiere in dieser Phase vorbeugend schmerzstillende Medikamente. Bei Bedarf wird nach dieser Phase die Schmerzbehandlung fortgesetzt.

2. Art und Anzahl der Tiere

4 Hausschweine

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

Vermeidung: Das Versuchsziel kann nicht mit anderen Methoden als mit einem Tierversuch erreicht werden, weil die zu untersuchenden Parameter nur am lebenden Organismus getestet werden können, weil:

- eine Zellkultur die Komplexität der Umgebungsparameter einer Entzündungsreaktion nicht ausreichend beschreibt.
- in vitro Experimente nicht die Reaktion des lebenden Gewebes nachstellen können.
- nur in vivo das komplexe Gefüge einer Entzündungsreaktion und möglicher Ablagerung von Farbpigmenten in anderen Körperregionen nachgestellt werden kann.

Eine detaillierte Untersuchung der Auswirkungen der Farbpigmente wie sie in diesem Versuchsantrag angestrebt ist, kann nicht am Menschen durchgeführt werden, da einerseits die Auswirkungen der Farbpigmente unzureichend erforscht sind und andererseits mehrere Biopsien notwendig sind.

Verminderung: Es wurde sorgfältig abgewogen, zwischen einer möglichst kleinen gesamten Versuchstieranzahl und der statistischen Aussagekraft, die eine eindeutige Aussage zulässt. Durch direkte Parallelvergleiche von Entzündungsreaktionen auf verschiedene Pigmente in jedem Tier wird die Anzahl der benötigten Tiere geringgehalten. Auch wenn frühzeitig erkannt werden sollte, dass die Methodik keinen Nutzen erweist, werden die Versuche abgebrochen und somit die Fallzahl verringert.

Verfeinerung: Während der Eingewöhnungszeit der Tiere von 7-14 Tagen wird neben standardmäßiger fachkundiger Betreuung durch geschultes Tierpflegepersonal eine Bereicherung („enrichment“) in Form von Bällen, Gummiringen, Stroh, etc. zur Verfügung gestellt. Auch werden die Tiere durch vermehrten Kontakt an die TierpflegerInnen gewöhnt, um den Stress der Tiere weiter zu reduzieren. Die Tiere werden während des gesamten Versuchszeitraums engmaschig überwacht und 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

Follistatin (FST) unterdrückt die Bildung von Myostatin. Myostatin ist ein Hormon, das den Muskelaufbau verhindert. Folglich ist die Wirkung von FST eine Förderung des Muskelaufbaus. Es eignet sich deshalb für einen Missbrauch als Dopingmittel und birgt dementsprechend auch Gefahren für die Gesundheit. Das ist auch der Grund, warum diese Substanz im Kapitel S4 der verbotenen Substanzen der World Anti-Doping Agency gelistet ist. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist noch keine geprüfte Arznei erhältlich, die FST enthält. Nichtsdestotrotz ist FST im Internet für Forschungszwecke käuflich, wobei die Anzahl der erhältlichen Varianten zunimmt. In letzter Zeit erhältlich sind die Isoformen FST-315 und FST-344. Diese beiden, wie auch andere Schwarzmarktvarianten (z. B. „black market“-FST), werden gentechnisch erzeugt und unterscheiden sich durch unterschiedlicher „Übersetzung“ der DNA in Proteine (alternatives splicing der mRNA während der Transkription). Somit ist unklar, wie es im Körper wirkt und ob ein Unterschied zum körpereigenen FST besteht. Ziel dieser Studie soll sein, eine Nachweismethode für FST-315 und FST-344 zu entwickeln. Dazu sollen, zwei Tage nach der Verabreichung von FST-315 und FST-344 an Ratten, Blut und Harn gewonnen werden. Diese Proben sollen dann, mittels Elektrophorese (SDS-PAGE), untersucht werden, ob FST-315 und FST-344 nachgewiesen werden kann. So soll ein einfaches, sicheres, rasches und direktes Nachweissystem validiert werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

36 Ratten

Zu erwartender Nutzen: Der zu erwartende Nutzen ist ein Nachweisverfahren, das zwischen dem körpereigenem und FST-315 beziehungsweise FST-344 unterscheiden kann. Ein solches Nachweisverfahren soll nicht nur in der Dopingvorbeugung, sowohl im Amateur-, als auch im Profisport, eingesetzt werden, sondern könnte auch für die Behandlung von Patienten, die aufgrund einer Erkrankung an Muskelschwund leiden und zukünftig FST erhalten, eine Rolle spielen.

Zu erwartender Schaden: Der größte zu erwartende Schaden ist die subkutane Applikation von FST, die nicht in Allgemeinnarkose durchgeführt wird, weil die dafür nötige Manipulation mehr Stress für die Tiere bedeuten würde. Alle anderen schmerzhaften Manipulationen an den Ratten, insbesondere die Probengewinnung von Blut, als auch die Euthanasie erfolgen in Allgemeinanästhesie. Harn wird am toten Tier gewonnen.

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

Replacement-Vermeidung: Da es für dieses Experiment unbedingt notwendig ist, dass FST in einem Organismus zirkuliert, kann es nur im lebenden Tier durchgeführt werden. Es gibt derzeit keine andere versuchstiersparende Alternative.

Reduction-Verminderung: Wie bei jedem Experiment, ist auch der Ausgang dieses Versuches unbekannt, obwohl im gewissen Rahmen vorhersagbar. Da aber eine sehr aussagekräftige Methodik für die Beurteilung der Verteilung von FST im Blut und Harn verwendet wird, kann mit einer geringstmöglichen Tieranzahl ausgekommen werden.

Refinement-Verfeinerung: Es sind sowohl für eine tiergerechte Haltung von Ratten, 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. "enviromental enrichment") und physischen Leid (z.B. Schmerzmittel) der anverantworteten Versuchstiere dienen können. Speziell für die Blutabnahme, die Applikationen und die Narkose von Ratten ist langjährige Expertise vorhanden.

Eine rückblickende Bewertung ist nicht 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

Die vorgesehenen Untersuchungen dienen der translationalen angewandten Forschung zur Vorbeugung und Behandlung von Krankheiten und deren Folgen bei Menschen und Tieren und sind dem Schweregrad mittel lt. TVG12 §3 (1) zuzuordnen. zu erwartender Nutzen: Der Nutzen des geplanten Projekts ist die Verbesserung der Patientensicherheit bei chirurgischen Eingriffen insbesondere bei Knie- und Hüftprothesen und Knochenaugmentationen. zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden in Vollnarkose operiert und untersucht. Sie können vorübergehend geringgradige Schmerzen (durch wirksame Schmerzmittel reduzierter Schmerz) nach der Operation erfahren. Die Tiere werden dann nach einer Beobachtungsperiode wieder in Vollnarkose gesetzt, untersucht und schmerzlos euthanisiert.

2. Art und Anzahl der Tiere

Bis maximal 47 Kaninchen.

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

Vermeidung: Die vorgesehenen chirurgischen Eingriffe und deren Folgen können weder in vitro noch in der humanen Forschung untersucht werden. Verminderung: Die Anzahl der Tiere wird so gering wie möglich gehalten. Die kleinste Gruppengröße, die noch eine wissenschaftliche Aussage ermöglicht, wird verwendet. Verfeinerung: Durch potente, wirksame Schmerztherapie, die tägliche tierärztliche Inspektion aller operierten Tiere und die tägliche tierpflegerische Betreuung aller Tiere werden Schmerzen, Leiden und Ängste der Tiere möglichst minimiert.

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

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

Fettsäuren spielen eine zentrale biologische Rolle. Sie dienen einerseits als wichtige Energiesubstrate für oxidative Gewebe wie dem Herz- und Skelettmuskel und dem braunen Fettgewebe, und sind andererseits auch wichtige Signalmoleküle sowie Bausteine für andere Lipidklassen. Fettsäuren können jedoch auch toxische Wirkungen aufweisen, wenn sie in zu hohem Ausmaß in freier Form in Organen vorkommen, deren primäre Funktion nicht die Speicherung von Fetten ist. Eine solche Akkumulation von Fettsäuren kann die physiologische Funktion in diesen Organen stören und letztlich zu einer Fehlfunktion führen. Diese wiederum können zur Entstehung von Stoffwechselerkrankungen wie Typ 2 Diabetes und Herz-Kreislauf-Erkrankungen führen. Aufgrund der wichtigen Funktion sowie potentiellen Toxizität von FS ist deren Verfügbarkeit im lebenden Organismus gut kontrolliert. Die Mobilisierung der Fettsäuren wird durch Hydrolasen (Lipasen) bewerkstelligt. Das durchführende Labor fokussiert sich im eingebrachten Antrag auf die Untersuchung solcher Lipasen in der Pathophysiologie von metabolischen Erkrankungen. Dafür sind Tierversuche unumgänglich. Die Maus weist Stoffwechselmechanismen auf, welche in allen Säugetieren ident sind. Daher können mit Hilfe der Maus Stoffwechselwege charakterisiert werden, welche den Abbau von Fetten in Säugerzellen beeinflussen.

Zu erwarteter Nutzen: Aus den angeforderten Tierversuchen erwarten wir uns detaillierte Erkenntnisse über (Patho)-Physiologie von Fett-spaltenden Proteinen. Diese sollen die Grundlage für potentielle neue Therapieansätze in der Behandlung dieser metabolischen Erkrankungen bieten.

Zu erwarteter Schaden für die Tiere: Die Belastung der Tiere im Tierversuch wird als gering bis maximal mittel eingestuft. Bei manchen genetischen Modifikationen erwarten wir eine moderate Fettleibigkeit. Zudem verlangen bestimmte Untersuchungen die Implantierung von Telemetrie-Sonden, welche eine mittlere Belastung aufweist.

2. Anzahl und Art der zu verwendenden Tiere

Im vorliegenden Antrag suchen wir für 11.390 Mäuse an.

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

Replace. Entsprechend internationalen Standards werden Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus. Tierversuche sollen zum Einsatz kommen, um die aus in-vitro

Experimenten entstandenen Hypothesen zu bestätigen. Sind Tierversuche unumgänglich, wird versucht, Stress, Tier Leid und Schmerzen der im Tierversuch verwendeten Mäuse zu minimieren.

Reduce. Wir versuchen mit so wenigen Tieren als möglich auszukommen. Die Anzahl der verwendeten Tiere ist abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt, d.h. sind die zu erwartenden Veränderungen zwischen Mausmodel und Kontrollmaus eindeutig, beschränken sich die Experimente auf ein statistisches Minimum. Die Zahl der notwendigen Versuchstiere ist stark vom Experiment abhängig und liegt im Normalfall zwischen 5 und 10 Tieren.

Refine. Es 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. Zudem soll durch Mitarbeiterschulungen die Verwendung von neuen, weniger invasiven Methoden gefördert werden.

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

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

Aktuellen Studien zufolge leiden 10% der westlichen Weltbevölkerung an chronischen Nierenerkrankungen. Bei endgültigem Versagen des Organs sind Betroffene auf permanente Dialyse oder Transplantation angewiesen. Beide Optionen sind mit erheblichen Risiken für Patienten verbunden und stellen eine große Belastung globaler Gesundheitssysteme dar. Mit unserem Projekt sollen Regulationsmechanismen, in einem dem Menschen sehr ähnlichen Mausmodell, der Glomerulonephritis genauer untersucht werden. In genetisch veränderten Tieren, soll die Ausprägung der Erkrankung studiert werden, um herauszufinden, welche Bedeutung die jeweilig untersuchten Immunzellen in der Entwicklung und Fortschreitung der Krankheit spielen. Mit unserer Arbeit wollen wir so eine Grundlage für neue dringend benötigte Therapieoptionen schaffen.

zu erwartender Nutzen: Durch unser Projekt erwarten wir Erkenntnisse über die Beteiligung von Immunzellen und deren Funktion in der Entstehung der Glomerulonephritis. Einen besonderen Fokus werden wir auf das therapeutische Potential dieser Zellen legen. Durch angestrebte internationale Publikationen unseres Projekts, können Ableitungen unserer Resultate auch für die Therapie von anderen Autoimmunerkrankungen von hohem Nutzen sein.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen der Glomerulonephritis kommt es zu einer Nierenfunktionsverschlechterung, welche auch im Mausmodell vorzufinden ist. Allerdings zeigen die Tiere, anders als Menschen, kein terminales Nierenversagen. Die Mäuse werden täglich observiert und in regelmäßigen Abständen tierärztlich untersucht, um auf eine starke Verschlechterung der Nierenfunktion reagieren zu können. Anzeichen hierfür wären Urämie, struppiges Fell, Reduktion der Körpertemperatur und Aszites mit Zunahme des Bauchumfanges. Sollten diese Symptome auftreten werden die Tiere nach Rücksprache mit einem Tierarzt euthanasiert. Außerdem werden subkutane und intravenöse Injektionen vorgenommen, welche Schmerzen verursachen, die mit jenen von Menschen in dieser Situation vergleichbar sind.

2. Art und Anzahl der Tiere

Im Rahmen des Projektes werden 870 Mäuse unterschiedlichen Genotyps evaluiert.

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

Vermeidung: Glomerulonephritis ist eine Systemerkrankung mit komplexen zugrundeliegenden immunologischen Prozessen, die sich aktuell nicht mit wissenschaftlich aussagekräftigen Ersatzmethoden nachstellen lässt.

Verminderung: Durch langjährige Erfahrung mit dem Mausmodell und standardisierten Haltings- und Versuchsbedingungen können wir eine möglichst geringe Streuung der Versuchsergebnisse erzielen. Durch Fallzahlberechnungen, können wir die Minimalanzahl an Tieren einplanen, um statistisch relevante Aussagen treffen zu können.

Verfeinerung: Unsere Versuchstiere werden von geprüften Tierpflegern versorgt und zusätzlich regelmäßig tierärztlich betreut. Für ihr Wohlbefinden werden sie artgerecht mit Nestmaterial und Ruckzugsmöglichkeit 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

Die Splenektomie bei Hunden dient therapeutischen Zwecken zur Behandlung von häufig vorkommenden, pathologischen Prozessen der Milz wie neoplastischen, degenerativen oder traumatischen Veränderungen. In diesem Projekt soll untersucht werden, inwiefern ein Unterschied zwischen der Anwendung konventioneller Ligaturen und der Splenektomie mit Hilfe eines Gefäß-Versiegelungs-Gerätes bei Hunden mit Milzpathologien besteht.

Zu erwartender Nutzen: Aus den Ergebnisse des direkten Vergleichs der beiden Techniken hinsichtlich der Dauer der Operation (OP) und des Behandlungserfolgs der Splenektomie soll eine Empfehlung für die veterinärmedizinische Praxis abgeleitet werden.

Zu erwartender Schaden: Bei Hunden, die zu therapeutischen Zwecken einer Splenektomie unterzogen werden müssen, wird diese entweder mittels konventioneller Ligatur oder unter Verwendung eines Gerätes zur Versiegelung der Milzgefäße durchgeführt. Dokumentiert werden unter anderem die Dauer der OP, etwaige Komplikationen (wie Blutungen, schlechte Darstellbarkeit der Gefäße) sowie der Behandlungserfolg. Die Belastung für die Tiere ist daher abhängig von auftretenden Komplikationen bzw. verlängerter OP- bzw. Anästhesiedauer.

2. Art und Anzahl der Tiere

70 Hunde

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

Vermeidung: Das Versuchsziel kann nicht durch in vitro-Verfahren oder Studien an toten Tieren erreicht werden, da spezifische Aussagen über den Erfolg und die mögliche Überlegenheit einzelner Methoden nur durch klinische Anwendung am lebenden Tier und postoperative Nachkontrollen möglich sind. Herangezogen werden nur jene Tiere, bei denen eine Milzentfernung aus gesundheitlichen Gründen (z.B. durch ein Trauma oder eine spontan aufgetretene Krankheit) erforderlich ist.

Verminderung: Verwendet wird die geringstmöglichen Anzahl an Tieren die erforderlich ist, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten.

Verfeinerung: Tritt intraoperativ eine Komplikation auf, die mit der gewählten Technik in Zusammenhang gebracht wird, und ist die Fortsetzung der OP mit der gewählten Methode mit



Schmerzen, Leiden oder Schäden verbunden, die über das übliche Maß an postoperativ zu erwartenden Belastungen hinausgehen, wird die OP mit einer Methode fortgesetzt, die diese Effekte erwartungsgemäß verhindert (kommt es z.B. zu einer Blutung aus einem bereits versiegelten Gefäß und kann ein sicherer Gefäßverschluss durch eine neuerliche Versiegelung nicht gewährleistet werden, so wird das Gefäß mittels einer Ligatur abgebunden). Die Tiere erhalten prä- und postoperativ eine angemessene Schmerzmedikation.

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

Bei einer mangelnden Immunabwehr kann sich der Körper nicht ausreichend gegen die täglichen Angriffe von Krankheitserregern wehren. Die korrekte Diagnose einer angeborenen oder erworbenen Immunschwäche ist für eine optimale Behandlung notwendig. Für einige diagnostische Tests (z.B. Komplementfunktionstest AH50, Streptokokken-Antikörpertest ASLO) werden die roten Blutkörperchen von Kaninchenblut benötigt. Das Bakterium Staphylococcus (S.) aureus ist ein Teil der normalen Bakterienflora des Menschen und besiedelt vor allem die Haut und die oberen Atemwege von 10-30% aller Menschen. Es kann aber auch schwere Infektionen verursachen (z.B. Wundinfektionen, nekrotisierende Lungenentzündung oder Toxic Shock Syndrom TSS.) Durch die stark zunehmende Antibiotika-Resistenz von S. aureus stellen dessen Infektionen ein immer bedrohlicher werdendes Gesundheitsproblem dar.

Zu erwartender Nutzen: Eine wirksame Impfung mit modifizierten Toxinen würde einen enormen Fortschritt für die Volksgesundheit bedeuten. Im Rahmen der Entwicklung von Staphylokokkenimpfstoffen müssen die Impfkandidaten zuerst in vitro geprüft werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: In diesem Projekt soll nun Blut von gesunden Kaninchen gewonnen werden, um a) als notwendiges Reagenz für die immunologische Diagnostik von Patienten, b) für funktionelle Hämolyseuntersuchungen von Impfstoffkandidaten (Hämolytinen) eingesetzt zu werden.

2. Art und Anzahl der Tiere

12 Kaninchen

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

Die Untersuchungen können nur mit Kaninchenblut durchgeführt werden. Den Tieren werden nur geringe Mengen abgenommen und die Intervalle zwischen den Blutabnahmen sind mindestens 14 Tage. Mehrere Institute teilen sich das Blut der Kaninchen für die Untersuchungen, somit ist es möglich Tiere einzusparen.

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

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

zu erwartender Nutzen: Resorbierbare Implantate in der Chirurgie sind von besonderem Interesse, da konventionelle Implantate oder die bisherigen resorbierbaren Implantate einige Nachteile aufweisen. Diese sind folgende: Herkömmliche Implantate haben den Nachteil, dass man diese in einer weiteren Operation entfernen muss, was die Kosten erhöht und mit zusätzlichem Risiko für den Patienten verbunden ist. Benutzt man resorbierbare Implantate, so sind dies bisher PLLA/PLGA also Implantate aus zuckerhaltigen Derivaten. Der Nachteil dieser Implantate ist, dass die notwendige mechanische Belastbarkeit auf die Implantate nicht aufgebracht werden kann und dass diese oftmals brüchig sind und im Zuge der Resorption fibrotische Kapseln bilden. In den letzten Jahren haben sich Magnesium-basierte Legierungen als vielversprechendes Material mit biodegradierenden Eigenschaften herausgestellt, da diese mechanisch belastbar sind, sich resorbieren und osteoinduktiv sind. Es ist gelungen eine Mg-Legierung herzustellen, die die notwendigen mechanischen Eigenschaften und die erforderliche Korrosionsresistenz erbringt und dabei ganz ohne die Beimischung von seltenen Erden auskommt - ein Durchbruch in der Materialentwicklung der letzten Jahre. Diese Entwicklung könnte für die Heilung von Knochenbrüchen erhebliche Vorteile bringen, da Operationen zur Entfernung von Implantaten hinfällig wären.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es wird beantragt, resorbierbare Magnesium-Schrauben in die Tiere zu implantieren. Alle Operationsverfahren sind technisch in der Arbeitsgruppe etabliert und werden analog auch in der Behandlung von Patienten eingesetzt. In den bisherigen Versuchsreihen anderer Indikationen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere. Nach Versuchsende werden die Tiere euthanasiert, um deren Beckenknochen zu entnehmen und die darin enthaltenen Schrauben zu untersuchen. Bei den neu beantragten Tieren würden dieselben Verfahren zur Anwendung kommen, wie bei den schon bewilligten Tieren.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

90 Bergschafe

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

Vermeidung: In vitro Untersuchungen und Zelltestungen ohne Tierversuche wurden bereits mit den genannten Materialien durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei langsamer Degradation

des Materials keine Zytotoxizität und gute Biokompatibilität vorhanden ist und das Material gut von den Zellen verstoffwechselt wird. Allerdings kann die Wirkung der Implantate in einem zusammenhängenden Organsystem, bzw. das biomechanische Verhalten der Implantate nur im Tier untersucht werden. Ein finaler Versuch am Großtiermodell zur kombinierten Bestätigung von in vitro und in vivo Ergebnissen der vorhergehenden Studien ist zur anschließenden Durchführung einer klinischen Studie unumgänglich.

Verminderung: Zur Senkung der Tieranzahl auf ein Minimum, wurde angestrebt, möglichst viele Versuche pro Tier in vivo durchzuführen. Durch die nicht invasive und nicht destruktive Untersuchung mittels humanem CT bleibt das Gesamtkollektiv der Versuchstiere bis zum Ende der Studienlaufzeit erhalten und erlaubt eine möglichst geringe, statistisch relevante Anzahl an Tieren. Bei den in vivo Untersuchungen können nämlich Parameter wie die Schnittstelle zwischen Knochen und Implantat, bzw. die Degradation des Implantat-Materials gemessen werden, ohne das Tier opfern zu müssen. Außerdem lässt sich die zeitliche Entwicklung des Implantats im Tier darstellen, wodurch sich die statistische Relevanz erhöht. Bei den neu beantragten Tieren würden nur Tiere zum Einsatz kommen, falls der Verlauf der bisherigen Versuche dies notwendig macht, durch z.B. das Eintreten eines verfrühten Todes eines Tieres.

Verfeinerung: Nach Eintreffen der Tiere, bekommen diese eine Eingewöhnungszeit von mindestens einer Woche, um sich an die neue Umgebung zu gewöhnen, bevor der Versuch startet. In dieser Zeit haben die Schafe freien Zugang zu Stall und Weide. Nachdem Schafe Herdentiere sind, werden sie in Gruppen gehalten, um Stress zu reduzieren. Die Tiere haben freien Zugriff auf Nahrung und Wasser. Zur Vermeidung von zusätzlichem Stress wurden Blutabnahmen zu den Zeitpunkten der CT Untersuchungen festgelegt, da sich die Tiere hierfür bereits in Narkose befinden. Die Tiere werden außerdem beginnend von Ihrem Eintreffen bis zum Ende der Studie von erfahrenem Tierpflegepersonal betreut und regelmäßig vom Tierärzteteam auf ihren Gesundheitszustand überprüft. Sämtliche Untersuchungen, Anästhesien und Operationen, sowie die Gabe von Schmerzmitteln oder anderen Medikamenten werden nach tierärztlichem Protokoll durchgeführt.

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: Die Manipulationen (wie Untersuchungen und Applikationsmethoden, zootechnische Maßnahmen) an den Tieren können mit Unbehagen bzw. Distress verbunden sein.

2. Art und Anzahl der Tiere

430 Schweine (*Sus Scrofa domestica*) für vier 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: Durch den Einsatz von Simulationsmodellen ist das Üben am lebenden Tier bereits durch fortgeschrittene Personen möglich. Dies trägt somit zur Minimierung von Disstress bei. Alle Maßnahmen werden unter Aufsicht von beruflich erfahrenem Fachpersonal durchgeführt, so dass den Tieren keine unnötigen Schmerzen, Leiden oder Schäden zugefügt 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

Das Ziel dieses Projekts ist es, die Rolle eines Proteins anhand eines Mausmodells in der Entwicklung und Progression von Anaplastischen-Großzelligen Lymphomen zu untersuchen. Diese bestimmte Art eines Lymphoms tritt im Menschen meist bei Kindern und jungen Erwachsenen auf und wird in 50% aller Fälle von einem Tumor förderndem Fusionsprotein verursacht. Wir haben in früheren Experimenten und mehreren Vorversuchen ein Protein identifiziert, das eine wichtige Rolle in der Lymphom Entstehung spielt. In den jetzt geplanten Tierversuchen, sollen 7 wichtige Fragen geklärt werden: 1. Was ist der molekulare Signalweg in welches unser identifiziertes Protein involviert ist und kann dieser downstream Signalweg zur Tumorbehandlung verwendet werden? 2. Wie groß ist der Einfluss der zellulären Umgebung auf das Tumorwachstum? 3. Zu welchem Zeitpunkt beginnt die Tumorentstehung? 4. Können bildgebende Verfahren den Disseminationszeitpunkt der Lymphome bestimmen? 5. Können Xenograft Modelle mit humanen Zelllinien in der Maus molekulare Mechanismen weiter klären? 6. Können alternative Tumormedikamente zur Behandlung von Lymphomen verwendet werden? 7. Können neue Signalwege identifiziert werden um humane Lymphome besser medikamentös zu behandeln? Unsere Ergebnisse aus dieser Studie haben einen besonders wichtigen Einfluss auf die Humanmedizin, da derzeit eine klinische Studie mit Angriffspunkt des von uns untersuchten Proteins durchgeführt wird.

zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt hat direkten Einfluss auf die menschliche Gesundheit, da bereits eine klinische Studie basierend auf unseren Daten begonnen wurde. Unsere Experimente werden unterstützend in der Klärung des molekularen Signalwegs und der Wirkungsweise der in Kombinationstherapie verwendeten Medikamente sein. Im Weiteren wird unsere Studie wichtige Einblicke in die Funktion der Tumorumgebung in der Lymphom Entstehung geben, über das bis heute relativ wenig bekannt ist.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Der maximale Schaden für die betroffenen Versuchstiere wird als schwer angegeben, da das verwendete Mausmodell viele Aspekte der menschlichen Erkrankung widerspiegelt und einen rasch wachsenden Thymus Tumor zur Folge hat. Durch genaues Überwachen des Gesundheitszustandes und der Tumorgroße der Versuchstiere wird versucht die Dauer der Belastung so kurz als möglich zu halten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Mäuse unterschiedlichen Genotyps: Gesamtzahl der Mäuse für experimentelle Studien für 5 Jahre  
Studiendauer: insgesamt 1640 Mäuse

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

**Vermeidung:** Durch vorherige Durchführung von Laborversuchen, Auswertungen von bereits vorhandenen humanen Daten und Überlebensstatistiken von Patientendaten konnte bereits eine Beteiligung des zu untersuchenden Proteins in der Lymphomentstehung festgestellt werden. Unser Ziel ist es, so viele Experimente wie möglich in Maus und/oder humanen Zelllinien mittels gentechnischen Manipulationsmethoden durchzuführen um die Anzahl an tatsächlichen Versuchstieren gering zu halten. Außerdem werden wir die betroffenen Versuchstiere mittels bildgebenden Verfahren auf die Tumorentstehung und Dissemination untersuchen. Diese Methoden werden uns helfen in Zukunft die Tumore schneller zu erkennen und dementsprechend rascher auf die Auswirkungen für das Versuchstier reagieren zu können.

**Verminderung:** Die Anzahl der Studientiere wurde durch Berechnung der Stichprobengröße ermittelt. Weiterhin wird die Streuung der Ergebnisse durch Standardisierung der Haltungsbedingungen und der Methodik so gering wie möglich gehalten und so die Anzahl der Tiere auf das erforderliche Mindestmaß reduziert.

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

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Dezember 2022 vorgesehen.

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

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

Neuronale Schaltkreise haben sich letztlich entwickelt, das Verhalten zu steuern. Doch die Art und Weise, in der diese Schaltkreise Verhaltensweisen verursachen, ist meistens unklar. Dieses Projekt soll die Funktion und die Architektur von Schaltkreisen untersuchen, die an der multisensorischen Verarbeitung, der sensomotorischen Integration, der visuellen Salienz und der Aufmerksamkeit beteiligt sind. Wir werden uns diesen Fragen durch die Untersuchung einer hoch konservierten Gehirnregion in Wirbeltieren, den Colliculi superiores (CS) nähern. Die CS empfangen visuelle Informationen in den oberflächlichen Schichten, kombinieren diese mit auditiven und somatosensorischen Informationen in den unteren Schichten und organisieren alle diese Sinnesmodalitäten in topographischen sensorischen Karten. Das Ziel des Projektes ist die Identifizierung und Beschreibung der neuronalen Transformationen von eingehenden sensorischen Signalen der sensorischen Peripherie in motorische Befehle, um die Grundprinzipien der sensorischen und motorischen Berechnungen zu erkunden.

zu erwartender Nutzen: Diese Arbeit wird nicht nur die Lücke zwischen Sinneswahrnehmung und motorischen Befehlen schließen, sondern auch grundlegende Kenntnisse über die Grundprinzipien der neuronalen Berechnungen liefern, die einen zentralen Aspekt der Untersuchung der Mechanismen der Gehirnfunktion im gesunden Körper und bei Krankheiten darstellen. Dieser Beitrag zur Grundlagenforschung ist dafür konzipiert, die Arbeitsmechanismen einer Gehirnregion, die dafür bekannt ist, an der Aufmerksamkeit beteiligt zu sein, zu entdecken. Weil die CS auch mit Aufmerksamkeitsstörungen in Verbindung gebracht worden sind, können diese Untersuchungen ein mechanistisches Verständnis der gesunden Schaltkreise bieten — eine Voraussetzung für die weitere Analyse der Pathophysiologie von neurologischen Krankheiten und für die Entwicklung zukünftiger Behandlungsmöglichkeiten für Menschen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wesentlich für die Erreichung unserer Projektziele ist der Einsatz von teils sehr komplexen chirurgischen Eingriffen am Kopf der Tiere um unsere Zielregion entsprechend darstellen und erforschen zu können. Diese Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten und hochmodernen Narkoseprotokollen begleitet von einer, der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden, Schmerztherapie. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg als besonders kontraproduktiv erweisen und einer zuverlässigen Schmerztherapie wird daher besonderes Augenmerk geschenkt.



## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Labormäuse. Insgesamt werden 2410 Tiere über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen verwendet.

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

**Vermeidung:** Unser Projekt zielt darauf ab, die sensomotorische Integration physiologisch und verhaltensmäßig in den Colliculi superiores von Mäusen zu untersuchen. Daher können diese Experimente nicht durch Beobachtung in vitro ersetzt werden. Des Weiteren können diese Experimente nicht durch theoretische Analyse in Computermodellen ersetzt werden. Deshalb müssen wir einen In-vivo-Ansatz mit wachen Versuchstieren verfolgen, um die Komplexität der neuronalen Berechnungen und ihre Rolle bei der Steuerung des Verhaltens zu untersuchen. Wir können diese Strategie nicht durch eine andere Herangehensweise ersetzen. Allerdings werden mehrere Teile unseres Projekts mit Tieren durchgeführt, die für Untersuchungen von sowohl Verhalten als auch Physiologie verwendet werden, wodurch sich die Gesamtzahl der Tiere, die für diese Studie erforderlich sind, reduziert. Darüber hinaus minimieren wir die Anzahl der verwendeten Tiere durch sorgfältige Versuchsplanung unterstützt durch modellbasierte Hypothesenbildung.

**Verminderung:** Wir halten die Anzahl der verwendeten Tiere so niedrig wie möglich, indem wir das Projekt mit einer Reihe von Pilotversuchen starten. Je nach dem Ergebnis dieser Experimente wird die Anzahl der benötigten Tiere auf der Grundlage statistischer Regeln berechnet, die dabei behilflich sind, die erforderliche Anzahl für statistisch signifikante Schlussfolgerungen zu schätzen. Des Weiteren versuchen wir die Zahlen niedrig zu halten, indem wir 1. Mehrere Analysen in einer einzigen Maus durchführen (z. B. Testen der Expression von verschiedenen Proteinen mit unterschiedlichen Schichten von einer Maus.) 2. Unsere Möglichkeit nutzen, fixierte Organe für mehrere Monate aufzubewahren. Dies versetzt uns in die Lage, die neuesten und modernsten hochauflösenden Analysemethoden auf die zuvor gesammelten Proben anzuwenden, und die Proben erneut zu analysieren. 3. Eine ständig verbesserte Ausgabe von hochwertigen Aufnahmen wird in der Folge zu einer geringeren Anzahl der für das Projekt benötigten Tiere führen.

**Verfeinerung:** Alle an dem Projekt beteiligten Forscher sind in den in dem Projekt verwendeten Sektionsverfahren sehr erfahren. Der Projektleiter hat über 10 Jahre Erfahrung in der Versuchsarbeit. Auf der Grundlage der Fortschritte in diesem Bereich und unserer ersten Ergebnisse werden wir die Experimente noch weiter verfeinern, indem der Schwerpunkt auf die

informativste Probe gelegt wird und die Forschungsansätze, die sich als weniger informativ erweisen, beendet werden.

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

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

Etwa 1 % der Weltbevölkerung ist von Autismus betroffen. Obwohl in manchen Fällen die genetischen Ursachen für die Erkrankung identifiziert werden konnten, gibt es im Wesentlichen keine Heilungsmöglichkeiten für „ASD“ (Autism Spectrum Disorders). Immer noch existiert zu wenig Wissen über die Mechanismen und Ursachen, die hinter der Erkrankung Autismus stehen. Daher gibt es auch nach wie vor praktisch keine Anhaltspunkte für wirksame Behandlungsmöglichkeiten.

Die Ziele des Projektes sind

- die Ursachen und kausalen Zusammenhänge zu verstehen, die die Erkrankung Autismus auslösen. Um diesen Ursachen auf den Grund zu gehen, planen wir die zeitlich aufeinander folgenden Ereignisse, die der Entwicklung von Autismus ähnlichen Verhaltensausrprägungen zugrunde liegen, mit Hilfe von speziellen „Knock Out“ Mäusen, zu untersuchen.

- Wir wollen herausfinden, ob „ASD“ (Autism Spectrum Disorders) –ähnliche Verhaltensausrprägungen immer von Defekten in der Entwicklung herrühren oder ob nach abgeschlossener Entwicklung bestimmte Gene – die eigentlich inaktiv sein sollten - aktiv bleiben und daher das Entstehen von Autismus „mit“ verursachen.

- Wir möchten jene Entwicklungsstadien beleuchten, die speziell sensibel sind gegenüber der Unterbrechung von Signalwegen in Verbindung mit der Entwicklung von ASDs. Auch möchten wir die molekularen Ereignisse untersuchen, die pathologischen Veränderungen in einem Gehirn zugrunde liegen, das autistische Strukturen entwickelt.

zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns fundamentale neue Erkenntnisse und Einsichten betreffend die Entwicklung von Autismus.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Basierend auf klinischen Fällen beim Menschen, die Mutationen in diversen ASD-assozierten Genen tragen, werden wir Mausmodelle („Knock Out Mäuse“) verwenden, die diese Mutationen heterozygot in ihrem Erbgut angelegt haben. Wir erwarten, dass wir mit diesen Tieren unsere Fragestellung gezielt untersuchen können, dass die Tiere selber aber nur mild ausgeprägte neurologische Symptome (z.B. reduziertes Sozialverhalten und Lernschwäche) aufweisen. Regelmäßig angewandte Beurteilungsbögen („Score Sheets“) helfen uns allfällig auftretendes Leiden der Tiere früh zu erkennen und Gegenmaßnahmen zu

ergreifen. Die Tiere werden hauptsächlich in Verhaltensstudien eingesetzt, es werden keine operativen Eingriffe vorgenommen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Labormäuse. Insgesamt werden 37939 Tiere über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen verwendet.

Die Belastung dieser Tiere wird folgendermaßen bewertet:

26,20% keine Wiederherstellung der Lebensfunktion

41,27% gering

32,53% mittel

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

**Vermeidung:** Autismus gehört zu komplexesten Erkrankungen im Zusammenhang mit der Entwicklung des Gehirns und wir wissen noch sehr wenig über die Entwicklung dieser Erkrankung. Mehr Erkenntnisse über die Entwicklung und die Komplexität der Erkrankung können wir nach unserem Verständnis nur durch die Beobachtung der Gehirnentwicklung bei lebenden Tieren bekommen. Aufgrund der Komplexität der Erkrankung können die zugrunde liegenden Mechanismen nicht an oder in „einfacheren“ Systemen studiert werden (z.B. in Zellkultur). Das Beobachten sich verändernder oder nicht ausgebildeter (sozialer) Verhaltensweisen von betroffenen Tieren im Vergleich zu Tieren, die die erwähnten Mutation nicht aufweisen, können nicht in der Zellkultur sondern nur in komplexen Verhaltenstests überprüft und vergleichend ausgewertet werden.

**Verminderung:** Generell versuchen wir mit der kleinsten möglichen kleinen Anzahl an Tieren auszukommen, mit der wir noch statistisch signifikante Differenzen zwischen Kontroll-experimentellen Bedingungen darstellen können. Trotzdem benötigen wir aufgrund der großen Zahl an, voneinander unabhängigen Variablen und der Variabilität der unterschiedlichen Phänotypen – Ausprägungen - Gruppengrößen, die statistisch signifikant Auswertungen zulassen. Ein gut durchdachtes und geplantes Design der Experimente, penible Sammlung, Speicherung und Analyse der Daten mit den korrekten Programmen sowie die Mehrfachnutzung von (archivierten) Daten wo das möglich ist, hilft uns des Weiteren die Anzahl der benötigten Tiere so klein als möglich zu halten.

Verfeinerung: Alle Manipulationen an Tieren, beginnend bei der Auswahl für die Zucht, das Training für die verschiedenen zuchtbedingten und experimentellen Eingriffe, werden nur von Personen durchgeführt, die eine entsprechende Ausbildung sowie lange Erfahrung in der Durchführung der Tests aufweisen.

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

Herz- und Kreislauferkrankungen gehören immer noch zu den häufigsten Todesursachen weltweit. In den meisten Fällen sind sie die Folge atherosklerotischer Gefäßwandverdickungen, welche durch hohe Cholesterinwerte aber auch andere Risikofaktoren wie beispielsweise Rauchen oder Bluthochdruck entstehen. Als weiterer Risikofaktor hat sich in den letzten Jahren Hyperhomocysteinämie (HHcy) herausgestellt. HHcy ist charakterisiert durch einen erhöhten Homocysteinspiegel im Blut, der bei 5-10% der Gesamtbevölkerung und sogar bei bis zu 30% der Senioren auftritt. Die Mechanismen, wie HHcy zur Atherosklerose-Entwicklung führen oder beitragen kann, sind kaum geklärt, und somit der Fokus dieses Projekts.

zu erwartender Nutzen: In diesem Projekt wird die Hypothese untersucht, ob HHcy-assoziierte Atherosklerose durch einen Cholesterin-unabhängigen Mechanismus verursacht wird, welcher in Zusammenspiel mit Hypercholesterinämie zur weiteren Verschlechterung von Atherosklerose-geprägten Krankheitsbildern führt. Wir gehen davon aus, dass der Haupteinfluss von erhöhtem Homocystein durch die Synthese von S- Adenosyl-L-Homocystein (AdoHcy) entsteht, welches bei HHcy akkumuliert und viele zelluläre Prozesse beeinflusst. Ähnlichkeiten und Unterschiede in der Entstehung atherosklerotischer Plaques und Gefäßveränderungen in HHcy- und/oder Hypercholesterinämie-induzierter Atherosklerose sollen Aufschluss über spezifische, noch ungeklärte Mechanismen geben, die HHcy und Atherosklerose miteinander verbinden. Die Analyse der Konzentrationen von HHcy-assoziierten Metaboliten sowie die Folgen der gezielten Änderungen ebendieser sollen die Auslöser(n) von HHcy-assoziierten Atherosklerose aufzeigen. Diese Studien werden sowohl mechanistische Einblicke in die Entstehung von Atherosklerose ermöglichen als auch dabei helfen, den Weg für eine verbesserte Diagnostik und neue therapeutische Ansätze im Kampf gegen Herz- und Kreislauferkrankungen zu erarbeiten.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Tiere werden erwachsen erworben und zur Eingewöhnung für ein bis zwei Woche gehalten. Danach werden sie in verschiedene Gruppen eingeteilt und auf definierte Diäten gesetzt – zur Erhöhung des Homocysteinspiegels mittels Diät und auch in Kombination mit Homocystein Injektionen, zur Akkumulation von Cholesterin und zur Kombination der beiden Zustände („Doppeldiät“). Des Weiteren gibt es auch eine Normaldiät Kontrollgruppe und eine Homocysteingruppe die mit dem Antioxidans N-Acetyl-Cystein gefüttert

wird, um die Homocystein-assoziierten Effekte zu reversieren. Ein bis zwei Wochen danach erfolgt eine operative Schädigung der Aortengefäße, schmerzfrei unter entsprechender Narkose zur Ausdifferenzierung der atherosklerotischen Plaques in den geschädigten Regionen. Die Weiterfütterung der Diäten erfolgt dann noch für zirka 8 Wochen, mit regulären Blutabnahmen um den physiologischen Verlauf zu studieren. Insgesamt ist keine physische Beeinträchtigung der Tiere zu erwarten. Postoperative Schmerzen entsprechen denen beim Menschen. Auch durch die Injektionen über die Ohrvene wird keine zusätzliche Schmerzbelastung erwartet. Ein paar Kontrolltiere erhalten auch nur die Diäten ohne operativen Eingriff, um die Wirkung dieser auf die ungeschädigte Aorta zu studieren. Nach den acht Wochen nach der operativen Schädigung erfolgt dann die Sakrifizierung entsprechend den Bestimmungen, und danach die ex vivo Analysen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

95 Kaninchen

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

**Vermeidung:** Eine Vermeidung des beantragten Tierversuches ist nicht möglich, da Herz-Kreislauf Erkrankungen wie die Entstehung von atherosklerotischen Plaques in den Gefäßen und Hyperhomocysteinämie nicht z.B. in Zellkulturen nachgestellt werden können. Da größere Versuchstiere dem menschlichen Szenario der Atherosklerose näher kommen, werden für diese Studie Kaninchen benötigt.

**Verminderung:** Durch die aufwendigen Messungen, in vivo mittels Ultraschall, Magnet Resonanz Tomographie und ex vivo mittels Histologie und neuester analytischer Methoden, wird angestrebt den größtmöglichen Wissenszuwachs aus einer geringstmöglichen Anzahl an Versuchstieren zu gewinnen. Sollten sich statistisch eindeutige Ergebnisse bereits mit weniger als den geplanten Tierzahlen ergeben, wird die Anzahl der für das Versuchsprotokoll eingesetzten Tiere entsprechend reduziert werden.

**Verfeinerung:** Sämtliche Eingriffe bei den Versuchstieren erfolgen in adäquater Sedierung oder Narkose. In den bisherigen Versuchsreihen ergab sich kein Anhalt für Schmerzen, Leiden oder Angst der Tiere. Die Tiere werden zunächst für eine Woche unter tierärztlicher Aufsicht an die neue Umgebung gewöhnt, damit ein durch den Transport bedingter Stresszustand abklingen kann. Es findet über den Versuchszeitraum ein werktäglicher Umgang mit den Tieren durch das Tierpflegepersonal und Experimentatorenteam statt, so dass sich die Tiere an diese Personen gewöhnen und nicht-invasive Messungen ohne Stress und idealerweise ohne oder mit nur geringer

Sedierung durchgeführt werden können. Das Tierärzteam kontrolliert die Tiere regelmäßig auf ihren Gesundheitszustand. Die Kaninchen werden in genormten Käfigen den Bestimmungen entsprechend gehalten und erhalten Enrichment in Form von z.B. Hartholzstückchen.



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

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

Eine bakteriell bedingte Plazentitis ist bei Stuten Hauptursache für Aborte, für die Geburt prämaturer Fohlen sowie für Fohlenverluste im neonatalen Zeitraum. Bei Stuten mit bakteriell bedingter Plazentitis unterscheiden sich die Konzentrationen der trächtigkeitsrelevanten Hormone aufgrund von Funktionsstörungen der Plazenta deutlich von denen mit ungestörter Trächtigkeit. Es ist davon auszugehen, dass diese Veränderungen über die Stimulation der Freisetzung bestimmter Hormone auch die Ovaraktivität bei Stuten beeinflussen. Ziel dieses Projekts ist daher die Untersuchung, ob es bei Stuten mit bakteriell bedingter Plazentitis infolge der veränderten endokrinen Verhältnisse zu einer vorzeitigen Stimulation der Ovaraktivität kommt, die für eine frühzeitigere Diagnose dieser Erkrankung genutzt werden könnte.

zu erwartender Nutzen: Es sollen die Voraussetzungen für eine Früherkennung und damit für eine frühzeitige Therapie der bakteriell bedingten Plazentitis bei der Stute geschaffen werden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Stuten werden einer täglichen transrektalen Ultraschalluntersuchung ab dem Nachweiseines Follikelwachstums bis zur Geburt und im Puerperium bis zur ersten Ovulation unterzogen. Parallel erfolgen Blutabnahmen und Entnahmen von Präkolostrumproben.

2. Art und Anzahl der Tiere

40 Pferde

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

Vermeidung: Die Untersuchung der Entwicklung von Frucht und Eihäuten in der Trächtigkeit ist nur an lebenden Tieren möglich.

Verminderung: Als Kontrollgruppe werden nur Pferde einer Rasse verwendet, um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch rassespezifische Unterschiede zu vermeiden. Die Anzahl der Tiere wurde so gewählt, dass statistisch aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können.

Verfeinerung: Die Stuten werden während der Versuchsdauer in Einzelboxen (zur Geburtsüberwachung und Geburt) mit täglichem mehrstündigem Auslauf auf einem Paddock gehalten und kehren nach dem Abfohlen in ihre vertraute Umgebung zurück. Die

versuchsbedingten Maßnahmen werden von Fachpersonen durchgeführt und entsprechen der tierärztlichen Praxis.

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

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

Depression gehört weltweit zu den häufigsten und schwerwiegendsten psychischen Erkrankungen, die nicht nur für den Patienten und seine Angehörigen besonders belastend ist, sondern auch bedeutende sozio-ökonomische Auswirkungen mit sich bringt. Die zugrunde liegenden neurobiologischen Grundlagen sind derzeit nur unvollständig erforscht. In dem hier beschriebenen Projekt soll die Bedeutung metabolischer Einflüsse auf emotionales Verhalten untersucht bzw. deren Relevanz für die Pathogenese von affektiven Störungen auf systemischer, zellulärer und molekulare Ebene erforscht werden. Dazu werden die Einflüsse von genetischen und von Umweltfaktoren, - während der Entwicklung und im adulten Organismus - und deren Interaktion experimentell charakterisiert. Ziel ist es, durch ein verbessertes Verständnis der an der Krankheitsentstehung dieser komplexen Pathologien des Gehirns beteiligten biologischen Grundlagen, den Weg zur Ermittlung neuer therapeutischer Strategien. Spezifische Aspekte, die in dem vorgeschlagenen Projekt experimentell untersucht werden sollen, inkludieren:

zu erwartender Nutzen: Ergebnisse dieser weiterführenden Studie können neue Einblicke in die Pathophysiologie der Depression vermitteln und durch das Aufzeigen der involvierten Moleküle eventuell zusätzliche therapeutische Ziele für pharmakologische Substanzen zur Bekämpfung der Krankheit aufzeigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bis zu mittelgradige Belastung durch angewandte Untersuchungen der Verhaltensbeobachtung (ua. Schwimmen) wie auch chirurgischer Eingriffe.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Maus, 2425

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

Vermeidung: Wissenschaftliche Untersuchungen zu den neurobiologischen Grundlagen von psychischen Erkrankungen umfassen notwendiger Weise die Beurteilung es zugehörigen Verhaltensphänotyps, welche, per definitionem, nur am lebenden Tiere erfolgen kann.

Entsprechend dem Anspruch des TV-Gesetzes werden also nur solche Fragen im tiermedizinischen Experiment untersucht, welche sich nicht in in vitro-Zellkulturmodelle überprüfen lassen, Die Erforschung der molekularen Grundlagen psychischer Erkrankungen, wie hier beschrieben für

Depression, soll aber in der Zukunft dazu beitragen, dass einzelne Aspekte dieser Krankheit auch ohne lebende Tiere, unter Verwendung von Ersatzmethoden, untersucht werden können.

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

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

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

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

Das Ziel des beantragten Tierversuchs ist die Anwendung einer lichtbasierten Technik zur Bildgebung im alternden Mausauge. Ähnlich einem Mikroskop oder Fotoapparat ermöglicht diese Technik die dreidimensionale Darstellung von Gewebsstrukturen, Dabei können Strukturen bis zu einer Größe von weniger als einem Hundertstel Millimeter unterschieden werden. Damit können nicht nur winzige pathologische Veränderungen der Struktur diagnostiziert werden, sondern auch die optischen Eigenschaften des untersuchten Gewebes vermessen werden. Außerdem können ähnlich dem Ultraschallprinzip Gefäßstrukturen bis ins Kapillarlevel visualisiert und auch der Blutfluss quantitativ erfasst werden. Der zusätzliche Einsatz von intravenös verabreichten Kontrastmitteln verstärkt das vom Blut zurückgeworfene Signal und ermöglicht so eine verbesserte Darstellung von Gefäßsystemen. Da die Messung mit Licht durchgeführt wird, ist sie berührungslos, kontaktfrei, schnell und schmerzlos. Dadurch ermöglicht sie wiederholte Messungen in ein und demselben Tier und erfüllt damit das Prinzip der 3R, der Vermeidung, Verminderung und Verfeinerung von Tierversuchen.

zu erwartender Nutzen: In den beantragten Experimenten soll das diagnostische Potential von optischen Techniken mit zusätzlichem Bildkontrasts mittels longitudinaler Studien in relevanten Mausmodellen für altersbezogene Erkrankungen demonstriert und untersucht werden. Durch wiederholte Messungen an ein und demselben Auge werden Läsionen im Auge, die sich mit fortschreitendem Alter entwickeln, dreidimensional erfasst und verfolgt. Der Tierversuch am Mausauge ermöglicht dabei eine Beobachtung dieser Läsionen im Zeitraffer und erlaubt detaillierte Studien über den Therapieerfolg bzw. den Einfluss von gezielten Behandlungen. Durch die Kombination von struktureller Information (wie sehen die Läsionen aus und wie entwickeln sie sich?) und funktioneller Information (wie verändern sich optische Gewebeeigenschaften, wie Gefäße und Blutfluss?) wollen wir nicht nur eine neue diagnostische Technik erproben, sondern auch wertvolle Einsichten in die Entwicklung von wichtigen Erkrankungen gewinnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die mittels Licht durchgeführte Untersuchung ist berührungs- und schmerzfrei, dauert nur wenige Minuten und erfordert lediglich eine leichte Narkose zur Immobilisierung des Tieres. Tiere aus Mausmodellen altersbezogener Erkrankungen, bei denen mit einer möglichen Belastung zu rechnen ist, werden besonders engmaschig kontrolliert. Im Fall von

Komplikationen werden sofort Maßnahmen ergriffen, um diese Effekte zu reduzieren oder es kommen humane Endpoints zur Anwendung.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für den Versuch werden 830 Mäuse verschiedenen Genotyps benötigt.

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

**Vermeidung:** Eine Etablierung von optischen, bildgebenden Verfahren in der präklinischen Forschung kann zu einem Ersatz der bisherigen Standardmethode für die präklinische Untersuchung in Tierexperimenten — der histopathologischen Untersuchung — führen und so eine vielseitige Nutzung von Tieren ermöglichen, die ultimativ zur Vermeidung einzelner Tierversuche führen kann.

**Verminderung:** Von den Antragstellern wird eine minimale Anzahl von Versuchstieren angestrebt. Da es sich bei der verwendeten Methode um ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren handelt, bei dem lediglich eine leichte Narkose benötigt wird, kann die Anzahl der involvierten Tieren in einer Langzeitstunde im Vergleich zu konventionellen, histologiebasierten Studien um einen Faktor 10 verringert werden. Der nicht-invasive Charakter der optischen Methode kann somit einen großen Einfluss auf die Reduktion der in Tierversuchen verwendeten Tierzahl haben und ermöglicht ein zur Histologie komplementäres Verfahren.

**Verfeinerung:** Standardisierte Haltungsbedingungen und Versuchsbedingungen werden angewandt. Speziell geschultes Personal wird eingesetzt, um eine minimale Belastung der Tiere zu erreichen. Durch den nicht-invasiven Charakter der optischen Bildgebung ermöglicht diese longitudinale Studien von pathologischen Prozessen in ein und demselben Tier, was nicht nur die Anzahl der benötigten Versuchstiere dramatisch verringert, sondern auch die Streuung der Messergebnisse reduziert und eine genauere (Rück)Verfolgung von einzelnen pathologischen Merkmalen ermöglicht.

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 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. Die Applikation von Tumorzellen und Verbindungen ist minimal invasiv und erfolgen ggf. unter Narkose. 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

#### 4.130 Mäuse.

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

Eine Reduzierung der Versuche sowie auch damit der Tierzahlen wird durch die nicht-invasive molekulare Bildgebung 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 Tierzahl 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 weitere rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2021 vorgesehen.



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

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

Kachexie beschreibt die krankhafte Abnahme des Körpergewichts, durch den Verlust von Fett- und Muskelmasse, die durch erhöhte Nahrungsaufnahme nicht gestoppt werden kann. Diese Abmagerung ist ein häufiges Begleitbild bei chronischen entzündlichen Erkrankungen, COPD (chronische obstruktive pulmonale Erkrankung), rheumatoide Arthritis, bei Virusinfekten (zB. HIV) und Krebserkrankungen. In einem Viertel der Krebserkrankungen ist die Kachexie Todesursache und nicht der zugrundeliegende Tumor. In vielen Fällen verhindert das Auftreten der Kachexie und damit die Schwächung des Patienten ein Weiterführen der Krebstherapie, daher ist Kachexie immer mit einer schlechten Prognose für den Patienten assoziiert.

Zu erwartender Nutzen: In dieser Studie versucht das durchführende Labor der Aufklärung von Kachexie-unterliegenden molekularen Mechanismen näher zu kommen. Ziel unserer Forschung ist es herauszufinden, welche immunologischen Faktoren im Verlauf der Kachexie den gesteigerten Verlust von Fettgewebe, beziehungsweise den vermehrten Proteinabbau im Muskelgewebe signalisieren. Die gewonnenen Ergebnisse können die Grundlage für die Entwicklung von Medikamenten zur Prävention von Gewichtsverlust von KrebspatientInnen sein. Dadurch kann Zeit gewonnen werden, um die Krebserkrankung zu behandeln.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Es handelt sich bei den hier beantragten Versuchen um Studien zur Krebs-assoziierten Kachexie, daher werden den Tieren Tumorzellen injiziert, die zur Ausprägung eines Tumors führen. Um Kachexie untersuchen zu können, ist es notwendig die Tiere so lange im Versuch zu halten, bis Anzeichen der Kachexie auftreten. Diese sind: Gewichtsverlust durch Fett- und Muskelatrophie, Reduktion der Aktivität sowie Reduktion der Körpertemperatur. Aus diesem Grund werden die Versuchstiere vorübergehend, aber so kurz als möglich, einer schweren Belastung ausgesetzt. Die Tiere werden regelmäßig (täglich) auf ihr Verhalten und ihren Gesundheitszustand kontrolliert. Alle Eingriffe erfolgen unter größtmöglicher Stressvermeidung. Um Leiden und Schmerzen zu minimieren werden geeignete Anästhesie- und Schmerztherapieverfahren angewandt.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Die Tierzahlen des Projektes werden um 1320 Mäuse auf insgesamt 8839 Mäuse erhöht.

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

Vermeidung: Wir versuchen die Anzahl sowie Leid und Stress der Tiere zu minimieren.

Entsprechend internationalen Standards werden daher Tierversuche durch den Einsatz von tierversuchsfreien Verfahren ersetzt. So gehen jedem Tierversuch ausführliche Zellkultur- und biochemische Experimente voraus.

Verminderung: Es wird prinzipiell versucht, so wenige Tiere wie nur möglich für ein Tierexperiment zu verwenden, wobei die Anzahl der Tiere abhängig vom zu erwartenden oder vorausgesagten Effekt ist. Sind Unterschiede zwischen Mausmodel und Kontrollmaus eindeutig, so werden die Experimente für die Statistik auf ein Minimum beschränkt.

Verfeinerung: Es wird ständig an der Verbesserung der Versuchsabläufe gearbeitet und wenn möglich schonendere, wenig- oder nicht-invasive Verfahren eingesetzt. So ist es stets das Ziel, das Leiden der Tiere zu minimieren.

Untersuchungen in unserem Labor fokussieren sich auf den Zeitverlauf der Kachexie. So wird analysiert, ob bereits metabolische Änderungen im frühen Stadium der Kachexie (noch keine Gewichtsreduktion) messbar sind. So könnten Tumormäuse noch vor dem typischen kachektischen Phänotyp (Gewichtsreduktion) euthanasiert werden, was wiederum den Belastungszustand der Versuchstiere mildert. Zudem bemühen wir uns um kontinuierliche Schulungen unsere MitarbeiterInnen, um neue, weniger invasive Methoden zum Einsatz zu bringen.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2023 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

Eine möglichst detailgenaue Kenntnis des Fettstoffwechsels ist von zentraler Bedeutung für das Verständnis, die Prävention und die Behandlung einer Vielzahl von weit verbreiteten Erkrankungen. Ungleichgewichte im Fettstoffwechsel begünstigen die Entwicklung von Fettleibigkeit, Diabetes, Herz-/Kreislaufkrankungen, Fettleber und bestimmten Krebsformen. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzte die weltweite Zahl der übergewichtigen Erwachsenen im Jahr 2014 auf 1.9 Milliarden. Selbst die Zahl der übergewichtigen Kinder betrug 41 Millionen. Die von Fettleibigkeit abgeleiteten Folgeerkrankungen wie Herzinfarkt oder Schlaganfall stellen die Haupttodesursachen in entwickelten Ländern dar. Fette werden im menschlichen Körper bevorzugt in Fettgeweben in Form von Triglyzeriden gespeichert. Diese Triglyzeride können enzymatisch durch sogenannte Lipasen gespalten werden, wodurch Fettsäuren als energiereiche Produkte entstehen. Die Fettsäuren können vom Fettgewebe ins Blut abgegeben werden und stehen dann anderen Organen wie der Muskulatur oder der Leber sowohl als Energielieferanten als auch als Botenstoffe und Bausteine für Zellbestandteile zur Verfügung. Im Rahmen von Fettleibigkeit kann der sonst fein abgestimmte Fettabbau dereguliert sein, sodass die im Übermaß freigesetzten Fettsäuren andere Organe belasten — ein Phänomen namens Lipotoxizität. Mögliche Folgen sind beispielsweise Leberverfettung oder Diabetes. Das durchführende Institut lieferte einen wesentlichen Beitrag zum Verständnis des Fettabbaus, indem es die dafür wichtigste Lipase, die Adipozyten Triglyzerid Lipase (ATGL), entdeckte. Weiters wurde ein chemischer Hemmstoff der ATGL entwickelt. In vorhergehenden Versuchsreihen konnte gezeigt werden, dass mit diesem Hemmstoff gefütterte Mäuse weniger an Gewicht zunehmen, eine geringer ausgeprägte Leberverfettung aufweisen und weniger anfällig für Diabetes sind. Diese Ergebnisse deuten auf ein großes therapeutisches Potenzial dieses Hemmstoffes zur Verminderung der Lipotoxizität im Rahmen der oben genannten Erkrankungen hin. Ziel der vorliegenden Änderung wird sein, ein neues Mausmodell zu charakterisieren, welches für die Testung von Hemmstoffen für die humane Form der ATGL eingesetzt werden könnte. Zudem soll die Herzfunktion von verschiedenen Mausmodellen mit einer nicht-invasiven Methode untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Aus den geplanten Versuchsreihen erwarten wir große Erkenntnisgewinne in Bezug auf die metabolischen Konsequenzen gehemmten Fettabbaus. Die gewonnenen

Ergebnisse können die Grundlage für die Entwicklung von Medikamenten gegen diverse Stoffwechselerkrankungen und Übergewicht bilden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Die Versuchstiere werden vorübergehend und so kurz als möglich einer leichten bis maximal mittleren Belastung ausgesetzt. So werden den Tieren beispielsweise verschiedene Wirkstoffe wahlweise injiziert oder über das Futter verabreicht, Fütterungs- oder Fastenstudien durchgeführt, oder Blutproben entnommen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Es wird die Verwendung von max. 4380 Mäusen (*Mus Musculus*) vorgesehen. Dies entspricht einer Erhöhung der Tierzahl verglichen mit der des Erst-Antrages von 816 Tieren.

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

**Vermeidung:** Durch den Einsatz etablierter Techniken wie Zellkultur, in-vitro oder ex-vivo Experimenten werden Tierversuche in unserem Labor auf ein Minimum reduziert.

**Verminderung:** Die Dauer der Versuchsreihen und die Anzahl der Versuchstiere werden auf ein Minimum reduziert, das notwendig ist, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

**Verfeinerung:** Wir legen Wert auf den Einsatz von modernsten Analyseverfahren, die geringe Probenmengen ermöglichen, und von nicht-invasiven Methoden. Die Haltung und Pflege der Tiere erfolgt anhand höchster Qualitätsstandards.

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

PatientInnen mit chronischer Polyarthritiden sind häufig von kardiovaskulären Begleiterkrankungen mit frühzeitiger Todesfolge betroffen. Die genauen Mechanismen kardiovaskulären Veränderungen bei chronischen Autoimmunerkrankungen sind bislang wenig untersucht. In dieser Studie wurde der Einfluss chronischer Entzündungsbedingungen auf das Herzgewebe und die Herzfunktion in einem Arthritismausmodell detailliert untersucht.

Zu erwartender Nutzen: Die Studie lieferte neue Erkenntnisse über TNF-medierte Mechanismen chronischer Entzündungsprozesse auf die Herzfunktion.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Der für die Tiere zu erwartende Schaden liegt bei einer mittleren bis zu schweren Belastung durch die Gelenkentzündungen der Tiere sowie einer geringen bis mittleren Belastung bei Magnetresonanzuntersuchungen sowie Messungen hämodynamische Parameter am Herzen unter Vollnarkose.

2. Art und Anzahl der Tiere

Tiere Mus musculus (Genotypen: hTNFtg und Wildtyp, C57BL/6 Hintergrund), insgesamt 192 Mäuse

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

Vermeidung: Die gestellten Projektziele konnten nicht durch Ersatzmethoden wie in vitro Versuche ersetzt werden und dienen unmittelbar neuer klinischer Erkenntnisse.

Verminderung: Im Rahmen dieses Projektes wurde die Zahl der Tiere entsprechend einer genauen Fallzahlberechnung (Poweranalyse) so gering wie möglich gehalten. Außerdem trugen die standardisierten Versuchs- und Haltungsbedingungen maßgeblich zu einer geringen Streuung der Versuchsergebnisse und somit zur Verringerung der Tieranzahl bei.

Verfeinerung: Die in dieser Studie verwendeten Modelle sind seit Jahren an der Abteilung sehr gut etabliert und optimiert. An der Verbesserung der Durchführung wird stetig weitergearbeitet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 30. September 2020 sowie bis spätestens 30. September 2022 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

Infektionen mit *S. epidermidis* machen ca. 70 bis 80% aller mit Fremdkörpern (z. B. Implantaten und Prothesen) verbundenen Infektionen aus. Erschwerend kommt hinzu, dass ein Großteil dieser im Krankenhaus erworbenen Infektionen gegen zahlreiche Antibiotika resistent sind und somit der therapeutische Erfolg in Frage gestellt ist. Ein anderer therapeutischer Ansatz bzw. eine Infektionsprophylaxe durch Impfung wäre ein wesentlicher neuer Beitrag zur Behandlung betroffener Patienten. Dazu müssen die optimalen Impfantigene identifiziert werden.

zu erwartender Nutzen: Prophylaxe und Therapie in der Behandlung von Infektionen mit multiresistenten *S. epidermidis*.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Mittlere Beeinträchtigung durch mehrfache Immunisierung und Blutabnahme zur Serumgewinnung.

2. Art und Anzahl der Tiere

340 Mäuse

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

Vermeidung: Zur Identifizierung der Impfantigene ist ein Gesamtorganismus mit intaktem Immunsystem notwendig.

Verminderung: In dieser Phase der Impfstoffentwicklung können die Gruppengrößen gering gehalten werden und wird mit einer minimalen Tierzahl gearbeitet.

Verfeinerung: Standardisierte Methoden der Tierhaltung und experimentellen Durchführung verringern die Variabilität der Ergebnisse und die Belastung der Tiere. Das engmaschige Gesundheitsmonitoring und klar definierte Abbruchkriterien limitieren die Belastung der Tiere auf das unabwendbare Minimum.

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

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

Depression gehört weltweit zu den häufigsten und schwerwiegendsten psychischen Erkrankungen, die nicht nur für den Patienten und seine Angehörigen besonders belastend ist, sondern auch bedeutende sozio-ökonomische Auswirkungen mit sich bringen. Die derzeit zur Verfügung stehenden therapeutischen Strategien sind unzureichend in Hinblick auf Wirksamkeit und Nebenwirkungen. In dem hier beschriebenen Projekt sollen die neurobiologischen Grundlagen des therapeutischen Schlafentzuges für die Behandlung der Depression auf molekularer Ebene untersucht werden.

zu erwartender Nutzen: Ergebnisse dieser können neue Einblicke in die Wirkmechanismen der antidepressiven Effekte von Schlafentzug vermitteln und durch das Aufzeigen der involvierten Moleküle eventuell zusätzliche therapeutische Ziele für pharmakologische Substanzen zur Bekämpfung der Depression aufzeigen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Bis zu mittelgradige Belastung durch angewandtes Modell bzw. Untersuchungsmethoden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Maus, adult, männlich und weiblich jeweils 240, total 480

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

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

Verminderung: Die Anzahl der Tiere wird auch gering gehalten, da wir Tiere aus einem einheitlichen genetischen Hintergrund verwenden, die unter standardisierten Bedingungen gehalten werden. Gleiches gilt für den Ablauf der Experimente, die ebenfalls unter

standardisierten Bedingungen durchgeführt und ausgewertet werden. Weiters ermöglicht eine a priori Fallzahlberechnung die Zahl der Tiere so gering wie möglich zu halten, um noch aussagekräftige Ergebnisse mit statistischer Relevanz liefern zu können.

Verfeinerung: Die beschriebenen Untersuchungstechniken stellen weithin etablierte Methoden dar, die in unserem Labor mit langer Erfahrung und ausgewiesener Fachkunde nach international anerkannten Protokollen durchgeführt werden.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. März 2024 vorgesehen.



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

Monoklonale Antikörper stellen aufgrund ihrer unübertroffenen Epitopspezifität unersetzliche experimentelle Werkzeuge zur Funktionsanalyse von Proteinen dar, die in der medizinischen Grundlagenforschung für Methoden wie Immunpräzipitation, Immunblotting und Immunfluoreszenz Verwendung finden. Moderne medizinische Forschung ist ohne hochspezifische monoklonale Antikörper nicht denkbar. Darüberhinaus werden monoklonale Antikörper in immer größerem Ausmaß im klinischen Alltag zur Diagnose und Therapie eingesetzt. Die Generierung einer Antikörper-sezernierenden Hybridom Zelle ist jedoch eine komplexe zellbiologische Methode, deren erfolgreiche Durchführung von der Expertise und der Erfahrung der ExperimentatorIn abhängt. Aus diesen Gründen verzichten viele ForscherInnen auf die Herstellung der Antikörper und somit auf weiteren Erkenntnisgewinn. Durch unsere Expertise ist es möglich, diese hochspezifischen monoklonalen Antikörper für Forschungsprojekte und diagnostische Verfahren zur Verfügung zu stellen.

zu erwartender Nutzen: Wie sich anhand der mit Hilfe unserer Antikörper durchgeführten Publikationen ablesen lässt, werden auch die neu generierten monoklonalen Antikörper für die Beantwortung wissenschaftlicher Fragestellungen essentiell sein. Daneben werden manche der von uns generierten monoklonalen Antikörper auch dazu dienen, humane Diagnostika und Therapeutika zu entwickeln.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Zur Generierung neuer monoklonaler Antikörper werden Mäuse mit Antigenen immunisiert, was einer Impfung in der Human- und Veterinärmedizin entspricht. Nach erfolgreicher Immunisierung werden die Tiere schmerzlos getötet und die Milzzellen der Mäuse zur Herstellung von Hybridomzellen verwendet, die dann in-vitro monoklonale Antikörper produzieren.

2. Art und Anzahl der Tiere

Es werden für einen Zeitraum von 5 Jahren + 4 Jahren 500 + 600 Mäuse für Immunisierungen beantragt. Diese Zahl ergibt sich aus der in den letzten Jahren gestiegenen Nachfrage nach

monoklonalen Antikörpern, die in der Zukunft eine Zahl von ca. 100-120 dafür notwendigen Tieren (für ca. 25-30 Antikörperprojekte) pro Jahr erwarten lässt.

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

**Vermeidung:** Nach Etablierung einer Antikörper sezernierenden Hybridomzelllinie kann der jeweilige monoklonale Antikörper jederzeit und in praktisch unlimitierten Mengen und gleichbleibender Qualität produziert werden, wodurch keine weiteren Tiere immunisiert werden müssen. Die Hybridomzellen sind unsterblich, können in flüssigem Stickstoff unbegrenzt gelagert, und jederzeit wieder aufgetaut und zur Produktion des jeweiligen, hochspezifischen Antikörpers verwendet werden.

**Verminderung:** Obwohl für die Immunisierungen genetisch idente Mäuse desselben Inzuchtstammes verwendet werden, besteht eine erhebliche Variabilität in der Immunantwort der Versuchstiere. Aus diesem Grund müssen pro Projekt mehrere Mäuse (zumeist 3-4) immunisiert werden, da im Regelfall nicht jedes immunisierte Tier eine für die Herstellung monoklonaler Antikörper entsprechende Immunantwort entwickelt. Dank unserer langjährigen Erfahrung mit dieser Technik haben wir eine außerordentlich hohe Erfolgsrate, wodurch die Zahl der für die Herstellung eines monoklonalen Antikörpers notwendigen Tiere gering gehalten werden kann.

**Verfeinerung:** Die Haltung der Tiere erfolgt nach den FELASA Richtlinien in einem "enriched environment" unter standardisierten SPF Haltungsbedingungen.

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

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

Die Behandlung mit Gerinnungsfaktoren ist die Standardtherapie, die es hämophilen Menschen ermöglicht, ein normales Leben zu führen. Diese Substitutionstherapien führen allerdings in vielen Fällen zur Bildung von Antikörpern gegen den betreffenden Gerinnungsfaktor. Diese Hemmkörper verhindern die Wirksamkeit der applizierten Gerinnungsfaktoren und führen wieder zu erhöhter Blutungsneigung. Bei Eintritt dieser oft lebensbedrohenden Komplikationen ist die Therapie mit Anti Inhibitor Coagulant Complex (AICC) oder aktiviertem Gerinnungsfaktor VIIa die Standardtherapie. In diesem Projekt sollen Wirkung und eventuelle Nebenwirkungen eines neu entwickelten AICCs mit verbesserten Produkteigenschaften in einem Mäusemodell untersucht werden. Die Tiere haben aufgrund eines Gendefektes eine Hämophilie A, die mit dem neu entwickelten Produkt behandelt werden soll.

zu erwartender Nutzen: Herstellung eines verbesserten Produktes für Patienten mit Hämophilie

zu erwartender Schaden für die Tiere: Gering, da alle Untersuchungen in Vollnarkose durchgeführt werden. Die Tiere werden anschließend getötet.

2. Art und Anzahl der Tiere

510 Mäuse

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

Vermeidung: Die Wirksamkeit des Produktes muss nach der in-vitro Testung in einem lebenden Organismus bestätigt werden.

Verminderung: Es werden die geringsten Tierzahlen verwendet, die für die Etablierung des Modells und für die Evaluierung der geeigneten Formulierung und Konzentration des AICC notwendig sind.

Verfeinerung: Alle Untersuchungen finden unter standardisierten kontrollierten Bedingungen statt.

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

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

In den westlichen Industrieländern gehört das Prostatakarzinom zu den häufigsten Krebserkrankungen bei Männern. Die in diesen Ländern routinemäßig durchgeführten Früherkennungstests, wie die Tastuntersuchung der Prostata durch den Enddarm (digital rektale Untersuchung, DRU) sowie der Bluttest auf PSA (Prostata-spezifischen Antigen), führen zur Problematik der Überdiagnose. Viele überdiagnostizierte Patienten erhalten nicht notwendigerweise Therapien, die in jedem Fall schwere Nebenwirkungen haben. Dennoch ist das Prostatakarzinom weltweit unter den häufigsten Ursachen für krebsbedingte Todesfälle. Die molekularen Mechanismen, die zwischen sehr langsam wachsenden, keine akute Bedrohung darstellenden und aggressiven, tödlichen Tumoren unterscheiden, sind bislang unverstanden. Es besteht großer Bedarf an prognostischen Biomarkern, um Patienten, die von aggressiven Prostatakarzinomen betroffen sind, frühzeitig zu identifizieren und adäquat behandeln zu können. Ziel dieses Tierversuchs ist es, die Rolle eines Transkriptionsfaktors im Prostatakarzinom zu untersuchen.

zu erwartender Nutzen: Die Aufklärung des zugrundeliegenden molekularen Mechanismus, unter Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufs der Erkrankung, soll zur Etablierung der Transkriptionsfaktor Expression als prognostischer Marker für Prostatatumore führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Es kommt bei den Versuchstieren zum spontanen Auftreten von Prostatakarzinomen. Die Belastung wird aufgrund der bekannten humanen schmerzfreien Symptomatik des Prostatakarzinoms auch im fortgeschrittenen Tumorstadium als mittelgradig eingestuft.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für das vorliegende Experiment werden insgesamt 676 Versuchsmäuse unterschiedlichen Genotyps verwendet. 145 Tiere sind einer geringen Belastung ausgesetzt, 531 sind maximal mittelgradig belastet. Zur Zucht werden zusätzlich 1932 Tiere benötigt.

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

Vermeidung: Die vorab durchgeführte Analyse von humanen mRNA sowie Proteinexpressionsdaten deutet daraufhin, dass der Transkriptionsfaktor wesentlich an der Entstehung und Progression des Prostatakarzinoms beteiligt ist. Die angestrebten Versuchsziele

können nicht durch andere Methoden und Verfahren erreicht werden und die Analyse der Rolle des von uns untersuchten Proteins nicht in einem in vitro Modell durchgeführt werden.

Verminderung: Die Anzahl der benötigten Versuchstiere und Zuchttiere wird so gering als möglich gehalten. Sobald die geplanten Experimente komplett abgeschlossen sind, wird die Zucht ausgesetzt. Die Streuung der Ergebnisse wird durch Standardisierung der Haltungs- und Versuchsbedingungen sowie genauer Versuchsplanung so gering als möglich gehalten und damit die Anzahl der benötigten Versuchstiere auf das erforderliche Mindestmaß reduziert.

Verfeinerung: Die Analyse der transgenen Mäuse wird mit der Beteiligung hochkarätiger Experimentatoren sowie Kooperationspartner durchgeführt, die über umfangreiche Kenntnisse über die jeweilige erforderliche experimentelle Arbeit verfügen.

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 der vorliegenden Studie soll eine neue Medikamentenklasse zur Behandlung eines akuten Herzinfarktes getestet werden. Insgesamt sollen 3 Medikamente mit ähnlicher Wirkungsweise zum Einsatz kommen. In einzelnen Arbeitspaketen soll die Wirksamkeit der einzelnen Substanzen zur Verringerung des Herzmuskelschadens getestet werden. Ein Herzinfarktmodell an der Ratte eignet sich hier aufgrund der Parallelen zum akuten Herzinfarkt in Patientinnen, wichtige Erkenntnisse zu gewinnen.

Zu erwartender Nutzen: Der primäre Nutzen der vorliegenden Studie ist es, eine Aussage zur Wirksamkeit der getesteten Substanzen zu erhalten, die Größe des Herzmuskelschadens nach einem Infarkt zu verringern. Außerdem werden wir in dieser Studie viel über die Ursachen des Herzinfarktes lernen und erkennen können, ob der Angriffspunkt unserer Therapie tatsächlich die wichtige Rolle spielt, die wir vermuten. Darüber hinaus werden diese Ergebnisse höchstinteressant für viele andere Bereiche der Medizin sein, da das adressierte Regulationssystem nicht nur im akuten Herzinfarkt sondern in vielerlei Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen könnte. Somit könnten für die hier getestete Therapie möglicherweise auch Hinweise für deren Nutzen in anderen Einsatzgebieten gefunden werden.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Aufgrund des operativen Modells sowie der Blutabnahmen kann es zu Schmerzen kommen, welche jedoch durch schmerzstillende Medikamente behandelt werden. In einer Gruppe mit 6 Wochen Verlaufskontrolle kann eine Atemnot bei Belastung bestehen. Unangenehme Nebenwirkungen der getesteten Substanzen sind auf Basis der bisherigen Erkenntnisse nicht zu erwarten.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt sollen 696 Ratten eingesetzt werden.

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

Vermeidung: Mit den zu testenden Substanzen wurden ausführliche Laborexperimente durchgeführt, welche einen starken Effekt zeigten. Nun sollen diese Substanzen in einem reproduzierbaren und kontrollierten Herzinfarktmodell getestet werden. Dieses Modell ist in der durchführenden Einrichtung sehr gut etabliert.

Verminderung: Es ist ein zentrales Ziel, die Anzahl der zu verwendeten Tiere auf ein Minimum zu reduzieren. Dies wird sichergestellt durch langjährige Erfahrung mit dem Operationsmodell sowie eine standardisierte Versorgung der Tiere. Außerdem wurde die Fallzahlberechnung mittels statistischer Verfahren durchgeführt, um die Minimalanzahl der notwendigen Tiere zu berechnen.

Verfeinerung: Die präsentierten Arbeitspakete 1-6 bauen aufeinander auf. Wenn eine Behandlung keinen relevanten Unterschied zeigt, werden die darauffolgenden Experimente mit dieser Kondition nicht durchgeführt werden. Durch Standardisierung und Optimierung der Tierhaltung sowie durch häufig durchgeführte Kontrollen und die Verwendung lang erprobter standardisierter Anästhesieschemata wird angestrebt, die Belastung der Versuchstiere auf ein Minimum zu reduzieren.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. Mai 2024 vorgesehen.

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

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

Das Sjögren Syndrom ist eine Autoimmunerkrankung, welche die Speichel- und Tränendrüsen betrifft. Die entzündlichen Veränderungen in diesen Organen führen zu einem Versiegen des Tränen- und Speichelflusses. Die seltenere Beteiligung der Niere oder Lunge kann lebensbedrohlich verlaufen. Die Ursache der Erkrankung ist bisher unklar. Daher sollen in diesem Projekt Mäuse gezüchtet werden die als Modell der Erkrankung dienen. zu erwartender Nutzen: Die gewonnenen Erkenntnisse könnten letztlich positive Auswirkungen auf die Diagnose, Prognoseabschätzung und Therapie von Patientinnen mit Sjögren Syndrom haben. zu erwartender Schaden: Die Tiere leiden, wie menschliche Patientinnen, unter Mund- und Augentrockenheit.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

1000 Mäuse

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

Vermeidung: Die Verwendung von Mausmodellen ist zur Erforschung des Immunsystems in vivo notwendig, da die mannigfachen Interaktionen des Immunsystems im Reagenzglas nur unzureichend simuliert werden können.

Verminderung: Durch die Verwendung von mischerbigen Tieren als Kontrollen, fällt die Anzahl der zu züchtenden Tiere wesentlich geringer aus.

Verfeinerung: Die Tiere werden von Beginn an in Gruppen und artgerecht gehalten. Den Tieren wird eine anregende Umgebung zur Verfügung gestellt um das Wohlbefinden zu verbessern. Die Tiere werden nur bis zum 12. Lebensmonat, also vor dem Auftreten eventueller Folgeerkrankungen der Mund- und Augentrockenheit, gehalten.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2025 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 der Pilotstudie ist die Erforschung der flusskontrollierten Beatmung im Vergleich zu einer konventionellen druckkontrollierten Beatmung bei der Einlungenventilation am Schweinemodell. Erste Studien mit der flusskontrollierten Beatmung konnten bereits eine bessere Sauerstoffanreicherung des Blutes bei gleichzeitig effizienterer CO<sub>2</sub>-Abatmung zeigen. Da bei chirurgischen Eingriffen im Bereich der Lunge die gesamte Sauerstoffanreicherung und CO<sub>2</sub>-Eliminierung über den verbleibenden zweiten Lungenflügel bewerkstelligt werden muss, stellen diese Operationen eine große Herausforderung bei der maschinellen Beatmung dar. Eine schonendere Beatmungsmethode, wie es bei der flusskontrollierten Beatmung zu sein scheint, dürfte daher von großer Bedeutung sein. Der Untersuchungszeitraum umfasst 4 Stunden, wobei das Versuchstier von mindestens zwei Personen (davon mindestens ein erfahrener Anästhesist) überwacht wird. Im Anschluss wird nach Einschläferung des Tieres die Explantation des Herzens durchgeführt und dieses außerhalb des Körpers wieder zum Schlagen gebracht. Ziel ist es dabei eine Methode zu entwickeln das schlagende Herz als mögliches Spenderorgan außerhalb des Körpers vor Schäden zu bewahren und evaluieren zu können.

zu erwartender Nutzen: Entwicklung und Etablierung einer lungenschonenden Beatmungsform bei der Einlungenbeatmung. Verbesserung und Evaluierung der Organfunktion bei einer Herztransplantation.

zu erwartender Schaden für die Tiere: geringer Stress beim Transport und der Vorbereitung in Sedierung, schmerzfreier Versuchsablauf in tiefer Narkose.

2. Art und Anzahl der Tiere

20 Schweine

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

Vermeidung: Die klinische Durchführung der Studie am Menschen ist nicht möglich und ethisch nicht vertretbar. Eine Untersuchung an einzelnen Organen oder Zellkulturen ist ebenfalls nicht sinnvoll und klinisch nicht relevant, da nur die Betrachtung des gesamten Organismus aussagekräftige Ergebnisse gewonnen werden können.

Verminderung: Für diese Studie wird die Anzahl der Tiere auf ein Minimum reduziert, um noch statistisch aussagekräftige Werte zu erhalten. Gleichzeitig wird eine weitere Fragestellung in einem anderen Fachgebiet untersucht ohne der Notwendigkeit zusätzlicher Versuchstiere.

Verfeinerung: Die Tiere werden durch erfahrene Anästhesisten narkotisiert und verspüren während der gesamten Studie keinerlei Schmerzen oder Leiden. Nach Versuchsende werden die Tiere in tiefer Narkose schmerzfrei eingeschläfert.

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

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

Die erfolgreiche Abwehr bakterieller Erreger erfordert ein Zusammenspiel verschiedener Zellen des Immunsystems. Fresszellen, sogenannte Makrophagen, sind eine der ersten Abwehrmechanismen des Körpers gegen eindringende Bakterien, indem sie diese Bakterien aktiv aufnehmen und dann zerstören. Manche Bakterien sind aber in der Lage diese Mechanismen zu umgehen. Das Fehlen von regulatorischen Proteinen kann zu einer unkontrollierten Verbreitung der Bakterien im Körper führen. Wir versuchen durch das Ausschalten von bestimmten Genen das Immunsystem anzuregen, damit es den Kampf gegen Bakterien wieder aufnimmt. Das Ziel dieses Projekts ist es, die molekularen Mechanismen zu erforschen, die zur Inhibierung von den Genen führen, die eine Infektion begünstigen. Wir wollen im Detail untersuchen wie Bakterien Gene anregen, die die Ausbreitung dieser Bakterien selber vereinfachen. Dadurch erwarten wir uns wichtige Einblicke in die Mechanismen und Abläufe, die die Anfälligkeit für eine global bedeutsame Infektionserkrankung regulieren.

zu erwartender Nutzen: Das Verständnis dieses neuen Mechanismus und dessen Aufklärung, kann zur Entwicklung neuer immunoregulatorischer und therapeutischer Ansätze zur Therapie von Infektionen führen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projektes wird eine Infektion mit einem intrazellulären Erreger nachgeahmt. Dies kann im Laufe der Immunantwort zu einer Verringerung der Körpertemperatur, einer Reduktion der Nahrungs- und Wasseraufnahme und zu einer Verringerung des Allgemeinzustandes führen.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Für die Etablierung und Erhaltungszucht der Mausstämmen sowie für die Experimente werden 1488 Mäuse in einem Zeitraum von 5 Jahren benötigt.

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

Vermeidung: Das Mausmodell wird erst nach Ausschöpfung aller möglichen in vitro Methoden (Zellkultur)

eingesetzt. Eine Vermeidung des Tierversuches ist nicht möglich, da die Immunantwort während einer bakteriellen Infektion in einem intakten Organismus untersucht werden muss.

Verminderung: Die Anzahl der Mäuse wurde durch eine Fallzahlanalyse mittels dem Programm GPower

3.1 berechnet. Aus einem Versuch werden möglichst viele relevante Daten gewonnen um so die Anzahl der benötigten Versuchstiere so gering wie möglich zu halten.

Verfeinerung: Während des ganzen Projektes erfolgt eine tägliche Überprüfung auf Anzeichen einer Belastung. Zusätzlich werden detaillierte Aufzeichnungen geführt, damit die Durchführung von nachfolgenden Projekten vereinfacht und verbessert werden kann und maximale Informationen aus den Versuchen erhalten werden können.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2024 vorgesehen.

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

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

Das Verständnis des neuronalen Codes stellt eine der größten Herausforderungen moderner Biowissenschaften dar. Insbesondere konnte bislang die Frage nicht geklärt werden, ob einzelne Zellen oder Neuronenpopulationen für die Codierung von verhaltensrelevanten Informationen verantwortlich sind. Ebenso ist nicht bekannt, ob einzelne Neuronen ein breites Tuning aufweisen oder die Aktivität als hochselektiv einzustufen ist. Im einen Extremszenario muss eine große Zellpopulation aktiv werden, um Informationen an nachgelagerte Zielpunkte in neuronalen Netzwerken zu übermitteln. Im anderen Extremfall würde die Aktivität einer Einzelzelle — historisch als „Großmutterneuron“ bezeichnet — ausreichen, um den Informationsfluss in Gang zu setzen. Zur Klärung dieser fundamentalen Fragen soll an Mäusen eine Kombination aus Verfahren der Elektrophysiologie, Optogenetik und Verhaltensanalyse angewandt werden. Für eine fundierte behavioristische Datenanzeige werden ein Angstkonditionierungsprotokoll, ein operantes Konditionierungsparadigma sowie ein Platzpräferenzprotokoll eingesetzt.

zu erwartender Nutzen: Anhand der geplanten Versuche sollen zentrale Einsichten in die Codierung von Informationen im Gehirn und die Zusammenhänge zwischen synaptischer Funktion und Verhalten gewonnen werden. Zudem wird erwartet, dass das Projekt grundlegende Erkenntnisse für das Verständnis von synaptischen Erkrankungen wie chronischen Schmerzzuständen, Epilepsie, Depressionen, Schizophrenie oder Autismus sowie neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer liefert, die sich durch eine Fehlfunktion der Synapsen kennzeichnen.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Wesentlich für die Erreichung unserer Projektziele ist der Einsatz von sehr komplexen, aber auch sehr gut etablierten chirurgischen sowie einfachen, nicht chirurgischen Methoden, um unsere Zielregion entsprechend darstellen und erforschen zu können. Diese Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten Narkoseprotokollen, die dem aktuellen Stand der „Good Veterinary Practice“ entsprechen, durchgeführt. Hochmoderne Narkoseprotokolle werden, begleitet von einer, der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden, Schmerztherapie angewendet. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg als besonders kontraproduktiv erweisen, einer zuverlässigen Schmerztherapie wird daher besonderes Augenmerk geschenkt. Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere ausgesetzt werden könnten ist als „mittel“ zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Labormäuse. Insgesamt werden 1200 Tiere über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen verwendet.

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

**Vermeidung:** Mit diesem Projekt soll die Größe von Neuronensembles erforscht werden, die für die Codierung von verhaltensrelevanten Informationen im Gehirn erforderlich ist. Da anhand der Experimente die Zusammenhänge zwischen Zellaktivität und Verhaltensebene identifiziert werden sollen, können die Versuchsreihen nicht in Form von In-vitro-Experimenten an kultivierten Neuronen oder Hirnschnitten vorgenommen werden. Ebenso kommen theoretische Analysen anhand von Computermodellen hierfür nicht in Frage. Dennoch können wir aus bisherigen In-vitro-Versuchen und computerbasierten Analysen auf ein umfangreiches Wissen über synaptische Transmissionen und Verbindungen zurückgreifen, das zur Formulierung konkreter Hypothesen über die Netzwerkfunktion geführt hat. Als besonders vorteilhaft erweist sich, dass sämtliche In-vivo-, In-vitro und In-silico-Ansätze direkt im Labor des PI verfolgt werden. Somit kann die Anzahl der Tiere durch sorgsame Versuchsplanung in Verbindung mit modellbasierter Hypothesengenerierung auf ein Minimum reduziert werden.

**Verminderung:** Die Anzahl der Versuchsmäuse wird auf ein Mindestmaß beschränkt durch 1) die Anpassung der Gruppengröße basierend auf den Ergebnissen von Vorversuchen (siehe oben). 2) eine kontinuierliche Verbesserung der chirurgischen Verfahren, verhaltensbezogenen Setups und der verwendeten Analyse-Software. 3) intensives Training des Teams in Bezug auf chirurgische Eingriffe und Verhaltensexperimente. Dadurch können Probleme und der Verlust von Tieren aufgrund inadäquater chirurgischer Interventionen vermieden werden.

**Verfeinerung:** Auf Grundlage der Fortschritte auf diesem Forschungsgebiet und unseren Ergebnissen aus den Vorversuchen sollen die Experimente durch die Konzentration auf die aufschlussreichsten Verhaltensparadigmen bei gleichzeitiger Beendigung weniger informativer Forschungsreihen weiter verbessert werden. Sämtliche Versuchs- und Behandlungsverfahren entsprechen dem modernsten Stand der Technik und werden auf professionelle Weise angewandt.

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

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

Der Erforschung von Neuroentwicklungsstörungen wie Autismus Spektrum Störungen (ASS), Epilepsie und Mikrozephalie wurde in den vergangenen Jahren vermehrt Aufmerksamkeit zu teil. Interessanterweise treten die eben genannten Defekte sehr häufig als gegenseitige Begleiterkrankungen in Patienten auf. Leider, trotz des vermehrten Interesses an der Erforschung dieser Störungen, ist immer noch sehr wenig über die Ursachen dieser Erkrankungen und mögliche Behandlungsstrategien bekannt. Vergangene Studien unserer Forschungsgruppe konnten aufzeigen dass große neutrale Aminosäuren per se oder damit assoziierte Signalwege einen essentiellen Einfluss auf die Entwicklung dieser Störungen haben. Durch das Erforschen dieser Signalwege und ihren unterliegenden molekularen Mechanismen könnten sich neue Wege zu potentiellen Behandlungsstrategien eröffnen. Ziel des ersten Teilprojekts dieses Antrags ist es einen Zusammenhang zwischen einer Misregulation der Homeostase von großen neutralen Aminosäuren im Gehirn und Defekten in der Hirnentwicklung zu zeigen. In vorangehenden Untersuchungen konnten wir aufzeigen, dass eine homozygote Mutation in einem bestimmten (nun bekannten) Aminosäuretransporter und der damit einhergehende Mangel an verzweigt-kettigen Aminosäuren im Gehirn zur Ausprägung von Autismus und Motordefiziten in Patienten führt. Primär gilt es nun zu untersuchen ob das Fehlen eben dieses Aminosäuretransporters ebenfalls zu der beim Patienten diagnostizierten Mikrozephalie führt. Um diese Frage zu lösen werden wir hauptsächlich knock-out Mausmodelle verwenden, welche uns durch eine hirnspezifische Deletion des bekannten Gens die Möglichkeit geben werden die molekularen Mechanismen der zugrundeliegenden Mikrozephalie genauer zu studieren.

zu erwartender Nutzen: unser Projekt basiert hauptsächlich auf der Verwendung von Mäusen als Modellorganismus, da diese — biologisch betrachtet — dem Menschen bezüglich Hirnentwicklung sehr ähneln und daher verwendet werden um menschliche Neuroentwicklungsstörungen (ASS, Mikrozephalie und Epilepsie) abzubilden. Ein besonders wichtiger Aspekt ist, dass wir auf diese Weise, im Gegensatz zu anderen Modellen (z. B.: Zellkultur, *C. elegans*), die Symptome die sich teils in bestimmten Verhaltensmustern manifestieren (gestörte soziale Interaktion, Kommunikationsdefizite und repetitive Verhaltensweisen, Krampfanfälle, Motordefizite) besser in die Untersuchungen mit einbeziehen können. Ein weiterer Vorteil der Verwendungen von Mäusen

als Modellorganismus ist, dass das Genom direkt manipuliert werden kann, um einen menschlichen Zustand zu möglichst genau abzubilden.

zu erwartender Schaden für die Tiere: Um die eben beschriebenen Fragen zu beantworten, werden wir vor allem von histologischen und molekularbiologischen Methoden sowie von Verhaltensanalyse an Mäusen, Primärzellkultur und in utero Elektroporation (chirurgischer Eingriff) Gebrauch machen. Basierend auf der klinischen Präsentation der Patienten, welche Mutationen in dem untersuchten Gen aufweisen, können wir davon ausgehen dass heterozygote Mäuse keinerlei oder nur sehr milde neurologische Defekte aufweisen werden. Sollten stärkere Ausprägungen des Phenotypes in Mäusen auffallen, wird der zuständige Wissenschaftler umgänglich den Tierarzt vor Ort am Campus kontaktieren um mögliche Strategien zur Vermeidung zusätzlichen Leidens zu festzulegen. Die Mehrzahl der Methoden umfaßt verschiedene, für die Tiere mit sehr geringen Belastungen einhergehende, Verhaltenstests. Chirurgische Eingriffe werden jedoch ausschließlich unter Verwendung von erprobten Narkoseprotokollen, die dem aktuellen Stand der „Good Veterinary Practice“ entsprechen, durchgeführt. Moderne Narkoseprotokolle werden, begleitet von einer, der aktuellen medizinischen Praxis entsprechenden, Schmerztherapie angewendet. Unnötig verursachter Schmerz würde sich für unseren Projekterfolg - gerade im Hinblick auf unsere Verhaltenstests - besonders kontraproduktiv erweisen. Einer zuverlässigen Schmerztherapie wird daher besonderes Augenmerk geschenkt. Der höchste Belastungsgrad, dem die Tiere während einer gesamten Testreihe ausgesetzt sein können, ist als „mittel“ zu bezeichnen.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Wir verwenden ausschließlich Mäuse. Insgesamt werden 11556 Mäuse über einen Zeitraum von 5 Jahren für Analysen verwendet.

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

Vermeidung: Autismus-Spektrum-Störungen, Mikrozephalie und Epilepsie sind komplexe neurologische Entwicklungsstörungen. Während in vitro Techniken (d. h. Zellkulturen) verwendet werden, um spezifische Fragen zu beantworten, erfordert die hohe Komplexität dieser Erkrankungen eine Analyse der Gehirnentwicklung in vivo. Dies kann nicht dupliziert oder in einfacheren Systemen als bei Tieren mit einem deutlich erkennbaren Sozialverhalten modelliert werden.

Verminderung: Wir nutzen die kleinstmögliche Anzahl an Mäusen, um statistische Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsbedingungen darzustellen. Allerdings sind aufgrund der



unabhängigen Variablen und der Variabilität der untersuchten Phänotypen größere Probenmengen für statistisch gültige Proben nötig. Eine gute Versuchsplanung sowie eine ordnungsgemäße Datenerhebung und -analyse werden die Anzahl der benötigten Versuchstiere minimieren. Falls ein spezielles Verfahren wiederholt im Labor eingesetzt werden sollte, wird es eine historische Kontrollaufzeichnung für dieses Verfahren geben. Im Rahmen des Möglichen werden wir keinen vollständigen Kontrollsatz durchführen, sondern stattdessen nur eine sehr geringe Anzahl von Kontrollen vornehmen und zeigen, dass sie in die historischen Kontrollgrenzen fallen.

Verfeinerung: Alle Verfahren werden von geschulten, mit den Techniken vertrauten Personen durchgeführt. Injektionen werden mit den kleinstmöglichen Nadeln ausgeführt und die verwendeten Mengen und Dosen entsprechen den Empfehlungen der GV-SOLAS. Generell achten wir besonders darauf, daß alle chirurgischen Eingriffe mit optimierten Analgesieprotokollen durchgeführt werden. Auch ausreichende Erholungsphasen nach chirurgischen Eingriffen werden eingeplant. Für Teilbereiche unseres Projekts kommen Pilotstudien zum Einsatz um den experimentellen Aufbau zu optimieren hinsichtlich einer geringen Belastung der Versuchstiere und einer Verringerung der eingesetzten Versuchstiere.

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

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

Das Ziel dieses Projektes ist die Bestimmung der Verdaulichkeit von Futtermitteln in der Wiederkäuerfütterung. Die Verdaulichkeit ist aus folgenden drei Gründen von grundlegender Bedeutung:

1. Durch die Verdaulichkeit wird jener Anteil eines Futtermittels beschrieben, der für den Stoffwechsel eines Tieres zur Verfügung steht. Aus diesem Grunde ist die Verdaulichkeit der organischen Substanz das zentrale Ausgangskriterium zur energetischen Futterbewertung (d.h. zur Errechnung des Gehaltes an umsetzbarer Energie) im Fachgebiet „Tierernährung“.

2. Die Verdaulichkeit eines Futtermittels bestimmt allerdings nicht nur dessen Energiegehalt, sondern auch dessen Futteraufnahme (in Trockenmasse). Denn die Futteraufnahme ist umso höher, je höher die Verdaulichkeit ist, weil eine hohe Verdaulichkeit eine geringe Füllung des Verdauungstraktes bedeutet.

3. Sowohl die Aufnahme an Trockenmasse als auch der Energiegehalt eines Futtermittels entscheiden über die Aufnahme an umsetzbarer Energie eines Nutztieres (Produkt aus Futteraufnahme  $\times$  Energiegehalt) und damit über das Leistungsniveau, was von entscheidender Bedeutung für die Wirtschaftlichkeit der tierischen Produktion ist. Von ebenso herausragender Bedeutung ist allerdings bei dem heutigen hohen Produktionsniveau auch der Gesundheitsstatus der Nutztiere, deren Leistungspotenzial durch laufende Selektion (Tierzucht) und moderne Verfahren (genomische Züchtung) immer weiter hochgeschraubt wird. Es stellt daher für die Tierernährung eine besondere Herausforderung dar, hochleistende Tiere energetisch bedarfsgerecht zu versorgen, was nicht selten zu hohen Stoffwechselbelastungen und sogar Krankheiten bis hin zu Tieraussfällen führt.

zu erwartender Nutzen: Die Feststellung der tatsächlichen Energieversorgung der Nutztiere ist daher von zentraler Bedeutung nicht nur für ein aus wirtschaftlicher Sicht zufriedenstellendes Leistungsniveau, sondern vielmehr auch eine Grundvoraussetzung für deren Gesunderhaltung und Minimierung der Stoffwechselbelastung. Diese tatsächliche Energieversorgung ist – unter

wissenschaftlichen Anforderungen – nur über am Tier ermittelte Verdauungskoeffizienten (d.h. in vivo) festzustellen.

zu erwartender Schaden: Die Verwendung im Versuch verursacht keine Schäden bei den Hammeln. Die Tiere werden während des Versuchs in Einzelboxen gehalten, um die individuelle Erfassung der Futteraufnahme, der Kotmenge und der Harnmenge zu ermöglichen und daraus Proben für chemische Analysen nehmen zu können. Darüber hinaus finden keine Probennahmen statt. Vor Beginn und nach Ende des Versuchs werden die Hammeln in Gruppen gehalten. Im Sommer werden die Tiere zudem auf der Weide gehalten.

## 2. Art und Anzahl der Tiere:

33 ausgewachsene Hammeln (durchgehender Bestand von 23 Hammeln notwendig – aufgrund des Ausscheidens von 10 Hammeln im Dezember 2019 wurde das Nachstellen von 10 weiteren Hammeln erforderlich)

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

Besonders unter dem Blickwinkel der starken Stoffwechselbelastung hochleistender Kühe ist davon auszugehen, dass die Maßnahme einer exakten (d.h. bedarfsgerechten) Energieversorgung deren Gesundheitsstatus verbessern und daher die Häufigkeit von Stoffwechselerkrankungen und Ausfällen verringern wird (-> Verminderung, Verbesserung).

Werden Verdauungsversuche zur Feststellung des Futterwertes durchgeführt (Prüfung von Grund- und auch Kraftfuttermitteln), können die erzielten Ergebnisse auch zur Eichung von chemischen und in vitro-Methoden herangezogen werden. Mit diesen Näherungsverfahren können größere Anzahlen von Proben bewältigt werden, bei pflanzenbaulichen Versuchen viele Varianten geprüft werden (Wiederholungen, verschiedene Düngungsniveaus, Standorte, Jahre sowie botanische Arten und Sorten etc.) und auch Untersuchungen aus der landwirtschaftlichen Praxis durchgeführt werden. Damit wird eine sehr große Breitenwirkung erzielt, mit der großflächig die Fütterung auf Praxisbetrieben maßgeblich verbessert werden kann (-> Verbesserung).

Ein Ersatz von in vivo-Verdauungsversuchen auf wissenschaftlichem Niveau ist dagegen aus oben angeführten Gründen nicht möglich. Allerdings können auf der Ebene von Feldversuchen und der Beratung mit chemischen und enzymatischen Näherungsverfahren bzw. in vitro-Pansensaft-Methoden Verdauungsversuche ersetzt werden (-> Ersatz). Die Näherungsverfahren bedürfen allerdings der Eichung mit exakten in vivo-Verdauungsversuchen.

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, in einem präklinischen Modell an immundefizienten Mäusen die Existenz von leukämischen Stammzellen (LSC) verschiedener Leukämieformen als Ursache von Rezidiven nachzuweisen, Wirkstoffe zu identifizieren bzw. zu testen, die eine gezielte Eradikation der LSC zulassen und eine Medikamentenkombination im Tiermodell zu evaluieren, die bereits erfolgreich in der Primärkultur isolierter Krebszellen untersucht wurden.

Zu erwartender Nutzen: Der Nachweis und die gezielte Behandlung zur Entfernung von leukämischen Stammzellen sollen die Heilungsaussichten der untersuchten Leukämieformen für die betroffenen Patienten verbessern.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Leukämische Zellen werden in genetisch veränderte, immunsupprimierte Mäuse mittels Injektion transplantiert. Der Versuchsabbruch erfolgt bei Auftreten erster Symptome.

2. Art und Anzahl der Tiere

1054 Labormäuse

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

Vermeidung: Das Mausmodell wird erst nach Ausschöpfung aller möglichen invitro Methoden (Primärzell- und Zellkultur-Experimente) eingesetzt. Die geplanten Untersuchungen können nur am lebenden Organismus durchgeführt werden.

Verminderung: Im geplanten Projekt wird ein gut etabliertes und international validiertes Mausmodell verwendet. Durch Standardisierung aller Haltungs-, Hygiene- und Versuchsbedingungen und eine strikte Versuchsplanung wird eine geringe Streuung der Versuchsergebnisse erreicht und somit die Tierzahl auf das unbedingt erforderliche Minimum reduziert. Aus jeder Maus werden jeweils alle für die Fragestellungen relevanten Gewebe und Organe isoliert und durch verschiedene Methoden analysiert, um die Resultate breit abzusichern.

Verfeinerung: Alle Experimente werden durch qualifiziertes Fachpersonal durchgeführt, sodass gewährleistet ist, dass die Belastung der Tiere auf das unvermeidliche Minimum reduziert wird.

Weiters wird die Belastung der Versuchstiere durch die tägliche individuelle Kontrolle der Tiere und den frühzeitigen Abbruch beim Auftreten der ersten Symptome minimiert.

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

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

Das Ziel des vorliegenden Tierversuchs ist die Aufklärung der Funktion von Signalwegen in hämatopoetischen Zellen im Hinblick auf ihre Stammzellfunktion, Reifung und Funktion von Immunzellen und Leukämie. Als Modelorganismus dient die Maus, in der durch genetische Veränderungen von spezifischen Signalmolekülen die Funktion dieser in Signalwege analysiert werden kann. Im Detail werden die Interaktion zwischen hämatopoetischen Zellen und Tumorzellen, die Wechselwirkungen zwischen hämatopoetischen Stammzellen und deren Umgebung sowie die Abhängigkeiten unterschiedlicher hämatopoetischer Zellen voneinander untersucht.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Bestrahlungen und Knochenmarkstransplantation belasten die Versuchstiere. Außerdem kann es zu Belastungen durch Tumorwachstum kommen, entweder durch eine genetisch bedingte erhöhte spontane Tumorbildungsrate oder durch Transplantation von Knochenmarkzellen oder Immunzellen von genetisch modifizierten Tieren in Empfängertiere (Rezipienten).

Zu erwartender Nutzen: Wir erwarten uns eine Aufklärung der Funktionen der spezifischen Signalmoleküle in hämatopoetischen Zellen, im Besonderen, wie diese Stammzellfunktion, Reifung von Immunzellen und Anti-Tumor Funktionen von zytotoxischen T Zellen und NK Zellen beeinflussen. Da Mutationen dieser Signalmoleküle zur Tumorentwicklung (z.B. Leukämie) beitragen, wird unsere Arbeit zum Verständnis des dahinterliegenden molekularen Mechanismus beitragen, was zu neuen Behandlungsansätzen führen kann.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

5186 Mäuse (*Mus musculus*) innerhalb von 4 Jahre + 1 ½ Jahre

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

Vermeidung: In vitro Methoden können die komplexen Wechselwirkungen und immunologische Vorgänge des Gesamtorganismus nicht simulieren und daher zur Beantwortung der Fragestellungen nicht verwendet werden. Da das Immunsystem nur im Gesamtkontext des lebenden Organismus funktioniert sind die Experimente in Versuchstieren unvermeidbar.

Verminderung: Durch die Ergebnisse von Vorversuchen und statische Methoden wird sichergestellt dass nur die unbedingt erforderliche Anzahl an Versuchstieren verwendet wird. Ein sequenzieller

Versuchsaufbau erlaubt es zudem, die Versuchstierzahl in Abhängigkeit von Teilergebnissen während der Versuchsdurchführung weiter zu reduzieren. Weiters werden die Versuche aufeinander abgestimmt um die Anzahl an Kontrollgruppen zu reduzieren.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter standardisierten Bedingungen mit freier Bewegungsmöglichkeit gehalten. Sie haben Futter und Wasser ad libitum zur Verfügung und werden von geschultem Personal betreut. Die Tiere werden engmaschig auf Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheitszeichen und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes kontrolliert und erforderlichenfalls tierschutzkonform getötet.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 sowie bis spätestens 31. August 2021 vorgesehen.

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

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

Die Bedeutung des Immunsystems, welches Tumorzellen erkennt und eliminieren kann, wird bis heute unterschätzt. Daher sollen in diesem Projekt Signalwege in natürlichen Killerzellen untersucht werden, da NK-Zellen Tumore zerstören können und daher ein wesentlicher Bestandteil des sog. Tumor- Immunüberwachungssystems darstellen.

Zu erwartender Nutzen: Dieses Projekt soll Erkenntnisse über die komplexe Interaktion zwischen Immunzellen und Tumorzellen (u.a. Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und deren Umgebung, Tumorentstehung und -erhaltung, Immunzell-vermittelte Tumorüberwachung, Wirksamkeit definierter Signalinterzeptoren) liefern. Diese Erkenntnisse sind eine Voraussetzung für die Entwicklung neuartiger Medikamente, die zwar die Tumorzellen selbst, nicht aber das Immunsystem beeinträchtigen oder gar zerstören.

Zu erwartender Schaden für die Tiere: Etablierte murine oder humane Tumorzellen oder genetisch umprogrammierte Tumorzellen werden subkutan oder intravenös in Empfängertiere (Rezipienten) appliziert. Das Tumorwachstum oder die Entstehung der Leukämie werden mittels Calipermessung und Beobachtungen des allgemeinen Gesundheitszustandes verfolgt. Beim Erreichen einer definierten Größe des Tumors oder bei der Verschlechterung des Gesundheitszustandes werden die Tiere schmerzfrei getötet und analysiert.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

15270 Mäuse (*Mus musculus*)

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

Vermeidung: In vitro Methoden können die komplexen Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und dem Immunsystem nicht simulieren. Die Fragestellungen können daher nur am lebenden Tier untersucht werden.

Verminderung: Durch jahrelange Erfahrung mit den beantragten Versuchsmodellen kann die benötigte Versuchstierzahl genau abgeschätzt werden. Die Versuche werden sequenziell durchgeführt, sodass nach dem Vorliegen der Ergebnisse eines Teilversuchs beurteilt werden kann, ob der darauffolgende Versuch durchgeführt werden muss. Die angegebenen Tierzahlen sind daher Maximalzahlen, die im Verlauf des Projekts reduziert werden können. Schließlich sind die Versuche so aufeinander abgestimmt, dass die Daten von Kontrollgruppen nur einmal erhoben



werden müssen und für die Beantwortung mehrerer Fragestellungen herangezogen werden können.

Verfeinerung: Die Tiere werden unter standardisierten Bedingungen mit freier Bewegungsmöglichkeit in Käfigen mit autoklavierter Holzschnitzel-Einstreu sowie Nestbaumaterial, Versteckmaterial und Nagematerial (Holzwolle) sowie Maushäusern gehalten, haben ad libitum Zugang zu Futter und Wasser und werden von erfahrenem Personal betreut. Die experimentellen Eingriffe sowie Behandlungen der Tiere erfolgen nach nationalen und international erprobten Protokollen. Die Tiere werden täglich auf Zeichen von Stress, Schmerzen, Krankheitssymptome und jegliche Verschlechterungen des Allgemeinzustandes kontrolliert, um erforderlichenfalls den Endpunkt für das betroffene Tier zu setzen.

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 der Studie: Das Ziel dieser Studie war es, präsymptomatische 4L/PS-NA Mäuse mit einer von 2 Testsubstanzen in je 3 Konzentrationen für 4 Tage intravenös zu behandeln. Dadurch sollte eine neue Enzyersatztherapie zur Behandlung der Typ 3 Gaucher Krankheit auf ihre Wirksamkeit im Tiermodell getestet werden. Dadurch sollte es möglich sein, die Substanz zügig in klinische Studien zu überführen, so dass die Substanz schnellst möglich Patienten zur Verfügung gestellt werden kann.

Schaden und Nutzenabklärung: 4L/PS-NA Mäuse weisen laut Literatur einen starken motorischen Phänotyp auf, der progressiv verläuft. Die Tiere werden im Schnitt 22 Wochen alt. Da der Phänotyp jedoch sehr robust ist und es nur zu wenigen Unterschieden im zeitlichen Verlauf der Progression kommt, ist der Verlauf der Krankheit bei den Tieren sehr gut vorhersehbar. Die Tiere weisen ab einem Alter von ca.10-12 Wochen erste schwache motorische Defizite auf. Da die hier verwendeten Tiere bereits im Alter von nur 8 Wochen euthanasiert wurden, war die Wahrscheinlichkeit somit sehr gering, dass bereits motorische Defizite auftreten, was sich rückblickend auch bestätigt hat. Die 4-malige intravenöse Injektion der Studientiere stellte für die Tiere einen nur sehr schwachen Schmerz und Stress, jedoch kein Leid dar. Eine Zunahme der Nebenwirkungen durch die Substanzgabe im Vergleich zu bereits zugelassenen Enzyersatztherapien war durch die höhere Stabilität der Substanzen möglich, wurde jedoch nicht beobachtet. Mit diesem Projekt konnte die Weiterentwicklung dieser potenziellen neuen Behandlungsmöglichkeit gefördert werden, um sie zügig in klinische Studien überführen zu können.

2. Art und Anzahl der Tiere

Für diese Studie wurden insgesamt 105 4L/PS-NA Mäuse und 45 Kontrollgeschwistertiere beiden Geschlechts beantragt.

Rückblickend wurden 105 4L/PS-NA Mäuse und 38 Kontrollgeschwistertiere verwendet.

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

Replace: Um neue Substanzen gegen die Gaucher Krankheit zu testen war es erforderlich, Tiermodelle für die Austestung neuer Testsubstanzen zu verwenden. 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.

Reduce: In dieser Studie wurden pro Gruppe 15 Tiere verwendet. Diese Gruppengröße war für diese Studie erforderlich um statistisch signifikante Ergebnisse zu erzielen. Reservetiere waren bei dieser Anzahl von Tieren inkludiert.

Refine: Stressminimierung: An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurden. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere wurden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Dadurch verbleiben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wurde vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet wurden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war. Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt werden durften. So wurde gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt wurden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt waren.

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 der Studie: Ziel dieser Studie war die Untersuchung neuer Testsubstanzen auf ihre Wirksamkeit gegen die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS). Es sollte untersucht werden ob die Substanzen die entzündlichen Prozesse im Tiermodell reduzieren können und ob die Substanzen die Lebenserwartung der Tiere erhöhen können. Dafür sollte ein Mausmodell der ALS ab einem Alter von 6 Wochen täglich für 10 Wochen mit einer von zwei Testsubstanzen in jeweils 2 Konzentrationen, Vehikel oder mit Dasatinib behandelt werden. Über die Behandlungsdauer hinweg sollten die Tiere mehrmals in Verhaltenstests auf ihre motorischen Defizite untersucht werden. Ein Teil der Tiere sollte nach 10 Wochen zur Gewebeentnahme euthanasiert und auf krankheitsspezifische Pathologien der ALS untersucht werden. Die restlichen Tiere sollten für maximal weitere 3 Wochen täglich behandelt und bei Erreichen humaner Endpunkte euthanasiert werden um die Überlebensdauer zu analysieren.

Aufgrund von ausgeprägten Nebenwirkungen und Todesfällen wurde das Projekt frühzeitig abgebrochen.

Schaden und Nutzenabklärung: Die Expression des SOD1-G93A Transgens hätte für die Tiere aufgrund der Lähmungserscheinungen zu einer körperlichen Belastung führen können. Da der Studienabbruch allerdings noch vor Ausprägung des Phänotyps stattgefunden hat, wurden die Tiere rückblickend dieser Belastung nicht ausgesetzt. Die Baseline Messung der motorischen Fähigkeiten der Tiere mittels Wire Hanging Test, Grip Strength Test und Rota Rod Test führte bei den Tieren zu geringem Stress, aber weder zu Schmerz noch Leid. Die Evaluierung mit dem Vercelli Scoring System stellte keinen Stress, Schmerz oder Leid dar. Weitere Testzeitpunkte wurden aufgrund des Abbruchs nicht durchgeführt. Die tägliche per orale Behandlung mittels Schlundsonde erzeugte bei den Tieren kurzzeitig geringen Stress, aber weder Schmerz noch Leid. Die Survival Analyse wurde nicht durchgeführt, wodurch die Tiere dieser Belastung nicht ausgesetzt waren. Da die Testsubstanzen bereits in anderen Tiermodellen ohne Nebenwirkungen verwendet wurden, wurden diese auch in diesem Projekt im Vorfeld nicht erwartet. Da es allerdings widererwarten zur Ausprägung schwerer Nebenwirkungen und Todesfällen in manchen Tieren gekommen ist, kann rückblickend eine schwere Belastung durch die Testsubstanzen in diesen Tieren festgestellt werden. Tiere die keine Nebenwirkungen zeigten waren dieser schweren

Belastung nicht ausgesetzt. Durch diese Analyse sollte die Entwicklung dieser Substanzen gefördert werden, um sie letztendlich ALS Patienten zur Verfügung stellen zu können. Obwohl dieses Ziel nicht erreicht wurde, war dieses Projekt dennoch von Nutzen. Die Beobachtung der schweren Nebenwirkungen ist wichtig, da damit zukünftige Projekte mit diesen Substanzen vermieden werden können. Somit wird zukünftiges Tierleid verhindert und die Sicherheit in klinischen Studien verbessert.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Für dieses Projekt wurden insgesamt 120 transgene SOD1-G93A Mäuse und 20 nicht-transgene Geschwistertiere im Alter von 6 Wochen beantragt.

Rückblickend wurden nur 77 transgene SOD1-G93A Mäuse und 16 nicht-transgene Geschwistertiere verwendet.

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

**Replace:** Um Medikamente gegen die Amyotrophe Lateralsklerose 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.

**Reduce:** In dieser Studie sollten pro Gruppe 20 Tiere verwendet werden. Die Gruppen wären jedoch weiter unterteilt gewesen, wobei bei einem Teil der Tiere die Gewebegewinnung zu einem spezifischen Alter geplant war und für die restlichen Tiere eine Survival Analyse. Diese Tierzahlen wären notwendig gewesen um in beiden Projektteilen signifikante Ergebnisse in den Verhaltenstests zu erzielen. Durch die Durchführung in Kohorten konnte nach Beobachtung der Nebenwirkungen die Verwendung weiterer Tiere verhindert werden. Somit konnte die Tierzahl des Projekts verringert werden und damit auch die Anzahl an belasteten Tieren.

**Refine: Stressminimierung:** An dieser Stelle soll ausdrücklich festgehalten werden, dass der Tierversuch unter Vermeidung aller mit dem Versuchszweck nicht notwendig verbundenen Belastungen durchgeführt wurde. Die Tiere wurden bereits vor Beginn der Studie durch so genanntes „Handling“ mit den involvierten Personen vertraut gemacht, um unerwünschte, stressbedingte, falschpositive bzw. falschnegative Ergebnisse zu vermeiden. Gleichgeschlechtliche Tiere wurden zusammen im Käfig gehalten, soweit es die Tierzahl erlaubte. Dadurch verblieben die Tiere in ihrem Familienverband und zusätzlicher psychischer Stress, z.B. von neuerlichen Revierkämpfen oder der Vereinzelung, wurde vermieden.

Gesundheitszustand: Generell gilt, dass zur Durchführung des Tierversuchs nur Tiere verwendet wurden, deren Gesundheitszustand einwandfrei war. Alle Tiere standen unter ständiger Kontrolle. Erkrankte oder verletzte Tiere wurden in einem Patientenblatt vermerkt. Abhängig vom Schweregrad der Symptome entschied der Tierarzt über die weitere Behandlung oder Euthanasie der Tiere. Somit konnten die schweren Nebenwirkungen erkannt und das Projekt abgebrochen werden.

Schulungen: Es soll festgehalten werden, dass die Versuche von den Personen erst nach Abschluss eines ausführlichen Trainings in den unterschiedlichen Techniken, Injektionen, Gesundheitskontrolle u.s.w. durchgeführt wurden. So wurde gewährleistet, dass die Methoden ordnungsgemäß durchgeführt wurden und die Tiere keinem zusätzlichen Stress ausgesetzt waren.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Nutzen: Durch den Lebensstil in den USA sowie in Europa werden Lebererkrankungen im Besonderen eine Leberverfettung immer häufiger. Ist eine Leber sehr stark geschädigt kann nur mehr eine Lebertransplantation, also ein Ersatz der kranken Leber das Leben des Patienten retten. Leider gibt es nicht genügend Organe um allen Patientinnen welche ein Organ dringend benötigen würden helfen zu können. Die vorliegende Studie soll dieses Phänomen näher untersuchen und entschlüsseln. Ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen soll letztendlich zur Entwicklung von erfolgreichen und spezifischen Therapien bzw. der Prävention dieser Erkrankung beim Menschen beitragen. Eine neu entwickelte Mikroskopie Technik kann vielleicht in Zukunft Aufschlüsse darüber geben ob ein Organ für eine Transplantation geeignet ist oder nicht.

Schaden für die Tiere: Der maximal beobachtete Schaden lag bei Grad 2, was auf den operativen Eingriff zurückzuführen ist.

2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden 39 Mäuse (C75bl6) verwendet. Der maximal beobachtete Schaden lag bei „mittel“, was auf den operativen Eingriff zurückzuführen ist.

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

Nach wie vor gibt es keine geeigneten alternativen in vitro bzw. virtuellen Methoden, welche die natürlich vorkommenden Prozesse im Rahmen des Ischämie Reperfusionsschadens simulieren können und zur Untersuchung der oben genannten Fragestellung Anwendung finden können. Das hier genannte Tiermodell stellt nach wie vor die geeignetste Methode dar, um die Prozesse, welche im Rahmen des chronischen Gefäßschadens nach Organtransplantation auftreten, zu untersuchen. Des Weiteren wurden die Tiere vor, während sowie nach den Operationen durch geschultes Personal täglich mehrmals auf den Gesundheitszustand hin untersucht. Der postoperative Verlauf gestaltete sich in allen Tieren unauffällig, sodass kein Tier aufgrund von Schmerzen/Leiden oder chirurgischen Komplikationen wie z.B. Infektionen vorzeitig getötet werden musste.

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

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

Ein zentrales Ziel dieses Projektes war es, die pathophysiologische Rolle von FGF23 bei chronischer Niereninsuffizienz (CKD, chronic kidney disease) zu erforschen. Dazu sollten verschiedene Versuche an Mäusen durchgeführt werden, bei denen auf chirurgischem Weg eine CKD erzeugt worden war (Nierenteilresektion).

Nutzen: Das Projekt konnte noch nicht vollständig abgeschlossen werden. Die wichtigsten bereits erzielten Resultate bestehen zum einen im Nachweis der Beteiligung zweier verschiedener Signaltransduktionswege am Effekt (gezeigt durch den Einsatz spezifischer Hemmstoffe), zum anderen konnte gezeigt werden, dass die lokal gesteigerte Sekretion von FGF23 im Knochen zu der bei CKD-Patienten typischen Mineralisierungsstörung beiträgt. Derzeit werden nachträglich genehmigte Ergänzungsversuche durchgeführt, die aufgrund einiger möglicherweise auch klinisch relevanter Teilergebnisse (Einfluss von FGF23 auf Entzündungsprozesse im Rahmen der CKD) nachbeantragt wurden. Durch die bisher erzielten Ergebnisse konnten ganz konkret neue Wege der Therapie der CKD im Menschen aufgezeigt werden: die Daten wurden bereits im Rahmen einer prospektiven Studie mit CKD-Patienten als auch auf den Menschen anwendbar verifiziert. Ein Teil der Daten wurde bereits publiziert bzw. auf verschiedenen Kongressen präsentiert, weitere Publikationen sind in Vorbereitung.

Schaden für die Tiere: Im Rahmen des Projektes ist es notwendig, bei einem Teil der Tiere chirurgisch (durch Nierenteilresektion) oder durch die Gabe spezifischer Substanzen mit dem Futter eine chronische Niereninsuffizienz zu erzeugen. Dabei handelt es sich um gut etablierte und dokumentierte Tiermodelle. Belastungsschwerpunkte traten bisher, wie erwartet, hauptsächlich im Bereich der chirurgischen Eingriffe v.a. durch allgemeine OP-Risiken (z.B. Blutungen) auf und konnten durch optimierte Anästhesie, Analgesie und engmaschiges Monitoring minimiert werden. Deutliche Symptome eines klinisch manifesten Nierenversagens sind bei der gewählten Vorgehensweise erst nach ca. 12 Wochen zu erwarten. Alle Tiere im Versuch wurden mindestens einmal pro Woche gewogen und tierärztlich untersucht. Mäuse, die deutliche Krankheitszeichen oder Gewichtsverluste zeigen, wurden eingeschläfert.



## 2. Art und Anzahl der Tiere

Von den bisher verwendeten 655 Mäusen wurden 244 als mittelgradig belastet eingestuft (scheinoperierte Kontrolltiere) und 411 als schwer belastet aufgrund der Induktion eines irreparablen Nierenschadens.

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

**Vermeidung:** Studien, in deren Rahmen Wechselbeziehungen verschiedener Organsystemen in Modellen für chronische Erkrankungen untersucht werden, können nur an lebenden Tieren durchgeführt werden.

**Verminderung:** In einigen Fällen konnten die Gruppengrößen reduziert werden, wahrscheinlich kann auch auf die Durchführung einiger noch ausstehender Teilversuche verzichtet werden (Projekt noch nicht abgeschlossen!).

**Verfeinerung:** Optimierte Anästhesie und OP-Technik sowie lückenlose Analgesie trugen zur schnellen Erholung der Tiere post-OP bei. Da die Versuchsdauer meist mehrere Wochen betrug, wurde jedes Männchen mit einem alten Weibchen („retired breeder“) vergesellschaftet, um seine sozialen Bedürfnisse befriedigen zu können. Alle Tiere wurden während des gesamten Versuchs bezüglich Allgemeinbefinden und Körpergewicht überwacht. Dabei hat sich gezeigt, dass die sich über Wochen entwickelnde CKD im Versuchszeitrahmen tatsächlich sehr milde verläuft, progredienter Gewichtsverlust oder äußerlich erkennbare Anzeichen eines verschlechterten Allgemeinbefindens waren kaum oder gar nicht erkennbar. Der Verzicht auf die Implantation von Pumpen hat zu einer generellen Verfeinerung des Modells beigetragen. Das Projekt hat auch wesentlich dazu beigetragen, das experimentelle CKD-Modell im Sinne des Refinements zu verbessern. Der verwendete Mausstamm gilt als sehr resistent gegenüber der chirurgischen Induktion von CKD, gemäß Literatur ist die zusätzliche Infusion von Angiotensin II über subkutane Pumpen dazu notwendig. Im Rahmen von Vorversuchen konnten wir zeigen, dass eine Diät mit verändertem Mineralstoffgehalt ausreicht, um 8 Wochen nach der Operation bereits im Mittel eine ca. 50%ige Reduktion der glomerulären Filtrationsrate zu erzeugen, auf die zusätzliche Implantation von subkutanen Pumpen konnte verzichtet werden.

Eine weitere rückblickende Bewertung ist bis spätestens 28. Februar 2021 vorgesehen.

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

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

**Nutzen:** Non-Hodgkin Lymphome sind bösartige Lymphdrüsenerkrankungen, welche durch unkontrollierte Vermehrung von Lymphozyten gekennzeichnet sind. Bestimmte Untergruppen der Non-Hodgkin Lymphome treten vor allem bei Kindern und Jugendlichen auf. Die Standard-Behandlung dieser aggressiven Lymphome besteht aus mehreren Zyklen zytostatischer Chemotherapie, doch können Resistenzen und Rezidive auch nach erfolgreicher Therapie bei einem Teil der Patienten auftreten. Tyrosin Kinase Inhibitoren haben sich als erfolgreiche Therapeutika besonders bei der chronisch myeloischen Leukämie herausgestellt. Wir haben in dieser Arbeit die Tyrosin Kinase TYK2 als klinischer Ansatzpunkt in einer Subgruppe des Non-Hodgkin Lymphoms getestet. In Zelllinien dieses Lymphoms konnte ohne TYK2 nichtmehr wachsen und wenn wir TYK2 in einem Mausmodell der Erkrankung supprimierten brauchte es 3-mal solange bis die Mäuse das Lymphom bekamen. Im Herbst des Jahres 2018 wurden die ersten Daten mit oral verfügbare TYK2 Inhibitoren in Autoimmunerkrankungen veröffentlicht.

**Schaden für die Tiere:** Da es NPM-ALK Mäusen zu einer spontanen Tumorentstehung kommt, werden alle ALK+ NPM-ALK transgenen Tiere im Zeitraum der Tumorentstehung kontinuierlich (jeden zweiten Tag) auf Anzeichen eines mediastinalen Tumors (Ruhedyspnoe, vermindertes Gewicht, reduzierte Motilität) untersucht und bei positiven Anzeichen den weiter geplanten Untersuchungen zugeführt. Die Belastung der Versuchstiere wird aufgrund der bekannten humanen schmerzfreien Symptomatik des Anaplastischen Großzelligen Lymphoms als maximal mittelgradig eingestuft ferner auch da Metastasenbildung in dem Zeitintervall des Versuchs nicht auftritt. Die Fortpflanzung und Züchtung ist bis zu einem späten Stadium möglich. Die TYK2 Mäuse zeigen keine markanten Abnormalitäten in der Entwicklung, Fertilität und Ontogenese von Blutzellen (13) daher wird ihre Belastung als gering eingestuft. Knockout Mäuse werden solange beobachtet bis Tumorzeichen auftreten, und dann den geplanten Untersuchungen zugeführt. Sollte es zu keiner Tumorentstehung kommen, werden 50 Wochen als maximale Beobachtungsdauer angenommen.

Es hat sich in dieser Studie gezeigt dass sich die Zeit der Tumorenstehung durch das Einkreuzen der TYK2 Mäuse um das dreifache verlängert, was zeigt wie wichtig TYK2 für die Tumorentstehung ist.

Der zweite Teil der Studie wo wir die TYK2 Medikamente an Mäusen testen ist noch nicht durchgeführt und daher wurde um eine Verlängerung des Projektes angesucht. Die dafür beantragten Mäuse wurde daher auch noch nicht verbraucht.

## 2. Art und Anzahl der Tiere

Von 972 geplanten Mäusen wurden 460 noch nicht verwendet weil noch keine Inhibitorstudien gemacht wurden. Bleiben 512 geplante Mäuse für den TYK2 Knockout Teil der Studie von denen wurden nur 306 Mäuse verbraucht. 220 waren schwer belastet, 40 mittelgradig und 46 leicht. Wir konnten also 206 Mäuse weniger als geplant verwenden durch klare Versuchsergebnisse und intelligente Zuchtstrategien.

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

Das Design dieser Studie fand unter Berücksichtigung der 3R Regeln (Replacement, Reduction, Refinement) statt. Die Anzahl der belasteten Tiere wurde durch optimierte Zuchtplanung so gering wie möglich gehalten und die Anzahl der Tiere für die Knockout und Inhibitor-Studien wurde nach Berechnung der Stichprobengröße auf das erforderliche Minimum reduziert. Durch zwischenzeitliche statistische Analysen, konnte die Stichprobengröße verkleinert werden, da bereits mit einer geringeren Anzahl von Versuchstieren signifikante Ergebnisse erzielt wurden. Der Versuchszeitraum der Inhibitor-Studien wurde auf das erforderliche Mindestmaß beschränkt. Stress als auch Schmerz der Mäuse wurden während der Studien möglichst minimiert. Die Versuchstiere wurden generell drei Mal wöchentlich untersucht und physische Parameter dokumentiert. Während der Inhibitor Behandlung wurden die Mäuse täglich beobachtet. Die Mäuse wurden in Gruppen in angereicherten Käfigen (Papier, Papierrollen) gehalten und von ausgebildeten Tierpflegerinnen betreut und die Behandlungen wurden von geschulten ProjektmitarbeiterInnen durchgeführt und tierärztlich überwacht. Im Laufe des Tierversuchs wurden auch in vitro Zellkulturmodelle entwickelt, welche künftig dazu beitragen werden mögliche Tierversuche zu vermindern.

Eine weitere rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 2024 vorgesehen.

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

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

Die Schleimschicht des Magendarm-Traktes übernimmt eine wichtige Schutzfunktion und schützt die darunter liegende Schleimhaut vor Krankheitserregern. Genauso sind bestimmte Bestandteile dieser Schleimschicht verantwortlich dafür, dass das Immunsystem des Darms oral aufgenommene Nahrungsbestandteile duldet, also toleriert. Das Ziel des vorliegenden Projektes war es den Einfluss von Schleim-lösenden Medikamenten auf die Darmschleimschicht und auf die Durchlässigkeit der Schleimhautschicht zu untersuchen. Zusätzlich soll abgeklärt werden, ob ein Zusammenhang mit zwischen Beeinträchtigung der Schleimschicht und der Entwicklung einer Nahrungsmittelallergie besteht.

Nutzen: Es konnte gezeigt werden, dass die Einnahme von Schleim-lösenden Medikamenten die Darmschleimschicht stark verändert. Dies könnte in weiterer Folge einen großen Einfluss auf die Entstehung einer Nahrungsmittelallergie haben. Diese zweiten Experimente konnten allerdings bisher noch nicht durchgeführt werden.

Schaden für die Tiere: Im ersten Experiment wurden Tiere mit Schleim-lösenden Medikamenten behandelt. Diese werden von einer großen Zahl von Patienten täglich eingenommen. Es wurde erwartungsgemäß kein Schaden für die Tiere festgestellt, der tatsächlich auftretende Schweregrad ist daher als gering einzustufen. Im zweiten Experiment werden die Tiere mit Schleim-lösenden Medikamenten vorbehandelt und anschließend mittels eines bestehenden Protokolls allergisch gemacht. Dieses Protokoll führt während der Entwicklung der Allergie zu keinen Reaktionen und damit zu keinem Schaden der Tiere. Ausschließlich wenige Minuten vor der Tötung durch Narkose, wird eine allergische Reaktion ausgelöst und die Symptome der Tiere bewertet. Sollten diese erheblich sein, werden die Tiere sofort aus dem Versuch genommen. Die Versuche im zweiten Experiment konnten bisher noch nicht durchgeführt werden.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Balb/c Mäuse, Anzahl: 138 Tiere

Es wurden bisher der erste Teil der Experimente mit 24 Tieren durchgeführt. Bei allen Tieren war der tatsächlich auftretende Schweregrad als gering einzustufen.

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

Vermeidung: Ein Ersatz für den vorliegenden Tierversuch ist derzeit nicht verfügbar. Die Fragestellung kann nicht im Zellmodell untersucht werden

Verminderung: Zu Schonung der Tiere werden möglichst wenige Eingriffe vorgenommen. Zusätzlich wurde der Versuch so geplant, dass es zu einer möglichen Belastung der Tiere durch eine allergische Reaktion erst wenige Minuten vor Abschluss des Experimentes und Tötung durch Narkose kommen könnte.

Verfeinerung: Die zu verwendende Tieranzahl konnte durch genaue Planung der Arbeiten und durch statistische Planung so weit wie möglich reduziert werden.

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

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

In einer unserer vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass durch die Gabe von Anti-Thymozyten-Präparaten (ATG) der Gewebeschaden nach einem Herzinfarkt an der Ratte reduziert werden konnte. ATG-Präparate bestehen aus einer Antikörpermischung gegen diverse T-Zell-Antigene. Über welches Epitop der Wirkmechanismus vermittelt wurde, ist bis jetzt noch unbekannt. Im beantragten Projekt wurde die Hypothese untersucht, ob ein ähnlicher therapeutischer Effekt auch nur durch Stimulation eines T-Zell-Epitopes erzielt werden kann. Dies würde dazu beitragen den Wirkmechanismus genauer verstehen zu können. Basierend auf Untersuchungen an der Zellkultur konnten wir nachweisen, dass vermutlich das Molekül CD3 auf T-Zellen für den Haupteffekt verantwortlich ist. Daher haben wir Antikörper gegen dieses Zellmolekül im Tiermodell eines Herzinfarkts an Ratten untersucht und ebenfalls therapeutische Effekte nachweisen können.

Nutzen: Mittels dieser geplanten Studie sollte der Wirkmechanismus von ATG und ähnlichen Präparaten weiter untersucht werden. Mit den Ergebnissen konnten wir genauere Einblicke gewinnen wie die Stimulation von T-Zell-Antigenen einen protektiven Effekt auf ischämiegeschädigtes Herzmuskelgewebe ausübt. Diese Ergebnisse brachten uns neue Erkenntnisse für mögliche neue medikamentöse Therapie bei Menschen, die einen Herzinfarkt erlitten haben, um so im Idealfall die Schädigung des Herzmuskels und die Ausbildung einer Herzinsuffizienz reduzieren zu können.

Schaden für die Tiere: Im Rahmen der geplanten Studie wurde bei den Tieren ein Herzinfarkt mittels Ligatur eines Herzkranzgefäßes ausgelöst. Sechs Wochen danach wurden die Tiere eingeschläfert um die Herzen mittels histologischer Verfahren auf Schäden durch den Herzinfarkt untersuchen zu können. Wie im Antrag beschrieben würden wir den Schweregrad der Prozedur weiterhin als Schwer einschätzten. Zum aktuellen Stand wurden von den beantragen 186 Tieren 103 Ratten der Operation unterzogen. Die Gesamtausfallsrate innerhalb des sechswöchigen Experiments lag bei 23%.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Zum aktuellen Stand wurden von den beantragen 186 Tieren 103 Ratten der Operation unterzogen

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

Da sich in Zwischenanalysen bereits signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen gezeigt haben, ist geplant die komplette Anzahl der beantragten Tiere nicht auszuschöpfen. Zudem war auch die Ausfallsrate etwas geringer als zuvor angenommen. Des Weiteren soll durch zusätzliche in vitro Experimente an Zellkulturen die Aussage des Projekts untermauert werden und so eine geringe Anzahl von Versuchen im Tiermodell durchgeführt werden.

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

1. Angaben über Projektziele, einschließlich Schaden und Nutzen

Nicht anwendbar, da keine Experimente durchgeführt wurden.

2. Art und Anzahl der Tiere

Nicht anwendbar, da keine Experimente durchgeführt wurden.

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

Nicht anwendbar, da keine Experimente durchgeführt wurden.



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

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

Trotz großer Fortschritte bei der frühzeitigen Diagnose und der Therapie (Entwicklung neuer Medikamente) sind Pilzinfektionen noch immer eine große Gefahr, vor allem für Personen mit geschwächtem Immunsystem (Krebspatienten, Organtransplantationen, Verbrennungsoffer, HIV-Infektion...). Daher ist es wichtig, genauere Kenntnisse über die Vorgänge bei diesen Erkrankungen zu gewinnen. Heutzutage können viele Versuche „in vitro“, das heißt „im Reagenzglas“ durchgeführt werden, auch Zellkulturen leisten einen wichtigen Beitrag. Manche Fragestellungen zum Krankheitsgeschehen können jedoch nach wie vor nur im Tierversuch untersucht werden. Im vorliegenden Projekt geht es um die Klärung der Mechanismen, wie Candida-Pilze eine systemische Infektion im Körper verursachen und dabei den Abwehrsystemen im Blut entkommen können.

Nutzen: Der erwartete Nutzen bestand in der Klärung einiger dieser Fragen, was von großer Bedeutung ist, um neue Methoden entwickeln zu können, mit denen in Zukunft die Therapie verbessert und erweitert werden kann. Die Hypothese, dass das Komplement-System von zentraler Bedeutung für die Abwehr invasiver Candida-Infektionen ist, konnte im Versuch erhärtet werden; einige unerwartete Ergebnisse müssen jedoch noch weiter untersucht werden. Die Ergebnisse werden nach Durchführung eines Folgeversuchs publiziert.

Schaden: Der Schaden für die Tiere bestand darin, dass sie zum Teil an einer Candida-Infektion erkrankten. Gegliederter Schweregrad des Schadens:

Gering:	40	29 %
Mittel:	8	6 %
Schwer:	90	65 %

### 2. Art und Anzahl der Tiere

Insgesamt wurden in diesem Versuch 138 Mäuse verwendet.

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

Vermeidung: Viele Experimente für die vorliegende Studie wurden und werden in vitro, d.h. „im Reagenzglas“, durchgeführt (Anzucht der Pilze im Labor, Phagozytostests mit aus menschlichem Blut isolierten Fresszellen). Eine völlige Vermeidung von Tierversuchen ist jedoch nicht möglich.

Die im Labor gefundenen Daten und Ergebnisse müssen im lebenden Wirt überprüft werden. Dafür sind reine in vitro- und Zellkulturmethoden bisher nicht ausreichend.

Verminderung: Durch eine Fallzahl-Kalkulation mittels eines Statistik-Programms verwenden wir gerade so viele Tiere wie unbedingt nötig sind, um statistisch aussagekräftige Ergebnisse gewinnen zu können. Zwei zunächst eingeplante Versuchsgruppen wurden eingespart. Außerdem beschränkten wir die Versuche zunächst auf eine Candida-Art.

Verfeinerung: Die Tiere erhielten in jeden Käfig Nistmaterial und ein Häuschen als Rückzugsmöglichkeit. Sie wurden zunächst eine Woche lang an ihre neue Umgebung gewöhnt und dabei jeden Tag einmal aus dem Käfig genommen, auf der Hand (mit Handschuhen) gehalten, gestreichelt und „angesprochen“, um sie an die den Versuch durchführenden Menschen zu gewöhnen (Konditionierung).

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: Entwicklung eines Impfstoffes zur Vorbeugung von Adenovirus-induzierten Krankheitsbildern.

Nutzen: Im vorliegenden Versuch wurden Kenntnisse über die schützende Wirkung verschiedener isolierter Adenoviruskomponenten gewonnen. Diese Ergebnisse dienen zur Herstellung und Anwendung dieser Komponenten im Rahmen eines bis dato nicht vorhandenen effizienten und zugleich anwendungssicheren Impfstoffes gegen das wirtschaftlich bedeutsame Krankheitsbild der Einschlusskörperchenhepatitis.

Schaden für die Tiere: Bei nicht geschützten Tieren und Kontrolltieren kam es im Zuge der Infektion mit virulenten Adenoviren zu Leberläsionen und Mortalitäten.

2. Art und Anzahl der Tiere

290 spezifiziert pathogenfreie (SPF) Tiere

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

Vermeidung: Ein Tierversuch ist in diesem Fall unerlässlich, da die Ausbildung einer Immunität als Reaktion des Wirtes auf Kontakt mit dem entwickelten Impfstoff, sowie deren schützende Wirkung gegenüber einer Infektion, untersucht werden sollten. Dieses Ziel ist mit Alternativmethoden nicht zu erreichen.

Verminderung: Es wurde jene minimale Anzahl von Tieren verwendet, die zugleich die statistische Berechenbarkeit der Ergebnisse sicherstellte.

Verfeinerung: Die Tiere wurden ihrer Art entsprechend untergebracht und angemessen ernährt. Regelmäßige Beobachtungen, klinische Untersuchungen, Überprüfen des Gesundheitsstatus der Tiere sowie die Festsetzung von Abbruchkriterien haben dazu geführt, dass protrahiertes Tierleid verhindert bzw. verringert werden konnte. Entsprechend eines etablierten Scoringsystems wurden jene Tiere, die sich in einem fortgeschrittenem Stadium der Krankheit befanden, euthanasiert.

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

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

Ziel des beantragten Tierversuches war es, die Effektivität der Schutzwirkung zweier Vakzine gegen eine virale Infektion beim Huhn vergleichend zu untersuchen. Außerdem sollten die Qualität und Quantität der induzierten Immunantwort (homolog und heterolog) beider Vakzine im Anschluss an die intramuskuläre Impfung am 1. Lebenstag und eines Boosters am 21. Lebenstag genauer beschrieben werden.

Nutzen: Evaluierung der Immunitätsbildung und tatsächliche Schutzwirkung zweier Vakzine zur Prophylaxe gegen eine Virusinfektion beim Huhn und Bestimmung von heterologen Antikörper gegen verschiedene Referenzstämme.

Schaden für die Tiere: Die Vakzination und Infektion erfolgten mittels intramuskulärer Injektion. Zur Antikörperbestimmung wurden regelmäßig Blutabnahmen durchgeführt. Durch die Entnahme von Kloakentupferproben wurde die Virusausscheidung zu definierten Zeitpunkten überprüft. Bei nicht geschützten Tieren kam es im Zuge der Infektion mit virulenten Adenoviren zu Todesfällen und pathomorphologischen Veränderungen. Insgesamt waren im vorliegenden Projekt 15 Tiere schwer, 5 Tiere mittelgradig und 84 Tiere geringgradig belastet.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

104 spezifiziert pathogenfreie Hühner

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

Vermeidung: Da zur Untersuchung der dargestellten Fragestellungen der Gesamtorganismus beobachtet werden musste, war es nicht möglich, den Versuch durch alternative Methoden zu ersetzen.

Verminderung: Durch die Berücksichtigung von Erfahrungswerten aus vorangegangenen Versuchen sowie durch eine entsprechende statistische Planung und Auswertung wurde sichergestellt, dass nur jene Anzahl an Tieren verwendet wurde, die unbedingt erforderlich war, um statistisch signifikante Daten über die Immunitätsbildung und die in vivo Schutzwirkung gegenüber einer Infektion mit einem virulenten Feldstamm in einem Challengemodell zu generieren.

Verfeinerung: Es wurden verschiedene Maßnahmen angewandt, um die Belastung der Tiere auf das unumgängliche Ausmaß zu beschränken. Dazu wurden die Tiere ihrer Art entsprechend in Gruppen gehalten, angemessen ernährt und untergebracht. Die Tiere wurden regelmäßig beobachtet und ihr klinischer Gesundheitszustand wurde täglich mehrmals kontrolliert. Unnötiges Leiden der Tiere wurde durch eine dem Zustand der Tiere angemessene Kontrollfrequenz und durch Implementierung der definierten Abbruchkriterien vermieden.

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

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

Nutzen: Ziele der in dem vorliegenden Tierversuchsantrag beschriebenen Experimente waren die Aufklärung der Funktion von Signalwegen in hämatopoetischen Zellen im Hinblick auf ihre Stammzellfunktion, sowie Reifung und Funktion von Immunzellen und die Untersuchung molekularer Mechanismen in der Leukämieentstehung. Wir konnten neue Erkenntnisse über die Funktion spezifischer Signalmoleküle für die Reifung und Funktion von Immunzellen und Immunzellwechselwirkung gewinnen. Die Relevanz unserer Erkenntnisse über Signalmoleküle und deren Funktion in hämatopoetischen Stammzellen gehen über den Wissensgewinn hinaus und erlauben Aussagen über Behandlungsnebenwirkungen auf hämatopoetische Stammzellen in PatientInnen. Ferner konnten wir zeigen, dass eine für Menschen relevante genetische Veränderung eines Signalmoleküls die krankheitserregende Mutation in T-Zell-Leukämie ist. Damit konnten wir dieses veränderte Signalmolekül als Angriffspunkt für neue Therapieansätze identifizieren. Weitere Erkenntnisse aus Experimenten dieses Tierversuchsantrags konnten einen negativen Nebeneffekt einer Tumor-Behandlung zeigen, der genau so auch in PatientInnen beobachtet wurde. Unser Model kann in Zukunft für die Aufklärung des Mechanismus und zum Testen von neuen Therapieoptionen verwendet werden, was den PatientInnen zu Gute kommt. Unsere Erkenntnisse aus den präklinischen Studien zu Knochenmarktransplantationen zeigen neue Therapieoptionen auf, die für die klinisch tätige Leserschaft von Bedeutung sind. Sie zeigen aber auch Limitationen auf, die Relevanz für die Sicherheit von PatientInnen haben.

Schaden: In den Experimenten des vorliegenden Tierversuchsantrags kam es durch Bestrahlungen und Knochenmarkstransplantation zu Belastung der Versuchstiere. Außerdem kam es zu Belastungen durch Tumorwachstum, entweder durch eine genetisch bedingte erhöhte spontane Tumorbildungsrate oder durch Transplantation von Knochenmark- oder Immunzellen von genetisch modifizierten Tieren in Empfängertiere. Schweregrad: Die tatsächlich aufgetretenen Schweregrade waren mittelgradig (88,2% der Tiere) und schwergradig (11,8% der Tiere) und stimmten mit den erwarteten Schweregraden überein.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

2203 Mäuse (*Mus musculus*) wurden verwendet.

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

Vermeidung: In den Fällen in denen neue Entwicklungen Untersuchungen in vitro möglich machten, wurde auf die Tierversuche verzichtet. In den meisten Fällen waren und sind Versuchstiere für die Untersuchung von komplexen Wechselwirkungen zwischen Immunzellen oder Immunzellen mit Stromazellen oder Tumorzellen notwendig.

Verminderung: Durch parallele Durchführung der Experimente konnte in vielen Fällen die Anzahl der Tiere reduziert werden. Ferner konnten statistische Zwischenanalysen und neue statistische Berechnungen helfen die Tierzahl zu reduzieren.

Verfeinerung: Die Belastung bei oraler Behandlung konnte durch den Einsatz von Nagerpaste, anstatt einer Verabreichung durch Schlundsonde, verringert werden. Die Tiere wurden in Gruppen mit Nistmaterial und Häuschen unter Standard-bedingungen gehalten und von ausgebildetem Personal betreut.

Eine weitere rückblickende Bewertung ist bis spätestens 31. August 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 Schaden und Nutzen

Projektziele: Getreide, das als Tierfutter verwendet wird, ist häufig von Pilzen befallen, die Pilzgifte (sog. Mykotoxine) bilden. Eines dieser Pilzgifte (Deoxynivalenol, DON) kann in niedrigen und mittleren Dosen das Immunsystem schwächen. Da Schweine hohe Mengen an getreide- und maishaltigem Futter erhalten, sind sie häufig einer Belastung durch DON ausgesetzt. Ziel des Projekts war es zu untersuchen, ob DON-belastetes Getreide die Schutzwirkung der Impfung gegen das sog. Porzine Reproductive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRSV) verringert oder sogar aufhebt.

Nutzen der Studie: Die erzielten Ergebnisse zeigen, dass die Immunreaktion von Schweinen auf eine Impfung gegen das PRRSV negativ beeinflusst wird, wenn DON im Futter enthalten ist. Die Tiergruppe mit einer mittleren DON-Dosis im Futter, die gerade in regenreichen Sommern häufig im Futter von Schweinen vorkommt, hatte nach einer Belastungsinfektion höhere Mengen an Virus im Blut und in der Lunge als Tiere, die kein DON erhielten oder nur einer geringen Dosis ausgesetzt waren. Somit können nun bessere Empfehlungen darüber gegeben werden, ab welchen DON-Belastungen im Futter DON-deaktivierende Substanzen dem Futter zugesetzt werden sollen. Dadurch kann das Immunsystem der Tiere weiterhin eine optimale Reaktion auf Schutzimpfungen zeigen.

Schaden für die Tiere: Die Schweine, die DON-belastetes Futter erhielten, zeigten eine verringerte durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme. Dieser Rückgang lag bei 30 bis 70g je Tag. Alle Tiere die eine Infektion mit dem PRRSV erhielten, zeigten am Versuchsende geringe pathologische Veränderungen des Lungengewebes. Diese Veränderungen führten jedoch nicht zu klinischen Symptomen wie Kurzatmigkeit, Husten, Nasenausfluss oder einer Veränderung des Verhaltens. Außerdem zeigten alle PRRSV-infizierten Tiere nach Infektion über einen Zeitraum von 8 Tagen einen geringfügigen Anstieg der Körpertemperatur um 0,5 bis 0,9 °C über den physiologischen Normbereich. Für 24 Tiere lag somit ein mittlerer Schweregrad, für 18 Tiere ein leichter Schweregrad vor. Zur Überprüfung der Immunantwort und der Viruslast wurde den Tieren im ein- bis zweiwöchigem Abstand geringe Mengen Blut abgenommen. Am Ende des Projektes wurden die Tiere tierschutzkonform getötet, um eine Untersuchung des Immunsystems sowie der Viruslast in Lunge und Lymphknoten durchzuführen.



## 2. Art und Anzahl der Tiere

42 Schweine (Hausschwein; *Sus Scrofa domestica*)

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

**Vermeidung:** Untersuchungen zur komplexen Wirkung des Pilzgiftes DON auf die Immunantwort geimpfter Tiere sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur durch eine Untersuchung am lebenden Gesamtorganismus möglich. Der Tierversuch konnte daher nicht durch alternative Methoden ersetzt werden.

**Verminderung:** Die Anzahl der Tiere wurde auf ein statistisch berechnetes Minimum reduziert. Für Parameter der Immunantwort sowie die Viruslast in Blut und Lunge wurden statistisch signifikante Unterschiede gefunden, die belegen, dass die Vorausberechnung der erforderlichen Tierzahl korrekt war.

**Verfeinerung:** Die Tiere wurden so untergebracht und betreut, dass ihre physiologischen und ethologischen Bedürfnisse angemessen berücksichtigt wurden. Die Haltung der Tiere erfolgte in Gruppen. Die Fütterung erfolgte ad libitum, Trinkwasser stand ständig zur Verfügung. Ebenso wurde adäquates Beschäftigungsmaterial angeboten. Pflege, Überwachung und medizinische Betreuung erfolgte durch qualifiziertes Personal.

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

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

Projektziele: Ziele der in dem vorliegenden Tierversuchsantrag beschriebenen Experimente waren die Aufklärung der Funktion von Signalwegen in hämatopoetischen Zellen im Hinblick auf ihre Stammzellfunktion, sowie Reifung und Funktion von Immunzellen und die Untersuchung molekularer Mechanismen in der Leukämieentstehung. Wir konnten neue Erkenntnisse über die Funktion spezifischer Signalmoleküle für die Reifung und Funktion von Immunzellen und Immunzellwechselwirkung gewinnen. Die Relevanz unserer Erkenntnisse über Signalmoleküle und deren Funktion in hämatopoetischen Stammzellen gehen über den Wissensgewinn hinaus und erlauben Aussagen über Behandlungsnebenwirkungen auf hämatopoetische Stammzellen in PatientInnen. Ferner konnten wir zeigen, dass eine für Menschen relevante genetische Veränderung eines Signalmoleküls die krankheitserregende Mutation in T-Zell-Leukämie ist. Damit konnten wir dieses veränderte Signalmolekül als Angriffspunkt für neue Therapieansätze identifizieren. Weitere Erkenntnisse aus Experimenten dieses Tierversuchsantrags konnten einen negativen Nebeneffekt einer Tumor-Behandlung zeigen, der genau so auch in PatientInnen beobachtet wurde. Unser Model kann in Zukunft für die Aufklärung des Mechanismus und zum Testen von neuen Therapieoptionen verwendet werden, was den PatientInnen zu Gute kommt. Unsere Erkenntnisse aus den präklinischen Studien zu Knochenmarktransplantationen zeigen neue Therapieoptionen auf, die für die klinisch tätige Leserschaft von Bedeutung sind. Sie zeigen aber auch Limitationen auf, die Relevanz für die Sicherheit von PatientInnen haben.

Schaden für die Tiere: In den Experimenten des vorliegenden Tierversuchsantrags kam es durch Bestrahlungen und Knochenmarkstransplantation zu Belastung der Versuchstiere. Außerdem kam es zu Belastungen durch Tumorwachstum, entweder durch eine genetisch bedingte erhöhte spontane Tumorbildungsrate oder durch Transplantation von Knochenmark- oder Immunzellen von genetisch modifizierten Tieren in Empfängertiere.

### 2. Art und Anzahl der Tiere

1834 Mäuse (*Mus musculus*) wurden verwendet.

Schweregrad: Die tatsächlich aufgetretenen Schweregrade waren mittelgradig (87,6% der Tiere) und schwergradig (12,4% der Tiere) und stimmten mit den erwarteten Schweregraden überein.

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

Vermeidung: In den Fällen in denen neue Entwicklungen Untersuchungen in vitro möglich machten, wurde auf die Tierversuche verzichtet. In den meisten Fällen waren und sind Versuchstiere für die Untersuchung von komplexen Wechselwirkungen zwischen Immunzellen oder Immunzellen mit Stromazellen oder Tumorzellen notwendig.

Verminderung: Durch parallele Durchführung der Experimente konnte in vielen Fällen die Anzahl der Tiere reduziert werden. Ferner konnten statistische Zwischenanalysen und neue statistische Berechnungen helfen die Tierzahl zu reduzieren.

Verfeinerung: Die Belastung bei oraler Behandlung konnte durch den Einsatz von Nagerpaste, anstatt einer Verabreichung durch Schlundsonde, verringert werden. Die Tiere wurden in Gruppen mit Nistmaterial und Häuschen unter Standard-bedingungen gehalten und von ausgebildetem Personal betreut.

Eine rückblickende Bewertung ist bis spätestens 29. Februar 2020 vorgesehen.